

**Centro de Investigación Científica y de Educación
Superior de Ensenada, Baja California**



**Doctorado en Ciencias
en Física de Materiales**

**Síntesis y caracterización de nanopartículas de Au y materiales
luminiscentes para aplicaciones biomédicas**

Tesis
para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
Doctor en Ciencias

Presenta:

Carlos Belman Rodríguez

Ensenada, Baja California, México
2019

Tesis defendida por
Carlos Belman Rodríguez

y aprobada por el siguiente Comité

Dr. Sergio Andrés Águila Puentes
Director de tesis

Dra. Karla Oyuky Juárez Moreno

Dra. Mariana Jeannete Oviedo Bandera

Dr. Oscar Edel Contreras López

Dr. David Cervantes Vásquez

Dr. José Manuel Romo Herrera



Dr. Sergio Fuentes Moyado
Coordinador del Posgrado en Física de Materiales

Dra. Rufina Hernández Martínez
Directora de Estudios de Posgrado

Resumen de la tesis que presenta **Carlos Belman Rodríguez** como requisito parcial para la obtención del grado de Doctor en Ciencias en Física de Materiales.

Síntesis y caracterización de nanopartículas de Au y materiales luminiscentes para aplicaciones biomédicas

Resumen aprobado por:

Dr. Sergio Andrés Águila Puentes
Director de tesis

Con el incremento en el número de casos de enfermedades degenerativas como el cáncer, se ha vuelto indispensable el desarrollo de nuevos fármacos y materiales que aumenten la eficiencia de los tratamientos se ha vuelto indispensable, principalmente, para contrarrestar los efectos secundarios de los tratamientos convencionales como la quimioterapia. Los materiales teranósticos son una posible alternativa para el tratamiento del cáncer, ya que agrupan propiedades de diagnóstico y terapia localizada en un mismo material y proyectan una posible reducción en los efectos secundarios. En este trabajo se presenta la síntesis y caracterización de materiales híbridos luminiscentes con fines teranósticos que son activados con energía de radiación en longitudes de onda del infrarrojo cercano (IFRC), donde los tejidos presentan un menor coeficiente de absorción de luz. La primera parte de este trabajo se basó en la obtención de cada uno de los materiales que componen los sistemas híbridos. Se sintetizaron y caracterizaron materiales luminiscentes con bandas de emisión en el IFRC: el $\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}^{3+}$ y el $\text{Bi}_3\text{Ge}_4\text{O}_{12}:\text{Eu}^{3+}$, para proveer al material con la función de diagnóstico. Para cumplir con la función de terapia, se sintetizaron y caracterizaron varillas de Au (AuR), las cuales presentan resonancia del plasmón de superficie localizado, el cual, al ser excitado, desencadena procesos físicos que se traducen en un aumento de temperatura localizada capaz de incidir un daño irreversible en células. La excitación del plasmón de superficie localizado de los AuR se puede sintonizar en el IFRC. Una vez obtenidos cada uno de los componentes, se procedió al ensamblaje y caracterización de los materiales híbridos por medio del anclaje de los AuR sobre la superficie de los materiales luminiscentes, agrupando así, las propiedades de emisión en el IFRC y de plasmón de superficie localizado en un mismo sistema. Por último, los materiales híbridos sintetizados fueron evaluados en diferentes líneas celulares por medio de ensayos de viabilidad celular y de esta manera determinar si era posible considerar su uso en sistemas biológicos.

Palabras clave: Materiales teranósticos, materiales híbridos, infrarrojo cercano

Abstract of the thesis presented by **Carlos Belman Rodríguez** as a partial requirement to obtain the Doctor of Science degree in Física de Materiales.

Synthesis and characterization of Au nanoparticles and luminescent materials for biomedical applications

Abstract approved by:

Dr. Sergio Andrés Águila Puentes
Thesis Director

With the increase of degenerative diseases cases as cancer, the development of new drugs and materials with higher efficiency than the already existing is indispensable. To counteract the secondary effects of the conventional treatments, it is necessary the development of localized treatments that can reduce the secondary effects. The theranostics materials are a possible alternative for the treatment of diseases as cancer, due to their diagnosis and localized therapy properties in the same material, allowing a decrement of the secondary effects compared with the traditional drugs. In this work, we present the synthesis and characterization of hybrid materials as a possible theranostics agents, which work in the near infrared (NIR) region, where the issues have a low coefficient absorption of light. The first part of this work was based on the synthesis of the materials that compose the hybrid materials, for the diagnosis part we synthesized and characterized luminescent materials with band emission in the NIR: $\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}^{3+}$ y $\text{Bi}_3\text{Ge}_4\text{O}_{12}:\text{Eu}^{3+}$. For the therapy part we synthesized gold nanorods (AuR) because of their localized surface plasmon resonance (LSPR), when the plasmon is excited physical processes are triggered and produce a localized increase of temperature capable of affecting irreversible damage in cells. The excitation of localized surface plasmon of AuR, can be tunable in the NIR also. Once obtained each of the components, we proceeded to the assembly and characterization of the hybrid materials by anchoring of the AuR on the surface of the luminescent materials, getting the properties of the NIR emission and plasmon resonance in the same system. In the last part, the hybrid materials were evaluated in different cell lines by viability cell assays to determine the possibility to be used in biological systems.

Keywords: Theranostics materials, hybrid materials, near infrared

Dedicatoria

A mi Martita

Que la luz de tu sonrisa me acompañe por siempre

A mis papás (Chelita y Don José)

Por su apoyo incondicional, por enseñarme a ser una buena persona, por el amor que me tienen, pero, sobre todo, por el amor que les tengo

A mis hermanas (Alondra y Chalo)

Por existir y hacerme saber que siempre voy a contar con ustedes

Dedicado a las personas que apuestan todo por un sueño

Agradecimientos

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California (CICESE), por darme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado.

Al Centro de Nanociencias y Nanotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México (CNYN-UNAM), por el apoyo incondicional en el uso de sus instalaciones y por ser mi casa durante estos 4 años.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por brindarme el apoyo económico para la realización de mis estudios doctorales con el No. de becario: 333216.

A mi director de tesis Dr. Sergio Andrés Águila Puentes, quien me ha guiado en la realización de este trabajo, con su experiencia y paciencia, que me ha motivado en los momentos difíciles y que con sus invaluable consejos me han hecho una mejor persona.

A los miembros de mi comité de tesis, Dra. Karla Oyuky Juárez Moreno, Dra. Mariana Jeannete Oviedo Bandera, Dr. Oscar Edel Contreras López, Dr. David Cervantes Vásquez y Dr. José Manuel Romo Herrera, les agradezco por sus siempre atinados comentarios, consejos y apoyo incondicional en la realización de esta tesis.

Al Instituto Nacional de Cancerología (INCAN), de manera especial al Dr. Joaquín Manzo Merino, por abrirme las puertas de su laboratorio, por el apoyo brindado en la realización de las pruebas *in vitro*, por sus siempre acertados comentarios, su amabilidad y paciencia.

A todo el personal administrativo del CICESE y de CNYN-UNAM, particularmente a María Citlali Romero Manzano, Norma Alicia Fuente, Laura Rebeca Pineda Méndez, Ruth Eaton Montañón, Álvaro Armenta, Dolores Sarracino, Laura Adriana Rosales Vásquez, Margot Sainz Romero y Ana Patrón Martínez, siempre de trato amable y con total disponibilidad.

A todo el personal técnico y planta académica del CNYN, porque este trabajo no sería posible sin ustedes. Agradezco especialmente a Eloisa Aparicio, Juan Antonio Peralta, Jesús Antonio Díaz Hernández, Eric Flores, Israel Gradilla, Francisco Ruiz, Enrique Medina, Alejandro Tiznado, Pedro Casillas y Jaime Mendoza, quienes me regalaron un poco de su tiempo cuando más lo necesité y proporcionaron un soporte invaluable en la realización de este trabajo.

A todos mis amigos de Ensenada especialmente a Noemí, Mariana, Mara, Yocu, Mago, Duilio, Karla, Javier, Waypa, Angélica, Sangines, Raul, Julio, Alicia, Felipe, Ernesto, Alex, Tosto y Abraham, quienes se convirtieron en mi familia de Ensenada.

A todos los miembros del Águila Lab Ensenada y del Laboratorio del INCAN en ciudad de México, quienes siempre estuvieron ahí para brindarme ayuda.

A “mis muchachos”: Aidee, Luis, Gabriel y Salma, quienes estuvieron trabajando conmigo en el laboratorio y con quien pasé momentos muy gratos.

A los entrañables miembros del “Club de Toby”, por su hospitalidad y por compartir conmigo historias llenas de risas.

A mis amigos de Mochis y Guadalajara: Manuel, Masao, Héctor, Germán, Isra, Christian y Alfredo, que a pesar de la distancia y el pasar de los años, nunca se ha dejado de sentir su apoyo y afecto.

A mis excompañeros del ITLM, porque con ellos comencé el camino que hoy termina.

No puedo dejar de agradecer a mi Martita, mi compañera de vida, por su apoyo incondicional, por caminar a mi lado, por todo.

Finalmente quiero agradecer a mi familia, a Chelita (mi mamá), a Don José (mi papá) y a mis dos hermanas, Alondra y Chalo, por su cariño y apoyo, por estar conmigo en todo momento ¡muchas gracias por todo!.

Tabla de contenido

	Página
Resumen en español.....	ii
Resumen en inglés.....	iii
Dedicatorias.....	iv
Agradecimientos.....	v
Lista de figuras.....	viii
Lista de tablas.....	ix
Capítulo 1. Introducción	
1.1. Materiales luminiscentes	5
1.1.1 Centros ópticamente activos	7
1.1.2 Iones de tierras raras (TR) y iones de metales de transición (MT).....	7
1.1.3 Germanato de Bismuto dopado con europio $\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}:\text{Eu}^{3+}$ (BGO:Eu).....	8
1.1.4. Galato de Litio dopado con cromo $\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}^{3+}$ (LGO:Cr).....	10
1.2 Nanopartículas metálicas (NPM).....	12
1.2.1 Nanopartículas de oro (AuNPs).....	14
1.3 Terapia fototérmica (TF)	15
1.4 Materiales híbridos	17
1.5 Ensayos de citotoxicidad	18
1.6 Hipótesis.....	19
1.7 Objetivo general.....	19
1.7.1 Objetivos específicos.....	20
Capítulo 2. Antecedentes	
2.1 Antecedentes para $\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}^{3+}$	21
2.2 Antecedentes para $\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}:\text{Eu}^{3+}$	22
2.3 Antecedentes para AuNPs.....	24
2.4 Antecedentes para TFP a partir de AuNPs	25
Capítulo 3. Metodología	
3.1 Síntesis por sol-gel.....	30
3.2 Síntesis de $\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}:\text{Eu}^{3+}$ (BGO:Eu)	31

3.3 Síntesis de $\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}^{3+}$ (LGO:Cr).....	32
3.4 Recubrimiento de LGO:Cr y BGO:Eu con SiO_2	33
3.5 Síntesis de Nanorods de oro (AuR).....	33
3.6 Ensamblaje de materiales híbridos	34
3.6. 1 Funcionalización de la superficie de los materiales luminiscentes.....	34
3.7 Ensayos de respuesta con calentador óptico.....	36
3.8 Ensayos de viabilidad celular.....	37
Capítulo 4. Resultados y discusiones	
4.1 Germanato de Bismuto dopado con Europio ($\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}:\text{Eu}^{3+}$)	39
4.2 Galato de litio dopado con cromo ($\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}^{3+}$)	42
4.3 Nano rods de oro (AuR).....	45
4.4 Materiales híbridos	47
4.4.1 Materiales híbridos a partir de BGO:Eu@SiO_2	48
4.4.2 Materiales híbridos a partir de LGO:Cr@SiO_2	54
4.5 Efecto térmico	62
4.6 Ensayos de viabilidad celular.....	73
Capítulo 5. Conclusiones	77
5.1 Perspectivas.....	78
Literatura citada	79
Anexos	85
1. Fotoluminiscencia (FL).....	85
1.1 Transiciones $f \leftrightarrow f$	87
1.2 Transiciones $d \leftrightarrow d$	87
2. Catodoluminiscencia (CL)	88
3. Figuras del efecto térmico.....	89
4. Ensayos de proliferación celular	91
5. Imágenes de los tejidos.....	92
6. Publicaciones.....	93

Lista de figuras

Figura		Página
1	Coeficiente de absorción de un tejido biológico representativo donde se indican los rangos espectrales de las ventanas biológicas (Del-Rosal, 2016).....	3
2	Diagrama esquemático de la propuesta de trabajo para la síntesis de materiales híbridos como posibles agentes teranósticos.....	5
3	Proceso de luminiscencia dentro de una red cristalina, el activador absorbe energía, es excitado y emite fotones (G. Blasse, 1984).....	6
4	Representación esquemática propuesto para describir el rol del Eu^{3+} en el BGO (J. Kim, 1998).....	9
5	Representación esquemática del mecanismo propuesto para describir la luminiscencia persistente en el IFRC del LGO: Cr^{3+} (F. Liu et al., 2013).....	11
6	Diagrama de resonancia del plasmón de superficie en una nanopartícula metálica.....	13
7	Gráfica que muestra la absorbancia del plasmón de superficie de las AuNP de acuerdo a la morfología que presentan. Figura tomada y modificada de (P. K. Jain et al., 2007).....	14
8	Imágenes de la emisión de las LGO:Cr recubiertas con PEI para etiquetar células 4T1 y después de ser inyectadas en un ratón desnudo (F. Liu et al., 2013).....	21
9	Espectros de emisión por fotoluminiscencia a diferentes concentraciones de Eu^{3+} (Chu et al., 2017).....	24
10	Figura que muestra: A. La selectividad en la interacción de los AuR al ser funcionalizados con anticuerpos afines a células derivadas de cáncer, B. La terapia fototérmica selectiva producto de la funcionalización de los AuR con sus respectivos anticuerpos.....	26
11	Gráfica de concentración atómica con respecto al tiempo, donde se ilustra la generación de átomos, la nucleación y subsecuente crecimiento de NPs (Xia et al., 2009).....	29
12	Diagrama esquemático del proceso de síntesis por de sol-gel.....	31
13	Diagrama esquemático para la síntesis de germanato de bismuto dopado con europio BGO:Eu por la técnica de sol-gel.....	32
14	Diagrama esquemático para la funcionalización de la superficie de los materiales luminiscentes con moléculas afines a la superficie de los AuNR.....	35

15	Diagrama esquemático del proceso de funcionalización de la superficie de los materiales luminiscentes recubiertos con SiO ₂	35
16	Diagrama esquemático del calentador óptico.....	37
17	Micrografías de BGO:Eu ³⁺ obtenidas por MEB tomadas a diferentes ampliaciones: a) 1000x, b) 3500x y c) 5000x.....	39
18	Patrón de difracción de la muestra de Bi ₄ Ge ₃ O ₁₂ :E ³⁺ sintetizada por sol-gel.....	40
19	Espectro de emisión obtenido por fotoluminiscencia del Bi ₄ Ge ₃ O ₁₂ dopado con 9% en peso de Eu ³⁺ (BGO:Eu ³⁺).....	41
20	Micrografías del BGO:Eu obtenidas por MET, donde se puede observar la morfología del material y la distancia entre planos cristalinos.....	42
21	Micrografías de LGO:Cr obtenidas por MEB tomadas a diferentes ampliaciones: a) 1000x, b)3500x y c)5,000x.....	43
22	Patrón de difracción de la muestra LiGa ₅ O ₈ :Cr ³⁺ sintetizada por sol-gel.....	44
23	Espectro de emisión del LiGa ₅ O ₈ :Cr ³⁺ obtenido por fotoluminiscencia	44
24	Micrografía del LiGa ₅ O ₈ :Cr ³⁺ obtenidas por MET donde se muestra la morfología del material.....	45
25	Gráficas de absorbancia obtenidas por UV-Vis, para los AuNR obtenidos por el método de crecimiento mediado por semillas. Las gráficas se obtuvieron al añadir en la síntesis 14 μL, 18 μL y 20 μL de semillas respectivamente.....	46
26	Micrografías y distribuciones de tamaño de partículas obtenidas por MET de los AuR sintetizados por el método mediado por semillas.....	47
27	Micrografías obtenidas por MEB con una ampliación de 35,000X de los 4 diferentes ensambles hechos a partir de BGO:Eu y AuR.....	49
28	Micrografías de BGO:Eu@SiO ₂ sin funcionalizar obtenidas por MEB a una ampliación de 35,000x. Las micrografías fueron tomadas después de intentar depositar AuR sobre su superficie y siguiendo el procedimiento descrito en la sección 4.6.....	50
29	Micrografías obtenidas por MET de los materiales híbridos sintetizados a partir del ensamble de AuR con BGO:Eu@SiO ₂ Cada micrografía muestra su escala en la parte inferior izquierda.....	50
30	Espectro de emisión obtenido por CL de los materiales híbridos obtenidos a partir de los ensambles del BGO:Eu@SiO ₂ con los AuR.....	52
31	Espectros de absorbancia obtenidos por UV-Vis: A) B@SiO ₂ -500D18, B) B@SiO ₂ -560D20, C) B@SiO ₂ -500D20 y D) B@SiO ₂ -560D20.....	54

32	Imágenes tomadas por MEB con una amplificación de 40,000X de los 4 diferentes ensamblajes hechos con LGO:Cr y AuNR.....	56
33	Micrografías de LGO@SiO ₂ sin funcionalizar obtenidas por MEB a una amplificación de 50,000x. Las micrografías fueron tomadas después de intentar depositar AuR sobre su superficie y siguiendo el procedimiento descrito en la sección 4.6.....	57
34	Micrografías obtenidas por MET de los materiales híbridos sintetizados a partir del ensamblaje de AuR con LGO:Cr@SiO ₂ . Cada micrografía muestra su escala en la parte inferior izquierda.....	58
35	Espectro de emisión obtenido por FL de los materiales híbridos obtenidos a partir de los ensamblajes del BGO:Eu@SiO ₂ con los AuR.....	59
36	Espectros de absorbancia obtenidos por UV-Vis: A) L@SiO ₂ -450D14, B) L@SiO ₂ -300D14, C) L@SiO ₂ -150D20 y D) L@SiO ₂ -600D20.....	61
37	Gráficos que muestran el cambio de temperatura inducido por el calentamiento fototérmico de los diferentes AuR a 1mM de CTAB. Las lecturas de las temperaturas iniciales fueron tomadas a temperatura ambiente.....	64
38	Gráficos que muestran el cambio de temperatura inducido por el calentamiento fototérmico de los diferentes materiales híbridos sintetizados a partir de BGO:Eu. Las lecturas de las temperaturas iniciales fueron tomadas a temperatura ambiente. Las muestras fueron irradiadas con un láser de ~810 nm de longitud de onda, a una potencia 800mW y durante 30 min. Un tejido de pollo se interpuso entre la luz incidente del láser y la muestra.....	69
39	Evaluación del efecto térmico por análisis de varianza (ANOVA), donde se comparan los aumentos de temperaturas obtenidas por los materiales híbridos, con las dos muestras control: Agua (A) y BGO:Eu@SiO ₂ (B). El valor de $\alpha=0.05$	69
40	Gráficos que muestran el cambio de temperatura inducido por el calentamiento fototérmico de los diferentes materiales híbridos sintetizados a partir de LGO:Cr. Las lecturas de las temperaturas iniciales fueron tomadas a temperatura ambiente. Las muestras fueron irradiadas con un láser de ~810 nm de longitud de onda, a una potencia 800mW y durante 30 min. Un tejido de pollo se interpuso entre la luz incidente del láser y la muestra.....	71
41	Evaluación del efecto térmico por análisis de varianza (ANOVA), donde se comparan los aumentos de temperaturas obtenidas por los materiales híbridos, con las dos muestras control: Agua (A) y LGO:Eu@SiO ₂ (B). El valor de $\alpha=0.05$	72
42	Ensayos de viabilidad celular utilizando NPS híbridas B@SiO ₂ -500D20. Células HeLa, NCI-H1299 y HaCat fueron sembradas a una densidad de 10,000 células/pozo y una placa de 96 pozos e incubadas hasta lograr la adherencia. Las células fueron tratadas con diferentes concentraciones de B@SiO ₂ -500D20, la viabilidad celular se determinó 24 h post-tratamiento. A,B,C) viabilidad celular evaluada mediante MTS. D,E,F) viabilidad celular evaluada mediante cristal violeta. No se encontró diferencia significativa entre las concentraciones probadas y el grupo control.....	75

- 43 Ensayos de viabilidad celular utilizando NPS híbridas B@SiO₂-560D20. Células HeLa, NCI-H1299 y HaCat fueron sembradas a una densidad de 10,000 células/pozo y una placa de 96 pozos e incubadas hasta lograr la adherencia. Las células fueron tratadas con diferentes concentraciones de B@SiO₂-560D20, la viabilidad celular se determinó 24 h post-tratamiento. A, B, C) viabilidad celular evaluada mediante MTS. D, E,F) viabilidad celular evaluada mediante cristal violeta. No se encontró diferencia significativa entre las concentraciones probadas y el grupo control..... 75
- 44 Ensayos de viabilidad celular utilizando NPS híbridas LGO@SiO₂-150D20. Células HeLa, NCI-H1299 y HaCat fueron sembradas a una densidad de 10,000 células/pozo y una placa de 96 pozos e incubadas hasta lograr la adherencia. Las células fueron tratadas con diferentes concentraciones de L@SiO₂-150D20, la viabilidad celular se determinó 24 h post-tratamiento. A, B,C) viabilidad celular evaluada mediante MTS. D, E, F) viabilidad celular evaluada mediante cristal violeta. No se encontró diferencia significativa entre las concentraciones probadas y el grupo control..... 76
- 45 Ensayos de viabilidad celular utilizando NPS híbridas L@SiO₂-600D20. Células HeLa, NCI-H1299 y HaCat fueron sembradas a una densidad de 10,000 células/pozo y una placa de 96 pozos e incubadas hasta lograr la adherencia. Las células fueron tratadas con diferentes concentraciones de L@SiO₂-600D20, la viabilidad celular se determinó 24 h post-tratamiento. A, B, C) viabilidad celular evaluada mediante MTS. D, E, F) viabilidad celular evaluada mediante cristal violeta. No se encontró diferencia significativa entre las concentraciones probadas y el grupo control..... 76
- 46 Gráficos que muestran el cambio de temperatura inducido por el calentamiento fototérmico de los diferentes materiales híbridos sintetizados a partir de BGO:Eu. Las lecturas de las temperaturas iniciales fueron tomadas a temperatura ambiente. Las muestras fueron irradiadas con un láser de ~810 nm de longitud de onda, a una potencia 800mW y durante 30 min..... 90
- 47 Gráficos que muestran el cambio de temperatura inducido por el calentamiento fototérmico de los diferentes materiales híbridos sintetizados a partir de LGO:Cr. Las lecturas de las temperaturas iniciales fueron tomadas a temperatura ambiente. Las muestras fueron irradiadas con un láser de ~810 nm de longitud de onda, a una potencia 800mW y durante 30 min..... 91

Lista de Tablas

Tabla		Página
1	Efectos de la temperatura sobre tejidos biológicos.....	16
2	Ensamblajes entre el BGO:Eu@SiO ₂ y los AuR a una concentración de 1mM de CTAB.....	48
3	Comparativo entre las bandas de absorbancia del plasmón de superficie de los AuR y las bandas de absorbancia de los materiales híbridos.....	53
4	Ensamblajes entre el LGO:Cr@SiO ₂ y los AuR a una concentración de 1mM de CTAB.....	55
5	Comparativo entre las bandas asociadas a la oscilación del plasmón de superficie asociadas a los AuR y las bandas de oscilación del plasmón de superficie asociadas a los materiales híbridos obtenidos a partir de LGO:Cr.....	61
6	Comparación entre las temperaturas iniciales (Ti) y las temperaturas finales (Tf) de los AuR. Las mediciones fueron obtenidas antes y después de irradiar las muestras con un láser IFR de ~810 nm.....	63
7	Comparación entre las temperaturas iniciales (Ti) y las temperaturas finales (Tf) de los materiales híbridos sintetizados a partir de BGO:Eu. Las mediciones fueron obtenidas antes y después de irradiar las muestras con un láser IFR de ~810 nm. La gráfica que se obtuvo en las mediciones se muestra en el anexo 3 (Figura 46).....	65
8	Comparación entre las temperaturas iniciales (Ti) y las temperaturas finales (Tf) de los materiales híbridos sintetizados a partir de LGO:Cr. Las mediciones fueron obtenidas antes y después de irradiar las muestras con un láser IFR de ~810 nm. La gráfica que se obtuvo en las mediciones se muestra en el anexo 3 (Figura 47).....	67
9	Comparación entre las temperaturas iniciales (Ti) y las temperaturas finales (Tf) de los materiales híbridos sintetizados a partir de BGO:Eu. Las mediciones fueron obtenidas antes y después de irradiar las muestras con un láser IFR de ~810 nm. Para la medición, un tejido de pollo se interpuso entre la luz incidente del láser y la muestra.....	68
10	Comparación entre las temperaturas iniciales (Ti) y las temperaturas finales (Tf) de los materiales híbridos sintetizados a partir de LGO:Cr. Las mediciones fueron obtenidas antes y después de irradiar las muestras con un láser IFR de ~810 nm. Para la medición, un tejido de pollo se interpuso entre la luz incidente del láser y la muestra.....	71

Capítulo 1. Introducción

La ciencia e ingeniería de materiales se involucra en el estudio de la estructura, organización atómica, las propiedades y la obtención de materiales, para convertirlos en productos que la sociedad necesita.

En los últimos años hemos presenciado un rápido avance en el desarrollo, diseño y manipulación de materiales a nivel de la nanoescala, el cual ha sido facilitado por la presencia de herramientas de caracterización de dichos materiales.

La nanotecnología se enfoca en la investigación y el desarrollo tecnológico de productos basados en materiales fabricados a partir del control de la escala atómica y molecular, es decir, se realiza la manipulación y el estudio controlado de estructuras con tamaño en el rango de 1 a 100 nm. La riqueza científica de este campo reside, en que, cuando la materia es manipulada a esta escala tan pequeña, ésta presenta propiedades y fenómenos novedosos y diferentes en los materiales en comparación con la materia que no presenta este tamaño y ordenamiento (Ravalli y Marrazza, 2015).

La combinación de esas propiedades únicas de los materiales que presentan con un tamaño nanométrico, ha motivado el uso de estas nanoestructuras a muchas áreas, tales como, la electrónica, la construcción, la biología y la biomedicina, entre otras.

Las aplicaciones de la nanotecnología en el área de la salud se perfilan con una gran proyección en un futuro próximo, en especial, las que están dirigidas a desarrollar materiales híbridos multifuncionales que integren el diagnóstico y la terapia para enfermedades degenerativas que presenten mayor eficacia que las existentes, lo que debe impactar en una mayor calidad de vida para el hombre (P. K. Jain et al., 2007).

El cáncer es una de las enfermedades degenerativas que ha tomado más notoriedad en la comunidad científica internacional, debido a que es una de las principales causas de muerte en el mundo. En la actualidad, los tratamientos de cáncer más eficientes siguen siendo las cirugías, la radiación y la quimioterapia y aunque dichas técnicas han mejorado con el paso del tiempo, aún existe la necesidad de desarrollar nuevos tratamientos capaces de destruir células de cáncer sin dañar el tejido sano (Nni, 2014).

El rápido avance de las investigaciones en el área de la nanomedicina ha permitido desarrollar nanomateriales con gran potencial, destinados al tratamiento de enfermedades como el cáncer (A. Jain et al., 2018). La particularidad de estos nuevos desarrollos radica en las modificaciones fisicoquímicas que

se puede realizar para cambiar la morfología de los materiales y sus propiedades de superficie, lo que provoca un cambio en la farmacocinética y biodistribución. Dichos cambios permiten optimizar los nanomateriales para aplicaciones biomédicas específicas (Iancu, 2013).

Se han desarrollado biomarcadores sintéticos a partir de nanopartículas luminiscentes. Para este tipo de aplicaciones, las nanopartículas luminiscente se unen, específicamente, a una célula o tejido, con el fin de monitorear su ubicación, comprender su dinámica o para revelar su función, además de utilizarse en ensayos clínicos, para identificar la presencia o ausencia de organismos patógenos en sistemas biológicos (Sreenivasan et al., 2013).

En las aplicaciones de los biomarcadores para el monitoreo y ubicación de organismos patógenos en sistemas biológicos, es necesario conjugar con ligandos biológicos la superficie de las nanopartículas luminiscentes (Sengar et al., 2018). Usualmente, esto se realiza con anticuerpos, DNA, aptámeros y otras biomoléculas que presentan afinidad hacia especies moleculares y tejidos específicos, que permiten llevar a las nanopartículas a sitios muy localizados dentro de los sistemas biológicos (Sreenivasan et al., 2013).

Los primeros trabajos sobre nanomateriales luminiscentes como bioetiquetadores, reportaban el uso de NPs excitadas, en su mayoría, con longitud de onda ultravioleta y con emisión en la región del visible, pero ambas regiones del espectro electromagnético presentaban baja profundidad de penetración, debido a la absorción y a la dispersión de la luz por parte de los tejidos biológicos (Weissleder y Pittet, 2008).

En la mayoría de los tejidos, la absorción de luz está dada por la presencia de agua y hemoglobina presentes en la sangre. La región del espectro electromagnético en los que estos componentes presentan una menor absorción, abarca desde los 650 nm hasta los 1400 nm, a dicha región se le denomina ventana biológica, misma que está dividida en tres regiones. En la Figura 1 se observan los rangos espectrales de las ventanas biológicas, la primera región va de los 650-950 nm (VB-1), la segunda región se presenta de los 1000-1350 nm (VB-2) y la tercera se encuentra entre los 1500-1800nm (VB-3) (Hemmer et al., 2013).

Para incrementar la profundidad de penetración de la luz sobre los tejidos, es necesario trabajar con materiales luminiscentes cuyas bandas de excitación y emisión se encuentren en el infrarrojo cercano (IFRC) y más específicamente dentro de las ventanas biológicas. En las ventanas biológicas, la absorción y la dispersión de luz es menor, por lo que es posible alcanzar penetraciones superiores, en comparación con la región del visible (Hemmer et al., 2013).

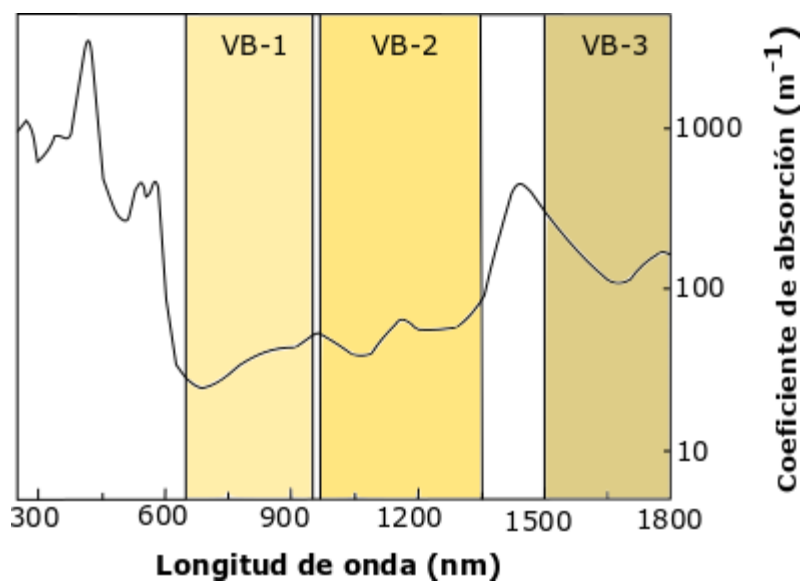


Figura 1. Coeficiente de absorción de un tejido biológico representativo donde se indican los rangos espectrales de las ventanas biológicas (Del-Rosal, 2016).

Como nuevos agentes terapéuticos para enfermedades degenerativas como el cáncer, se han estudiado nanopartículas metálicas y al igual que las nanopartículas luminiscentes, pueden ser modificadas mediante la adición de grupos funcionales sobre la superficie, con el objetivo de ser utilizados como puntos de anclaje para otras moléculas o para transportarlas hacia sitios específicos dentro de los sistemas biológicos. Una de las principales características de las nanopartículas metálicas, es su resonancia de plasmón de superficie localizado (RPSL), el cual, bajo ciertas condiciones, puede generar un aumento de temperatura en un área puntual y localizada que permite minimizar el daño fuera de la región que se pretende tratar, este proceso causa daños irreversibles en sistemas biológicos (hipertermia) (X. Liu et al., 2013).

Dentro de las nanopartículas metálicas, las nanopartículas de oro (AuNPs) han generado un gran interés en la comunidad científica debido su síntesis sencilla, compatibilidad con sistemas biológicos, una fácil bioconjugación y su RPSL (X. Liu et al., 2013).

Con las AuNPs es posible sintonizar la resonancia del plasmón de superficie cambiando su morfología. Dentro de las diferentes morfologías de AuNPs que se han reportado en la literatura, la morfología “rod” o varilla (AuR) es la que más interés ha despertado como potencial agente terapéutico en enfermedades como el cáncer, esto se debe a la posibilidad de variar por medio de la síntesis, la relación de longitud-

anchura, también llamada “relación de aspecto”, es decir, se puede sintonizar así la longitud de onda de excitación del plasmón de superficie localizado en el rango del IFRC al variar estos parámetros (Shih y Tanaka, 1978).

El desarrollo de nanomateriales híbridos basados en materiales orgánicos-inorgánicos, ha tenido un gran auge en la comunidad científica en los últimos años y viene dado por la combinación adecuada entre diferentes componentes nanoestructurados, al conjugar las propiedades que cada uno de ellos presenta de manera individual e incluso mejorándolas (Venkatesh y Saha, 2017).

Las aplicaciones de los nanomateriales híbridos abarcan muchas áreas, en particular la de la salud, ya que se han propuesto como agentes auxiliares en el diagnóstico y como estrategias novedosas para el tratamiento del cáncer. Una de las potenciales aplicaciones es su uso como agentes teranósticos, los cuales permiten identificar y a su vez otorgar una estrategia terapéutica en el sitio tumoral de manera conjunta. La ventaja de este tipo de sistemas recae en su capacidad de inducir muerte celular de manera selectiva, sin embargo, es necesario determinar el grado de toxicidad de los compuestos para poder proponer su uso en medicina, lo que usualmente se hace mediante la determinación de su efecto en la proliferación celular y la posible bioacumulación.

En este trabajo se realizará un estudio sobre materiales luminiscentes con líneas de emisión en la primera ventana de agua, específicamente se estudiarán el $\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}^{3+}$ (LGO:Cr) y el $\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}:\text{Eu}^{3+}$ (BGO:Eu). Se realizará la síntesis de AuNR de diferentes relaciones de aspecto. Los materiales luminiscentes serán acoplados por métodos químicos con los AuNR para obtener un nanomaterial híbrido, con el propósito de aprovechar las propiedades de emisión en el IFRC que presentan los materiales luminiscentes, la cual permitirá utilizarlos para el posible diagnóstico de enfermedades, por otro lado, se tomará ventaja de la propiedad de RPSL de los AuNR, la cual está asociada a un aumento de temperatura tal, que puede causar un daño irreversible de manera muy localizada en las células cancerígenas. De esta manera, se desarrollará un material híbrido como potencial agente de diagnóstico-terapia (teranóstico) para el cáncer (Figura 3). Por último, el efecto citotóxico de los materiales híbridos será evaluado en ensayos de cultivos celulares.

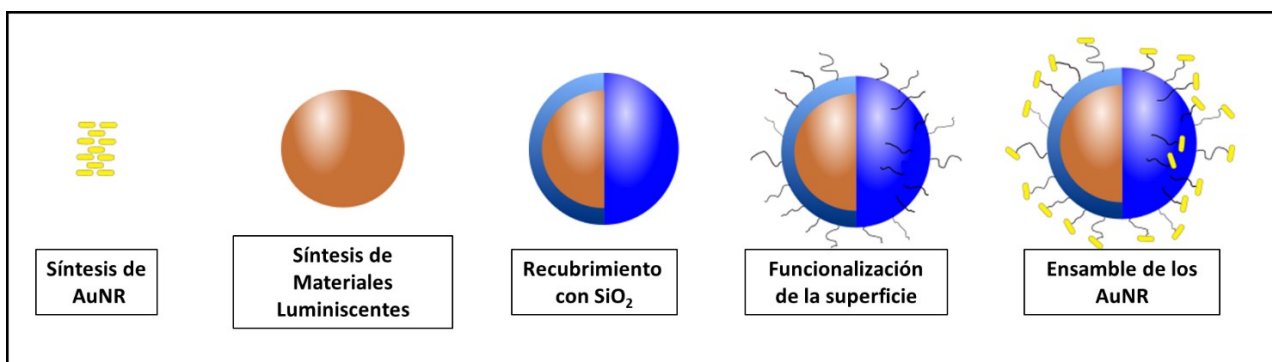


Figura 2. Diagrama esquemático de la propuesta de trabajo para la síntesis de materiales híbridos como posibles agentes teranósticos.

En los apartados siguientes se profundizará en las características específicas y la importancia de los materiales que se utilizaron para la elaboración de este trabajo, información clave para el planteamiento de la hipótesis y objetivos plasmados en esta investigación.

1.1. Materiales luminiscentes

Los materiales luminiscentes convierten ciertos tipos de energía en radiación electromagnética (EM). Esta radiación se encuentra usualmente, en el rango del visible, pero también está en el rango del ultra-violeta (UV) y el infrarrojo (IR).

El fenómeno de luminiscencia se puede clasificar de acuerdo a las diferentes fuentes de energía que excitan un material en:

- **Fotoluminiscencia:** el material es excitado por radiación EM (comúnmente radiación UV).
- **Catodoluminiscencia:** el material es excitado por medio de un haz de electrones
- **Electroluminiscencia:** el material es excitado mediante un voltaje eléctrico.
- **Radioluminiscencia:** el material es excitado utilizando una rayos-X.

- **Quimioluminiscencia:** el material es excitado por la energía de una reacción química.
- **Triboluminiscencia:** el material es excitado mediante energía mecánica.

La emisión de un material luminiscente es clasificada en fluorescencia o fosforescencia dependiendo del tiempo de relajación de los electrones de un átomo que previamente ha sido excitado. La emisión fluorescente ocurre cuando el tiempo de relajación es menor o igual a 10^{-8} s, es decir que el proceso luminiscente persiste solo si continua la excitación y es fosforescente si el tiempo de relajación es mayor a 10^{-8} s, en este caso la emisión de luz puede ser observada aun después de remover la fuente de excitación (Reuven Chen, 1997).

Para que el fenómeno de luminiscencia pueda ocurrir, generalmente, el material luminiscente debe estar formado por una red anfitriona, que, por lo general está compuesta por nitratos, sulfatos u óxidos y por lo menos un ion activador. Cuando este activador absorbe la radiación, da lugar a un estado excitado del electrón, mismo que es impulsado de su estado basal, a un nivel de energía superior. Al regresar el electrón a su estado basal la luz es emitida. De igual manera hay una liberación de energía que se presenta en vibraciones de la red cristalina, también llamados, procesos no radiativos (Figura 3). Los sitios de la red cristalina donde se llevan a cabo estos procesos físicos, se denominan centros ópticamente activos (G. Blasse, 1984).

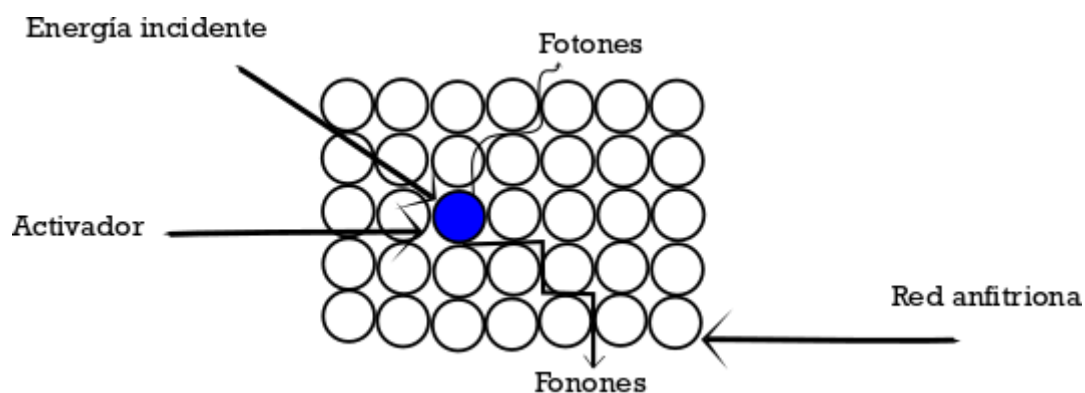


Figura 3. Proceso de luminiscencia dentro de una red cristalina, el activador absorbe energía, es excitado y emite fotones (G. Blasse, 1984).

1.1.1 Centros ópticamente activos

Los materiales inorgánicos presentan propiedades ópticas que dependen de la presencia de los llamados “centros ópticamente activos”, los cuales consisten en iones dopantes que se introducen de manera intencional a un cristal durante su proceso de síntesis. Los centros ópticamente activos, también están relacionados a los defectos cristalinos de la red, los cuales pueden ser creados por diferentes métodos de síntesis. En ambos casos, dichos centros, proporcionan niveles de energía virtuales (que no están presentes en la red cristalina sin dopar), que se generan en la brecha energética de la red huésped, dando lugar a la aparición de transiciones ópticas de baja energía (García et al., 2005).

Las características ópticas de los centros ópticamente activos, depende tanto de los iones dopantes como de la red huésped a la que se introducen. Los elementos que pueden ser incorporados en su forma iónica a una red cristalina y que dan lugar a niveles de energía virtuales, son los iones de los metales de transición y de tierras raras (García et al., 2005).

La principal diferencia entre los iones de los metales de transición y los iones de tierras raras, es su configuración electrónica. Los iones de metales de transición, poseen capas externas $3d$ parcialmente llenas que son ópticamente activas, mientras los iones de tierras raras son ópticamente activas debido a sus capas $4f$ parcialmente llenas, estos dos tipos de iones son llamados “iones paramagnéticos” (García et al., 2005).

1.1.2 Iones de tierras raras (TR) y iones de metales de transición (MT)

Los iones de tierras raras también conocidos como iones de lantánidos, son los que se utilizan comúnmente para ser incorporados en cristales como cationes divalentes (TR^{2+}) o trivalentes (TR^{3+}). Los iones trivalentes poseen una configuración electrónica en su capa de valencia $5s^25p^64f^n$, donde la capa $4f^n$ corresponde a los electrones de valencia y son los responsables de las transiciones ópticas. Los electrones de valencia están protegidos por los electrones de las capas $5s^25p^6$, que hacen que los TR^{3+} sean débilmente perturbados al ser incorporados a un cristal y que sus propiedades ópticas sean similares a las que presentan como iones libres (G. Blasse, 1984).

Los iones divalentes (TR^{2+}), por su parte, también poseen una capa $4f^n$ pero con un electrón más en la capa f . A diferencia de los TR^{3+} , los TR^{2+} presentan transiciones electrónicas de las capas $f \rightarrow d$, lo que genera bandas de absorción y emisión más amplias (García et al., 2005).

Por otra parte, los iones de metales de transición que son utilizados como dopantes, poseen una capa de valencia $3d$, los electrones presentes en esta capa son los responsables de las transiciones ópticas en los iones de MT (G. Blasse, 1984).

Los orbitales $3d^n$ en los iones de MT poseen un radio relativamente más grande que los $4f^n$ de las TR, lo que hace que las bandas ópticas cambien dependiendo del cristal donde los iones de MT se introducen como dopantes. Los iones MT presentan dependencia del número de coordinación del cristal al que se incorporan, lo que permite seleccionar una red huésped adecuada para generar emisiones en un rango de longitudes de onda particulares (G. Blasse, 1984).

En el presente trabajo se utilizaron dos iones como dopantes, uno es el Eu^{3+} perteneciente a los TR^{3+} , el cual se introdujo en el $Bi_4Ge_3O_{12}$ y el otro es el Cr^{3+} , perteneciente a los iones de MT, que se utilizó como dopante en el $LiGa_5O_8$, lo que dio lugar a la síntesis de los materiales $Bi_4Ge_3O_{12}:Eu^{3+}$ y al $LiGa_5O_8:Cr^{3+}$, respectivamente.

1.1.3 Germanato de Bismuto dopado con europio $Bi_4Ge_3O_{12}:Eu^{3+}$ (BGO:Eu)

El germanato de bismuto $Bi_4Ge_3O_{12}$ (BGO) es un material centellador, es decir, que emite luz cuando es excitado por radiación ionizante, ha sido utilizado como detector en la física de alta energía. Actualmente el BGO se ha estudiado como bioetiquetador para sistemas biológicos, lo que ha presentado una buena respuesta en sistemas biológicos y una alta biocompatibilidad (Oviedo Bandera, 2012).

Cuando un cristal de BGO es irradiado, los electrones ionizados producen una banda ancha de emisión a 480 nm producto de las transiciones electrónicas del Bi^{3+} . Por otro lado, para un cristal de BGO dopado con Eu^{3+} se presentan líneas de emisión agudas en los ~ 600 nm al ser excitado con una radiación de longitud de onda de 394 nm debido a las transiciones internas del ion europio (J. Kim, 1998).

La finalidad de dopar BGO con Eu^{3+} para dar lugar a la formación de $\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}:\text{Eu}^{3+}$ (BGO:Eu), es brindar versatilidad a la morfología y la estructura del material, al generar partículas con morfología uniforme. Una de las principales propiedades de este material, es que con una excitación a una longitud de onda de 394 nm se presentan dos bandas de emisión, una en los 654 nm y otra en los 713 nm. Ambas bandas se sitúan en la primera ventana biológica y están asociadas a las transiciones ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_3$ y ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_4$ del Eu^{3+} , respectivamente. Se ha reportado en la literatura que la cantidad óptima de Eu^{3+} para dopar una red de BGO, es de 9 % molar, ya que con dicha concentración se obtiene la mayor eficiencia de luminiscencia (Chu et al., 2017).

En la Figura 4 se muestra el modelo propuesto por Kim y colaboradores que explica el rol del Eu^{3+} en el cristal de BGO. En el esquema se observa un proceso de excitación A, procesos electrónicos denominados B y C, que están relacionados con trampas de electrones libres, mientras el proceso D está relacionado con la transferencia de energía de los excitones hacia un estado de transferencia de carga. El proceso E es un estado de transferencia de carga que alimenta al estado ${}^5\text{D}_j$, mientras el proceso F describe la emisión en rojo por la transición del estado ${}^5\text{D}_j \rightarrow {}^7\text{F}_j$ del Eu^{3+} (J. Kim, 1998)

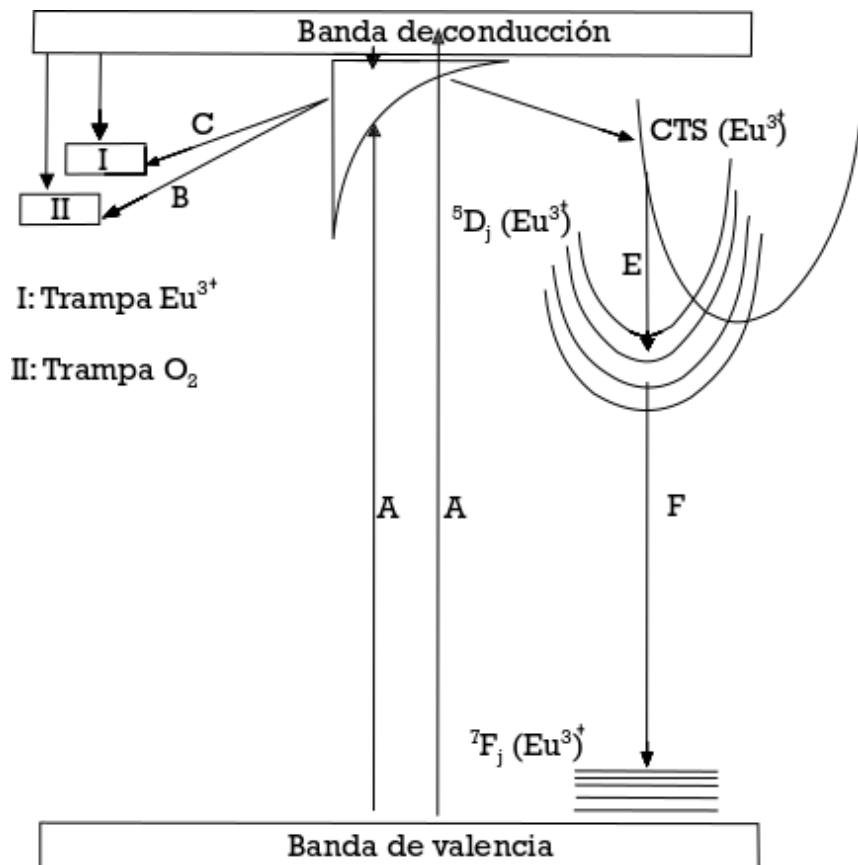


Figura 4. Representación esquemática propuesto para describir el rol del Eu^{3+} en el BGO (J. Kim, 1998).

Para este trabajo se tomará ventaja de la emisión del BGO:Eu, la cual está centrada en el IFRC y se encuentra en el rango de la VB-I. Se propone que este material cumpla la función de diagnóstico y forme parte de un sistema híbrido/teranóstico. Es importante mencionar que en este trabajo de investigación se propone por primera vez el uso del BGO:Eu como posible agente de diagnóstico en sistemas biológicos.

1.1.4. Galato de Litio dopado con cromo $\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}^{3+}$ (LGO:Cr)

El galato de litio dopado con cromo $\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}^{3+}$ (LGO:Cr) es un material que ya ha sido utilizado como bioetiquetador, debido a que presenta características como un tamaño de partícula promedio de 100nm, luminiscencia persistente, biocompatibilidad, baja bioacumulación; al igual que el BGO:Eu presenta propiedades radioluminiscentes y una banda de emisión dentro del intervalo de la VB-I centrada en los $\sim 720\text{nm}$, que como ya se ha mencionado anteriormente, permite aprovechar las propiedades luminiscentes con una penetración en tejidos de hasta 10 cm de grosor (Chen et al., 2017).

Las principales transiciones electrónicas que presenta el LGO:Cr con una excitación de 400 nm, son una banda de emisión estrecha a una longitud de onda 716 nm que pertenece al infrarrojo cercano (IRC) y que es característica de los iones Cr^{3+} y es atribuida a una transición prohibida del spin en los niveles ${}^2\text{E} \rightarrow {}^4\text{A}_2$. El ancho de la banda de emisión que va de los $\sim 650\text{ nm}$ a $\sim 850\text{ nm}$, es atribuido a bandas de transición de fonones laterales (sidebands, son comunes en espectros electrónicos de cristales moleculares a baja temperatura, los picos de banda están usualmente separados por transiciones electrónicas vibracionales) ${}^2\text{E} \rightarrow {}^4\text{A}_2$ (Hochstrasser y Prasad, 1972).

El espectro de excitación monitoreado con una emisión de 716 nm, abarca una región espectral ancha de $\sim 250\text{ nm}$ a $\sim 660\text{ nm}$ y consiste en tres principales bandas que se originan de las transiciones internas de los iones de Cr^{3+} , lo que incluye una banda en los 300 nm correspondiente a las transiciones ${}^4\text{A}_2 \rightarrow {}^4\text{T}_1({}^4\text{P})$, una banda en 415 nm correspondiente a las transiciones ${}^4\text{A}_2 \rightarrow {}^4\text{T}_1({}^4\text{F})$ y otra banda en los 605 nm correspondiente a las transiciones ${}^4\text{A}_2 \rightarrow {}^4\text{T}_1({}^4\text{T}_2)$ (F. Liu et al., 2013).

En la Figura 6 se muestra el mecanismo propuesto por Liu y colaboradores para describir el fenómeno de luminiscencia persistente del LGO:Cr, en este caso asignaron las trampas de electrones libres profundas (TRAP-1) y no profundas (TRAP-2) para el proceso de fotoestimulación. La muestra al ser irradiada con luz UV entre los 250-360 nm, los electrones del estado base de los iones Cr^{3+} son excitados y pasan a la banda

de conducción (proceso 1), después los electrones en la banda de conducción son capturados por las TRAP-1 (proceso 2) y las TRAP-2 (proceso 3). En la etapa inicial de la luminiscencia persistente, los electrones capturados en TRAP-1 escapan térmicamente hacia la banda de conducción (proceso 4) y se recombinan con los electrones excitados del Cr^{3+} , los cuales dominan la emisión inicial en el IFRC. Algunas horas después, la liberación de electrones puede ser disminuida a través de la banda de conducción debido al agotamiento en TRAP-1. La luminiscencia persistente en el IFRC se origina principalmente por TRAP-2, por la liberación de electrones vía tunelamiento cuántico (Proceso 5). Bajo una estimulación corta de un haz de luz visible o de IFRC a temperatura ambiente, algunos de los electrones de TRAP-2 pueden ser enviados a la banda de conducción (proceso 6) y algunos otros vuelven a poblar TRAP-1 (proceso 7) dando como resultado una mayor luminiscencia persistente (F. Liu et al., 2013)

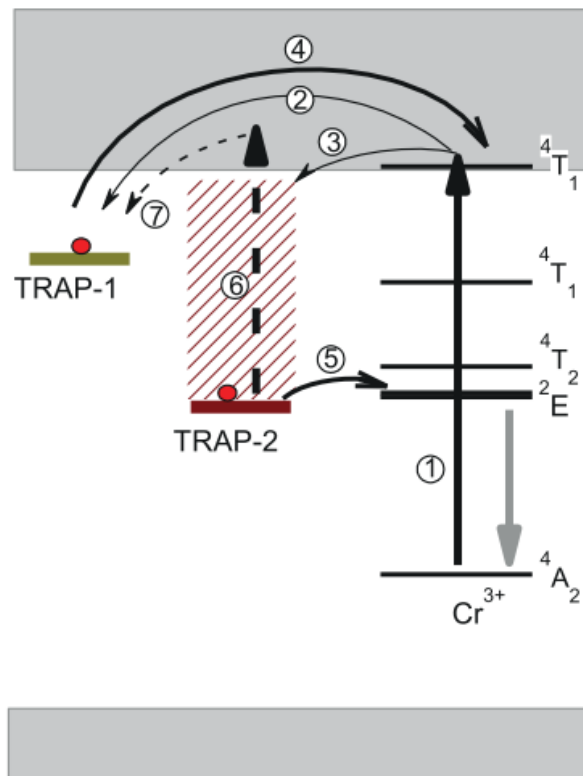


Figura 5. Representación esquemática del mecanismo propuesto para describir la luminiscencia persistente en el IFRC del LGO: Cr^{3+} (F. Liu et al., 2013).

En el presente trabajo, el LGO:Cr se propuso como un componente en un sistema híbrido y teranóstico, donde, por las señales de emisión que presenta en el IFRC y en el rango de la VB-I, cumpla con la función de diagnóstico.

1.2 Nanopartículas metálicas (NPM)

Las nanopartículas metálicas (NPM) poseen características, tales como, tamaños de partícula que van de los 10 a los 100 nm, densidad de carga superficial, además de presentar diferentes morfologías. Los metales comúnmente utilizados para la síntesis de NPM son: Aluminio (Al), cadmio (Cd), cobalto (Co), cobre (Cu), hierro (Fe), plomo (Pb), zinc (Zn), plata (Ag) y oro (Au) (Ealias y Saravanakumar, 2017).

Debido a su naturaleza, las NPM, poseen electrones libres en la superficie que al interactuar con un haz de luz generan una excitación colectiva de dichos electrones libres (Daniel y Astruc, 2004). Para determinadas frecuencias de la energía incidente, se produce un acoplamiento entre las frecuencias de la onda incidente y los electrones libres de la superficie, a este fenómeno se le denomina resonancia del plasmón de superficie localizado (RPSL) (Murphy et al., 2010). La RPSL se origina cuando el tamaño de las NPM es mucho menor que la longitud de onda de la radiación incidente (Klar et al., 1998). El campo eléctrico de la radiación incidente induce a la formación de un dipolo en la nanopartícula, una fuerza restauradora en la NPM intenta compensar esta interacción, lo que resulta en una longitud de resonancia única (Figura 7) (Liz-Marzán, 2004).

La energía de RPSL depende de factores como: la densidad de electrones libre en las NPM, las propiedades dieléctricas del metal, las propiedades dieléctricas del medio que rodea la superficie de las NPM, el tamaño y la morfología. Cabe destaca que la mayoría de las NPM presentan la frecuencia de RPSL en las regiones del visible y del ultravioleta. (Klar et al., 1998).

La absorción del plasmón de superficie localizado (PSFL) proporciona información sobre la estructura de bandas de los metales, lo que ha llevado a estudiar las propiedades ópticas dependientes del tamaño de las NPM, donde las nanopartículas más estudiadas son las de Au (AuNPs) y las de Ag (AgNPs) (Mulaney, 1996).

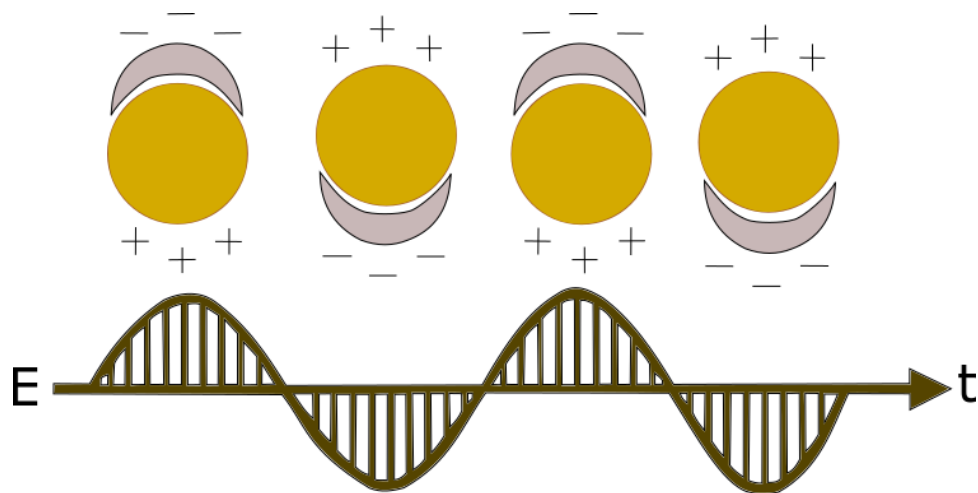


Figura 6. Diagrama de resonancia del plasmón de superficie en una nanopartícula metálica

Las AuNPs y AgNPs han sido propuestas como agentes de terapia en biomedicina, debido a su biocompatibilidad, estabilidad química y a la afinidad que la superficie de las nanopartículas (NPs) presentan hacia una gran variedad de biomoléculas, lo que permite una buena conjugación con ligandos específicos. Las biomoléculas con las que se conjugan las AuNPs y AgNPs, se convierten en sistemas de direccionamiento, para reconocer sitios específicos al ser introducidos en un sistema biológico (Jing-Liang Li, 2010).

Una de las principales diferencias entre las AuNPs y las AgNPs es la resonancia de sus PSF, en las AgNPs el PSF se presenta en el rango de longitud de onda visible ~ 400 nm, mientras que la resonancia del PSF para las AuNPs se puede sintonizar al variar el tamaño, pero, sobre todo, la morfología de las AuNPs, al permitir que la resonancia del PSF se presente en la región del visible y del IFRC. Esta diferencia ha sido determinante en investigaciones que proponen el uso de AuNPs como agentes de terapia en sistemas biológicos. A continuación, se presentan dos apartados donde se plasman las principales características de las AuNPs.

1.2.1 Nanopartículas de oro (AuNPs)

Las AuNPs pueden ser sintetizadas en una variedad de morfologías, incluidas esferas, varillas, cubos, estrellas, etc. De acuerdo al tamaño y la morfología de las AuNPs pueden absorber o dispersar luz en la región del visible o del IFRC (Figura 8) (Jing-Liang Li, 2010).

El uso de las AuNPs dirigidas hacia terapias fototérmicas para combatir enfermedades como el cáncer ha tomado relevancia en los últimos años, dentro de las razones podemos mencionar los avances en los métodos de síntesis, que permitirían sintetizar las AuNPs a gran escala y con diferentes morfologías, las AuNPs comparados con otros metales, son químicamente inertes en sistemas biológicos. Basados en esta última propiedad, se han hecho estudios donde las AuNPs han sido expuestas a diferentes tipos de células, los resultados que se han obtenido han permitido determinar que las AuNPs son biocompatibles (Abadeer y Murphy, 2016).

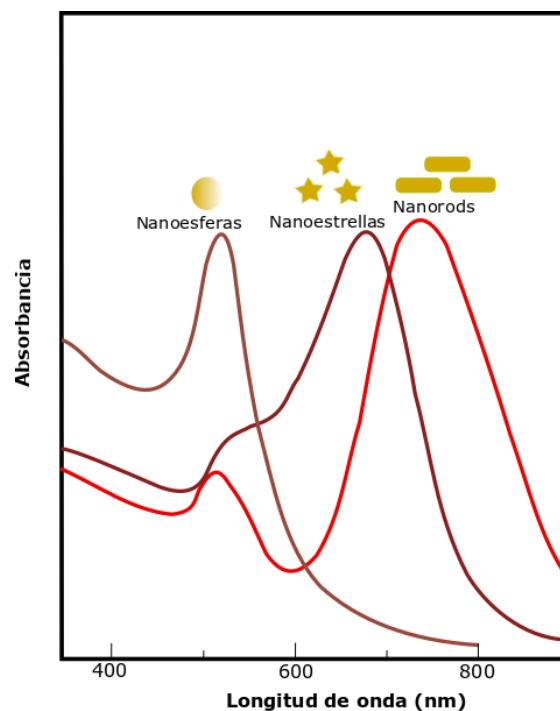


Figura 7. Gráfica que muestra la absorción del plasmón de superficie de las AuNP de acuerdo a la morfología que presentan. Figura tomada y modificada de (P. K. Jain et al., 2007).

La absorción óptica de las AuNPs y la subsecuente dispersión de energía no radiativa, permite la aplicación de estos materiales en terapia fototérmica (sección 1.2) (Abadeer y Murphy, 2016). Las propiedades y aplicaciones de las AuNPs dependerán de su morfología y tamaño.

Entre las diferentes morfologías de AuNPs, los nanorods de oro (AuR) son de especial interés, pues se han utilizado en aplicaciones biomédicas debido a la baja toxicidad que presentan en los sistemas biológico en presencia de altas concentraciones de este material, además de que se ha reportado que puede ser excretado por el sistema hepatobiliar (Locatelli et al., 2015).

Los AuR presentan dos bandas de absorción características, las cuales corresponden a la resonancia transversal y longitudinal del PSFL. Un factor que determina la longitud de onda de absorción de un AuR es su *“relación de aspecto”*, que se define como la razón entre la longitud y el ancho del AuR, (Jing-Liang Li, 2010).

Los AuR poseen una sección transversal grande para la absorción de luz y la posibilidad de sintonizar la absorbancia de su plasmón de superficie en el IFRC, la cual es la región donde se encuentran las ventanas biológicas. Lo anterior permite la activación del PSFL de los AuR con materiales presentes en tejidos de hasta 10 cm de profundidad (Ochoo et al., 2018) (Mody et al., 2010).

En este trabajo se propone el uso de AuR como componente de un sistema híbrido y teranóstico, donde por las propiedades de PSFL antes mencionadas, los AuR cumplen con la función de terapia.

1.3 Terapia fototérmica (TF)

La aplicación de calor para tratar enfermedades como el cáncer, se ha utilizado desde inicios del siglo XX, donde la región tumoral podría calentarse en un rango de 40-45 °C. El calor se generaba de manera externa usando instrumentos que producían campos electromagnéticos (microondas u ondas de radio). La hipertermia tradicional, actualmente se utiliza en combinación con la quimioterapia y radioterapia para la erradicación de una variedad de tipos de cáncer (Cheung y Neyzari, 1984).

Como ya se ha mencionado en este trabajo, el calor generado por la oscilación del PSFL de las AuNPs puede ser utilizado para destruir células de cáncer o tejidos (Dreaden et al., 2012). La diferencia entre la

hipertermia tradicional y la terapia fototérmica plasmónica (TFP), radica en que la TPF genera un calentamiento solo en los alrededores de las AuNPs, lo que se traduce en la destrucción de células/tejidos dañados, lo que evita la exposición del tejido sano y por lo tanto reduce los efectos secundarios del tratamiento (Abadeer y Murphy, 2016).

La terapia fototérmica consiste en el tratamiento de tumores malignos a través de un incremento de temperatura localizado, con el objetivo de producir un daño irreversible en las células cancerosas y la minimización de los efectos sobre los tejidos sanos que están alrededor del tumor. El incremento de la temperatura se origina debido a la excitación de los electrones de conducción de las AuNPs que induce a la oscilación del PSFL, después de la formación del plasmón ocurre una relajación no radiativa del sistema a través de los acoplamientos electrón-fonón y fonón-fonón, lo cual genera un calentamiento localizado que puede transferirse al medio que contiene las AuNPs. El efecto de la temperatura sobre los tejidos tratados, depende de la magnitud en el incremento de temperatura y el tiempo de exposición que tienen los tejidos a esas temperaturas. Lo anterior se resume en la Tabla I (Habash et al., 2006).

Tabla 1. Efectos de la temperatura sobre tejidos biológicos

Rango de temperatura (°C)	Tiempo de exposición	Efectos físicos	Efectos biológicos
< -50	> 10 min	Congelamiento	Destrucción celular total
0-25		Disminución de la permeabilidad	Disminución del metabolismo celular, muerte por hipotermia
30-39	Tiempo ilimitado	No hay cambios	Crecimiento
40-46	30-60 min	Cambios en las propiedades ópticas del tejido	Desdoblamiento y agregación de proteínas, daño irreversible en exposiciones largas (<60 min)
>50	2	Necrosis, coagulación	Muerte celular
>140	Segundos	Coagulación, ablación	Desnaturalización de proteínas, ruptura de membranas

El desarrollo de nuevos y mejores agentes fototérmicos para el tratamiento de cáncer u otras enfermedades, por medio de terapia fototérmica plasmónica (TFP), es una parte crucial en el desarrollo de aplicaciones por medio de nanotecnología enfocada en biomedicina (MacKey et al., 2014a).

Comparado con las técnicas terapéuticas convencionales, la ventaja de la TFP asistida por AuNPs para el tratamiento de cáncer como la quimioterapia radica en, que produce un daño celular altamente localizado, lo que minimiza los efectos secundarios en células no cancerígenas y genera un tratamiento para cáncer no invasivo (Hogan et al., 2014).

Las nanopartículas esféricas de oro (AuNEF) se han utilizado para TFP, la cual puede ser activada al ser irradiadas con láseres de longitud de onda en la región del visible, lo que limita el uso de estos materiales para cáncer desarrollado en el tejido superficial del cuerpo (Connor et al., 2005).

Los materiales más utilizados para la TFP son los AuR, en estos materiales se puede sintonizar la resonancia de su plasmón de superficie en la región del IFRC o en alguna de las tres ventanas biológicas. Bajo estos parámetros los AuR pueden ser irradiados con un láser con una longitud de onda de emisión en el IFRC, lo que activa el plasmón de los materiales y produce un daño selectivo por necrosis de las células malignas (MacKey et al., 2014b).

En años recientes, se han desarrollados materiales a nivel nanométrico que puedan cumplir con funciones de diagnóstico y terapia de cáncer. Para lograr este objetivo, ha sido necesario sintetizar materiales híbridos, los cuales están conformados por materiales de diferente naturaleza. En el siguiente apartado se describen algunas características de los materiales híbridos y su importancia para el desarrollo de este trabajo.

1.4 Materiales híbridos

Los materiales híbridos se definen de manera general, como aquellos que incluyen en su composición al menos dos tipos de fracciones o unidades de distinta naturaleza, las cuales se combinan a escala nanométrica. Con el aumento de la demanda de materiales con propiedades físico-químicas específicas, la investigación ha dirigido esfuerzos hacia el diseño y desarrollo de materiales híbridos

nanoestructurados, que se han preparado a partir de multicomponentes formados por óxidos inorgánicos, moléculas orgánicas, complejos metálicos y polímeros (García Fernández, 2012).

En función de la naturaleza química de las interacciones que se establecen entre los fragmentos orgánicos e inorgánicos que conforman las estructuras de los materiales híbridos, a estos materiales los podemos clasificar en: Materiales híbridos *Clase I*, que son aquellos componentes orgánicos e inorgánicos que tienen una conexión a través de uniones débiles, como enlaces de hidrógeno o Van der Waals, y los materiales híbridos *Clase II*, donde sus componentes están unidos por medio de enlaces químicos fuertes (Sanchez et al., 2005).

Actualmente se han hecho importantes avances en el desarrollo de nuevos materiales híbridos basados en interacciones químicas fuertes entre fragmentos de diferente naturaleza e integrando una red estructural a escala nanométrica a través de enlaces covalentes o de coordinación. En estos materiales, las unidades orgánicas e inorgánicas se alternan entre sí, lo que genera la estructura final de los materiales híbridos de clase II y da lugar a la obtención de materiales con diferentes funciones, separados entre sí, estabilizados e integrados en un mismo entramado estructural (García Fernández, 2012).

La elección adecuada de los diversos componentes de un material híbrido, da como resultado la obtención de sistemas con propiedades únicas, no solo por las funciones propias de sus componentes individuales, sino por el efecto conjunto y las nuevas propiedades generadas.

Este trabajo se centrará en la obtención de materiales híbridos de clase II con base inorgánica-orgánica. El objetivo es lograr la unión de dos fases inorgánicas, en este caso, materiales luminiscentes (LGO:Cr y BGO:Eu) y AuR, utilizando sulfonatos ((3-mercaptopropil) trimetoxisilano y (3-aminopropil) trimetoxisilano) como espaciadores orgánicos.

1.5 Ensayos de citotoxicidad

El proceso de proliferación celular juega un papel importante desde la embriogénesis hasta el desarrollo de un organismo completo y continúa su papel crítico en el mantenimiento de tejidos mediante el reciclado de nutrientes que son aprovechados para la formación de células nuevas. Una proliferación anormal de las células está asociada con enfermedades como cáncer (Mosmann, 1983).

Agentes físicos y químicos pueden afectar el metabolismo celular causando toxicidad en células y provocando daños como la destrucción de membranas, inhibición de reacciones enzimáticas, daño al DNA, entre otros efectos que finalmente culminan en la muerte de la célula. Los ensayos de proliferación celular *in vitro* (también llamadas ensayos de viabilidad celular) son muy utilizados para pruebas de citotoxicidad de productos químicos. Este tipo de ensayos están basados en funciones celulares como la permeabilidad de la membrana celular, la actividad enzimática, la adherencia celular, la síntesis de DNA e incluso el número de células que permiten obtener una medida de la toxicidad inducida por el agente en estudio (Mosmann, 1983).

Los ensayos más comunes abarcan aquellos basados en la detección de un producto metabólico mediante colorimetría, lo que incluye ensayos MTS, MTT, XTT, WST-1, WST-8, LDH, SRB, NRU y ensayos de cristal violeta.

Por las características antes descritas, para cada uno de los materiales a utilizar en este trabajo se plantea como propuesta de trabajo: desarrollar un sistema de diagnóstico y tratamiento localizado para eliminar células de cáncer por medio del uso de AuNPs y nanopartículas luminiscentes. Los materiales obtenidos fueron probados en ensayos de citotoxicidad por colorimetría para determinar su biocompatibilidad en sistemas biológicos.

1.6 Hipótesis

Los materiales híbridos sintetizados a partir de AuR y materiales luminiscentes, mantienen la emisión en el infrarrojo cercano, generan un aumento de temperatura localizado y son biocompatibles.

1.7 Objetivo general

Ensamblar materiales híbridos a partir de AuNR y materiales luminiscentes, que presente una emisión en el infrarrojo cercano, generen un aumento de temperatura localizado y presenten biocompatibilidad.

1.7.1 Objetivos específicos

- Sintetizar nanopartículas de oro con morfología rod (AuR)
- Sintetizar $\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}^{3+}$ (LGO:Cr).
- Sintetizar $\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}:\text{Eu}^{3+}$ (BGO:Eu).
- Recubrir LGO:Cr y BGO:Eu con SiO_2 para obtener LGO:Cr@ SiO_2 y BGO:Eu@ SiO_2 .
- Funcionalizar la superficie del LGO:Cr@ SiO_2 y del BGO:Eu@ SiO_2 con una mezcla de (3-mercaptopropil) trimetoxisilano y (3-aminopropil) trietoxisilano.
- Acoplar los AuNR a la superficie de LGO:Cr@ SiO_2 y del BGO:Eu@ SiO_2 para obtener los materiales híbridos.
- Encontrar las condiciones de potencia adecuadas para llevar a cabo la terapia fototérmica.
- Realizar ensayos de citotoxicidad celular en presencia de los materiales híbridos obtenidos.

Capítulo 2. Antecedentes

En este capítulo se abordarán algunos de los trabajos más relevantes encontrados en la literatura y que fueron base fundamental en la propuesta y desarrollo de la presente tesis.

2.1 Antecedentes para $\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}^{3+}$

En el año 2013 Liu y colaboradores reportaron la luminiscencia persistente en la región del IFRC del $\text{LGO}:\text{Cr}^{3+}$. En este ensayo se pudo observar que la muestra al ser irradiada durante 5 minutos con una radiación de longitud de onda de 254 nm y 4 W de potencia, presentaba una banda de emisión centrada en los ~ 716 nm con una persistencia de hasta 1000 h (F. Liu et al., 2013).

Liu y colaboradores también realizaron las primeras pruebas del $\text{LGO}:\text{Cr}^{3+}$ en sistemas *in vivo*, la muestra la prepararon por el método de sol-gel. Obtuvieron NPs con diámetros de 50-150 nm, las cuales fueron recubiertas con polietilenimina (PEI) con la finalidad de etiquetar células 4T1 de cáncer de mama (Figura 8). Las NPs fueron irradiadas por 15 min con una lámpara UV de 254 nm y, posteriormente, inyectadas de manera subcutánea en la espalda de un ratón desnudo, al monitorear el ensayo, se pudo detectar la emisión de las NPs hasta 4 h después de ser irradiadas e introducidas al ratón (F. Liu et al., 2013).

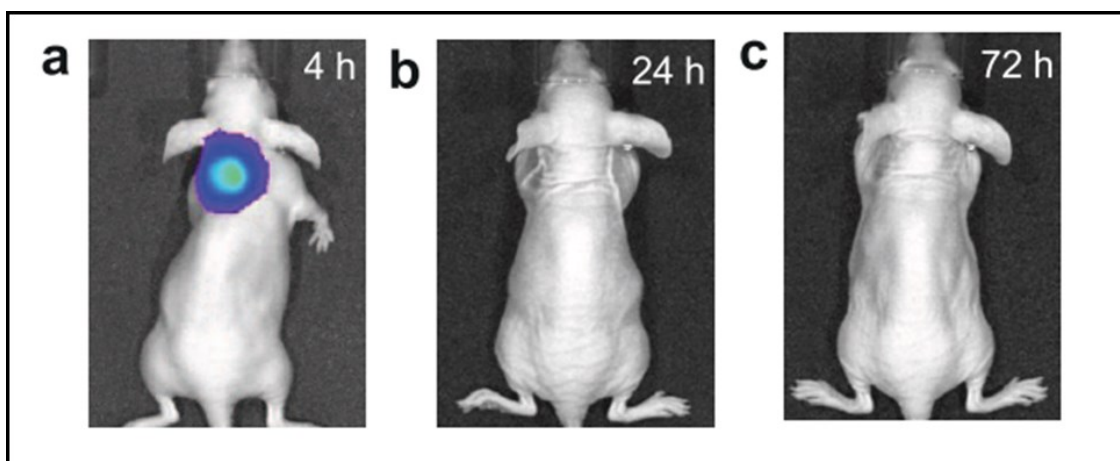


Figura 8. Imágenes de la emisión de las $\text{LGO}:\text{Cr}$ recubiertas con PEI para etiquetar células 4T1 y después de ser inyectadas en un ratón desnudo (F. Liu et al., 2013).

En el año 2017 Chen y colaboradores presentaron un trabajo donde probaron las propiedades radioluminiscentes del LGO:Cr³⁺. La muestra fue irradiada con rayos X con dosis de 0.02Gy y 50 kV, el material presentó una emisión centrada en ~720 nm y mantenía sus propiedades de luminiscencia persistente. Gracias a este ensayo, las propiedades de radioluminiscencia junto a las propiedades de luminiscencia persistente, abrieron la posibilidad de utilizar el LGO:CrEu³⁺ como potencial bioetiquetador para ser usados en tejidos con una distancia mayor de 10 cm con respecto a la superficie, ya que la activación de la luminiscencia por rayos X, permite una mayor penetración en tejidos (Chen et al., 2017).

2.2 Antecedentes para Bi₄Ge₃O₁₂:Eu³⁺

En el año 2014 Carrillo y colaboradores probaron el Bi₄Ge₃O₁₂ (BGO) en un ensayo con peces zebra (Carrillo et al., 2015). Los peces fueron expuestos durante 48 h a dos concentraciones del material: 0.5 ppm y 1.0 ppm. Los tejidos de diferentes órganos (hígado, ovarios, testículos, branquias y cerebro) de los peces zebra fueron analizados después de ser expuestos al material, para este caso, lo que se evaluó fue la formación de grupos carbonilo. La presencia de este grupo funcional está relacionada con una alta concentración de especies reactivas de oxígeno (ROS), mismas que pueden ocasionar estrés oxidativo que puede dañar las células por diversos mecanismos como peroxidación de lípidos y rompimiento de cadenas de DNA e interferir con la señalización de las funciones celulares. La formación de grupos carbonilos también está asociada a una etapa temprana de la oxidación de proteínas que también puede causar daños irreversibles en las células.

Los resultados fueron comparados con un control positivo, donde los peces estaban expuestos a peróxido de hidrógeno (H₂O₂), una sustancia que causa estrés oxidativo en las células. Para los ensayos con una concentración de 0.5ppm no se encontraron indicios de la producción de grupos carbonilo por exposición al BGO durante 48 h. Al incrementar la concentración de BGO a 1ppm, los resultados mostraron una mayor concentración de grupos carbonilo comparados con el control; por los resultados obtenidos, Carrillo y colaboradores concluyeron que era posible utilizar el BGO a una concentración de 0.5ppm para aplicaciones biomédicas (Carrillo et al., 2015).

En 2016 Oviedo y colaboradores presentaron uno de los primeros trabajos, donde se propuso el Bi₄Ge₃O₁₂ como posible bioetiquetador. En este trabajo se realizó un ensayo donde el BGO fue funcionalizado de manera exitosa con anticuerpos para el reconocimiento de células derivadas de cáncer (Oviedo et al.,

2016). Cabe recordar que el BGO también presenta propiedades radioluminiscentes, lo que permitiría activar la luminiscencia del material en tejidos de zonas profundas del cuerpo humano.

Es importante señalar que una de las principales limitantes del BGO, es su emisión en la región del visible y como ya hemos abordado en este trabajo, es justo en esta región donde sustancias como la hemoglobina absorben radiación, lo que reduce la posibilidad de detectar la luminiscencia desde tejidos profundos.

En la literatura se encuentran trabajos donde el BGO ha sido utilizado como red huésped para el dopado con tierras raras, en dichos trabajos se presentan resultados relacionados a los cambios en las propiedades fisicoquímicas del BGO provocados por el dopante, para el momento en que se llevó a cabo este trabajo, únicamente, el BGO sin dopar, ha sido evaluado en sistemas biológicos y propuesto como posible material bioetiquetador.

En 1998 Kim y colaboradores reportaron la síntesis del $\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}:\text{Eu}^{3+}$, el trabajo se centró en el estudio de nuevas propiedades fisicoquímicas. Los resultados mostraron que el Eu^{3+} proporciona una mayor eficiencia en la luminiscencia del material manteniendo sus propiedades radioluminiscentes, además presenta una nueva línea de emisión centrada en ~ 720 nm, longitud de onda que corresponde al IFRC y que se encuentra en el rango de la VB-1 (J. Kim, 1998).

En 2017 Chu y colaboradores reportaron un trabajo sobre la síntesis de $\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}:\text{Eu}^{3+}$, el trabajo se centraba en variar la cantidad del Eu^{3+} como agente dopante y el estudio del cambio en las propiedades luminiscentes derivadas de dicha variación.

En el trabajo reportado por Chu y colaboradores, utilizaron dopajes de 3 %, 5 %, 7 %, 9 % y 11 % de Eu^{3+} (Figura 9). Concluyeron que el dopaje del 9% de Eu^{3+} presenta las mejores propiedades luminiscentes utilizando una radiación de excitación con longitud de onda de 394 nm (Chu et al., 2017).

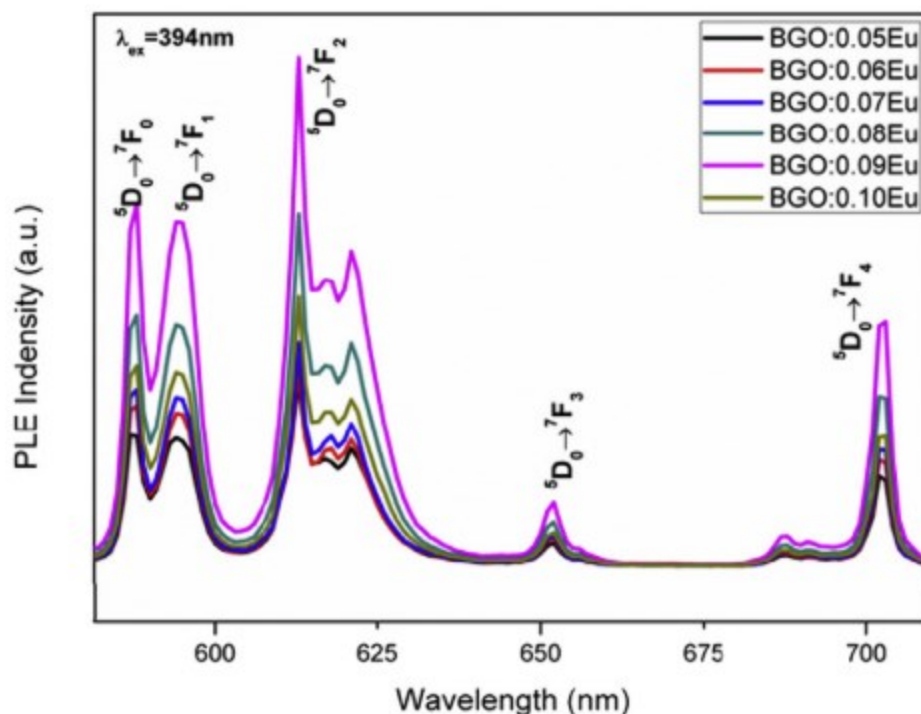


Figura 9. Espectros de emisión por fotoluminiscencia a diferentes concentraciones de Eu^{3+} (Chu et al., 2017)

2.3 Antecedentes para AuNPs

En 2005 Connor y colaboradores presentaron uno de los primeros ensayos de citotoxicidad de nanopartículas de oro (AuNPs), los resultados indicaron que aunque algunos precursores utilizados en la síntesis de AuNPs presentaban citotoxicidad, las AuNPs en sí no provocaban daños en las funciones celulares (Connor et al., 2005).

El ensayo consistió en probar nanoesferas de oro (AuNEF) de diferentes diámetros ~ 4 , 12 y 18 nm. Las superficies de las AuNEF fueron modificadas con diferentes moléculas de la siguiente manera: para las AuNEF de 4 nm se tenía en la superficie cisteína y citrato, para las de 12 nm glucosa reducida, mientras que las AuNEF de 18 nm presentaban citrato, biotina y bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB). Las diferentes AuNEF fueron probadas por tres días en líneas celulares derivadas de leucemia K562. Después de tres días de una continua exposición de las células a las diferentes AuNEF, la viabilidad celular fue determinada por un ensayo MTT.

Los resultados en este ensayo, mostraron que las AuNEF estabilizadas con CTAB presentaban citotoxicidad, sin embargo, al ser lavadas por centrifugación para disminuir la concentración de CTAB alrededor de las AuNEF, los resultados eran totalmente diferentes y ya no presentaban citotoxicidad, con lo que pudieron inferir que el CTAB unido a la superficie de las AuNPs presentaba biocompatibilidad. Otro de los resultados relevantes en este trabajo, fue que no se presentó ningún cambio en la morfología de las AuNEF, aún después de estar expuestas durante 5 días a las células. Este ensayo abrió una puerta importante para el uso de AuNPs en aplicaciones de biomedicina (Connor et al., 2005).

2.4 Antecedentes para TFP a partir de AuNPs

En 2003 Lin y colaboradores usaron AuNEF, las conjugaron con anticuerpos para marcar linfocitos, en los ensayos, las AuNEF conjugadas fueron irradiadas con un láser de 532 nm de longitud de onda, la cual coincidía con la absorción del PSFL medida por Uv-Vis en las AuNEF. A pesar de que en los ensayos donde las AuNEF acopladas a linfocitos fueron irradiadas con luz visible, presentaron resultados satisfactorios, la necesidad de tener una mayor penetración en los tejidos, evitando la atenuación de la luz provocada por la presencia de agua y hemoglobina, derivó en pruebas basadas en esta técnica, pero con AuNPs de diferente morfología, los estudios se enfocaron en morfologías de Au, donde su plasmón presentara absorción en el IFRC. Con el paso del tiempo las investigaciones pusieron a los AuR como los mejores candidatos para ser evaluados como posibles agentes terapéuticos, debido a que su plasmón de superficie presenta una absorción en el IFRC.

Al tener como precedente la biocompatibilidad de las AuNP, en 2006 Huang y colaboradores, presentaron el primer trabajo del uso de AuR como agente de terapia en biomedicina. Para este trabajo se sintetizaron AuR que presentaban absorbancia de su plasmón de superficie en ~ 800 nm. Los AuR fueron conjugados con anticuerpos (AnC) capaces de reconocer líneas celulares específicas con la formación de un complejo AuNR-AnC. Las líneas celulares que se utilizaron en este ensayo fueron HOC 313 y HSC3, ambas derivadas de carcinoma oral, como control utilizaron células HaCat, las cuales son derivadas de queratinocitos. Ninguno de los anticuerpos utilizados en el ensayo presentaba afinidad a las células HaCat. Cuando los complejos AuNR-AnC fueron expuestos a las diferentes líneas celulares, para el ensayo con HOC 313 y HSC 3, observaron un aumento en el coeficiente de absorción en comparación con el que presentaban las células HaCat debido a la conjugación exitosa del complejo AuNR-AnC con las células derivadas de cáncer Figura 10a. El siguiente paso que realizaron fue irradiar con un láser de 800 nm de longitud de onda a

diferentes potencias, Figura 10b. Como resultado observaron que los AuNR al ser unidos de manera específicas a las células, son capaces de inducir muerte celular de manera selectiva (Huang et al., 2006).

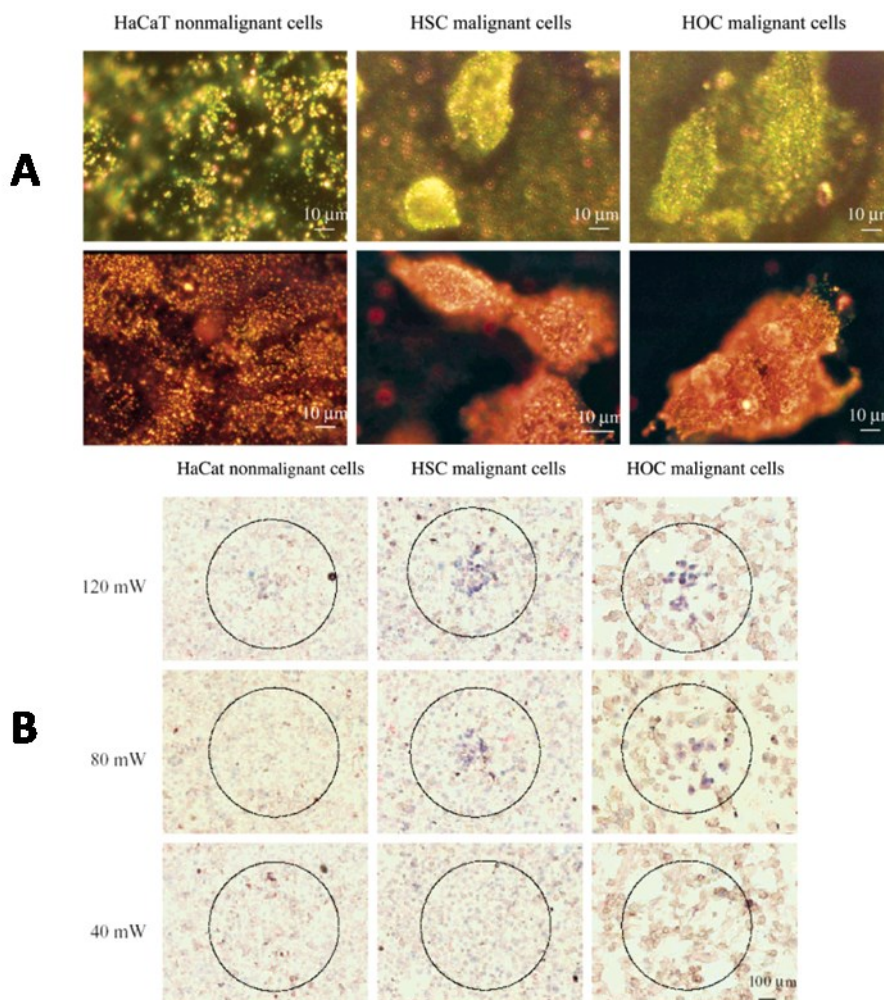


Figura 10. Figura que muestra: A. La selectividad en la interacción de los AuR al ser funcionalizados con anticuerpos afines a células derivadas de cáncer, B. La terapia fototérmica selectiva producto de la funcionalización de los AuR con sus respectivos anticuerpos (P. K. Jain et al., 2007).

Para 2014 Mackey y colaboradores presentaron un trabajo donde precisaban las características óptimas que los AuNR deberían tener para ser utilizados como agente de TFP. Los puntos de mayor relevancia para este trabajo, fueron la sección transversal de absorción, la eficiencia de absorción de los materiales y el campo electromagnético que los AuNR presentaban en su superficie. En este ensayo probaron con AuNR de diferentes dimensiones, donde determinaron la importancia de la agregación de las AuNR en la solución, debido a que observaron que las AuNR con menores dimensiones presentaban una alta absorbancia y un campo electromagnético extremadamente intenso en la superficie, pero este campo no

se extiende lo suficiente para permitir el acoplamiento entre los campos de las partículas adyacentes en la solución y con ello se produzca una conversión de calor más efectiva (MacKey et al., 2014b).

Gracias a las investigaciones realizadas en el campo de la nanobiotecnología, los tratamientos contra enfermedades como el cáncer han ido mejorando y evolucionando. En la actualidad las investigaciones se centran en el desarrollo de materiales que actúan a nivel celular y que ayudan a disminuir los efectos secundarios producidos por los tratamientos que actualmente se utilizan en el tratamiento de esta enfermedad. La síntesis de materiales híbridos y multifuncionales, dirigidos hacia el tratamiento de cáncer, es una línea de investigación que ha tomado auge en años recientes. El propósito de este trabajo es acoplar los materiales luminiscentes con AuNR para la formación de un material híbrido, tomando así ventaja de las propiedades de luminiscencia en el IFRC y de la TFP que puede ser inducida por la presencia de AuNR en el sistema.

Capítulo 3. Metodología

Desde un enfoque general podemos dividir un método típico de síntesis de nanopartículas en tres etapas: 1) nucleación, 2) la formación de semillas a partir de los núcleos y 3) crecimiento de las semillas para formar cristales (Xia et al., 2009).

En el mecanismo de nucleación para un metal nanocristalino, un precursor es descompuesto o reducido para generar átomos con estado de oxidación cero. De acuerdo a la naturaleza de los átomos a sintetizar y los precursores a utilizar, el proceso de nucleación puede tomar diferentes rutas. En la ruta donde se descomponen los precursores, la nucleación se espera que se desarrolle mediante el mecanismo propuesto por LaMer y colaboradores (Figura 11) (Lamer y Dinegar, 1950). En este mecanismo se propone, que a medida que el precursor se descompone, la concentración de los átomos metálicos aumenta con el tiempo. Esta descomposición, típicamente ocurre por sonicado o por la introducción de calor al sistema. Acto seguido, la concentración de átomos metálicos en el sistema alcanza un punto de supersaturación, los átomos comienzan a agregarse para formar cúmulos lo que da paso a la fase de nucleación. Una vez formados los cúmulos, éstos comienzan a crecer de manera acelerada y la concentración de átomos metálicos en el sistema comienza a disminuir. Si dicha concentración disminuye por debajo del nivel mínimo de supersaturación, el proceso de nucleación se detiene (Lamer y Dinegar, 1950).

Si el suministro de átomos a través de la descomposición de un precursor es continuo, los núcleos crecerán hasta formar cristales (Carbó-Argibay et al., 2010). El crecimiento de los cristales se detendrá, hasta que se alcance un estado de equilibrio entre los átomos en la superficie del nanocristal y los átomos del sistema. Además del crecimiento mediante adición atómica, los núcleos y los nanocristales pueden unirse directamente en objetos más grandes por un proceso de aglomeración (Xia et al., 2009).

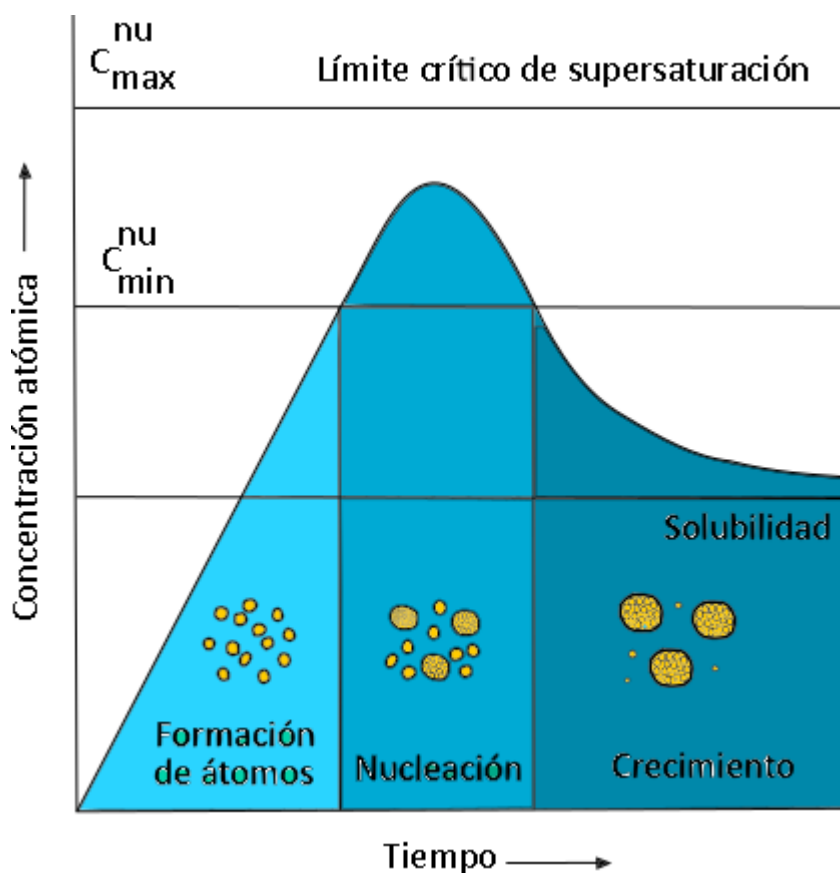


Figura 11. Gráfica de concentración atómica con respecto al tiempo, donde se ilustra la generación de átomos, la nucleación y subsecuente crecimiento de NPs (Xia et al., 2009).

En el mecanismo de formación de nanocristales a partir de la reducción de precursores, estos se encuentran en un estado de oxidación más alto que las especies atómicas. Los precursores son convertidos de manera directa en núcleos y se pueden agregar entre sí para formar nanocristales sin pasar por el estado de oxidación de cero (Xia et al., 2009).

La mayoría de los métodos de síntesis utilizados para la obtención de metales nanocristalinos, involucran el uso de una sal precursora disuelta en un solvente. En general se asume que los iones metálicos existen como unidades monoméricas y se encuentran acomplejadas con aniones, ligandos o moléculas solventes (Xia et al., 2009).

Existen una gran variedad de métodos de síntesis reportados en la literatura, en este trabajo de tesis se emplearon dos metodologías: la síntesis por sol-gel y la síntesis de nanopartículas mediada por semillas. A continuación, se indagará un poco más sobre las técnicas empleadas.

3.1 Síntesis por sol-gel

El proceso de sol-gel es utilizado para la obtención de materiales cerámicos, es un método químico con el que se pueden obtener materiales altamente puros y homogéneos. De manera general, el proceso de sol-gel consiste en cinco diferentes etapas (Figura 12):

Etapas 1. Se produce la dispersión estable de los precursores, dando lugar a la formación de partículas coloidales (obtención de un “sol”).

Etapas 2. Ocurre la gelificación, la cual resulta por reacciones de condensación que dan paso a la formación de una red, aumentando así la viscosidad de la solución.

Etapas 3. Se produce el envejecimiento del gel, donde las reacciones de condensación continúan hasta transformar el gel en una masa sólida.

Etapas 4. Para esta etapa el gel es secado dando lugar a un monolito denominado *xerogel*.

Etapas 5. Se lleva a cabo la densificación y descomposición de los geles a altas temperaturas ($T > 800$ °C), donde los poros de la red del gel se colapsan y las especies orgánicas restantes se volatizan (Cushing et al., 2004).

Las principales ventajas que presenta el método de síntesis por sol-gel son: la obtención de materiales cristalinos puros, control de las estructuras y bajas temperaturas de síntesis comparadas con otros métodos de síntesis. Dentro de las desventajas que presenta el proceso por sol-gel, se encuentra el alto costo de los precursores (Kakihana y Yoshimura, 1999).

En el presente trabajo, los materiales luminiscentes BGO:Eu y LGO:Cr fueron sintetizados por sol-gel

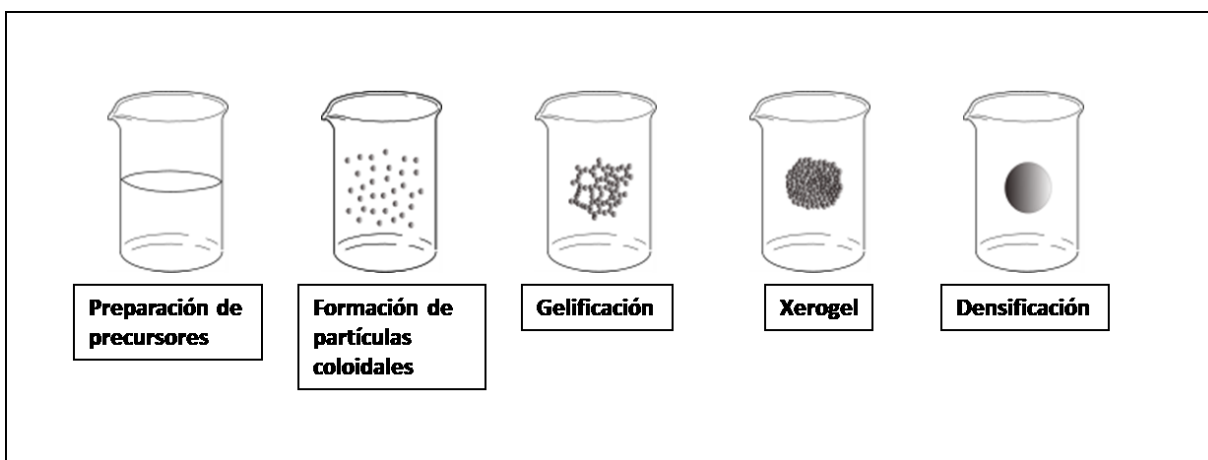


Figura 12. Diagrama esquemático del proceso de síntesis por de sol-gel (Figura realizada por Belman-Rodriguez)

3.2 Síntesis de $\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}:\text{Eu}^{3+}$ (BGO:Eu)

La síntesis del germanato de bismuto ($\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}$) o BGO se llevó a cabo por el método de sol-gel y basados en las condiciones reportadas por De Jesús y colaboradores (De Jesus et al., 2010). Se utilizaron Bi_2O_3 , GeO_2 y $\text{Eu}(\text{NO}_3)_3$ como agentes precursores, HNO_3 al 70 % como solvente y ácido tartárico como agente quelante, las cantidades de reactivos utilizadas en la síntesis eran acordes a la estequiometría de la reacción.

Primeramente, los precursores se añadieron de forma simultánea a una solución de HNO_3 , la cual se mantuvo en agitación durante 10 minutos, posteriormente se agregó a la solución el ácido tartárico y se mantuvo en agitación continua durante 24 h; pasado este tiempo, la solución se calentó a $80\text{ }^\circ\text{C}$ por dos horas, después se aumentó la temperatura a $100\text{ }^\circ\text{C}$ hasta evaporar toda la solución y obtener el agente precursor, por último, se realizó una calcinación del precursor a $850\text{ }^\circ\text{C}$ por 4 h, con un incremento controlado de temperatura de $2\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ (Figura 13).

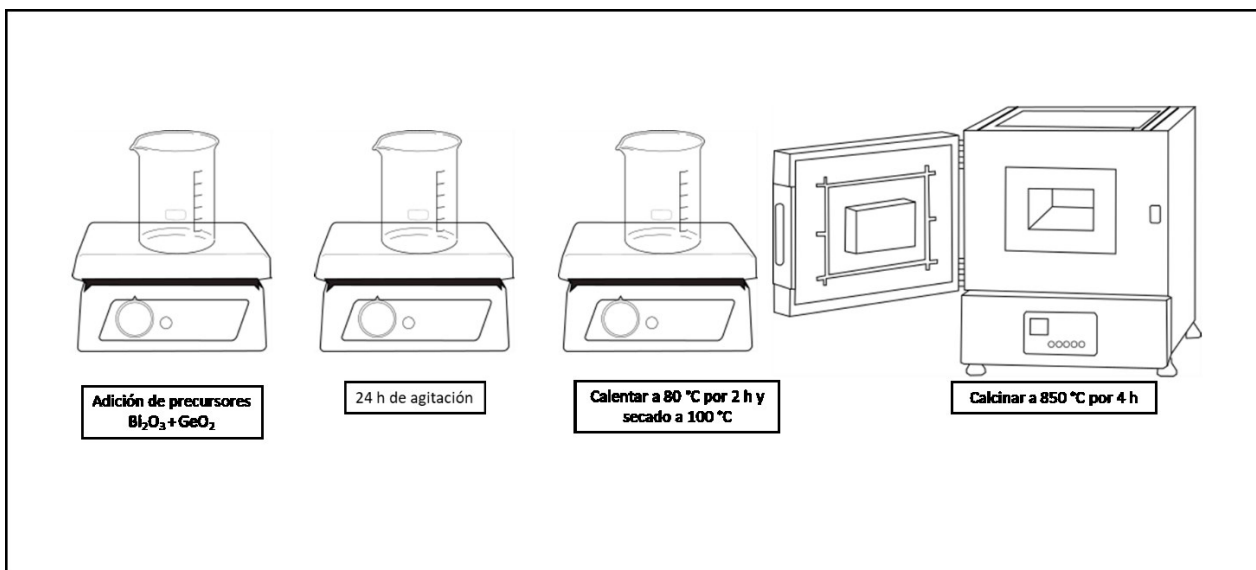


Figura 13. Diagrama esquemático para la síntesis de germanato de bismuto dopado con europio BGO:Eu por la técnica de sol-gel (Figura realizada por Belman-Rodríguez).

3.3 Síntesis de $\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}^{3+}$ (LGO:Cr)

La síntesis del LGO:Cr fue realizada por el método de sol-gel, bajo condiciones muy similares a las de la síntesis de BGO:Eu. En este caso se utilizaron como precursores LiNO_3 , $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$ y $\text{Eu}(\text{NO}_3)_3$, HNO_3 al 70 % como solvente y ácido tartárico como agente quelante.

En esta síntesis, los precursores se añadieron de forma simultánea al HNO_3 , la mezcla se mantuvo en agitación constante durante 10 minutos. Posteriormente, se agregó el ácido tartárico a la mezcla, y se mantuvo en agitación durante 24 h, después de lo cual, se calentó a $80\text{ }^\circ\text{C}$ por 2 h. Enseguida se aumentó la temperatura a $100\text{ }^\circ\text{C}$ hasta evaporar todo el solvente y obtener un agente precursor o xerogel. Por último, a la muestra obtenida se le aplicó un tratamiento térmico a $1100\text{ }^\circ\text{C}$ por 3 h, con una tasa de incremento de temperatura controlada a $5\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$.

3.4 Recubrimiento de LGO:Cr y BGO:Eu con SiO₂

Los materiales luminiscentes fueron recubiertos con SiO₂ por medio de una modificación al método de Stöber, a continuación se describe el procedimiento (Stöber y Fink, 1968):

Los materiales luminiscentes fueron suspendidos en etanol y dispersados con punta sónica durante 2 h, posteriormente la muestra fue secada a 60 °C por 12 h. Pasado este tiempo, se tomaron 0.2 g del material luminiscente previamente dispersado y se agregó a una mezcla que contenía 40 mL de etanol y 10 mL de agua desionizada, la mezcla fue dispersada durante 40 min en baño sónico (solución 1). Por otro lado, se preparó una solución con 30 mL de etanol y 0.6 mL de hidróxido de amonio (NH₄OH), la cual se mantuvo en agitación durante 10 min (solución 2). Terminados estos procesos, se agregó la solución 2 a la solución 1, la mezcla se puso en agitación a 800 rpm durante 30 min para después ser dispersada por sonicado por 30 min más. A la mezcla se le añadieron 110 µL de tetraetil ortosilicato (TEOS) y se mantuvo en agitación a 800 rpm durante 4 h. Para detener la reacción, la muestra fue lavada 3 veces por centrifugación a 5500 rpm durante 15 min. Enseguida, la muestra fue secada a 60°C por 12 h y, por último se le realizó un tratamiento térmico a 550°C durante 6 h. Es importante señalar que se siguió el mismo procedimiento para los dos materiales luminiscentes (LGO:Cr y BG:Eu).

3.5 Síntesis de Nanorods de oro (AuR)

Los surfactantes son agentes que se adsorben a las superficies o interfaces y poseen una estructura química característica, como lo son, componentes moleculares que tienen poca atracción con el solvente (grupo liofóbico) y unidades químicas que tienen una fuerte atracción con el solvente (grupo liofílico).

El método de síntesis mediado por semillas (Nikoobakht y El-Sayed, 2003), fue el que se utilizó para preparar AuR con tres diferentes relaciones de aspecto. En esta metodología se preparan dos soluciones, la solución de semillas y la solución de crecimiento.

Para preparar la solución de semillas, una solución de CTAB (5mL, 0.1M) se mezcló con 12.5 µL de HAuCl₄ 0.25mM, la mezcla fue puesta en agitación a 800 rpm; se adicionó a la mezcla 0.3 mL de NaBH₄ 0.02M a una temperatura de 4°C. La agitación se mantuvo durante 20 min.

Tres soluciones de crecimiento fueron preparadas con el objetivo de obtener AuR con diferentes relaciones de aspecto, cada una de las soluciones fue preparada como se describe a continuación: una solución de CTAB (10 mL, 0.1M) fue puesta en agitación vigorosa y se adicionó lo siguiente en este orden: 0.5 mL de HAuCl_4 10mM, 24 μL de AgNO_3 50mM, 80 μL de ácido ascórbico 0.8 mM, 0.186 mL de HCl 0.5 mM. Después de lo anterior, se obtuvieron las tres diferentes soluciones de crecimiento, en el último paso para la obtención de AuR con diferentes relaciones de aspecto, fue necesario utilizar diferentes volúmenes de la solución de semillas previamente preparada, en este caso, se adicionaron, a cada una de las soluciones de crecimiento, los siguientes volúmenes: 14 μL , 18 μL y 20 μL respectivamente. Las tres muestras de AuR fueron identificadas como AuR14, AuR18 y AuR20.

3.6 Ensamblaje de materiales híbridos

El ensamblaje de los materiales híbridos se llevó a cabo de acuerdo a la metodología reportada por Wescot y colaboradores (Westcott et al., 2002), mediante la funcionalización de la superficie de los materiales por medios de dos moléculas y el posterior anclado de las AuNPs con la ayuda de dichas moléculas.

A continuación se describe la metodología desarrollada para conjugar los materiales luminiscentes (LGO:Cr, BGO:Eu) con los AuR para obtener materiales híbridos.

3.6. 1 Funcionalización de la superficie de los materiales luminiscentes.

La síntesis se llevó a cabo para cada uno de los materiales luminiscentes (Figura 14), se tomaron 20 mg de material luminiscente recubierto con SiO_2 , se suspendieron en 30 mL de etanol, posteriormente se añadieron 15 μL de (3-mercaptopropil) trimetoxisilano y 5 μL de (3-aminopropil) trimetoxisilano, la mezcla fue puesta en agitación por 12 h a temperatura ambiente. Pasadas las 12 h, la mezcla se calentó a 70 °C durante 1 h. En este tiempo se adicionaron alícuotas de etanol para mantener el volumen constante de la muestra. La mezcla fue lavada tres veces por centrifugación a 5500 rpm, el sobrenadante fue retirado y al término de los tres lavados, la muestra fue resuspendida en 30 mL de etanol. Se obtuvieron dos mezclas, una para cada material luminiscente, a las mezclas se les denominó: soluciones stock.

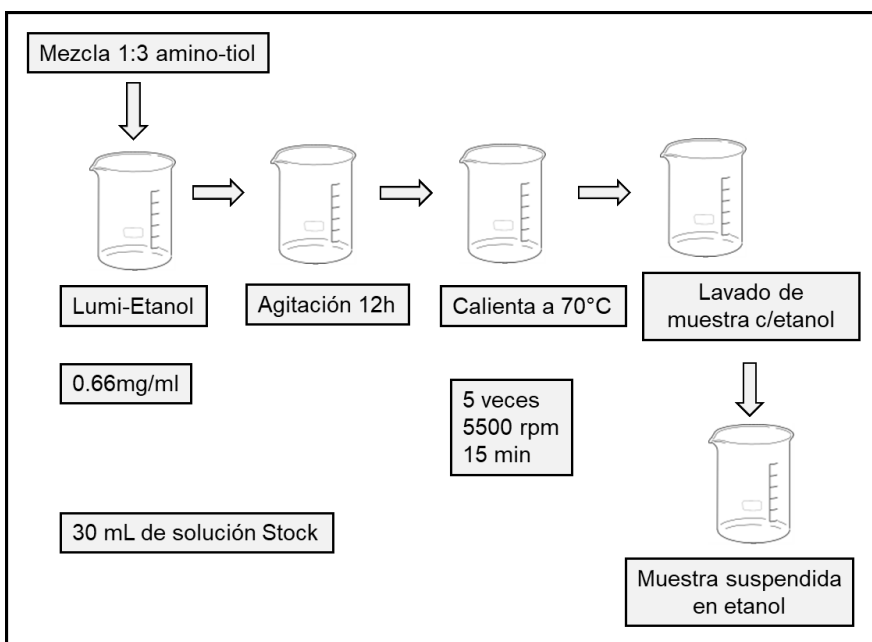


Figura 14. Diagrama esquemático para la funcionalización de la superficie de los materiales luminiscentes con moléculas afines a la superficie de los AuR (Figura realizada por Belman-Rodríguez).

En la Figura 15 se muestra un diagrama donde se propone la estructura de las NPs en las soluciones stock, obtenidas después de funcionalizar la superficie de los materiales luminiscentes recubiertos con SiO_2 . Las terminaciones NH_2 y SH se aprovecharon como puntos de anclaje por la alta afinidad que presentan hacia la superficie del Au.

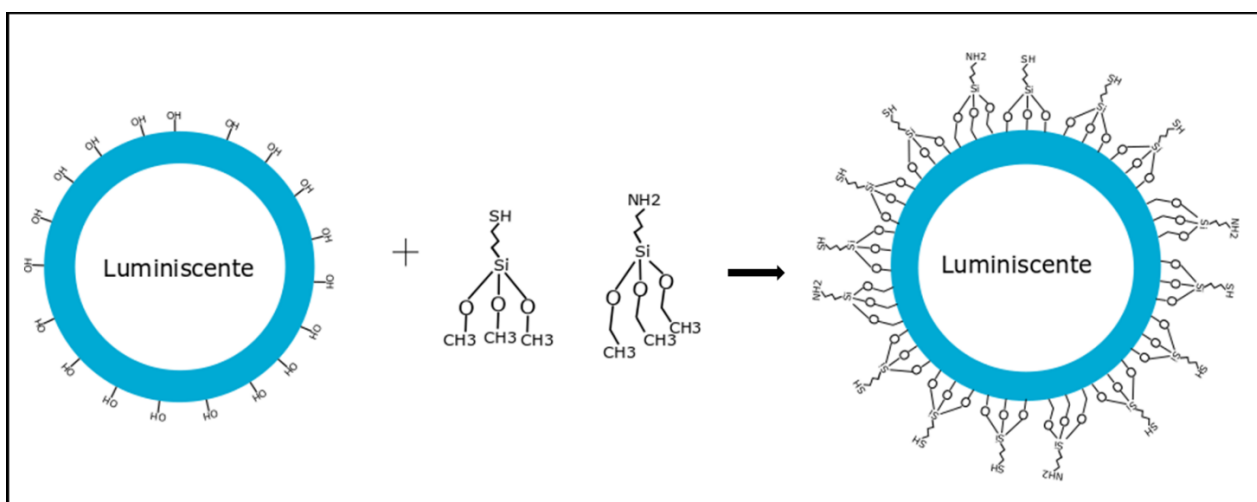


Figura 15. Diagrama esquemático del proceso de funcionalización de la superficie de los materiales luminiscentes recubiertos con SiO_2 (Figura propuesta por Belman-Rodríguez).

La forma en que los AuR fueron preparados para la síntesis de materiales híbridos, se llevó a cabo mediante la disminución de la concentración de CTAB sobre la superficie de los AuR, la concentración inicial de CTAB para los AuNR era de 100 mM, para el anclaje se redujo a 1 mM.

Para terminar con la conjugación de los materiales luminiscentes con los AuR, se tomaron alícuotas de 1 mL de la solución stock y fueron puestas en 8 tubos de microcentrífuga (4 tubos por solución stock), después se agregaron las siguientes cantidades de AuR con una concentración de CTAB 1 mM, para la solución stock de LGO:Cr: 150 μ L de AuR20, 300 μ L de AuR18, 450 μ L de AuR14 y 600 μ L de AuR20. Para la solución stock de BGO:Eu: 500 μ L de AuR18, 500 μ L de AuR20, 560 μ L de AuR18 y 560 μ L de AuR20.

Cada mezcla se puso en agitación vigorosa durante 2h, pasado este tiempo, la muestra se lavó tres veces por centrifugación a 800 rpm para eliminar los remanentes de AuR. Al finalizar las reacciones, se obtuvieron ocho muestras de materiales híbridos.

3.7 Ensayos de respuesta con calentador óptico

Con el objetivo de probar la respuesta de los AuR presentes en los materiales híbridos y basados en los experimentos de Mackey y colaboradores (MacKey et al., 2014b), las muestras fueron irradiadas con un láser de 808 nm de longitud de onda. Para lo anterior se procedió al diseño de un calentador óptico. Los aditamentos necesarios para armar el sistema se describen a continuación:

Se utilizó un láser de 808 nm de longitud de onda (IFRC) con una potencia de salida que variaba en un rango de 0.4-1.6 W. La potencia del láser fue regulada con ayuda de una fuente de poder Instek GPD-4303S. Se empleó un porta muestras de cuarzo con capacidad de 0.7 mL. Para medir la temperatura se utilizó un termopar tipo T de 0.2 mm de diámetro con un error de respuesta de ± 0.2 °C. El arreglo de los materiales se hizo como se muestra en la Figura 16. El láser y la muestra fueron cubiertos por una caja para evitar posibles accidentes con la radiación infrarroja.

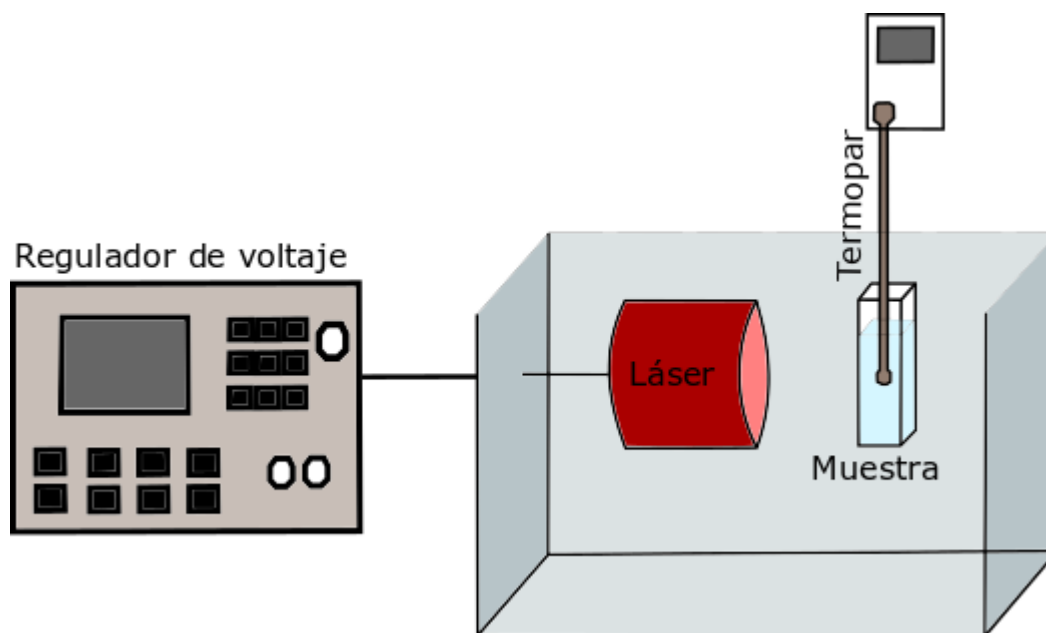


Figura 16. Diagrama esquemático del calentador óptico (Figura diseñada por Belman-Rodriguez).

3.8 Ensayos de viabilidad celular

El efecto citotóxico de los materiales fue evaluado en ensayos *in vitro* en las líneas celulares HeLa (derivada de cáncer de cervix) y NCI-H1299 (derivada de cáncer de pulmón epitelial), las cuales fueron adquiridas en el American Culture Typing Collection (ATCC). Adicionalmente se emplearon células HaCaT (Queratinocitos inmortalizados) las cuales fueron proporcionadas por el Laboratorio de Agentes biológicos y Cáncer del Instituto Nacional de Cancerología. Las tres líneas celulares fueron mantenidas en medio de Dulbecco modificado (Dulbecco's Modified Media, DMEM) en una atmósfera húmeda al 5% de CO₂ y 37 °C. Una vez que alcanzaban una confluencia de 80 % las células eran despegadas con el uso de tripsina y contadas para ser utilizadas en los ensayos de viabilidad celular o para los ensayos de microscopia.

Los ensayos se realizaron por triplicado al utilizar unas placas de 96 pozos donde se sembraron 10,000 células por pozo. Cada línea celular fue expuesta a cinco concentraciones de los materiales híbridos previamente sintetizados, para estos ensayos se eligieron 4 materiales: BGO:Eu³⁺500D20, BGO:Eu³⁺560D20, LGO:Cr³⁺150D20 y LGO:Cr³⁺600D20. Las diferentes concentraciones utilizadas fueron: 0.0001 µg/mL, 0.001 µg/mL, 0.01 µg/mL, 0.1 µg/mL y 1.0 µg/mL. Las concentraciones fueron

seleccionadas basados en los ensayos hechos por Chávez-García y colaboradores (Chávez-García et al., 2018).

Las diluciones de los nanomateriales, se llevaron a cabo en medio DMEM. Las células fueron incubadas con las diferentes concentraciones de los materiales durante 24 h a 37 °C y atmósfera con 5 % de CO₂. Como grupo control, se utilizaron las mismas condiciones de cultivo antes descritas y las mismas líneas celulares incubadas con el agente diluyente (10 % etanol en medio DMEM).

La viabilidad celular se determinó mediante dos ensayos colorimétricos, el primero basado en la biorreducción de un compuesto de tetrazolio (Cell titer 96, MTS) a formazán, la cual fue agregada directamente al medio de cultivo e incubado durante 4 h, posteriormente se realizaron las mediciones de absorbancia. La segunda técnica se basa en la tinción violeta, donde las células se tiñeron con una solución de cristal violeta al 1% de PBS. Posterior al tiempo de incubación, las células fueron fijadas con formaldehído al 10% en PBS, lavadas y teñidos con la solución antes indicada. Después de tres lavados con PBS, las placas fueron secadas a temperatura ambiente para remover restos de solución de lavado. Finalmente, el colorante fue eluido empleando ácido acético al 10% en PBS y se procedió a medir la absorbancia. Las mediciones de absorbancia se realizaron con un espectrofotómetro ELISA a 490 nm para MTS y a 540 nm para tinción violeta.

A los resultados obtenidos se les realizó con un análisis de varianza (ANOVA) para determinar las diferencias significativas entre las células tratadas con NPs y las células control, el valor de α para todos los análisis fue de 0.05.

Capítulo 4. Resultados y discusiones

4.1 Germanato de Bismuto dopado con Europio ($\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}:\text{Eu}^{3+}$)

Las muestras de $\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}:\text{Eu}^{3+}$ (BGO:Eu) sintetizadas por sol-gel, fueron caracterizadas por las técnicas de microscopía electrónica de barrido (MEB), microscopía electrónica de transmisión, difracción de rayos X y fotoluminiscencia.

El análisis de la morfología del material se llevó a cabo por microscopía electrónica de barrido (MEB). Las Figuras 17a, 17b y 17c muestran las micrografías obtenidas por MEB del BGO:Eu a diferentes ampliaciones, en las imágenes se observan partículas y la formación de cúmulos. El material muestra morfología irregular característica del BGO:Eu³⁺ sintetizado por sol-gel, que concuerda con lo reportado en la literatura por Chu y colaboradores (Chu et al., 2017). A diferencia de lo reportado por autores como Rodriguez et. al., (Rodriguez et al., 2018) y De Jesus et. al., (De Jesus et al., 2010) los cuales presentan estudios por MEB del BGO (sin iones dopantes), donde se aprecia la formación de cúmulos, todos en el orden de las decenas de micras, en el BGO:Eu obtenido en este trabajo y analizado también por MEB se observan partículas, presumiblemente con un menor tamaño de partícula en relación con el BGO y una mayor dispersión, resultados que concuerdan con lo propuesto por Chu et al., que asocia la disminución del tamaño de partícula a la incorporación del ion Eu^{3+} como dopante.

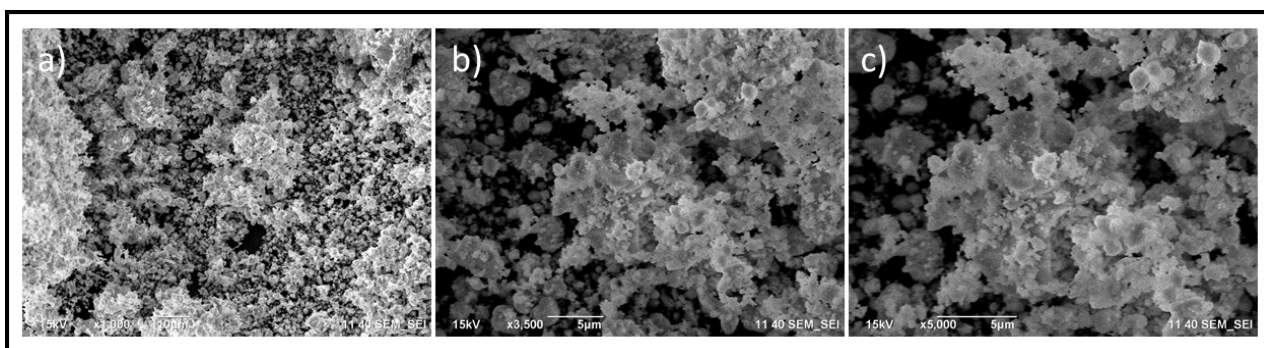


Figura 17. Micrografías de $\text{BGO}:\text{Eu}^{3+}$ obtenidas por MEB tomadas a diferentes ampliaciones: a) 1000x, b) 3500x y c) 5000x.

Después de la síntesis por sol-gel y con la finalidad de conocer la estructura cristalina del $\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}:\text{Eu}^{3+}$, se realizó la caracterización por difracción de rayos-X. Los patrones de difracción (Figura 18) muestran la

estructura cristalina cúbica típica del $\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}$, todas las señales que se presentan fueron comparadas con la carta cristalográfica JCPDF N. 34-0416 y se observó que había un empate total de las señales, por lo que podemos inferir que el material obtenido no posee ninguna fase secundaria que se pueda asociar con alguna impureza (Rodríguez et al., 2018).

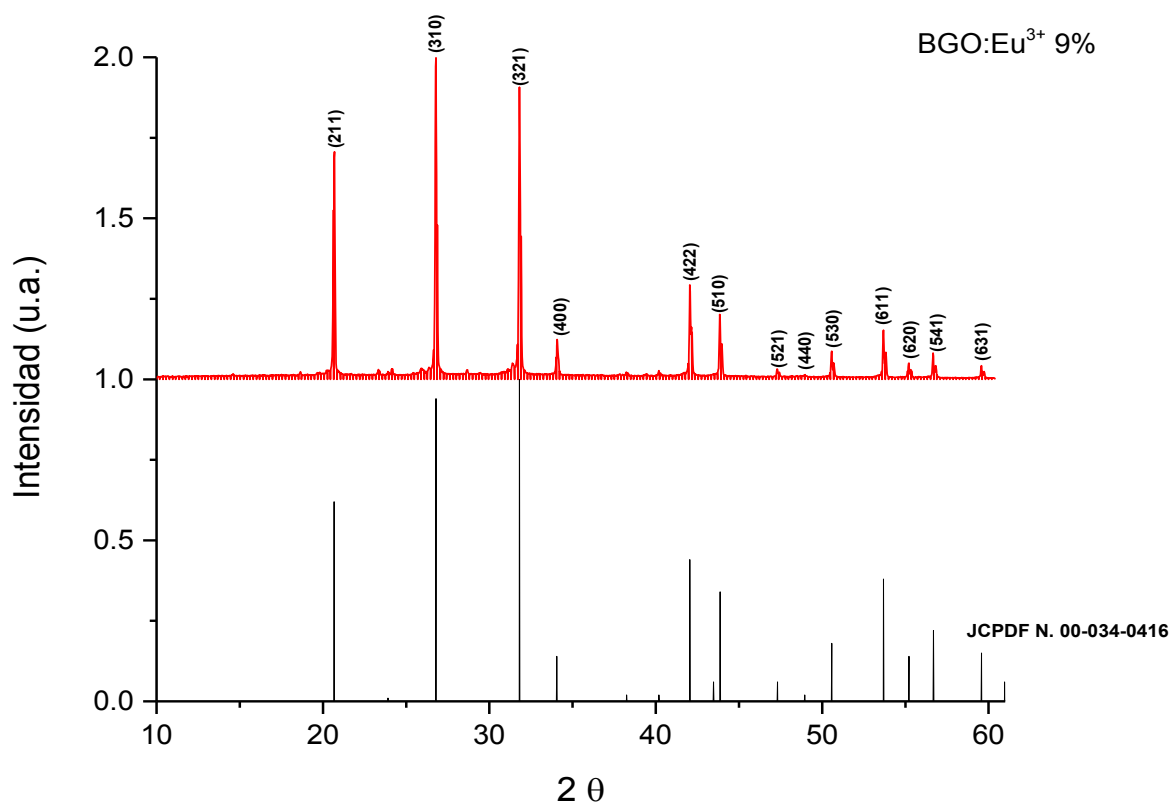


Figura 18. Patrón de difracción de la muestra de $\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}:\text{E}^{3+}$ sintetizada por sol-gel.

Es importante señalar que en las bases de datos no existe una carta cristalográfica específica para el BGO:Eu. Sin embargo, en la literatura se empatan los resultados con la carta cristalográfica aquí mencionada. Por lo anterior es importante caracterizar el material por medio de fotoluminiscencia, con la finalidad de obtener una prueba irrefutable de la presencia de Eu^{3+} dentro de la red de BGO.

Los estudios de fotoluminiscencias (FL) se llevaron a cabo con una radiación de excitación de longitud de onda de 394 nm. En la gráfica obtenida se pudo observar cinco líneas de emisión, las cuales corresponden a las transiciones electrónicas $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$, $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$, $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$, $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_3$ y $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_4$, correspondientes a las

transiciones del Eu^{3+} (Figura 19). En este caso la línea de emisión de mayor intensidad está asociada a la transición ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_2$ del Eu^{3+} , que corresponde a un resultado típico, que se obtiene por el dipolo eléctrico forzado del ion de Eu^{3+} (Chu et al., 2017).

Por los fines de este trabajo, la línea de emisión de interés es aquella que se observa en los ~ 707 nm, asociada a la transición ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_4$, debido a que entra en el rango de la VB-I. Al correlacionar únicamente esta línea de emisión obtenida en nuestro material con lo reportado en la literatura, podemos observar un ligero corrimiento hacia la longitud de onda del rojo, dicho de otra manera, en la literatura se explica que la línea de emisión en cuestión se presenta en los ~ 720 nm en comparación a la nuestra que está en los ~ 707 nm. Este fenómeno se puede atribuir a la posible formación de óxidos de Ge y Bi, cuyas fases que forman comúnmente en la síntesis de este material, que actúan como impurezas en la muestra y que no son detectadas por técnicas como difracción de rayos-X (Belman-Rodriguez et al., 2018)(Belman-Rodriguez et al., 2018) (Belman-Rodriguez, Vidal-Limon, Contreras, Oviedo, & Aguila, 2018)(Belman-Rodriguez et al., 2018).

El espectro de FL demuestra que el Eu^{3+} está ocupando un sitio en la red del $\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}$, por lo que el dopado de la red se llevó acabo de manera exitosa.

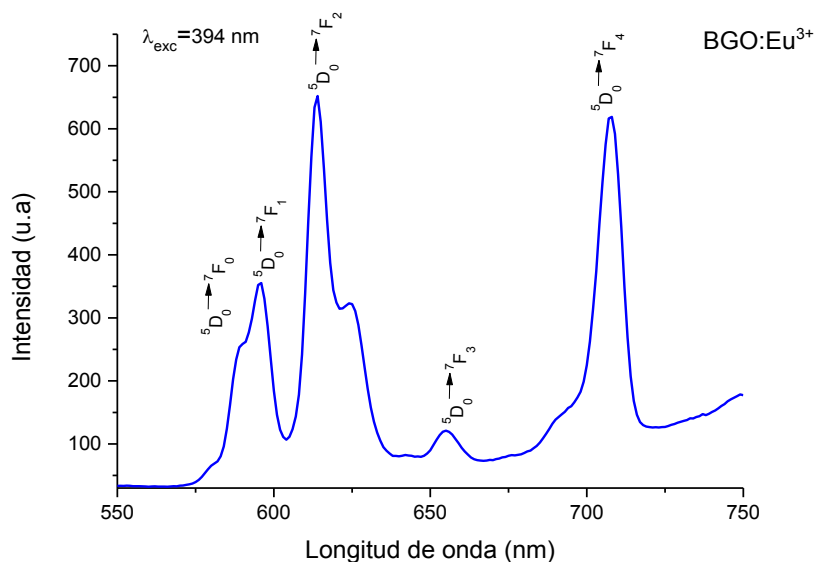


Figura 19. Espectro de emisión obtenido por fotoluminiscencia del $\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}$ dopado con 9% en peso de Eu^{3+} ($\text{BGO}:\text{Eu}^{3+}$).

El análisis del BGO:Eu por microscopía electrónica de transmisión (MET) muestra que el material posee una morfología poco definida, con un tamaño de partícula promedio de ~ 340 nm (Figura 20a y 20c). Otro de los resultados obtenidos por MET, fue la distancia entre los planos cristalinos del BGO:Eu, el valor obtenido fue de ~ 0.44 nm correspondiente a los planos (310) (Figura 20b). Al tomar en cuenta que esta distancia es mayor a la distancia interplanar reportada para el BGO sin dopar (0.32 nm), podemos asumir que el aumento en dicho valor se debe a la inserción de los iones de Eu^{3+} en la red del BGO (Chu et al., 2017).

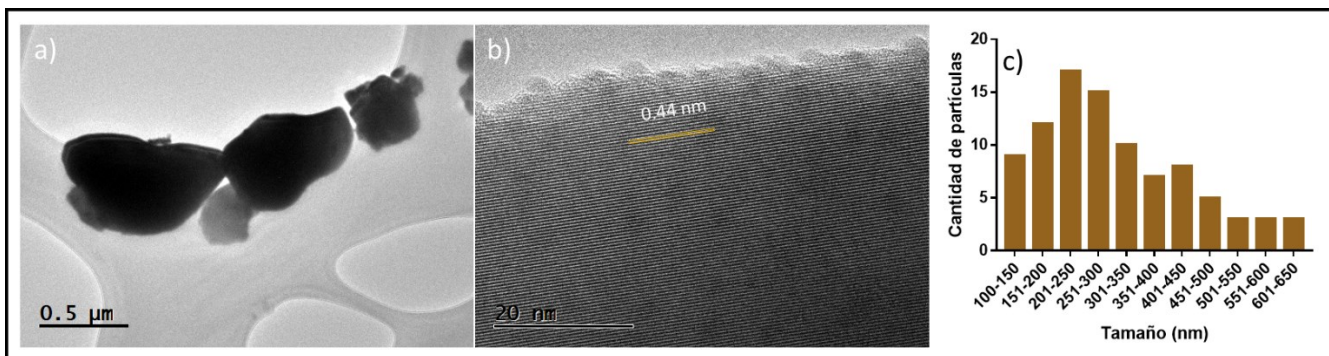


Figura 20. Micrografías del BGO:Eu obtenidas por MET, donde se puede observar la morfología del material (a), la distancia entre planos cristalinos (b). Además, se muestra el histograma de la distribución de tamaños de partícula (c).

4.2 Galato de litio dopado con cromo ($\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}^{3+}$)

Las muestras de $\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}^{3+}$ (LGO:Cr) sintetizadas por sol-gel, fueron caracterizadas por las técnicas de microscopía electrónica de barrido (MEB), difracción de rayos X y fotoluminiscencia (PL).

El análisis de la morfología del material, se llevó a cabo por MEB. Las Figuras 21a- 21b muestran las micrografías obtenidas por MEB para las muestras de LGO:Cr. En ambas imágenes se observa la formación de cúmulos por parte del material, cuya formación es típica después que se produce la calcinación de los xerogeles.

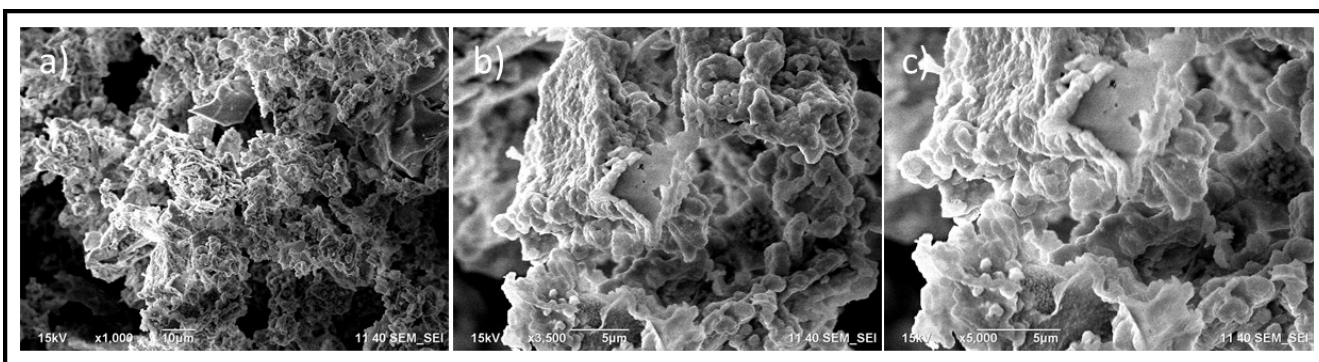


Figura 21. Micrografías de LGO:Cr obtenidas por MEB tomadas a diferentes ampliaciones: a) 1000x, b)3500x y c)5,000x.

El estudio de la estructura cristalina del material se realizó por la técnica de difracción de rayos-X. Los resultados se pueden observar en la Figura 22. Al comparar las señales del patrón de difracción, podemos observar que todas las señales empatan con los patrones de referencia de un cristal con grupo espacial $P4_332$, el cual se deriva del grupo espacial $Fd3m$ del cristal tipo espinela del $LiGa_5O_8$ y que se encuentra descrito en la carta cristalográfica JSPDF N. 76-199 (De Clercq et al., 2017).

También, se puede apreciar en el difractograma que no muestra la presencia de ninguna fase secundaria que pueda asociarse con la presencia de alguna impureza.

Al igual que con el BGO:Eu, para el LGO:Cr tampoco existe una carta cristalográfica que permita determinar la inserción del Cr^{3+} dentro de la red cristalina del $LiGa_5O_8$, sin embargo, la obtención de una fase cristalina sin impurezas es un buen indicio para determinar el éxito de la síntesis por sol-gel.

En las muestras que fueron analizadas por fotoluminiscencia, la emisión del material fue evaluada con una radiación de excitación de longitud de onda de 400 nm, el material presenta una banda de emisión estrecha centrada en ~ 720 nm (Figura 23). Esta emisión en el IFRC es característica de los iones Cr^{3+} y puede ser atribuida a la transición electrónica ${}^2E \rightarrow {}^4A_2$ que está relacionada a una transición prohibida del espín. En la gráfica también se observan señales a longitudes de onda de 706, 729 y 737 nm, las cuales están relacionadas con las señales de los fonones Stokes y anti-Stokes de las bandas laterales de la red (De Clercq y Poelman, 2018).

La caracterización por fotoluminiscencia y la banda de emisión que presenta la muestra en los ~ 720 nm, demuestra la presencia del Cr^{3+} en la red cristalina del $LiGa_5O_8$, lo que da lugar a la formación del $LiGa_5O_8:Cr^{3+}$.

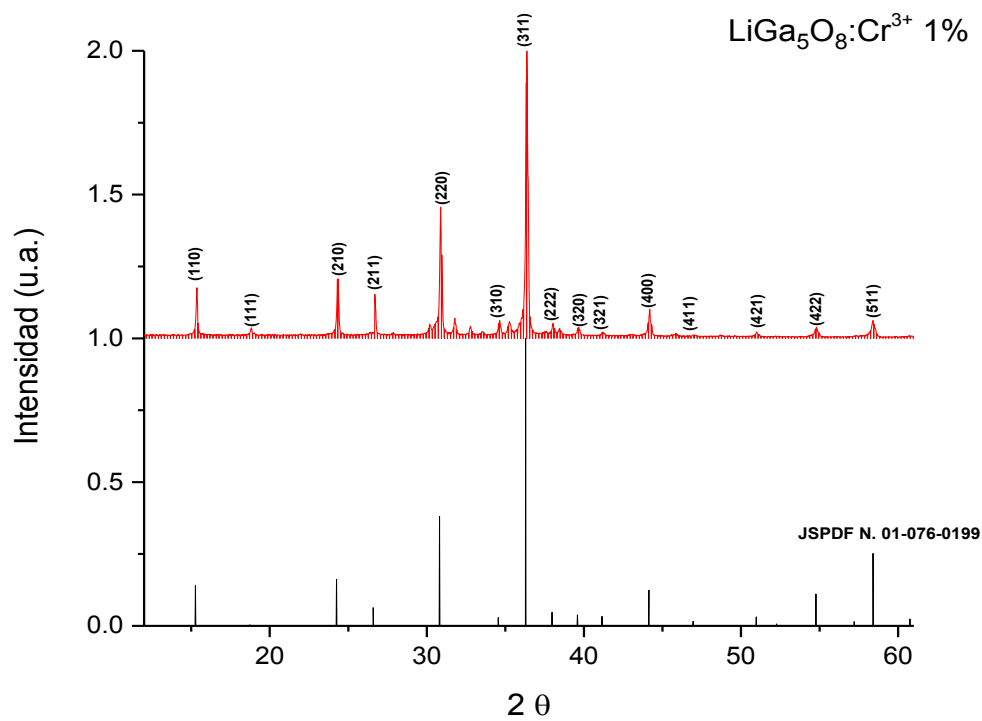


Figura 22. Patrón de difracción de la muestra $\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}^{3+}$ sintetizada por sol-gel.

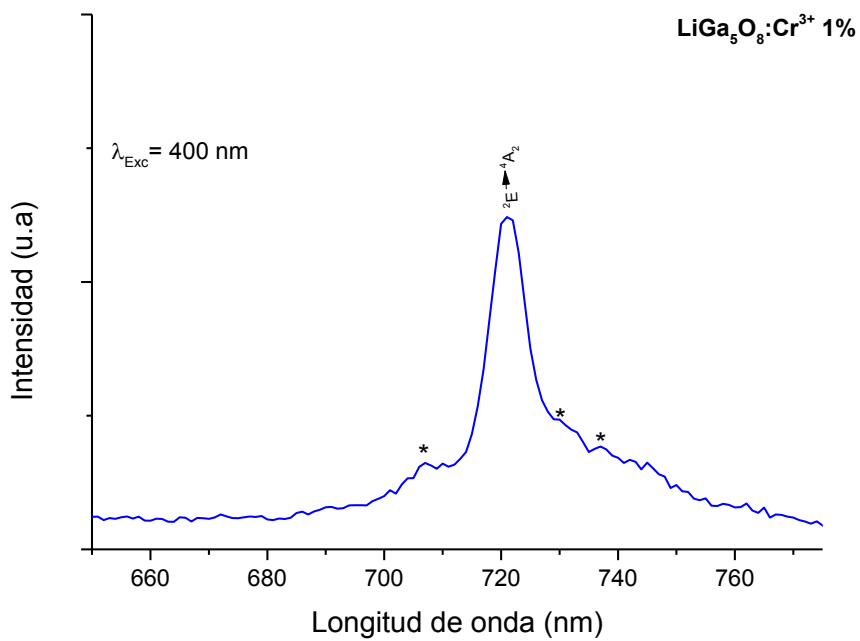


Figura 23. Espectro de emisión del $\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}^{3+}$ obtenido por fotoluminiscencia.

Para un análisis más detallado sobre la morfología del material y para determinar el tamaño de partícula, el LGO:Cr fue analizado por microscopía electrónica de transmisión (MET). Los resultados se muestran en las micrografías de la Figura 24, donde se puede observar que el LGO:Cr posee un morfología semi-esférica. Al realizar un análisis estadístico se logró determinar que el LGO:Cr posee un tamaño de partícula de aproximadamente 100 nm. Este resultado es determinante para aplicaciones biomédicas, debido a que un tamaño de partícula de esta índole permite una buena biodistribución del material, así como también, representa una baja probabilidad de provocar obstrucciones en el sistema circulatorio.

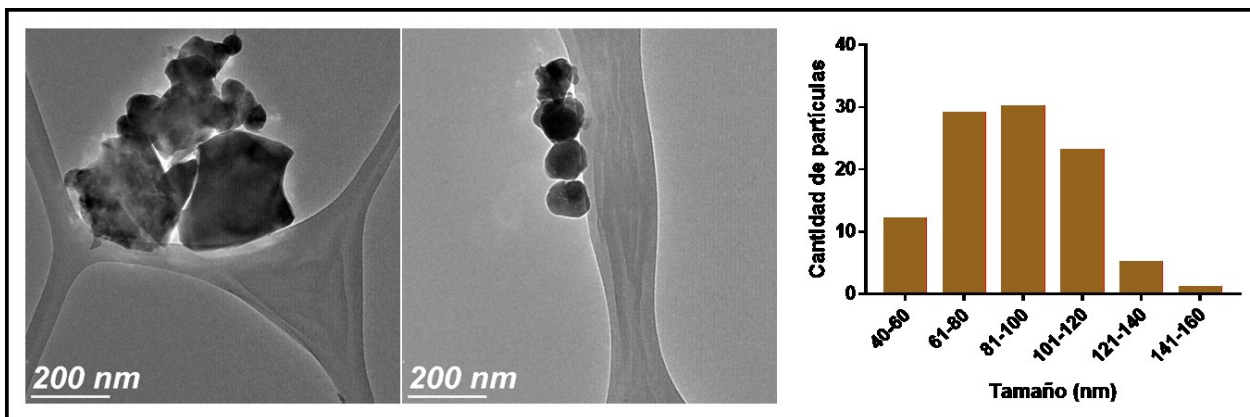


Figura 24. Micrografías del $\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}^{3+}$ obtenidas por MET donde se muestra la morfología del material. Además, se muestra el histograma de la distribución de tamaño de partícula.

4.3 Nano rods de oro (AuR)

La primera caracterización que se realizó para evaluar la síntesis de los AuR obtenidos por el método mediado por semillas fue a través de Uv-Vis. En la Figura 25 se pueden observar las tres gráficas correspondientes a los AuR14, AuR18 y AuR20. En cada gráfica se observan dos señales, la primera señal está centrada en ~ 540 nm y es atribuida a la resonancia transversal del PSFL de los AuR (Kim et al., 2018). En la segunda señal se observa un desplazamiento hacia la derecha y es atribuida a la resonancia longitudinal del PSFL de los AuR (Dickerson et al., 2008). Este desplazamiento está asociado a la variación en la cantidad de semillas que se utilizaron en la síntesis: 14, 18 y 20 μL respectivamente.

La absorbancia del plasmón de superficie para los tres diferentes AuR se encuentra centrada de la siguiente manera: AuR14 en ~ 730 nm, AuR18 en ~ 783 nm y AuR20 en ~ 777 nm. La importancia de la posición de los picos de absorción se debe a que con esa longitud de onda se puede activar el PSFL de los AuR y como se

ha explicado previamente, también se activa el mecanismo de calentamiento del medio que rodea a los AuR.

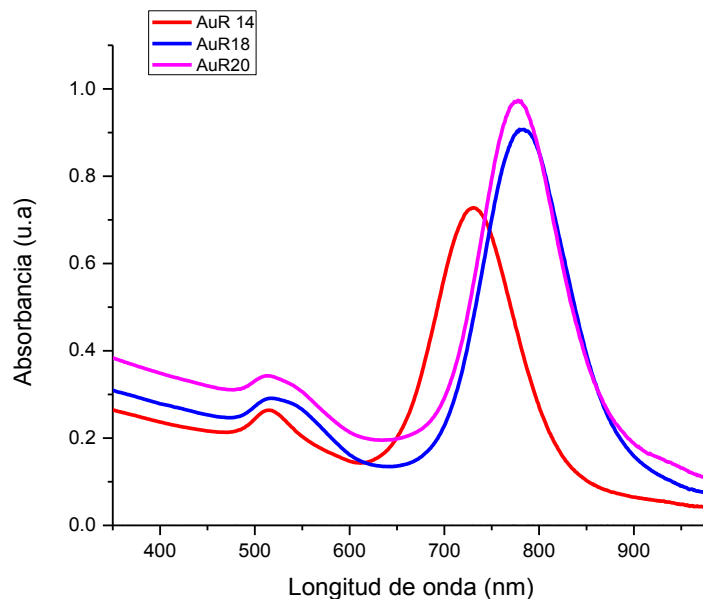


Figura 25. Gráficas de absorción obtenidas por UV-Vis, para los AuR obtenidos por el método de crecimiento mediado por semillas. Las gráficas se obtuvieron al añadir en la síntesis 14 μL , 18 μL y 20 μL de semillas respectivamente.

La morfología de los AuR fue analizada por MET, los resultados arrojados por la medición se muestran en la Figura 26, donde se puede observar la morfología característica de los AuR. Al hacer un análisis estadístico de cada una de las muestras, se pudieron calcular la relación de aspecto, donde los AuR14 presentaban una relación de aspecto de 3.2, los AuR18 de 3.1 y los AuR20 3.5. También se pudo determinar los valores de la distribución de tamaños promedio que presenta cada uno de los AuR, de tal manera que, la longitud de los AuR14 se ubica, principalmente, entre los 66-75 nm, en los AuR18 entre los 66-80 y en los AuR20, entre los 61-80 nm.

Los valores de las relaciones de aspecto y en general del tamaño de partícula para los AuR, son importantes porque van a determinar el factor fototérmico de conversión de calor (FFCC). Lo anterior se debe, a que cuando una NP es irradiada con luz, parte de la radiación es dispersada, mientras que otra parte es absorbida y posteriormente disipada al medio en forma de calor. Por lo tanto, los valores de la cantidad de energía absorbida y dispersada por una nanopartícula van a depender del tamaño y la morfología (Baffou et al., 2009a).

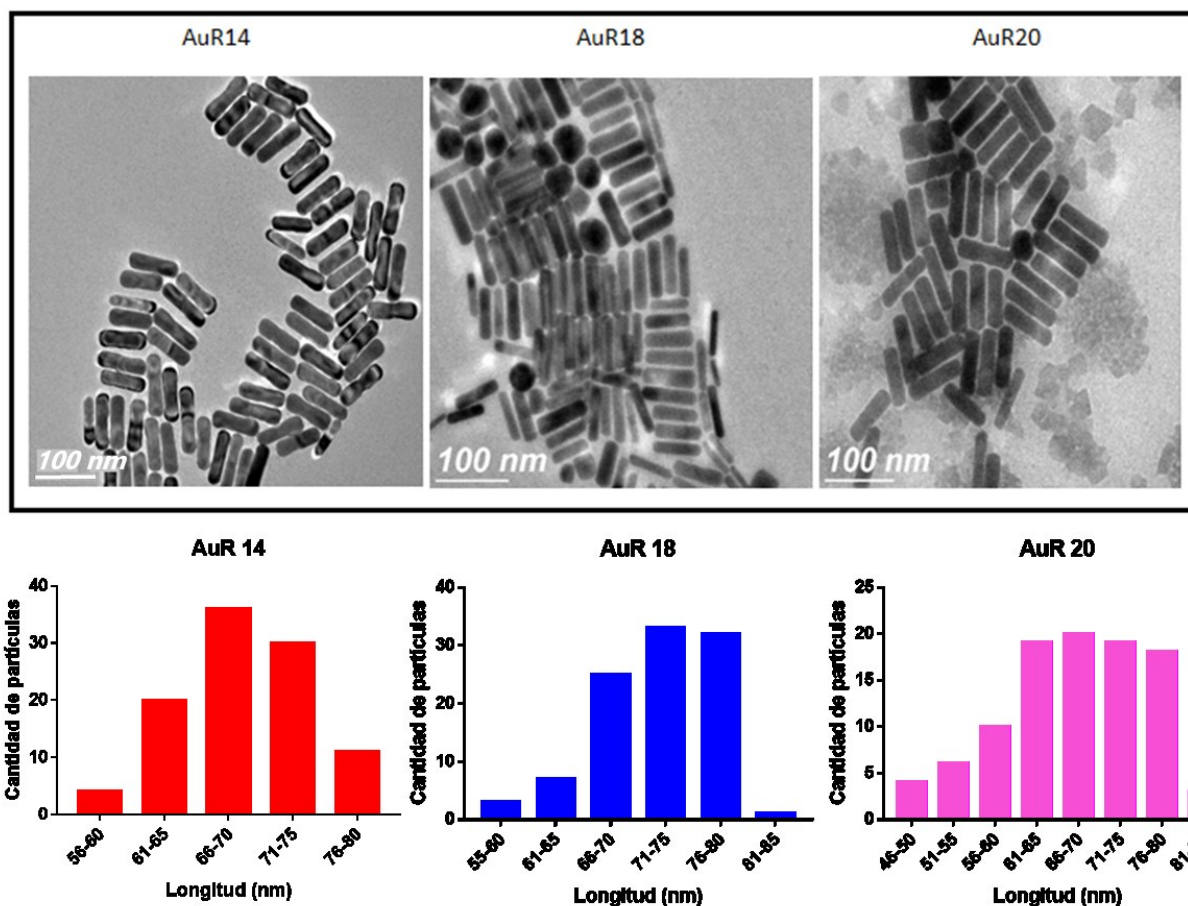


Figura 26. Micrografías y distribuciones de tamaño de partículas obtenidas por MET de los AuR sintetizados por el método mediado por semillas.

4.4 Materiales híbridos

Una vez caracterizadas las propiedades fisicoquímicas de cada uno de los materiales luminiscentes y los AuR, se procedió a realizar los ensambles de los materiales para la obtención de los materiales híbridos.

En esta sección se presentarán y discutirán los resultados obtenidos a partir del ensamble de los dos materiales luminiscentes previamente sintetizados y recubiertos con SiO_2 (BGO:Eu@ y LGO:Cr@) con los diferentes AuR de diferentes tamaños (AuR14, AuR18y AuR20).

4.4.1 Materiales híbridos a partir de BGO:Eu@SiO₂

Los ensambles hechos con el BGO:Eu recubierto con SiO₂ (BGO@SiO₂) para la obtención de los materiales híbridos, se realizaron tomando 4 alícuotas de 1.5 μ L de la solución stock (sección 4.4) y mezclando con 500 μ L y 560 μ L de AuR18, 500 μ L y 560 μ L de AuR20. Las cuatro muestras de AuR fueron utilizadas a una concentración 1 mM de CTAB. El resumen de los ensambles hechos a partir del BGO:Eu@SiO₂ y el nombre que se le asignó a cada uno de ellos se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Ensamblajes entre el BGO:Eu@SiO₂ y los AuR a una concentración de 1mM de CTAB.

Ensamblajes		
<u>BGO@SiO₂</u>	AuR 18	AuR 20
1.5 mL	500 μ L	500 μ L
	560 μ L	560 μ L
Muestras obtenidas	<u>B@500D18</u>	<u>B@500D20</u>
	<u>B@560D18</u>	<u>B@560D20</u>

La primera caracterización que se realizó a los materiales híbridos obtenidos a partir de BGO@SiO₂ fue por MEB. Las micrografías mostraron que los AuR se anclaron de manera exitosa sobre la superficie del BGO@SiO₂, también se pudo observar que los AuR no presentaban aglomeraciones al depositarse sobre la superficie del material luminiscente. La importancia de que los AuR no presenten aglomeraciones, es debido a que éstas provocan un corrimiento de la banda hacia longitudes de onda de mayor energía (Dreaden et al., 2012). De darse el efecto antes mencionado, no sería posible la activación del mecanismo de disipación de energía y el subsecuente aumento de temperatura en la longitud de onda de la VB-I.

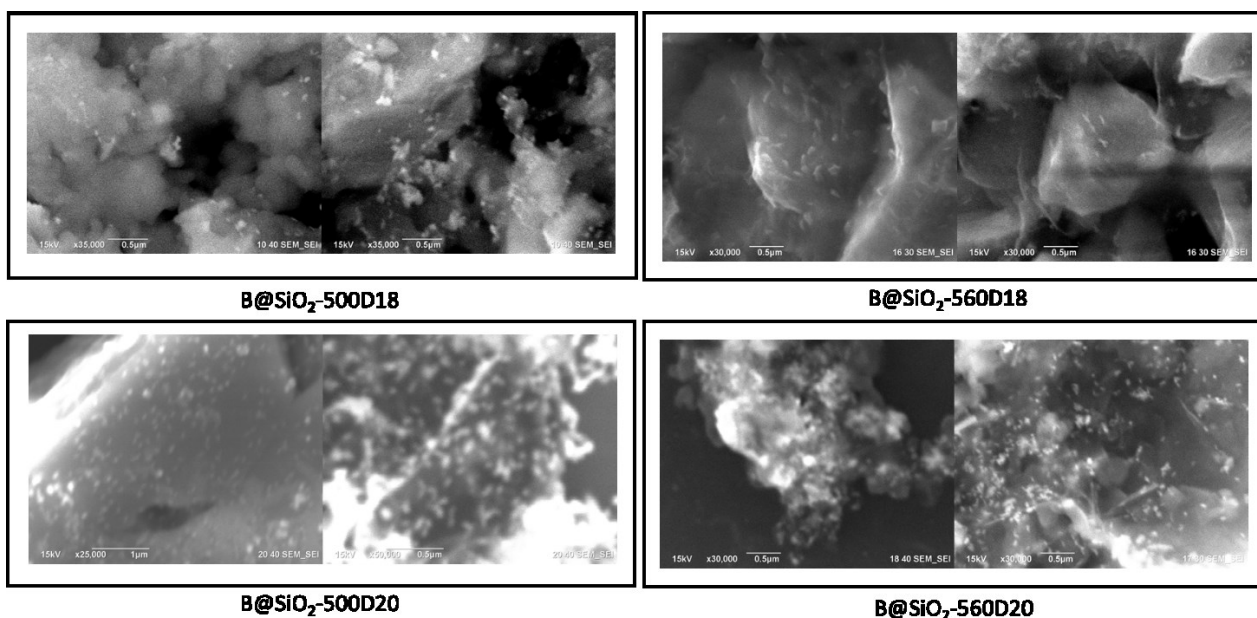


Figura 27. Micrografías obtenidas por MEB con una amplificación de 35,000X de los 4 diferentes ensambles hechos a partir de BGO:Eu y AuR.

Para determinar la influencia de las moléculas utilizadas en la funcionalización de la superficie en el anclaje de los AuR, se realizó un ensayo donde se seguía la misma metodología utilizadas para los ensambles, partiendo del BGO:Eu@SiO₂ pero omitiendo la funcionalización de su superficie con mezcla del (3-mercaptopropil) trimetoxisilano y (3-aminopropil) trimetoxisilano.

Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 28, donde es posible observar la ausencia de AuR sobre la superficie del BGO:Eu@SiO₂, por lo que podemos determinar que la funcionalización de la superficie del material luminiscente es determinante para el anclaje de los AuR.

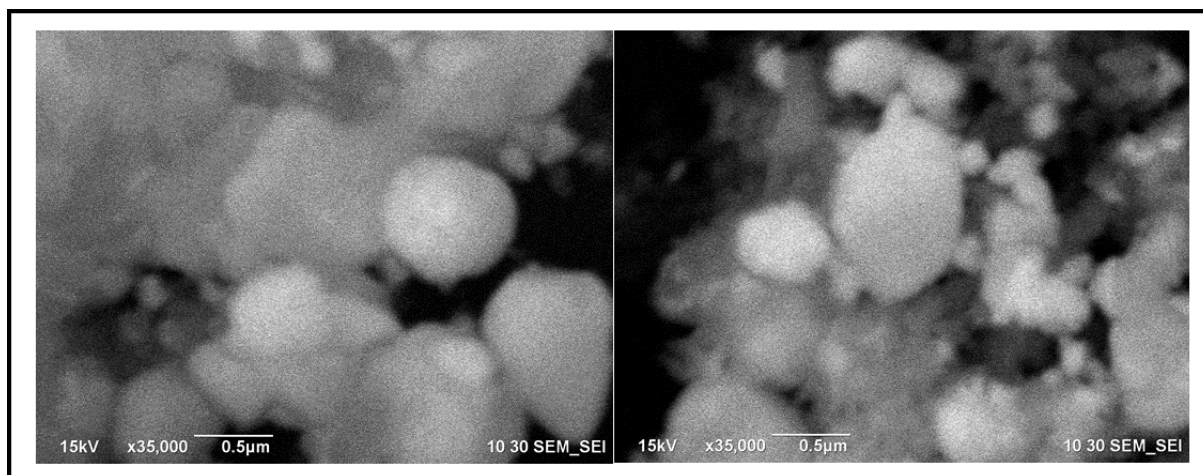


Figura 28. Micrografías de BGO:Eu@SiO₂ sin funcionalizar obtenidas por MEB a una amplificación de 35,000x. Las micrografías fueron tomadas después de intentar depositar AuR sobre su superficie y siguiendo el procedimiento descrito en la sección 4.6.

Los materiales híbridos a partir del BGO:Eu@SiO₂ fueron analizados por MET (Figura 29), con la finalidad de realizar un mejor análisis de la estructura. Las micrografías se muestran en la Figura 29, donde se puede observar el material luminiscente recubierto con una capa de SiO₂ con un espesor homogéneo de ~15 nm. También se pudo observar el anclaje de los AuR sobre la superficie del BGO:Eu@SiO₂. Es importante mencionar que el tamaño final de los materiales híbridos fue de aproximadamente 400 nm.

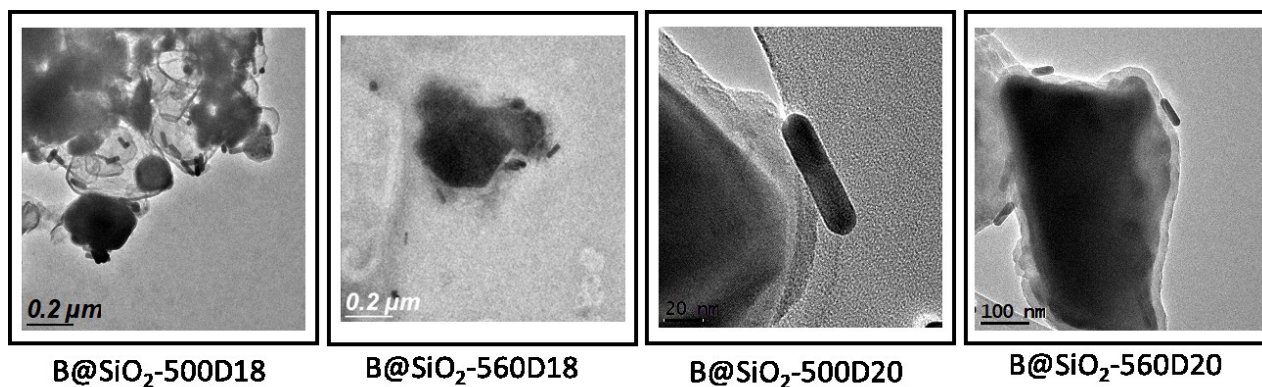


Figura 29. Micrografías obtenidas por MET de los materiales híbridos sintetizados a partir del ensamble de AuR con BGO:Eu@SiO₂.

Para que los materiales híbridos puedan ser contemplados como posibles agentes teranósticos, es importante determinar que las propiedades luminiscentes del BGO:Eu y de PSFL de los AuR prevalezcan cuando estén conjugados entre sí.

Para determinar las propiedades de luminiscencia de los materiales híbridos, las muestras fueron analizadas por catodoluminiscencia (CL). Los resultados del análisis se muestran en la Figura 30, donde se puede observar la presencia de una línea de emisión centrada en los ~ 705 nm y que corresponde a la misma línea que presentaba la muestra de BGO:Eu por FL y que está asociada a la transición $^5D_0 \rightarrow ^7F_4$ del Eu^{3+} (sección 4.1). También, en la misma Figura 30 se puede observar una fuerte señal de la banda de emisión para la muestra de BGO:Eu. Además, se observa una marcada atenuación para las muestras correspondientes al BGO:Eu@SiO₂ y para las que están asociadas a la conjugación de los materiales híbridos.

Para entender la disminución en la intensidad de la señal de luminiscencia de los materiales híbridos, se debe tomar en cuenta que las muestras fueron montadas sobre obleas de silicio. Para esta medición, la muestra asociada al BGO:Eu se montó en forma de polvo sobre la oblea de silicio, para el caso de los materiales híbridos, estos fueron puestos sobre las obleas de silicio a partir de una solución que presentaba una concentración de 0.66mg/mL. Las diferencias en las intensidades de la señal, se deben, a que, al utilizar polvo de BGO:Eu para el análisis, tenemos la presencia de una mayor cantidad de sitios luminiscentes, en comparación con la cantidad de sitios luminiscentes que presentaban las muestras de los materiales híbridos.

Al dejar de lado la señal de emisión correspondiente al BGO:Eu y al hacer una comparación entre los materiales restantes, de igual manera podemos observar una atenuación de la señal de emisión de los materiales híbridos con respecto a la señal del BGO:Eu@SiO₂. Este fenómeno se puede atribuir al incremento de centros no radiativos asociados a la presencia de los AuR sobre la superficie de los materiales híbridos (Oviedo et al., 2012).

Es importante mencionar, que la atenuación de la señal de emisión era un resultado esperado debido a la presencia del recubrimiento con SiO₂, la funcionalización con compuestos SH-(CH₂)_n-NH₂ y los AuR. En este caso es importante resaltar que la banda de emisión en el IFRC prevalece aún con la presencia de los elementos antes mencionados, lo que proporciona a nuestros materiales híbridos la posibilidad de emitir en el rango de la VB-I y ser detectados a través de los tejidos.

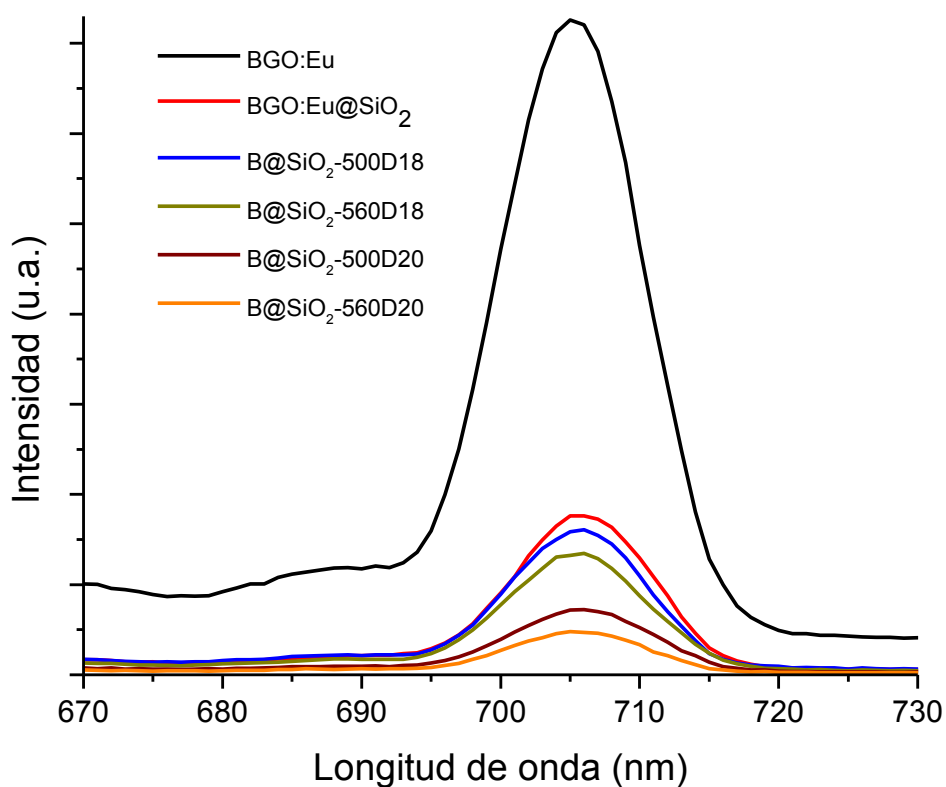


Figura 30. Espectro de emisión obtenido por CL de los materiales híbridos obtenidos a partir de los ensambles del BGO:Eu@SiO₂ con los AuR.

Una vez que se determinó que la banda de emisión en el IFRC, correspondiente al rango de la VB-I, no desaparecía ni presentaba corrimientos hacia otras longitudes de onda en los materiales híbridos, fue determinante evaluar la prevalencia de la señal del PSFL en ellos. Para llevar a cabo este paso, se realizaron mediciones por UV-Vis.

En la Figura 31 se presentan los resultados de la caracterización por UV-Vis. Se muestran cuatro gráficas diferentes, en cada una de ellas se observan tres espectros de absorbancia. Los que se presentan en color negro corresponden al material obtenido después de recubrir con SiO₂ y de funcionalizar la superficie con las moléculas MPTES-AMPTMS o muestra stock (BGO:Eu@SiO₂). El espectro presenta una banda centrada en los 900 nm, la cual está asociada a la presencia del recubrimiento con SiO₂ (Pivac et al., 2018).

De igual manera, todas las gráficas presentan un espectro señalado en color rojo, que corresponde a las absorbancias obtenidas con los diferentes AuR, de tal forma, que para las gráficas Figura 31A y Figura 31B, se muestran los espectros de absorbancia de los AuR18, mientras que, para las gráficas Figura 31C y Figura 31D se muestran los espectros de absorbancia de los AuR20. Para todos los casos, como ya se expuso con anterioridad, los espectros relacionados con los AuR presentan dos bandas de absorbancia, las cuales son características de la RPSL de los AuR (Hinman et al., 2017).

Los espectros marcados en color azul, en cada una de las gráficas, corresponden a la absorbancia de los diferentes materiales híbridos sintetizados. En todos estos espectros se observa que se mantienen las dos bandas de absorbancia correspondientes al PSFL de los AuR. Es importante mencionar, que dichas bandas presentan una disminución de la intensidad comparado con las bandas de plasmón de los AuR (rojas), se muestran también un corrimiento hacia longitudes de onda de menor energía (Tabla 3), cuyo resultado está asociado con un incremento en la relación de aspecto de los AuR al ser depositados sobre la superficie del BGO:Eu@SiO₂ (Huang et al., 2006).

De acuerdo con Rezvani Nikabadi y colaboradores, el ensanchamiento de las bandas que también se observan en los espectros obtenidos a partir de los materiales híbridos, podría estar relacionado con la sección transversal de extinción y el camino libre medio de los electrones de los AuR depositados sobre la superficie del BGO:Eu@SiO₂ (Rezvani Nikabadi et al., 2013).

Las señales agudas observadas en los espectros de las muestras B@SiO₂-500D18 (Figura 31A) y B@SiO₂-500D20 (Figura 31C), que se presentan en las posiciones de 580, 740 nm (31A) y 700 nm (31C) están asociadas con la incidencia de un fotón con la energía exacta y necesaria para excitar una transición electrónica (Kaufman, 2005).

En la Tabla 3 se hace una comparación entre las posiciones de las bandas del PSFL correspondientes a los AuR y las bandas obtenidas al analizar los materiales híbridos.

Tabla 3. Comparativo entre las bandas de absorbancia del PSFL de los AuR y las bandas de absorbancia de los materiales híbridos.

Muestra	Absorbancia (nm)	Muestra	Absorbancia (nm)
AuR18	787	AuR20	779
B@SiO ₂ -500D18	800	B@SiO ₂ -500D20	795
B@SiO ₂ -560D18	805	B@SiO ₂ -560D20	800

Considerando los resultados anteriores, se puede resaltar que en los materiales híbridos prevalecen las propiedades de PSFL de los AuR. Con la permanencia de las bandas de absorción se permite la activación del plasmón de superficie de los AuR, el cual puede inducir un aumento de temperatura localizado y por lo tanto, ser utilizado como agente de terapia en tratamientos contra cáncer.

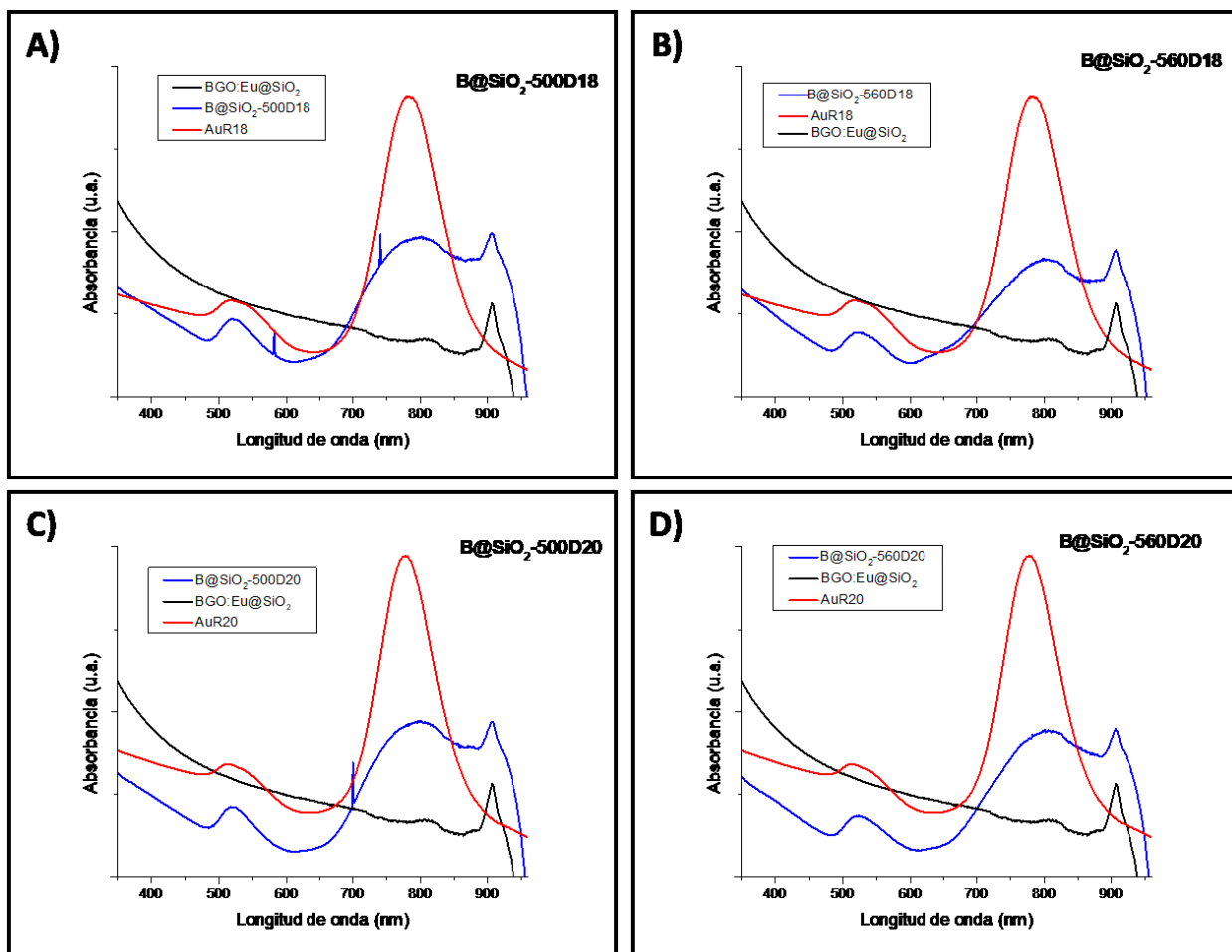


Figura 31. Espectros de absorbancia obtenidos por UV-Vis: A) B@SiO₂-500D18, B) B@SiO₂-560D20, C) B@SiO₂-500D20 y D) B@SiO₂-560D20.

4.4.2 Materiales híbridos a partir de LGO:Cr@SiO₂

Los ensambles hechos con LGO:Cr recubierto con SiO₂ (LGO@SiO₂) para la obtención de los materiales híbridos, se realizaron al tomar cuatro alícuotas de 1 mL de la solución stock (sección 4.4) y cada uno se mezcló con 450 μ L de AuR14, 300 μ L de AuR18, 150 μ L de AuR20 y 600 μ L de AuR20 respectivamente, lo

que permitió al final del proceso obtener cuatro muestras. El resumen de los ensambles hechos a partir del LGO:Cr@SiO₂ y el nombre que se le asignó a cada uno de los ensambles se presenta en la Tabla 4.

La diferencia en el volumen de las alícuotas tomadas de las soluciones stock de los materiales luminiscentes, se debe a las diferencias en el tamaño de partícula entre ambos materiales. El BGO:Eu@SiO₂ presenta un mayor tamaño de partícula en comparación con el LGO:Cr@SiO₂ y por lo tanto, una menor área superficial disponible para depositar los AuR, por lo que al aumentar el volumen de la alícuota del BGO:Eu@SiO₂ se logra obtener una mayor área de depósito.

Tabla 4. Ensamblajes entre el LGO:Cr@SiO₂ y los AuR a una concentración de 1mM de CTAB

Ensamblajes			
LGO:Cr@SiO ₂	AuR 14	AuR 18	AuR 20
1 mL	450μL	300μL	150μL 600μL
Nombre Muestras	L@450D14	L@300D18	L@150D20 L@600D20

La primera caracterización que se realizó a los materiales híbridos, a partir de LGO:Cr@SiO₂, fue por MEB. Las micrografías mostraron que los AuR se depositaron de manera exitosa sobre la superficie del LGO:Cr@SiO₂. En la Figura 32 se observa que no se presentan una aparente aglomeración de los AuR sobre la superficie de los materiales luminiscentes.

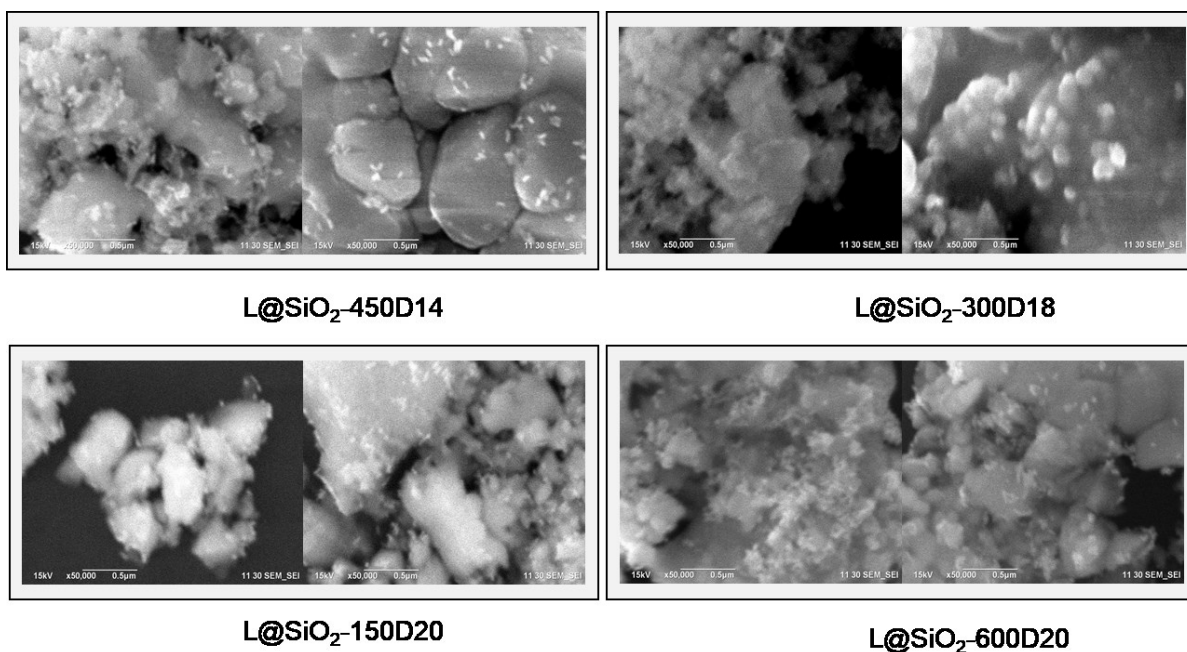


Figura 32. Imágenes tomadas por MEB con una amplificación de 40,000X de los 4 diferentes ensambles hechos con LGO:Cr y AuR.

Para determinar la influencia que tienen los entrecruzadores utilizados para la funcionalización de la superficie del nanomaterial en el anclaje de los AuR, se realizó un ensayo donde se seguía la metodología utilizada para los ensambles, partiendo del LGO:Cr@SiO₂ pero se omitió la funcionalización de la superficie con la mezcla del (3-mercaptopropil) trimetoxisilano y (3-aminopropil) trimetoxisilano.

Los resultados de este ensayo se muestran en la Figura 33, donde claramente se pudo observar la ausencia de AuR sobre la superficie del LGO:Cr@SiO₂, por lo que podemos inferir, que para el anclaje de los AuR es determinante la presencia de los entrecruzadores.

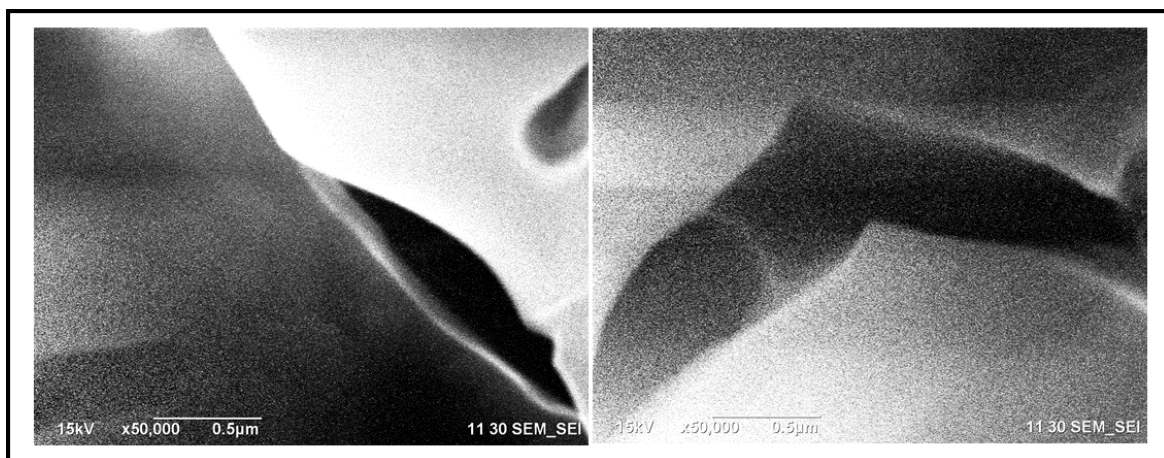


Figura 33. Micrografías de LGO@SiO₂ sin funcionalizar obtenidas por MEB a una amplificación de 50,000x. Las micrografías fueron tomadas después de intentar depositar AuR sobre su superficie y siguiendo el procedimiento descrito en la sección 4.6.

Los materiales híbridos fueron estudiados por MET, con la finalidad de realizar un mejor análisis sobre la estructura obtenida. Las micrografías se muestran en la Figura 34, donde se puede observar con claridad el material luminiscente recubierto por una capa de SiO₂ con un espesor homogéneo de ~10 nm. Además, se observó que los AuR interaccionan con la capa de SiO₂. Es importante mencionar que el recubrimiento, en la mayoría de los casos, se llevó a cabo con más de una nanopartícula luminiscente. Al realizar las mediciones del tamaño, se determinó que los materiales híbridos, obtenidos a partir de LGO:Cr@SiO₂, tenían un tamaño de partícula de ~210 nm.

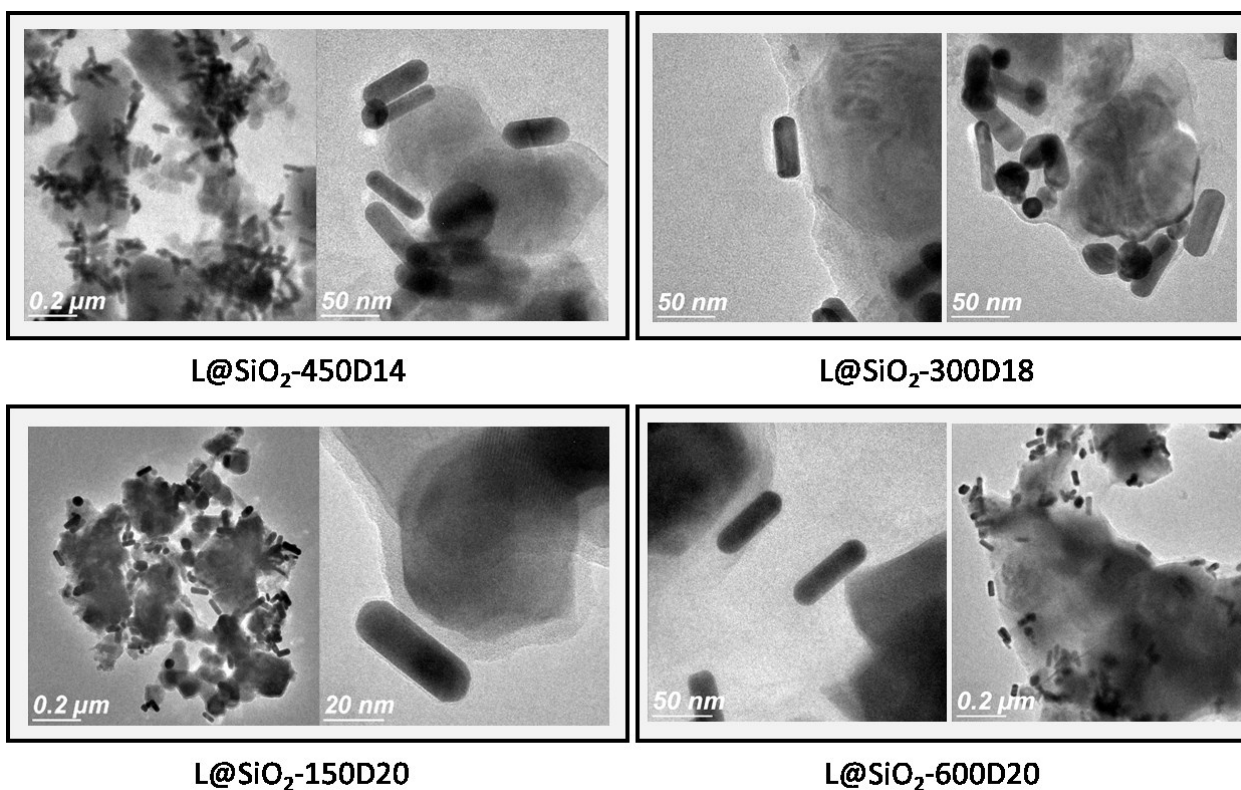


Figura 34. Micrografías obtenidas por MET de los materiales híbridos sintetizados a partir del ensamble de AuR con LGO:Cr@SiO₂.

Por otro lado, la evaluación de las propiedades luminiscentes de los materiales híbridos, obtenidos a partir de LGO:Cr@SiO₂, se realizó por fotoluminiscencia (FL). Los resultados se muestran en la Figura 35, donde se observa que, para todas las muestras, hay presencia de una línea de emisión centrada en los ~ 720 nm, que corresponde al LGO:Cr y que está asociada a la transición ${}^2E \rightarrow {}^4A_2$ del ion Cr³⁺ (R.-S. Liu, 2016).

El espectro que presenta una mayor intensidad en la emisión, es la que está asociada con la muestra LGO:Cr@SiO₂, mientras que los espectros asociados con los materiales híbridos presentan una marcada atenuación, este fenómeno al igual que en los materiales híbridos obtenidos a partir de BGO:Eu, se puede atribuir al incremento de centros no radiativos asociados con la presencia de AuR sobre la superficie del LGO:Cr@SiO₂.

Es importante resaltar que las propiedades luminiscentes en los materiales híbridos se mantienen, puesto que no se presenta ningún corrimiento de la banda de emisión y que la señal sigue centrada en la región del IFRC, lo que brinda a estos materiales la posibilidad de emitir en el rango de la VB-I, además de

mantener las propiedades luminiscentes adecuadas para futuras aplicaciones biomédicas para el diagnóstico de cáncer.

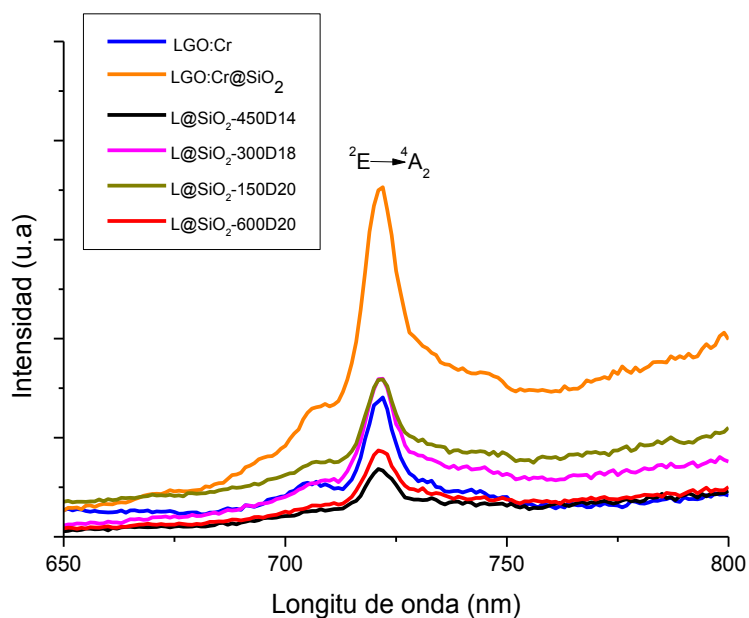


Figura 35. Espectro de emisión obtenido por FL de los materiales híbridos obtenidos a partir de los ensambles del BGO:Eu@SiO₂ con los AuR.

Después de determinar que la banda de emisión en el IFRC prevalecía para los materiales híbridos sintetizados a partir de LGO:Cr@SiO₂ y los AuR, era determinante evaluar la prevalencia de la señal de PSFL, la cual fue realizada a través de espectroscopía de UV-Vis.

En la Figura 36 se presentan los resultados de la caracterización por UV-Vis. Se muestran cuatro gráficas, en cada una de ellas se observan tres espectros de absorbancia, los que se presentan en color negro corresponden al material obtenido después de recubrir el LGO con SiO₂ y después de funcionalizar la superficie con las moléculas MPTES-AMPTMS, a esta muestra en la sección 3.6 se le denominó solución stock (LGO:Cr@SiO₂). Este espectro presenta una banda centrada en los 900 nm, la cual está asociada al recubrimiento con SiO₂.

Todas las gráficas presentan un espectro señalado en color rojo, que corresponde a las señales de absorbancia obtenida de los diferentes AuR, de tal forma que para las gráficas de la Figura 36A, se

muestran en rojo los espectros correspondientes a los AuR14, en la Figura 36B los AuR18, mientras que para las Figuras 36C y 36D, se muestran en rojo los AuR20. En cada una de las gráficas, los espectros asociados a los diferentes AuR, presentan dos bandas, que como ya se expuso con anterioridad, son características de la RPSL de los AuR (Johnson et al., 2002).

En todas las gráficas de los materiales híbridos, se observan espectros marcados en color azul, que corresponden a la absorbancia de los diferentes materiales híbridos. En todos los espectros se puede observar que se mantienen las bandas de absorbancia asociadas a la RPSL de los AuR. Es importante mencionar, que estas bandas presentan una atenuación en la intensidad comparadas con las bandas de plasmón de superficie de los AuR (color rojo). Otro detalle que se observa es que se presenta un corrimiento hacia el rojo (Tabla 5), fenómeno que también se observó en los materiales híbridos obtenidos a partir del BGO:Eu, y que de igual manera está asociado con un incremento en la relación de aspecto de los AuR, el cuál ocurre cuando los AuR se anclan sobre la superficie del LGO:Cr@SiO₂.

También, en estos materiales se observa un ensanchamiento de las bandas asociadas a la RPSL, el cual también podría estar relacionado con la sección transversal de extinción el camino libre medio de los AuR (Hogan et al., 2014).

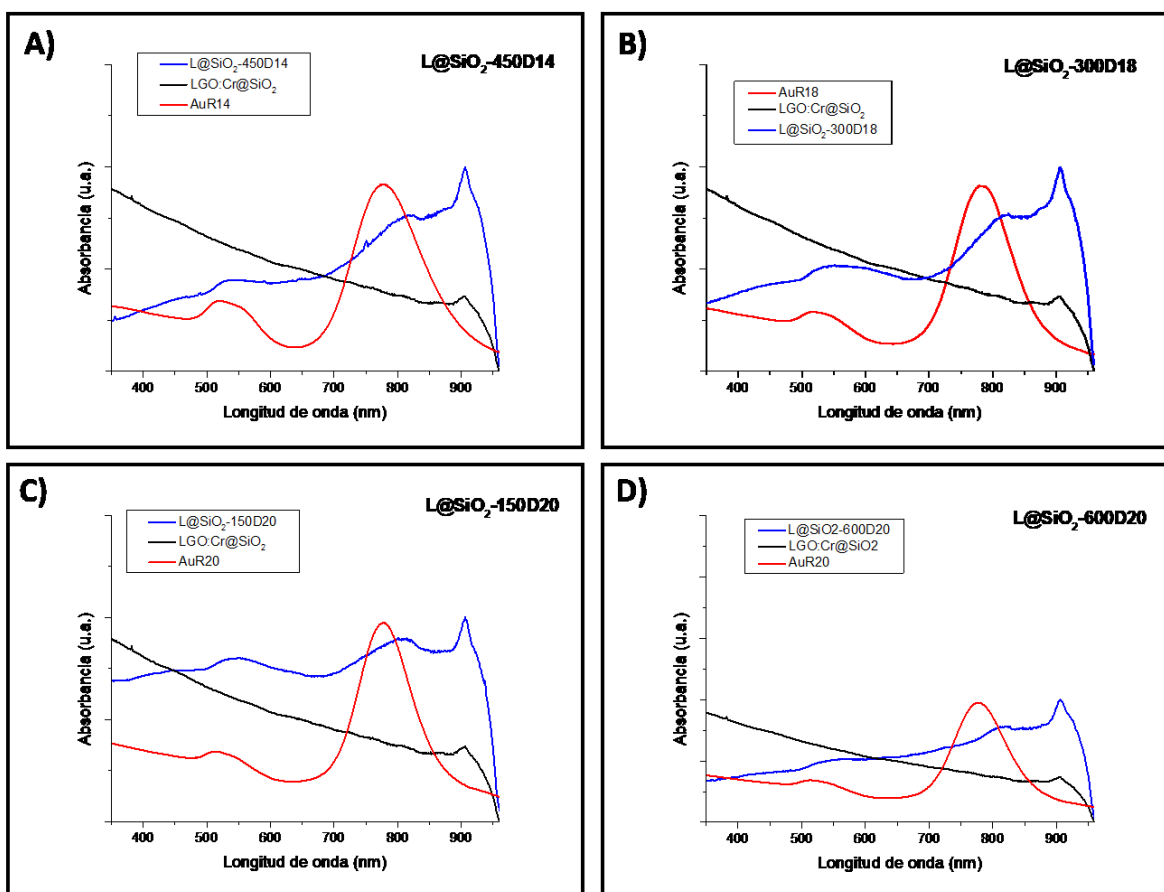


Figura 36. Espectros de absorción obtenidos por Uv-Vis: A) L@SiO₂-450D14, B) L@SiO₂-300D14, C) L@SiO₂-150D20 y D) L@SiO₂-600D20.

En la Tabla 5 se hace una comparación entre las posiciones de las bandas del plasmón de superficie localizado obtenidas en los diferentes AuR y las bandas de plasmón que presentan los materiales híbridos obtenidos a partir del LGO:Cr.

Tabla 5. Comparación entre las bandas asociadas a la oscilación del plasmón de superficie asociadas a los AuR y las bandas de oscilación del plasmón de superficie asociadas a los materiales híbridos obtenidos a partir de LGO:Cr.

Muestra	Absorbancia (nm)	Muestra	Absorbancia (nm)	Muestra	Absorbancia (nm)
AuR14	775	AuR18	787	AuR20	779
L@SiO ₂ -450D14	815	L@SiO ₂ -300D18	820	L@SiO ₂ -150D20	810
				L@SiO ₂ -600D20	816

4.5 Efecto térmico

Una vez que se caracterizaron las propiedades fisicoquímicas de los materiales individuales y los materiales híbridos, se comprobó que en todos los casos, las propiedades luminiscentes y de PSFL se conservaron, por lo que, el siguiente paso consistió en evaluar el posible aumento de temperatura que pudiera generarse al excitar el plasmón de superficie presente en los materiales híbridos. Para llevar a cabo este experimento se utilizó un calentador óptico diseñado específicamente para este trabajo de tesis y cuyas características se abordaron con amplitud en la sección 3.7.

En esta sección se analizarán los resultados obtenidos al irradiar los AuR y los materiales híbridos con una radiación de longitud de onda de 810 nm, que coincide con la energía necesaria para excitar el PSFL de dichos materiales y con ello desencadenar los procesos físicos que generan un aumento de temperatura en el medio.

La primera aproximación se realizó al irradiar, únicamente, los tres diferentes AuR, los cuales presentaban una concentración de 1 mM de CTAB. Esta concentración coincide con la que se utilizó para realizar los ensambles de los AuR con los materiales luminiscentes.

En la Figura 37 se presentan cuatro curvas, las temperaturas iniciales corresponden a la temperatura ambiente. La radiación de las muestras se realizó con una potencia de 800 mW durante 30 min. La curva marcada en color azul está asociada con agua, la cual se utilizó como muestra control, tomando en cuenta la temperatura inicial, se aprecia un aumento de temperatura de 5.5°C (Tabla 6).

Para las curvas asociadas a los AuR, se observa un mayor incremento de temperatura en comparación con lo observado en el control. Para los AuR14 se midió un incremento de 11.9°C, para los AuR 18 un incremento de 10°C, mientras que para los AuR20 se observó un incremento de 12.7°C. El cambio de temperatura con respecto al control es inducido por el FFCC (factor fototérmico de conversión de calor), el cual está asociado a la excitación del PSFL y la posterior relajación no radiativa a través de los acoplamientos electrón-fonón y fonón-fonón que generan un calentamiento localizado (Huang y El-Sayed, 2011).

Los resultados muestran un aumento mayor de temperatura para los experimentos hechos con AuR20. El FFCC que muestran estos materiales se atribuye a que presentan una relación de aspecto más grande (3.5)

con respecto a los otros 2 tipos de AuR. La relación de aspecto de los AuR20 se traduce en una proporción de longitud mayor y una anchura menor en comparación con los otros AuR (Baffou et al., 2009b).

Los AuR20 en nuestro caso poseen una mayor elongación en comparación con los AuR14 y AuR18. Tomando en cuenta que la generación de calor por parte de los AuR es una contribución directa de los átomos de Au que se encuentran en la superficie de los AuR, ya que son éstos los que tienen una interacción directa con la luz incidente, por consecuencia, la mayor parte de los átomos de Au que conforman los AuR y se encuentran alejados de la superficie, permanecen inactivos. Sin embargo, para AuR con una mayor elongación, la parte interna se acerca a la parte externa, lo que ocasiona que todo el volumen del AuR participe en el proceso de calentamiento (Baffou et al., 2009a). El proceso anterior coincide con nuestras mediciones experimentales y algunas mediciones reportadas en la literatura (MacKey et al., 2014b).

El análisis anterior describe los aumentos de temperatura obtenidos para los AuR14 y los AuR 18, donde los AuR14 poseen una mayor elongación en comparación con los AuR18 y también registran un mayor aumento de temperatura.

En la tabla 6 se muestra un resumen de las diferentes temperaturas medidas antes y después de ser irradiadas con un láser IFR.

Tabla 6. Comparación entre las temperaturas iniciales (Ti) y las temperaturas finales (Tf) de los AuR. Las mediciones fueron obtenidas antes y después de irradiar las muestras con un láser IFR de ~810 nm.

Muestra	Ti (°C)	Tf (°C)	ΔT (°C)
Agua	23.2	28.7	5.50
AuR14 1Mm	24.3	36.2	11.9
AuR18 1mM	24.5	34.5	10.0
AuR20 1mM	24.1	36.8	12.7

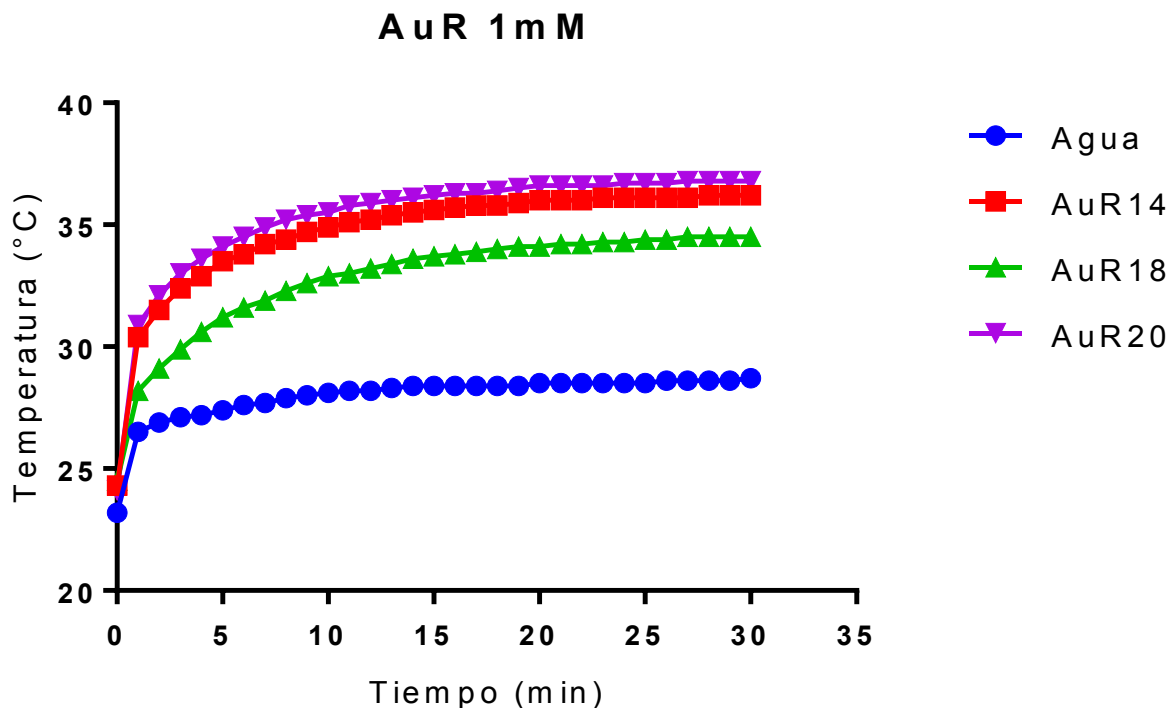


Figura 37. Gráficos que muestran el cambio de temperatura inducido por el calentamiento fototérmico de los diferentes AuR a 1mM de CTAB. Las lecturas de las temperaturas iniciales fueron tomadas a temperatura ambiente.

La segunda medición que se realizó con el calentador óptico, fue para medir la respuesta de temperatura de los materiales híbridos sintetizados a partir de BGO:Eu. Para esta medición se utilizaron dos muestras control, la primera fue agua y la segunda fue el BGO:Eu@SiO₂ (también llamada solución Stock, sección 3.6).

Al igual que con los AuR, las muestras fueron irradiadas durante 30 min con un láser IFR de 810 nm de longitud de onda y 800 mW de potencia. En la Tabla 7 se muestran los resultados de las mediciones de cambio en la temperatura del sistema, donde se indican los valores iniciales y finales de cada experimento. La muestra que presentó un mayor incremento de temperatura fue el sistema B@SiO₂-500D20 con un ΔT de 11.1°C, al comparar este valor con el valor obtenido en la muestra control (agua), la cual presentó un ΔT de 6.6°C, se aprecia una diferencia entre ambas muestras de 4.5°C, dicha diferencia se atribuye al conjunto de componentes del material híbrido. Por otro lado, al comparar el mismo material híbrido (B@SiO₂-500D20) con la segunda muestra control (BGO:Eu@SiO₂), podemos observar una diferencia de temperatura entre ambos ΔT de 3.6°C, este incremento de temperatura (Tabla 7) está directamente relacionado con la presencia de los AuR en el sistema, es decir que, se logra activar el PSFL de los AuR

presentes en la superficie de la muestra con la energía del láser utilizado, lo que trae como consecuencia un incremento de temperatura del medio donde se encuentran suspendidas (Kim et al., 2018).

Al analizar los ΔT de las dos muestras control, se puede observar que entre ambas, hay una diferencia de 1.4°C, donde la que presenta un mayor aumento de temperatura es la muestra control BGO:Eu@SiO₂, dicho incremento de temperatura, está asociado a que, al existir un material en suspensión (stock) e irradiarlo con un láser de 810 nm de longitud de onda, se activan las frecuencias vibracionales del material, lo que conlleva a una mayor absorción de energía y una subsecuente disipación en forma de calor al medio.

Otra de las variaciones que se aprecian la Tabla 7, es un ΔT de 7.2°C para la muestra de B@SiO₂-560D20, este es un resultado no esperado, debido a que esta muestra contenía una mayor cantidad de AuR20 en comparación con la muestra del B@SiO₂500D20. Esto se puede atribuir a un anclaje deficiente de los AuR20 en esta muestra, lo que genera una menor cantidad de AuR y una disminución del FFCC (Baffou et al., 2009a).

Para las muestras que presentaban AuR18, se pudo observar un comportamiento similar entre ambas, los ΔT medidos fueron de 8.4°C para el B@SiO₂-500D18 y de 8.6°C para el B@SiO₂-560D18. Es importante señalar que se observa un cambio en la pendiente de la curva asociada a B@SiO₂-500D18 y con ello una disminución en la temperatura, este fenómeno pudiera ser atribuido a una disminución en la estabilidad de la potencia del láser.

Tabla 7. Comparación entre las temperaturas iniciales (Ti) y las temperaturas finales (Tf) de los materiales híbridos sintetizados a partir de BGO:Eu. Las mediciones fueron obtenidas antes y después de irradiar las muestras con un láser IFR de ~810 nm de longitud de onda. La gráfica que se obtuvo en las mediciones se muestra en el anexo 3 (Figura 46).

Muestra	Ti (°C)	Tf (°C)	ΔT (°C)
Agua	21.3	27.9	6.6
BGO:Eu@SiO ₂	25.1	32.6	7.5
B@SiO ₂ -500D20	24.6	35.7	11.1
B@SiO ₂ -500D18	24.7	33.1	8.4
B@SiO ₂ -560D20	24.6	31.8	7.2
B@SiO ₂ -560D18	23.1	31.7	8.6

Los mismos ensayos fueron realizados para los materiales híbridos sintetizados a partir de LGO:Cr, de los cuales las muestras controles fueron agua y LGO:Cr@SiO₂. Los resultados obtenidos, es decir, las temperaturas inicial y final de cada experimento se muestra en la Tabla 8. En esta ocasión, la muestra que mostró un mejor FFCC fue el L@SiO₂-150D20, con un ΔT de 10.7°C. Como se analizó en la Figura 37, los AuR20 son los que tienen un mejor FFCC, por lo tanto, el efecto sobre la temperatura concuerda con las mediciones que se muestran para los AuR 1 mM de CTAB. Sin embargo, se esperaba que la muestra L@SiO₂-600D20 presentara una mayor elevación de temperatura, debido a la presencia de una mayor cantidad de AuR20.

Al analizar los desplazamientos de las señales de plasmón de superficie localizado longitudinal que se presentaron en los espectros de UV-Vis de los materiales híbridos con respecto a las señales homólogas de los AuR (Figura 36), podemos observar que la señal para los AuR20 está centrada en ~777 nm, mientras que la señal del L@SiO₂-150D20 está centrada en ~810 nm y la del L@SiO₂-600D20 en 819 nm, lo que representa un desplazamiento con respecto a los 777 nm de los AuR20 de 33 nm y 42 nm respectivamente. Los desplazamientos del plasmón están asociados a posibles aglomeraciones de los AuR, las cuales están relacionadas con una disminución en el FFCC, fenómeno que podría explicar la menor elevación de temperatura que presentaron los L@SiO₂-600D20. Sin embargo no se descartan posibles deficiencias en el anclaje de los AuR20 sobre la superficie del LGO:Cr@SiO₂.

Para los materiales híbridos asociados a los AuR14 y los AuR18, se obtuvieron mediciones que presentaron un incremento de la temperatura de 6.2°C para L@SiO₂-450D14 y de 6.5°C para L@SiO₂-300D18. Estos resultados no se correlacionan con las mediciones reportadas en la Figura 37. El fenómeno puede ser atribuido a posibles variaciones en la potencia del láser, debido a que en este experimento se observa, que las muestras con presencia de AuR14 y AuR18 no superaron el ΔT medido en la muestra control correspondiente al LGO:Cr@SiO₂, resultado que contrasta con la mayoría de las mediciones aquí reportadas.

Es importante mencionar, que las mediciones del efecto térmico realizadas con los materiales híbridos sintetizados a partir de LGO:Cr, fueron las primeras que se hicieron y, basados en el bajo FFCC, pero sobre todo, basados en el desplazamiento de la señal de plasmón de superficie localizado longitudinal que presentaron los materiales híbridos sintetizados a partir de AuR14, fue que se decidió no continuar probando los AuR14 y fue la razón por la cual no se ensamblaron sobre el BGO:Eu@SiO₂. Los AuR14 presentaron una señal del plasmón longitudinal centrada en ~730 nm, mientras que en el L@SiO₂-450D14

la señal estaba centrada en ~ 821 nm (Figura 36), lo que significa un desplazamiento de ~ 91 nm, un valor que nos indicaba una posible aglomeración de los AuR14.

Tabla 8. Comparación entre las temperaturas iniciales (Ti) y las temperaturas finales (Tf) de los materiales híbridos sintetizados a partir de LGO:Cr. Las mediciones fueron obtenidas antes y después de irradiar las muestras con un láser IFR de ~ 810 nm de longitud de onda. La gráfica que se obtuvo de las mediciones se muestra en el anexo 3 (Figura 47).

Muestra	Ti (°C)	Tf (°C)	ΔT (°C)
Agua	22.4	28.2	5.8
LGO:Cr@SiO ₂	25.1	32.1	7.0
L@SiO ₂ -450D14	22.8	29.0	6.2
L@SiO ₂ -300D18	21.2	27.7	6.5
L@SiO ₂ -150D20	23.3	34.0	10.7
L@SiO ₂ -600D20	24.5	34.0	9.5

El siguiente experimento que se realizó con el calentador óptico, fue interponer entre el haz incidente del láser y la muestra, una sección transversal de un tejido muscular animal, con la finalidad de observar el grado de transparencia óptica y el posible daño al tejido al hacer incidir la radiación láser a 800 mW y tratar de excitar el plasmón de los AuR presentes en los diferentes materiales híbridos.

Los resultados del experimento para los materiales híbridos obtenidos a partir de BGO:Eu, se muestran en Figura 40, mientras que los valores de temperatura iniciales y finales de cada muestra se observa en la Tabla 9.

Al considerar lo descrito anteriormente, se puede observar en la Tabla 9, que la muestra que presenta un mejor FFCC es la B@SiO₂-500D20. Este resultado concuerda con los observado en la Tabla 7 y como ya se abordó anteriormente, también concuerda con los resultados mostrados en la Tabla 8. Sin embargo, en la Figura 41 se puede observar que las variaciones de temperatura se traslapa con los valores de las barras de error asignadas a materiales como B@SiO₂-500D18 y B@SiO₂-560D20.

Para tener una mejor perspectiva, a los resultados obtenidos se les realizó un análisis de varianza (ANOVA), con un valor $\alpha=0.05$, en este estudio, los aumentos de temperatura que se midieron para cada uno de los materiales híbridos, fueron comparados con las dos muestras control (agua y BGO:Eu@SiO₂).

Al realizar la primera comparación con respecto al agua (Figura 39A), se pudo observar que todas las muestras mostraron un aumento de temperatura significativo con respecto al control (*). Sin embargo, al comparar los datos de aumento de temperatura de los materiales híbridos con el segundo control, en este caso el BGO:Eu@SiO₂ (Figura 39B), se observó que las diferencias de temperaturas no fueron significativas

Tabla 9. Comparación entre las temperaturas iniciales (Ti) y las temperaturas finales (Tf) de los materiales híbridos sintetizados a partir de BGO:Eu. Las mediciones fueron obtenidas antes y después de irradiar las muestras con un láser IFR de ~810 nm de longitud de onda. Para la medición, un tejido de pollo se interpuso entre la radiación incidente del láser y la muestra.

Muestra	Ti (°C)	Tf (°C)	ΔT (°C)
Agua	23.03	27.3	4.27
BGO:Eu@SiO ₂	23.86	29.3	5.44
B@SiO ₂ -500D20	23.93	31	7.07
B@SiO ₂ -500D18	24.16	30.7	6.54
B@SiO ₂ -560D20	23.53	29.4	5.87
B@SiO ₂ -560D18	24.46	30.16	5.7

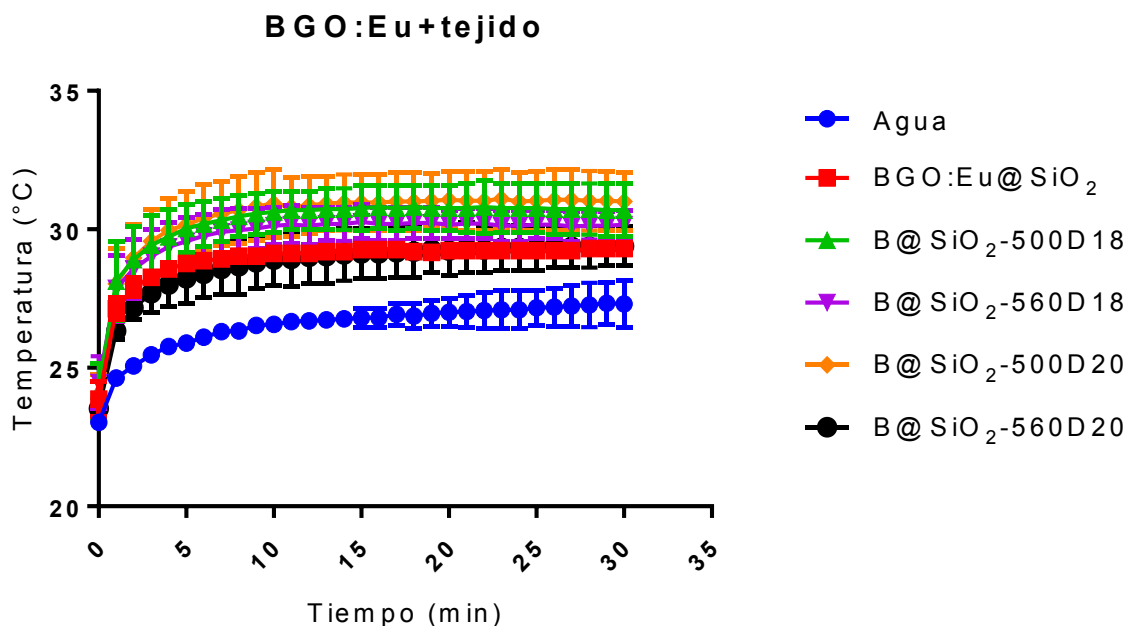


Figura 38. Gráficos que muestran el cambio de temperatura inducido por el calentamiento fototérmico de los diferentes materiales híbridos sintetizados a partir de BGO:Eu. Las lecturas de las temperaturas iniciales fueron tomadas a temperatura ambiente. Las muestras fueron irradiadas con un láser de ~810 nm de longitud de onda, a una potencia 800mW y durante 30 min. Un tejido de pollo se interpuso entre la luz incidente del láser y la muestra.

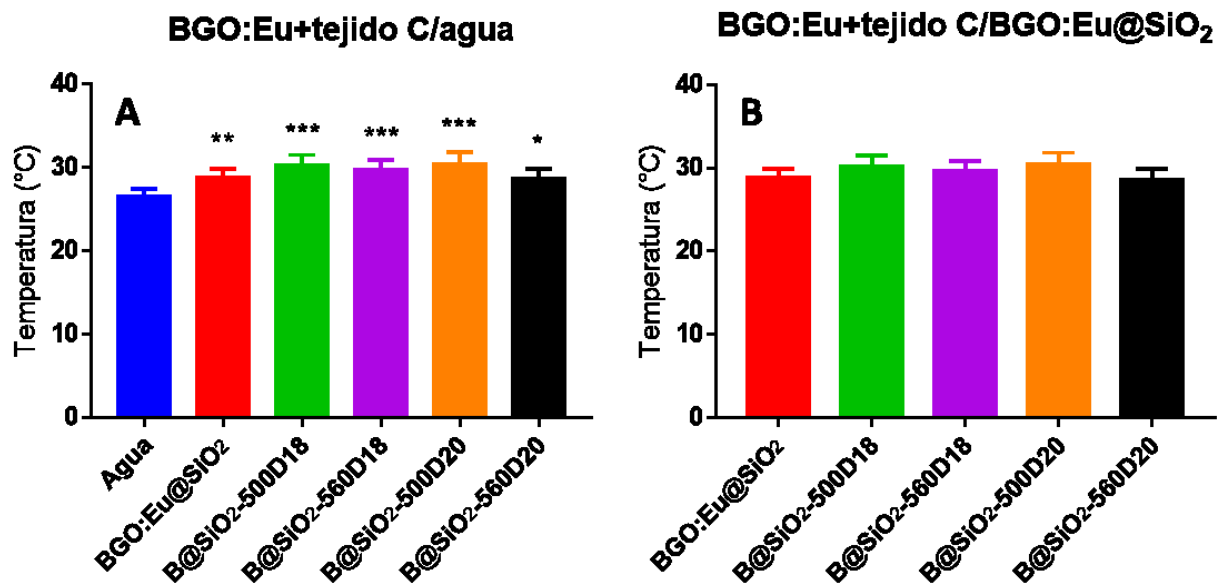


Figura 39. Evaluación del efecto térmico por análisis de varianza (ANOVA), donde se comparan los aumentos de temperaturas obtenidas por los materiales híbridos, con las dos muestras control: Agua (A) y BGO:Eu@SiO₂ (B). El valor de $\alpha=0.05$.

El incremento de temperatura que se muestra en los ensayos, comprueba que al interponer una sección transversal de músculo de pollo entre la radiación incidente de 810 nm de longitud de onda y la muestra, es posible activar el plasmón de superficie de los AuR presentes en los materiales híbridos, así como también, los procesos vibracionales del material luminiscente, donde ambos procesos físicos contribuyen de manera directa al aumento de temperatura en el medio.

Un estudio similar al anterior se realizó para evaluar los materiales híbridos sintetizados a partir de LGO:Cr. De igual manera los valores de ΔT obtenidos para cada muestra, se reportan en la Tabla X, donde los valores que se presentan se obtuvieron después de promediar las tres mediciones que se hicieron para construir cada una de las curvas de la Figura 40.

En la Tabla 10 se puede observar que la muestra con un mejor FFCC es la L@SiO₂-600D20 con un ΔT de 7.6°C, pero al observar las gráficas de la Figura 40, se puede ver que las variaciones de temperatura se traslapan con los valores de las barras de error asignadas a las curvas, a estos resultados, se les realizó un análisis de varianza (ANOVA), donde se utilizó un valor $\alpha=0.05$, los aumentos de temperatura que se midieron para cada uno de los materiales híbridos, fueron comparados con los valores de las muestras control, en este caso, agua y LGO:Cr@SiO₂.

La primera comparación que se realizó, fue de los datos obtenidos con los materiales híbridos con respecto al agua (Figura 41A), se pudo observar que todas las muestras presentaron un aumento de temperatura significativo (*) con respecto al control. Sin embargo, al comparar los mismos datos con la segunda muestra control (LGO:Cr@SiO₂), se pudo observar que la diferencias no eran estadísticamente significativas (Figura 41B).

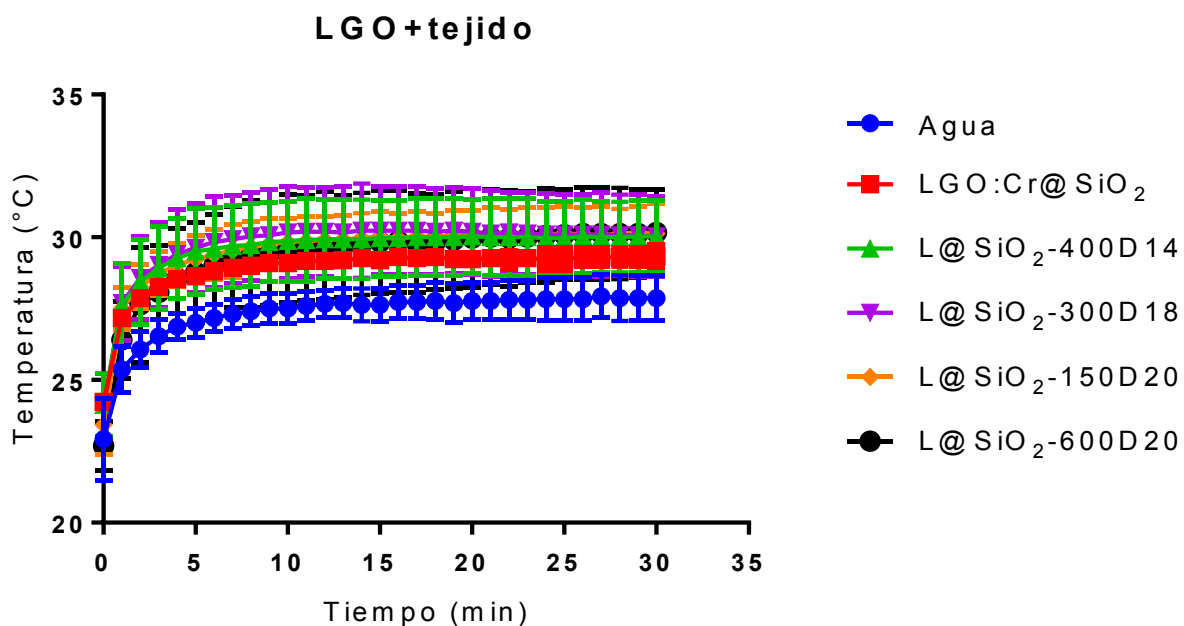


Figura 40. Gráficos que muestran el cambio de temperatura inducido por el calentamiento fototérmico de los diferentes materiales híbridos sintetizados a partir de LGO:Cr. Las lecturas de las temperaturas iniciales fueron tomadas a temperatura ambiente. Las muestras fueron irradiadas con un láser de ~ 810 nm de longitud de onda, a una potencia 800mW y durante 30 min. Un tejido de pollo se interpuso entre la luz incidente del láser y la muestra.

Tabla 10. Comparación entre las temperaturas iniciales (T_i) y las temperaturas finales (T_f) de los materiales híbridos sintetizados a partir de LGO:Cr. Las mediciones fueron obtenidas antes y después de irradiar las muestras con un láser IFR de ~ 810 nm de longitud de onda. Para la medición, un tejido de pollo se interpuso entre la luz incidente del láser y la muestra.

Muestra	T_i (°C)	T_f (°C)	ΔT (°C)
Agua	22.93	27.86	4.93
LGO:Cr@SiO ₂	24.23	29.3	5.07
L@SiO ₂ -450D14	24.13	30.03	5.90
L@SiO ₂ -300D18	24.1	30.03	5.93
L@SiO ₂ -150D20	23.43	30.13	6.70
L@SiO ₂ -600D20	22.7	30.16	7.46

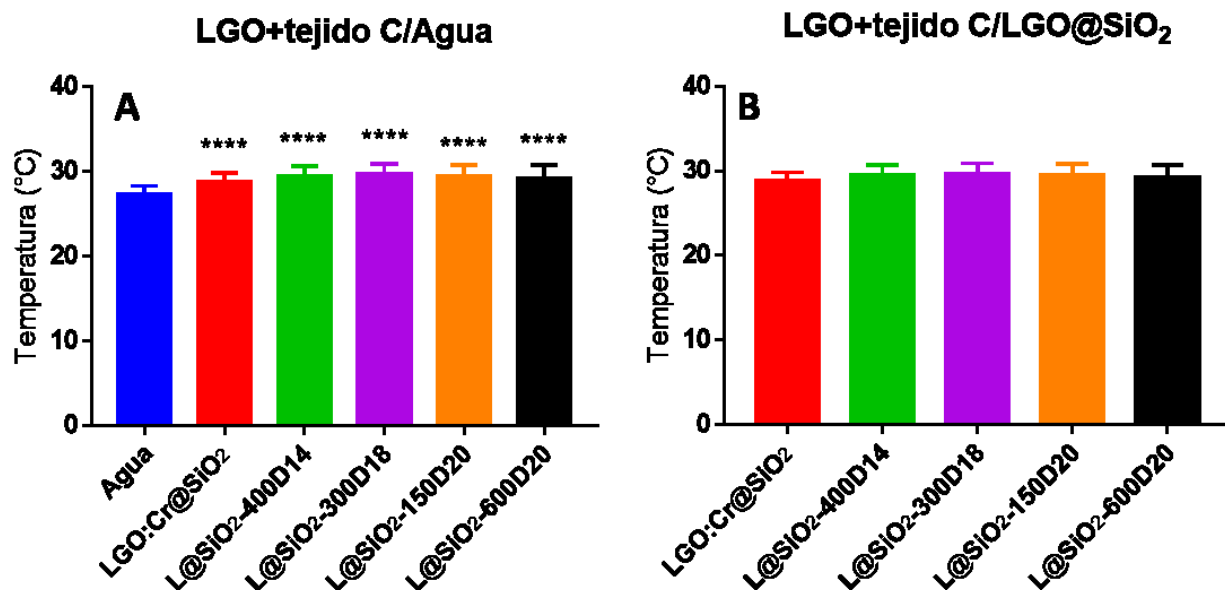


Figura 41. Evaluación del efecto térmico por análisis de varianza (ANOVA), donde se comparan los aumentos de temperaturas obtenidas por los materiales híbridos, con las dos muestras control: Agua (A) y LGO:Eu@SiO₂ (B). El valor de $\alpha=0.05$.

Una de las posibles razones por las cuales, en los últimos dos experimentos no se obtuvo una diferencia significativa con respecto a la segunda muestra control, se debe a que en ambos casos, la segunda muestra control presenta una contribución directa en el valor de ΔT de los materiales híbridos, debido a que, como ya se abordó anteriormente, la longitud de onda del haz incidente, además de activar la oscilación del plasmón de superficie localizado de los AuR, también activa procesos vibracionales del material luminiscente que disipa dicha energía en forma de calor.

Otra posible razón por la cual no existió una diferencia significativa en el aumento de temperatura con respecto a la segunda muestra control, es probablemente debido a una cantidad insuficiente de AuR en los materiales híbridos, por tal motivo, es necesario buscar mejores condiciones para el anclaje de estos materiales siendo esta una perspectiva de trabajo futuro que queda en esta tesis.

Los tejidos de pollo utilizados en los últimos dos experimentos fueron analizados de manera visual con ayuda de un estereoscopio óptico. No se observó daño aparente en ninguno de los tejidos utilizados al hacer incidir un láser con una potencia de 800 mW y durante 30 min. Las imágenes y los valores del grosor de cada uno de los tejidos utilizados se muestran en el anexo 4.

A pesar de que los experimentos realizados con las secciones transversales de músculos no arrojaron resultados concluyentes al ser comparados con la segunda muestra control, es importante mencionar, que este experimento permitió determinar la contribución directa de los materiales luminiscentes recubiertos y funcionalizados al aumento de temperatura, sin embargo los datos aquí reportados son una primera aproximación, donde se observa que es posible excitar el plasmón de superficie localizado de los materiales híbridos sintetizados en este trabajo, aun cuando la radiación incidente atraviesa un tejido, lo que permite pensar, que también es posible el uso de estos materiales como agentes teranósticos.

4.6 Ensayos de viabilidad celular

Tomando en cuenta los resultados obtenidos en las mediciones con el calentador óptico, donde los materiales híbridos en los que se habían utilizaron los AuR20 presentaban un mejor FFCC y sobre todo basados en los resultados reportados en la Figura 38, se tomó la decisión de evaluar la viabilidad celular, de los materiales: B@SiO₂-500D20, B@SiO₂-560D20, L@SiO₂-150D20 y L@SiO₂-600D20, en tres diferentes líneas celulares: queratinocitos (HaCat), células derivadas de cáncer de cérvix, HeLa y de cáncer de pulmón, H1299 (cáncer de pulmón).

Los ensayos de proliferación celular fueron realizados por medio de dos técnicas colorimétricas, en este caso, MTS y cristal violeta, las cuales permitieron medir el efecto causado por los materiales híbridos sobre la actividad metabólica en las diferentes líneas celulares, así como también, permitieron evaluar la posible muerte celular causada por estos materiales.

Las Figuras 42, 43, 44 y 45, muestran los resultados obtenidos al evaluar los cuatro materiales híbridos seleccionados. Cada una de las figuras muestran la evaluación de uno de los materiales, dentro de la figura se muestran seis ensayos, tres referentes a MTS (1 por línea celular), otros tres referentes al método de cristal violeta (se muestran sombreados en gris).

Los resultados obtenidos en los ensayos de proliferación celular, para el material B@SiO₂-500D20 (Figura 42), muestran que el material probado no induce cambios en la viabilidad celular en ninguna de sus concentraciones 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1 y 1.0 µg/mL, ya que, después de realizar el análisis de varianza, no se encontró una diferencia significativa al comparar las células control con las células que fueron expuestas a tratamientos con diferentes concentraciones del material híbrido.

Por los resultados obtenidos con la tinción con cristal violeta, podemos inferir que el material híbrido no interfiere en la tasa de proliferación celular, es decir, no induce muerte celular, mientras que los resultados obtenidos por el método MTS, nos permiten determinar que tampoco interviene en la actividad metabólica de las células, por lo que, en este caso, el B@SiO₂-500D20 se perfila como un posible candidato a agente teranóstico en futuras aplicaciones biomédicas.

La Figura 44 muestra algunas diferencias aparentes entre las barras de desviación estándar, específicamente en los ensayos hechos por la técnica de cristal violeta, estas diferencias pueden ser atribuidas a posibles errores en la ejecución de la técnica, es decir a un error experimental estadístico. Sin embargo, se debe recalcar que en las mediciones se incluyeron replicados técnicos y replicados biológicos para asegurar la fiabilidad de los mismos. En todos los casos, los resultados no arrojaron diferencias significativas.

Los resultados observados en la Figura 42, son similares a los obtenidos para los otros tres materiales evaluados *in vitro*: B@SiO₂-560D20 (Figura 43), LGO:Cr³⁺ 150D20 (Figura 44) y LGO:Cr³⁺600D20 (Figura 45). Ninguno de estos materiales híbridos presentó una diferencia significativa con respecto al control, por lo que, podemos inferir que todos son biocompatibles y de igual manera se pueden perfilar como posibles candidatos a agentes teranósticos en aplicaciones biomédicas.

Es importante señalar, que en este trabajo se presenta una primera aproximación sobre los efectos de los materiales híbridos en sistemas biológicos, por lo tanto, es necesario continuar con el estudio de los efectos biológicos de estos materiales y las posibles afectaciones que pueden tener al ser probados en ensayos de otra índole.

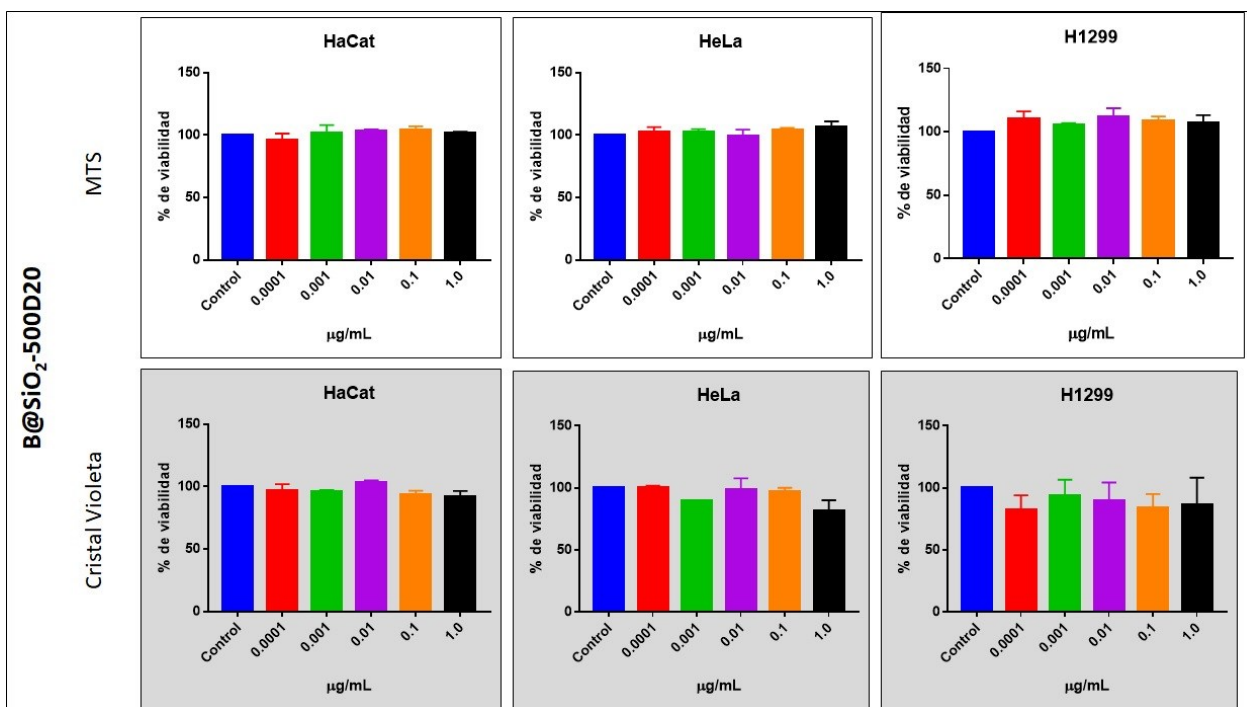


Figura 42. Ensayos de viabilidad celular utilizando NPS híbridas B@SiO₂-500D20. Células HeLa, NCI-H1299 y HaCat fueron sembradas a una densidad de 10,000 células/pozo y una placa de 96 pozos e incubadas hasta lograr la adherencia. Las células fueron tratadas con diferentes concentraciones de B@SiO₂-500D20, la viabilidad celular se determinó 24 h post-tratamiento. A,B,C) viabilidad celular evaluada mediante MTS. D,E,F) viabilidad celular evaluada mediante cristal violeta. No se encontró diferencia significativa entre las concentraciones probadas y el grupo control.

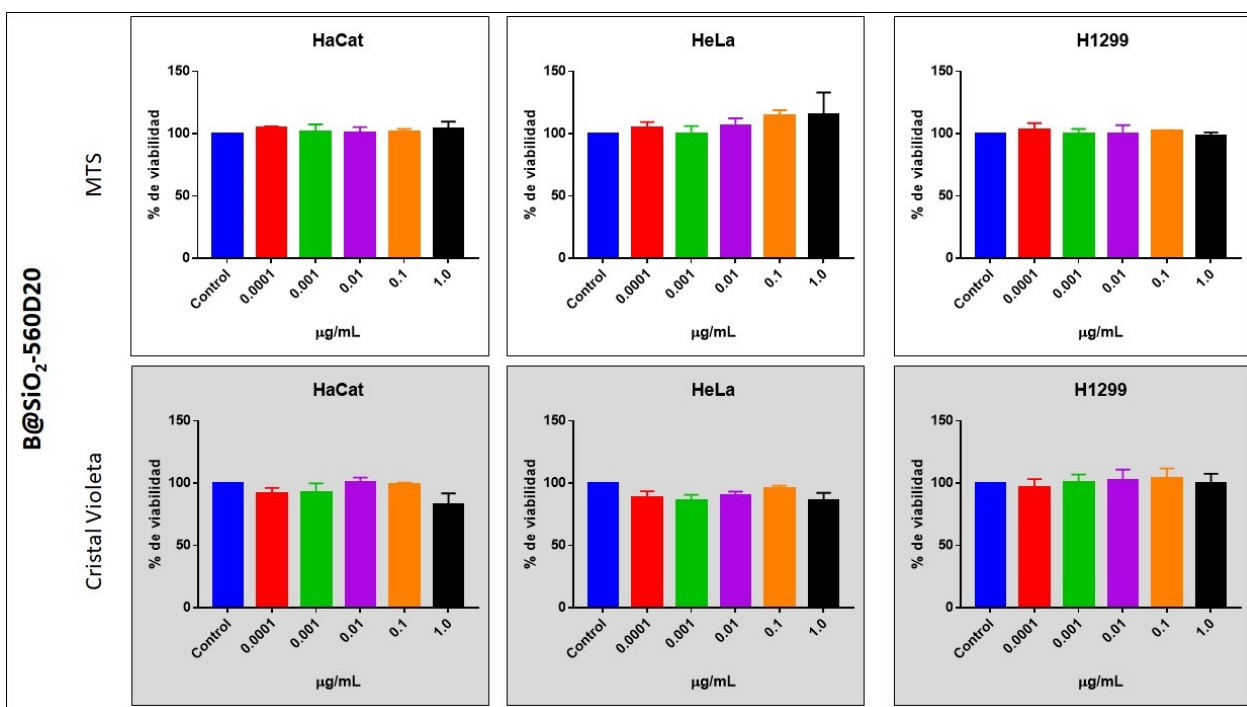


Figura 43. Ensayos de viabilidad celular utilizando NPS híbridas B@SiO₂-560D20. Células HeLa, NCI-H1299 y HaCat fueron sembradas a una densidad de 10,000 células/pozo y una placa de 96 pozos e incubadas hasta lograr la adherencia. Las células fueron tratadas con diferentes concentraciones de B@SiO₂-560D20, la viabilidad celular se determinó 24 h post-tratamiento. A,B,C) viabilidad celular evaluada mediante MTS. D,E,F) viabilidad celular evaluada mediante cristal violeta. No se encontró diferencia significativa entre las concentraciones probadas y el grupo control.

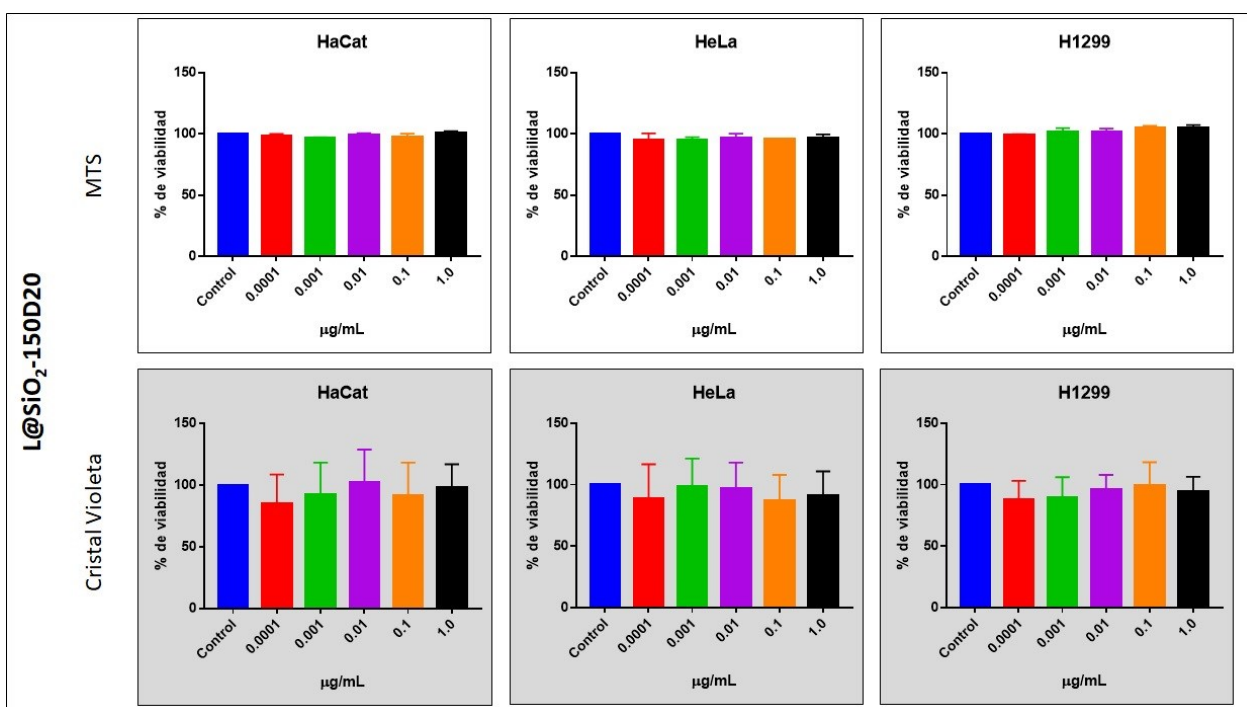


Figura 44. Ensayos de viabilidad celular utilizando NPS híbridas LGO@SiO₂-150D20. Células HeLa, NCI-H1299 y HaCat fueron sembradas a una densidad de 10,000 células/pozo y una placa de 96 pozos e incubadas hasta lograr la adherencia. Las células fueron tratadas con diferentes concentraciones de L@SiO₂-150D20, la viabilidad celular se determinó 24 h post-tratamiento. A,B,C) viabilidad celular evaluada mediante MTS. D,E,F) viabilidad celular evaluada mediante cristal violeta. No se encontró diferencia significativa entre las concentraciones probadas y el grupo control.

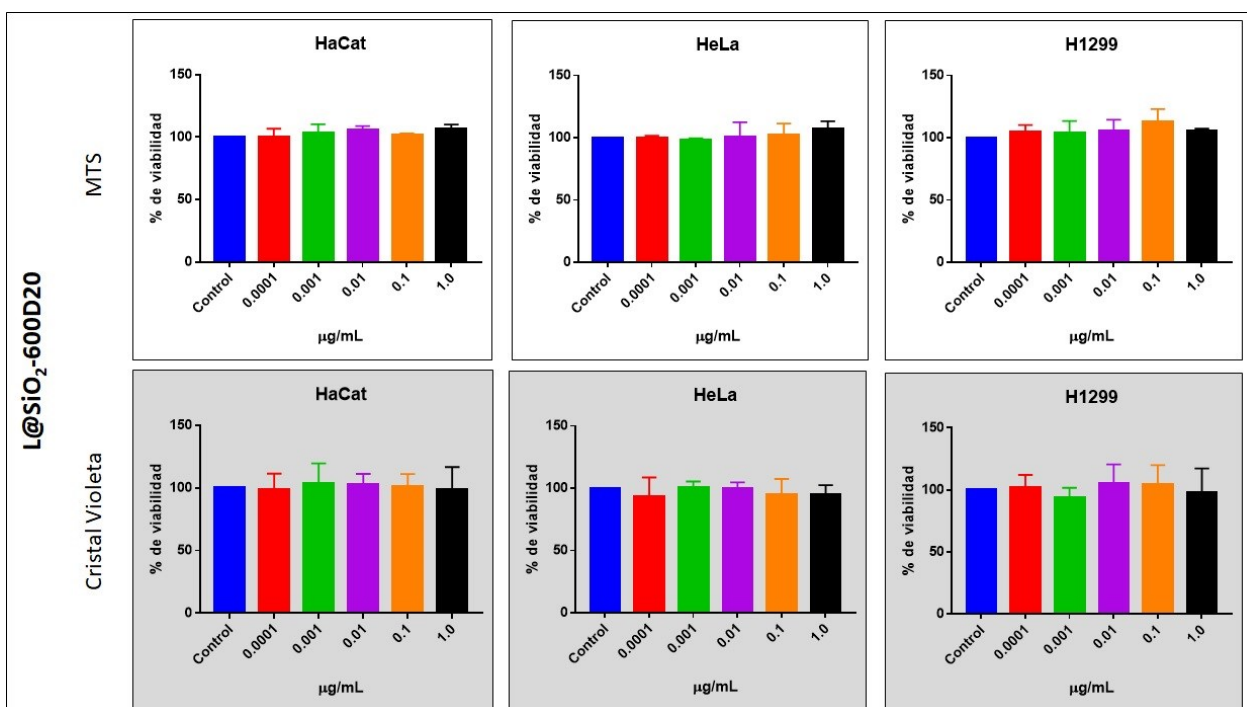


Figura 45. Ensayos de viabilidad celular utilizando NPS híbridas L@SiO₂-600D20. Células HeLa, NCI-H1299 y HaCat fueron sembradas a una densidad de 10,000 células/pozo y una placa de 96 pozos e incubadas hasta lograr la adherencia. Las células fueron tratadas con diferentes concentraciones de L@SiO₂-600D20, la viabilidad celular se determinó 24 h post-tratamiento. A,B,C) viabilidad celular evaluada mediante MTS. D,E,F) viabilidad celular evaluada mediante cristal violeta. No se encontró diferencia significativa entre las concentraciones probadas y el grupo control.

Capítulo 5. Conclusiones

En este trabajo de investigación, se sintetizaron y caracterizaron dos materiales luminiscentes con emisión en el infrarrojo cercano: $\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}:\text{Eu}^{3+}$ y $\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}^{3+}$. Ambos materiales fueron sintetizados por el método de sol-gel y, posteriormente, recubiertos con SiO_2 .

Se logró el recubrimiento de los materiales luminiscentes $\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}:\text{Eu}^{3+}$ (BGO:Eu) y $\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}^{3+}$ (LGO:Cr) con SiO_2 por el método de Stöber modificado y se pudo lograr crecer una capa uniforme de ~ 15 nm alrededor de dichos materiales, la capa aumentó las posibilidades de funcionalizar su superficie. Esta síntesis dio lugar a la obtención de $\text{BGO}@\text{SiO}_2$ y $\text{LGO}@\text{SiO}_2$.

Se sintetizaron y caracterizaron nanorods de Au con diferentes relaciones de aspecto por el método mediado por semillas, por este método de síntesis se pudo sintonizar la absorbancia del plasmón de superficie localizado longitudinal de los AuR en el IFRC y dentro de la VB-I.

Se logró funcionalizar los materiales luminiscentes previamente recubiertos ($\text{BGO}@\text{SiO}_2$ y $\text{LGO}@\text{SiO}_2$) con las moléculas (3-mercatopropil) trimetoxisilano y (3-aminopropil) trimetoxisilano, las cuales presentan afinidad a la superficie de los AuR por la respectiva presencia de los grupos funcionales -SH y -NH₂.

Se pudo realizar el acoplamiento de los AuR sobre la superficie de los materiales luminiscentes recubiertos ($\text{BGO}@\text{SiO}_2$ y $\text{LGO}@\text{SiO}_2$) para dar lugar a la formación de los materiales híbridos.

Los materiales híbridos mantenían las propiedades luminiscentes con emisión en el IFRC, propias tanto del BGO:Eu como del LGO:Cr. De igual manera, los materiales híbridos mantuvieron las propiedades de resonancia de plasmón de superficie, la cual estaba asociada a la presencia del anclaje de los AuR sobre la superficie de los materiales luminiscentes.

Se logró realizar una primera aproximación, donde se pudo medir la respuesta de los materiales híbridos y el cambio de temperatura inducido por el factor fototérmico de conversión de calor al ser irradiados con un láser de longitud de onda de 810 nm, durante 30 min y con una potencia de 800 mW. Los resultados en esta parte del trabajo, están asociados a la presencia de la banda de plasmón de superficie longitudinal asociada a los AuR y que se mantiene presente en los materiales híbridos.

Por último, en este trabajo, también se presentan los primeros ensayos de viabilidad celular de los materiales híbridos. Los materiales fueron probados en células inmortalizadas HaCat, así como también en líneas celulares derivadas de cáncer tales como HeLa y H1299. En todos los ensayos realizados se pudo observar que los materiales híbridos presentaron biocompatibilidad.

5.1 Perspectivas

Como se ha hecho hincapié con anterioridad, en este trabajo se presentan ensayos como primeras aproximaciones de un trabajo futuro, algunas de las perspectivas que se plantean en esta tesis se abordan en los siguientes puntos.

Uno de los puntos a mejorar, es tener una mejor funcionalización de la superficie de los materiales luminiscentes para poder optimizar el anclaje de AuR e incrementar la presencia de estos materiales en los sistemas híbridos. Lo anterior con la finalidad de mejorar la respuesta en los efectos térmicos medidos en los ensayos con el calentador óptico.

El acoplamiento de los materiales híbridos con una biomolécula que presente afinidad hacia una línea celular específica, con la finalidad de poder dirigir de manera específica los materiales híbridos aquí presentados, hacia dichas células. Proporcionar afinidad a los materiales híbridos, permitiría evaluar las propiedades luminiscentes y el efecto fototérmico en ensayos *in vitro*.

Otro de los puntos que se plantean en perspectiva, es evaluar la luminiscencia y el efecto fototérmico de los materiales híbridos en pruebas biológicas *in vivo*, además de hacer estudios de bioacumulación, todo para terminar el posible uso de dichos materiales como agentes teranósticos.

Literatura citada

- Abadeer, N. S., Murphy, C. J. 2016. Recent Progress in Cancer Thermal Therapy Using Gold Nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry C*, 120(9), 4691–4716. doi:10.1021/acs.jpcc.5b11232
- Baffou, G., Quidant, R., Girard, C. 2009a. Heat generation in plasmonic nanostructures: Influence of morphology. *Applied Physics Letters*, 94(15), 1–4. doi:10.1063/1.3116645
- Baffou, G., Quidant, R., Girard, C. 2009b. Heat generation in plasmonic nanostructures: Influence of morphology. *Applied Physics Letters*, 94(15). doi:10.1063/1.3116645
- Belman-Rodríguez, C., Vidal-Limon, A. M., Contreras, O. E., Oviedo, M. J., Aguila, S. A. 2018. Synthesis and characterization of BGO with different chelating compounds by the polymeric precursor method, and their effect on luminescence properties. *Ceramics International*, (May), 1–4. doi:10.1016/j.ceramint.2018.05.229
- Carbó-Argibay, E., Rodríguez-González, B., Pastoriza-Santos, I., Pérez-Juste, J., Liz-Marzán, L. M. 2010. Growth of pentatwinned gold nanorods into truncated decahedra. *Nanoscale*, 2(11), 2377–2383. doi:10.1039/c0nr00239a
- Carrillo, Y., Torres-Duarte, C., Oviedo, M. J., Hirata, G. A., Huerta-Saquero, A., Vazquez-Duhalt, R. 2015. Lipid peroxidation and protein oxidation induced by different nanoparticles in zebrafish organs. *Applied and Environmental Research*, 13(3), 819–831. doi:10.15666/aeer/1303
- Chávez-García, D., Juárez-Moreno, K., Campos, C. H., Tejeda, E. M., Alderete, J. B., Hirata, G. A. 2018. Cytotoxicity, genotoxicity and uptake detection of folic acid-functionalized green upconversion nanoparticles Y₂O₃/Er³⁺, Yb³⁺ as biolabels for cancer cells. *Journal of Materials Science*, 53(9), 6665–6680. doi:10.1007/s10853-017-1946-0
- Chen, H., Sun, X., Wang, G. D., Nagata, K., Hao, Z., Wang, A., Li, Z., Xie, J., Shen, B. 2017. LiGa₅O₈:Cr-based theranostic nanoparticles for imaging-guided X-ray induced photodynamic therapy of deep-seated tumors. *Materials Horizons*, 4(6), 1092–1101. doi:10.1039/c7mh00442g
- Cheung, A. Y., Neyzari, A. 1984. Deep local hyperthermia for cancer therapy: External electromagnetic and ultrasound techniques. *Cancer Research*, 44(10 SUPPL.).
- Chu, Y., Zhang, Q., Li, Y., Liu, Z., Xu, J., Zeng, H., Wang, H. 2017. Hydrothermal synthesis of Bi₄Ge₃O₁₂:Eu³⁺ phosphors with high thermal stability and enhanced photoluminescence property. *Journal of Alloys and Compounds*, 693, 308–314. doi:10.1016/j.jallcom.2016.09.115
- Connor, E. E., Mwamuka, J., Gole, A., Murphy, C. J., Wyatt, M. D. 2005. Gold nanoparticles are taken up by human cells but do not cause acute cytotoxicity. *Small*, 1(3), 325–327. doi:10.1002/smll.200400093

- Cushing, B. L., Kolesnichenko, V. L., Connor, C. J. O. 2004. Recent Advances in the Liquid-Phase Syntheses of Inorganic Nanoparticles. *Recent Advances in the Liquid-Phase Syntheses of Inorganic Nanoparticles*. 104(9), 3893–3946. doi:10.1021/cr030027b
- Daniel, M., Astruc, D. 2004. Gold Nanoparticles : Assembly , Supramolecular Chemistry , Quantum-Size-Related Properties , and Applications toward Biology , Catalysis , and Nanotechnology *Gold Nanoparticles : Assembly , Supramolecular Chemistry , Quantum-Size-Related Properties , and .* doi:10.1021/cr030698
- De Clercq, O. Q., Martin, L. I. D. J., Korthout, K., Kusakovskij, J., Vrielinck, H., Poelman, D. 2017. Probing the local structure of the near-infrared emitting persistent phosphor $\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}^{3+}$. *Journal of Materials Chemistry C*, 5(41), 10861–10868. doi:10.1039/C7TC02699D
- De Clercq, O. Q., Poelman, D. 2018. Local, Temperature-Dependent Trapping and Detrapping in the $\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Cr}$ Infrared Emitting Persistent Phosphor . *ECS Journal of Solid State Science and Technology*, 7(1), R3171–R3175. doi:10.1149/2.0211801jss
- De Jesus, F. A. A., Silva, R. S. Da, MacEdo, Z. S. 2010. Synthesis of $\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}$ ceramic scintillators by the polymeric precursor method. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 100(2), 537–541. doi:10.1007/s10973-009-0178-1
- Del-Rosal, R. B. 2016. *Nanomateriales para terapia e imagen en el infrarrojo*. Universidad Autónoma de Madrid. 155 pp.
- Dickerson, E. B., Dreaden, E. C., Huang, X., El-Sayed, I. H., Chu, H., Pushpanketh, S., McDonald, J. F., El-Sayed, M. A. 2008. Gold nanorod assisted near-infrared plasmonic photothermal therapy (PPTT) of squamous cell carcinoma in mice. *Cancer Letters*, 269(1), 57–66. doi:10.1016/j.canlet.2008.04.026
- Dreaden, E. C., Alkilany, A. M., Huang, X., Murphy, C. J., El-Sayed, M. A. 2012. The golden age: Gold nanoparticles for biomedicine. *Chemical Society Reviews*, 41(7), 2740–2779. doi:10.1039/c1cs15237h
- Ealias, A. M., Saravanakumar, M. P. 2017. A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 263(3), 0–15. doi:10.1088/1757-899X/263/3/032019
- G. Blasse, B. C. G. 1984. *Luminescent Materials* (Springer-Verlag, Ed.).
- Garcia Fernandez, M. T. 2012. *Materiales Híbridos Orgánicos-Inorgánicos Basados En Disilanos Como Unidades Estructurales*. doi:10.4995/Thesis/10251/16982
- Garcia, J. S., Bausia, L., Jaque, D. 2005. *An Introduction to the Optical Spectroscopy* (Vol. 6). doi:10.1111/j.1745-9125.2007.00097.x

- Habash, R. W. Y., Bansal, R., Krewski, D., Alhafid, H. T. 2006. Thermal therapy, Part 1: An introduction to thermal therapy. *Critical Reviews in Biomedical Engineering*, 34(6), 459–489. doi:10.1615/CritRevBiomedEng.v34.i6.20
- Hemmer, E., Venkatachalam, N., Hyodo, H., Hattori, A., Ebina, Y., Kishimoto, H., Soga, K. 2013. Upconverting and NIR emitting rare earth based nanostructures for NIR-bioimaging. *Nanoscale*, 5(23), 11339–11361. doi:10.1039/c3nr02286b
- Hinman, J. G., Eller, J. R., Lin, W., Li, J., Li, J., Murphy, C. J. 2017. Oxidation State of Capping Agent Affects Spatial Reactivity on Gold Nanorods. *Journal of the American Chemical Society*, 139(29), 9851–9854. doi:10.1021/jacs.7b06391
- Hochstrasser, R. M., Prasad, P. N. 1972. Phonon sidebands of electronic transitions in molecular crystals and mixed crystals. *The Journal of Chemical Physics*, 56(6), 2814–2823. doi:10.1063/1.1677612
- Hogan, N. J., Urban, A. S., Ayala-Orozco, C., Pimpinelli, A., Nordlander, P., Halas, N. J. 2014. Nanoparticles heat through light localization. *Nano Letters*, 14(8), 4640–4645. doi:10.1021/nl5016975
- Huang, X., El-Sayed, I. H., Qian, W., El-Sayed, M. a. 2006. Cancer cell imaging and photothermal therapy in the near-infrared region by using gold nanorods. *Journal of the American Chemical Society*, 128(6), 2115–2120. doi:10.1021/ja057254a
- Huang, X., El-Sayed, M. A. 2011. Plasmonic photo-thermal therapy (PPTT). *Alexandria Journal of Medicine*, 47(1), 1–9. doi:10.1016/j.ajme.2011.01.001
- Iancu, C. 2013. Photothermal Therapy of Human Cancers (PTT) Using Gold Nanoparticles. *Biotechnology, Molecular Biology and Nanomedicine*, 1(1), 53–60. doi:10.1016/j.biomaterials.2011.08.086
- J. Kim, N. Y. and B. M. J. 1998. Eu Doping Effect on the Radiation Resistance in Bi₄Ge₃O₁₂ (BGO) scintillator. 32, 1123–1126.
- Jain, A., Fournier, P. G. J., Mendoza-Lavaniegos, V., Sengar, P., Guerra-Olvera, F. M., Iñiguez, E., Kretzschmar, T. G., Hirata, G. A., Juárez, P. 2018. Functionalized rare earth-doped nanoparticles for breast cancer nanodiagnostic using fluorescence and CT imaging. *Journal of Nanobiotechnology*, 16(1), 1–18. doi:10.1186/s12951-018-0359-9
- Jain, P. K., ElSayed, I. H., El-Sayed, M. a. 2007. Au nanoparticles target cancer. *Nano Today*, 2(1), 18–29. doi:10.1016/S1748-0132(07)70016-6
- Jing-Liang Li, M. G. 2010. Gold-Nanoparticle-Enhanced Cancer Photothermal Therapy. *IEEE Journal of selected topics in quantum electronicS*, 16, 989–996.
- Johnson, C. J., Dujardin, E., Davis, S. A., Murphy, C. J., Mann, S. 2002. Growth and form of gold nanorods prepared by seed-mediated, surfactant-directed synthesis. *Journal of Materials Chemistry*, 12(6), 1765–1770. doi:10.1039/b200953f

- Kakihana, M., Yoshimura, M. 1999. Synthesis and characteristics of complex multicomponent oxides prepared by polymer complex method. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, Vol. 72. doi:10.1246/bcsj.72.1427
- Kaufman, E. N. 2005. *Characterization of materials* Volume 2. Wiley-Interscience: Argonne, IL.
- Kim, J. Y., Han, M. G., Lien, M. Bin, Magonov, S., Zhu, Y., George, H., Norris, T. B., Kotov, N. A. 2018. Dipole-like electrostatic asymmetry of gold nanorods. *Science Advances*, 4(2). doi:10.1126/sciadv.1700682
- Klar, T., Perner, M., Grosse, S., Plessen, G. Von, Spirkl, W., Feldmann, J. 1998. <Surface-Plasmon Resonances in Single Metallic.pdf>. 4249–4252.
- Lamer, V. K., Dinegar, R. H. 1950. Theory, Production and Mechanism of Formation of Monodispersed Hydrosols. *Journal of the American Chemical Society*, 72(11), 4847–4854. doi:10.1021/ja01167a001
- Liu, F., Yan, W., Chuang, Y. J., Zhen, Z., Xie, J., Pan, Z. 2013. Photostimulated near-infrared persistent luminescence as a new optical read-out from Cr³⁺-doped LiGa₅O₈. *Scientific Reports*, 3, 1–9. doi:10.1038/srep01554
- Liu, R.-S. 2016. *Phosphors, Up conversion Nano Particles, Quantum Dots and their Applications* (Springer). doi:10.1007/978-981-10-1590-8
- Liu, X., Huang, N., Li, H., Jin, Q., Ji, J. 2013. Surface and size effects on cell interaction of gold nanoparticles with both phagocytic and non- phagocytic cells. doi:10.1021/la401556k
- Liz-Marzán, L. M. 2004. Nanometals: Formation and color. *Materials Today*, 7(2), 26–31. doi:10.1016/S1369-7021(04)00080-X
- Locatelli, E., Monaco, I., Comes Franchini, M. 2015. Surface modifications of gold nanorods for applications in nanomedicine. *RSC Advances*, 5(28), 21681–21699. doi:10.1039/c4ra16473c
- MacKey, M. A., Ali, M. R. K., Austin, L. A., Near, R. D., El-Sayed, M. A. 2014a. The most effective gold nanorod size for plasmonic photothermal therapy: Theory and in vitro experiments. *Journal of Physical Chemistry B*, 118(5), 1319–1326. doi:10.1021/jp409298f
- MacKey, M. A., Ali, M. R. K., Austin, L. A., Near, R. D., El-Sayed, M. A. 2014b. The most effective gold nanorod size for plasmonic photothermal therapy: Theory and in vitro experiments. *Journal of Physical Chemistry B*, 118(5), 1319–1326. doi:10.1021/jp409298f
- Mody, V., Siwale, R., Singh, A., Mody, H. 2010. Introduction to metallic nanoparticles. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 2(4), 282. doi:10.4103/0975-7406.72127
- Mosmann, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1–2), 55–63. doi:10.1016/0022-1759(83)90303-4

- Mulvaney, P. 1996. Surface Plasmon Spectroscopy of Nanosized Metal Particles. *Langmuir*, 12(3), 788–800. doi:10.1021/la9502711
- Murphy, C. J., Thompson, L. B., Alkilany, A. M., Sisco, P. N., Boulos, S. P., Sivapalan, S. T., Yang, J. A., Chernak, D. J., Huang, J. 2010. The many faces of gold nanorods. *Journal of Physical Chemistry Letters*, 1(19), 2867–2875. doi:10.1021/jz100992x
- Nikoobakht, B., El-Sayed, M. A. 2003. Preparation and growth mechanism of gold nanorods (NRs) using seed-mediated growth method. *Chemistry of Materials*, 15(10), 1957–1962. doi:10.1021/cm020732l
- Nni. 2014. Progress review on the coordinated implementation of the national Nanotechnology Initiative. 64. de <http://www.nano.gov/node/1157>
- Ochoo, L., Migwi, C., Okumu, J. 2018. Important parameters for optimized metal nanoparticles-aided electromagnetic field (EMF) effect on cancer. *Cancer Nanotechnology*, 9(1). doi:10.1186/s12645-018-0038-4
- Oviedo Bandera, M. J. 2012. Luminescent nanomaterials for biomedical applications.
- Oviedo, M. J., Contreras, O. E., Rosenstein, Y., Macedo, Z. S., Carbajal Arízaga, G. G., Hirata, G. a. 2016. New bismuth germanate oxide nanoparticle material for biolabel applications in medicine. *Journal of Nanomaterials*, 2016(Article 9782625), 10 pages. doi:10.1155/2016/9782625
- Oviedo, M. J., Contreras, O., Rodriguez, C. E., MacEdo, Z. S., Hirata, G. A., McKittrick, J. 2012. Photo- and radioluminescence characteristics of bismuth germanate nanoparticles by sol-gel and pressure-assisted combustion synthesis. *Optical Materials*, 34(7), 1116–1119. doi:10.1016/j.optmat.2012.01.008
- Ozlem, S. A. 2017. In Vitro Cytotoxicity and Cell Viability Assays: Principles, Advantages, and Disadvantages. *Genotoxicity - A predictable Risk to Our Actual World*, 1–19.
- Pivac, B., Dubcek, P., Dasovic, J., Zorc, H., Bernstorff, S., Zavasnik, J., Vlahovic, B. 2018. Self-Ordered Voids Formation in SiO₂ Matrix by Ge Outdiffusion. *Journal of Nanomaterials*, 2018, 1–9. doi:10.1155/2018/9326408
- Ravalli, A., Marrazza, G. 2015. Gold and Magnetic Nanoparticles-Based Electrochemical Biosensors for Cancer Biomarker Determination. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 15(5), 3307–3319. doi:10.1166/jnn.2015.10038
- Reuven Chen, S. W. S. M. 1997. *Theory of Thermoluminescence and Related Phenomena*. World Scientific Publishing.

- Rezvani Nikabadi, H., Shahtahmasebi, N., Rezaee Rokn-Abadi, M., Bagheri Mohagheghi, M. M., Goharshadi, E. K. 2013. Gradual growth of gold nanoseeds on silica for SiO₂@gold homogeneous nano core/shell applications by the chemical reduction method. *Physica Scripta*, 87(2), 2–7. doi:10.1088/0031-8949/87/02/025802
- Rodriguez, J. R., Belman-Rodriguez, C., Aguila, S. A., Zhang, Y., Liu, H., Pol, V. G. 2018. Bismuth germanate (Bi₄Ge₃O₁₂), a promising high-capacity lithium-ion battery anode. *Chemical Communications*, 54(81), 11483–11486. doi:10.1039/c8cc05861j
- Sanchez, C., Julián, B., Belleville, P., Popall, M. 2005. Applications of hybrid organic-inorganic nanocomposites. *Journal of Materials Chemistry*, 15(35–36), 3559–3592. doi:10.1039/b509097k
- Sengar, P., Juárez, P., Verdugo-Meza, A., Arellano, D. L., Jain, A., Chauhan, K., Hirata, G. A., Fournier, P. G. J. 2018. Development of a functionalized UV-emitting nanocomposite for the treatment of cancer using indirect photodynamic therapy. *Journal of Nanobiotechnology*, 16(1), 1–19. doi:10.1186/s12951-018-0344-3
- Shih, V. E., Tanaka, K. 1978. Plasma and urine amino acid changes in rats treated with hypoglycin. *Clinica Chimica Acta*, 88(3), 539–543. doi:10.1016/0009-8981(78)90289-9
- Sreenivasan, V. K. a, Zvyagin, A. V, Goldys, E. M. 2013. Luminescent nanoparticles and their applications in the life sciences. *Journal of physics. Condensed matter : an Institute of Physics journal*, 25(19), 194101. doi:10.1088/0953-8984/25/19/194101
- Stöber, W., Fink, A. 1968. Controlled Growth of Monodisperse Silica Spheres in the Micron size range. *Journal of Colloid And Interface Science*, 4, 62–69. doi:10.1109/ICOSP.2006.345929
- Venkatesh, N., Saha, A. 2017. Hybrid Nanostructures. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutics*, 4(1), 1–3. doi:10.15436/2377-1313.17.028
- Vij, D. R. 1998. *Luminescence of Solids* (Plenum Pre). New York.
- Weissleder, R., Pittet, M. J. 2008. Imaging in the era of molecular oncology. *Nature*, 452(7187), 580–589. doi:10.1038/nature06917
- Westcott, S. L., Oldenburg, S. J., Lee, T. R., Halas, N. J. 2002. Formation and Adsorption of Clusters of Gold Nanoparticles onto Functionalized Silica Nanoparticle Surfaces. *Langmuir*, 14(19), 5396–5401. doi:10.1021/la980380q
- Xia, Y., Xiong, Y., Lim, B., Skrabalak, S. E. 2009. Shape-controlled synthesis of metal nanocrystals: Simple chemistry meets complex physics? *Angewandte Chemie - International Edition*, 48(1), 60–103. doi:10.1002/anie.200802248

Anexos 1

Fotoluminiscencia (FL)

La fotoluminiscencia es un proceso que se genera cuando en un material, los electrones del estado base son excitados hacia un estado de mayor energía por una fuente de radiación electromagnética de onda corta, generalmente luz ultravioleta, cuando los electrones regresan a su estado base liberan su exceso de energía en forma de luz.

El proceso de fotoluminiscencia está presenta dos etapas: Excitación y relajación. El proceso excitación ocurre cuando el material es irradiado por longitudes de onda Uv-Visible y los electrones ocupan los sitios de los estados de excitación permitidos, durante la relajación, los electrones regresan a su estado basal. Los excesos de energía se disipan por procesos radiativos, es decir, generando una emisión o por procesos no radiativos que son modos cuantizados de vibraciones en la red del material (fonones). La energía de la luz emitida es proporcional a la diferencia de energía entre los niveles del estado excitado y el estado basal.

La fotoluminiscencia, de manera general, se divide en dos tipos: Luminiscencia intrínseca y luminiscencia extrínseca. La primera se subdivide en tres tipos: Luminiscencia banda-banda, luminiscencia por excitón y luminiscencia por cruzada. Por otro lado, la luminiscencia extrínseca se subdivide dos tipos: Luminiscencia deslocalizada y luminiscencia localizada (Vij, 1998).

Para los fines de esta tesis, nos centraremos en la luminiscencia extrínseca, la cual es originada cuando se incorporan impurezas de manera intencional, en la mayoría de los casos, las impurezas son metálicas o defectos. Las impurezas incorporadas intencionalmente son llamados activadores y los materiales a los que se les incorpora las impurezas, usualmente son llamados "fósforos" (Vij, 1998).

Como ya se mencionó, la luminiscencia extrínseca se clasifica en: localizada y deslocalizada. En la deslocalizada, los electrones y los huecos de la red huésped, por ejemplo, los electrones libres de la banda de conducción y los huecos libres de la banda de valencia participan en el proceso de luminiscencia, mientras que, en el caso de la luminiscencia localizada, los procesos de excitación-emisión están confinados a centros luminiscentes localizados. Para los fines de este trabajo, nos centramos en el tipo de luminiscencia extrínseca localizada, debido a que se sintetizaron materiales donde se incorporaron impurezas que juegan el papel de centros luminiscentes localizados (Vij, 1998).

La incorporación de impurezas metálicas en redes cristalinas y semiconductores, generan centros luminiscentes localizados eficientes. Algunos tipos de defectos en la red, también pueden actuar como centros luminiscentes localizados. Los centros luminiscentes localizados se pueden clasificar en dos tipos: Los de transiciones permitidas y los de transiciones prohibidas, en ambos casos las transiciones son de dipolo-eléctrico (Vij, 1998).

Las Transiciones de dipolo-eléctrico pueden tener lugar entre niveles de energía de diferente paridad. Las reglas de selección para estas transiciones en átomos, están determinadas por el número cuántico azimutal $\Delta l = \pm 1$. Cuando los átomos o iones son incorporados a cristales, se altera el carácter prohibido de la transición dipolar por la perturbación que se ocasiona en el campo eléctrico del cristal, lo que ocasiona, que las transiciones prohibidas se conviertan, hasta cierto punto, en transiciones permitidas.

Muchos materiales luminiscentes son sintetizados con la incorporación de los siguientes activadores (Vij, 1998).

Transiciones permitidas:

(i) Transición $s \leftrightarrow p$ (electrón atrapado en una vacancia anionica), ejemplo, Tl^0 .

(ii) Transición $s^2 \leftrightarrow sp$, ejemplo, Tl^+ , Sn^{2+} , Pb^{2+} , Sb^{2+} , Bi^{3+} .

(iii) Transición $f \leftrightarrow d$, ejemplo, Eu^{2+} , Ce^{3+} .

Transiciones no permitidas

(i) Transición $d \leftrightarrow d$, ejemplo, Ti^{3+} , Cr^{3+} , Cr^{4+} , Mn^{2+} , Mn^{4+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} .

(ii) Transición $f \leftrightarrow f$, ejemplo, Pr^{3+} , Nd^{3+} , Sm^{3+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} , Er^{3+} , Tm^{3+} (y otros iones trivalentes de tierras raras)

1.1 Transiciones $f \leftrightarrow f$

La mayoría de los iones trivalentes de tierras raras (Ce^{3+} - Yb^{3+}) producen luminiscencia con líneas de emisión bien definidas debido a las transiciones $4f^{n*} \rightarrow 4f^n$, las emisiones generalmente se producen desde la región del visible hasta la del infrarrojo. Como ejemplo, el Eu^{3+} produce luminiscencia en el rojo, mientras que los iones de Tb^{3+} emiten en el verde (Vij, 1998).

Los iones trivalentes de tierras raras poseen una configuración electrónica $4f^n 5s^2 5p^6 (n=1-13)$. La configuración de los iones divalentes posee un electrón más en la capa $4f$. La capa electrónica $4f$ se encuentran protegidos por las capas $5s5p$, por lo tanto, la influencia del campo cristalino sobre los orbitales $4f$ es débil. Debido a lo anterior, el orbital $4f$ se ve muy poco alterado cuando los iones de tierras raras se incorporan en alguna red cristalina (Vij, 1998).

1.2 Transiciones $d \leftrightarrow d$

Los iones del grupo del Fe producen luminiscencia debido a las transiciones $3d^{n*} \rightarrow 3d^n$, la emisión de estos iones se presentan desde la región del visible hasta el infrarrojo. Entre los iones de este grupo, el Cr^{3+} y el Mn^{4+} poseen una configuración $3d^3$ y el Mn^{2+} configuración $3d^5$, dichas configuraciones son importantes para las aplicaciones luminiscentes.

En la mayoría de las redes cristalinas huésped, el ion Cr^{3+} y Mn^{4+} muestran líneas de emisión que van de la región del rojo al infrarrojo cercano. Sin embargo, en algunas redes cristalinas, el ion Cr^{3+} presenta bandas de emisión en el rango del visible y varían del azul-rojo, estas características espectrales se describen a partir de la teoría del campo eléctrico (Vij, 1998).

Anexo 2

Catodoluminiscencia (CL)

El termino catodoluminiscencia (CL) deriva del uso de electrones de alta energía como medio de excitación. Cuando un haz de electrones interacciona con un material sólido, una cantidad de electrones puede ser retrodispersados por colisiones elásticas, es decir, que la cantidad de energía que pierden por interacción con el material es muy baja. Por otro lado, los electrones que no son retrodispersados sufren colisiones inelásticas, en este proceso se generan una gran variedad de procesos como la emisión de electrones secundarios, fluorescencia, pares electrón hueco, efectos térmicos y electrones Auger (Vij, 1998).

La disipación de la energía primaria del electrón deriva en una cascada de procesos complejos, estos procesos se traducen, principalmente, en la excitación de partículas individuales y la producción de fonones. La excitación de partículas individuales decae por procesos de pares electrón-hueco, la recombinación radiativa de dichos pares, son los que provocan la CL (Vij, 1998).

Las señales de emisión detectadas por esta técnica nos indica que el fenómeno de luminiscencia no sólo proviene de la superficie del material sino también del bulto.

Anexo 3

Figuras del efecto térmico

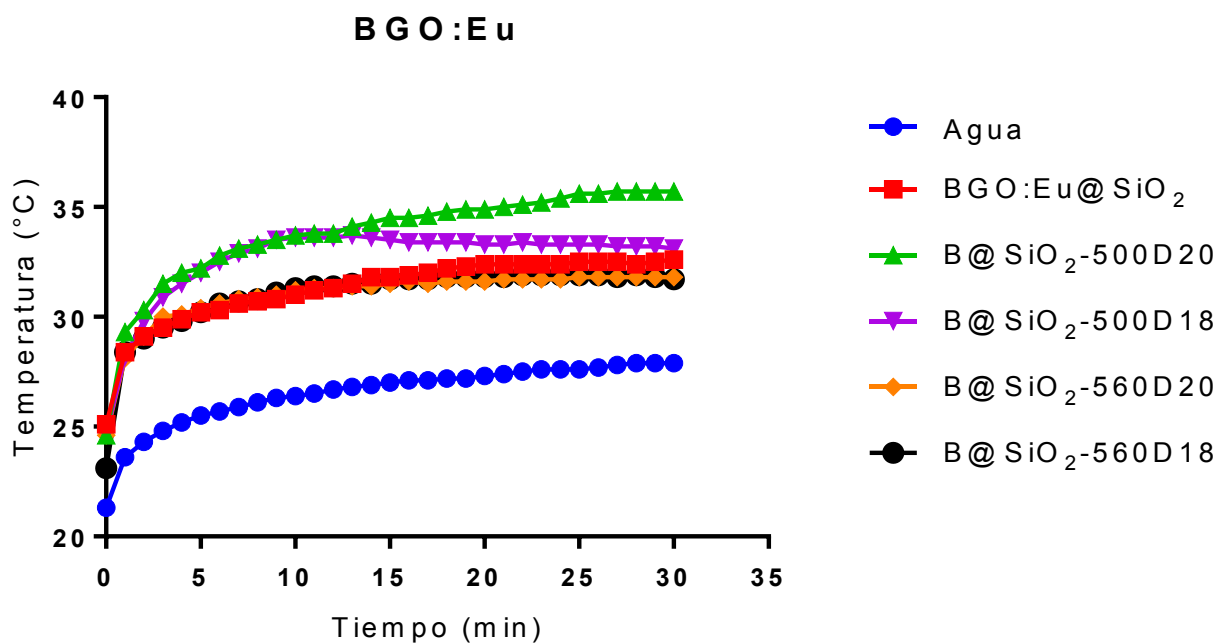


Figura 46. Gráficos que muestran el cambio de temperatura inducido por el calentamiento fototérmico de los diferentes materiales híbridos sintetizados a partir de BGO:Eu. Las lecturas de las temperaturas iniciales fueron tomadas a temperatura ambiente. Las muestras fueron irradiadas con un láser de ~810 nm de longitud de onda, a una potencia 800mW y durante 30 min.

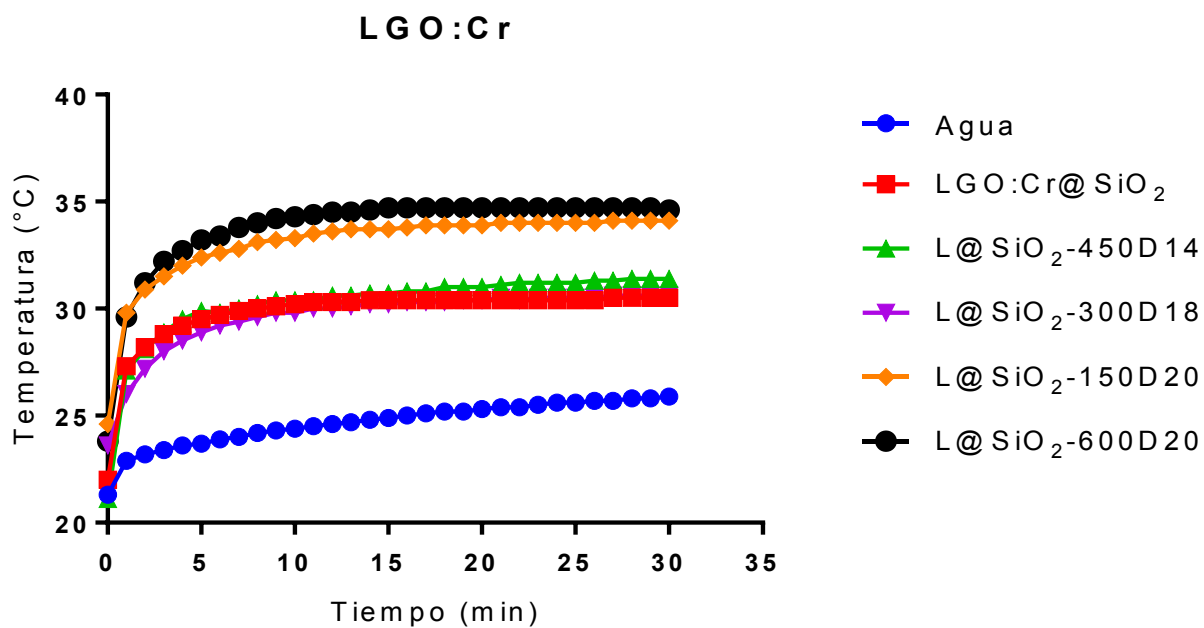


Figura 47. Gráficos que muestran el cambio de temperatura inducido por el calentamiento fototérmico de los diferentes materiales híbridos sintetizados a partir de LGO:Cr. Las lecturas de las temperaturas iniciales fueron tomadas a temperatura ambiente. Las muestras fueron irradiadas con un láser de ~810 nm de longitud de onda, a una potencia 800mW y durante 30 min.

Anexo 4

Ensayos de proliferación celular

El principio de los ensayos de proliferación celular por colorimetría es medir la cantidad de un marcador bioquímico para evaluar la actividad metabólica de las células. Los reactivos utilizados en estas técnicas, producen una coloración en respuesta a la viabilidad celular, permitiendo medir la coloración con ayuda de un espectrofotómetro y asociar la medición con la proliferación o en su defecto, con la muerte celular (Ozlem, 2017).

En este trabajo nos enfocaremos en las características de los ensayos de tipo colorimétrico MTS y cristal violeta. El ensayo por MTS se basa en la conversión de sales de tetrazolio a formazan por medio de la actividad mitocondrial de células vivas, es decir, la cantidad de formazan que se produce, depende de la cantidad de células vivas en el medio de cultivo después de recibir la estimulación de algún agente externo (Ozlem, 2017).

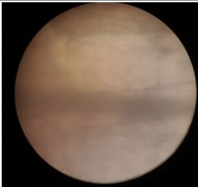
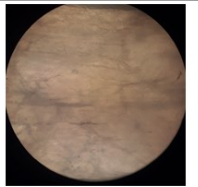
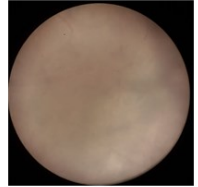
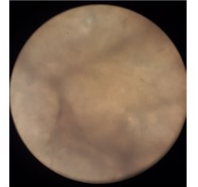
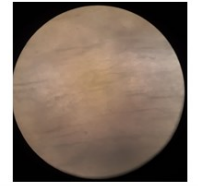
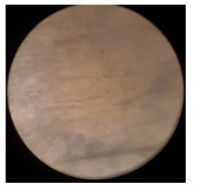
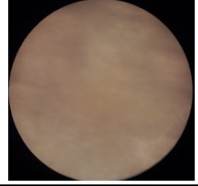
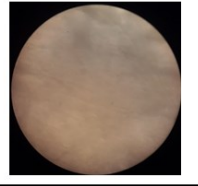
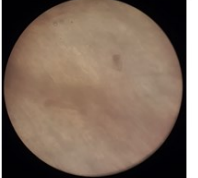
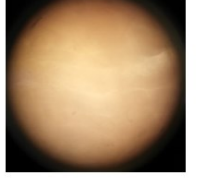
Por su parte, los ensayos por cristal violeta, se basa en la adherencia de las células en el sustrato, ya que las células que sufren muerte celular pierden su adherencia y se desprenden. Esta característica se puede usar para la evaluación indirecta de muerte celular y determinar diferencias en la tasa proliferación como resultado de la estimulación de agentes citotóxicos. En este tipo de ensayos, el colorante de cristal violeta se une a las proteínas de DNA de las células vivas, y por lo tanto adheridas al sustrato. Por lo anterior se infiere que, al presentarse muerte celular, la cantidad del colorante se verá disminuida (Ozlem, 2017).

En este trabajo, los materiales híbridos sintetizados, fueron probados en diferentes líneas celulares. El monitoreo de la proliferación celular se llevó a cabo por medio de los ensayos colorimétricos MTS y cristal violeta, con la finalidad de determinar la viabilidad celular de dichos materiales.

Anexo 5

Imágenes de los tejidos

Set de figuras referentes al experimento descrito en la sección 4.5. En la figura se muestra las secciones transversales de músculo antes y después de ser irradiados con luz IFR de 810 nm a una potencia de 800 mW y durante 30 min, también se muestra el valor del grosor de cada uno de los tejidos y de manera visual, se puede observar que no existe un daño aparente causado por el experimento

Tejido antes de irradiar	Tejido después de irradiar	Grosor (mm)
		1.64
		1.23
		0.97
		1.60
		1.36

Anexo 6

Publicaciones



ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Ceramics International

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ceramint



Synthesis and characterization of BGO with different chelating compounds by the polymeric precursor method, and their effect on luminescence properties

Carlos Belman-Rodriguez^{a,b}, Abraham M. Vidal-Limon^b, Oscar E. Contreras^b, Mariana J. Oviedo^b, Sergio A. Aguila^{b,*}

^a Posgrado en Física de Materiales, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Carretera Tijuana-Ensenada No. 3918, Zona Playitas, Ensenada 22860, Baja California, Mexico

^b Centro de Nanociencias y Nanotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México AP 14, Ensenada 22860, Baja California, Mexico

ChemComm



COMMUNICATION

[View Article Online](#)
[View Journal](#) | [View Issue](#)



Cite this: *Chem. Commun.*, 2018, 54, 11483

Received 18th July 2018,
Accepted 13th September 2018

DOI: 10.1039/c8cc05861j

rsc.li/chemcomm

Bismuth germanate (Bi₄Ge₃O₁₂), a promising high-capacity lithium-ion battery anode†

Jassiel R. Rodriguez,^a Carlos Belman-Rodriguez,^{bc} Sergio A. Aguila,^c Yanning Zhang,^d Hongxian Liu^d and Vilas G. Pol^{id,*a}