EDITORIAL
NAVEGANTE

LOS ANTIOXIDANTES

A-TOCOFEROL, B-CAROTENO Y CURCUMINA Y SU POSIBLE USO EN TRATAMIENTOS ANTICANCERÍGENOS







JOSÉ ANTONIO TIBURCIO MORENO

LOS ANTIOXIDANTES: A-TOCOFEROL, B-CAROTENO Y CURCUMINA Y SU POSIBLE USO EN TRATAMIENTOS ANTICANCERÍGENOS

JOSÉ ANTONIO TIBURCIO MORENO

José Antonio Tiburcio Moreno

Correo de contacto: jtiburciom@unjbg.edu.pe

ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2164-6738

Perfil: Doctor en Ciencias, Magister Scientiarum en Física

Afiliación: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann

Perú

Todas nuestras publicaciones son sometidas a revisión doble-ciego de pares académicos (*Peer Review Double Blinded*).

Esta publicación cuenta con licencia Creative Commons Reconocimiento - NoComercial - SinObraDerivada 3.0 Unported License.



ISBN 978-628-95261-4-1

© José Antonio Tiburcio Moreno

© Editorial Navegante

Cra 22 N° 35-40 Oficina 217, Edificio Apolo, Bucaramanga, Colombia

www.editorialnavegante.com

Este libro es resultado de la investigación *Análisis Espectroscópico Lineal y No Lineal de Antioxidantes: α-Tocoferol, β-Caroteno y Curcumina*, realizada en el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional de Yucatán, México.

Queda prohibida la reproducción bajo cualquier modalidad de toda o una parte de esta obra sin autorización expresa del titular de los derechos

Diseño de carátula y composición: Rodrigo Medrano Serrano

Edición electrónica: Editorial Navegante

Editado en Colombia

Published in Colombia

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS 4

ÍNDICE DE FIGURAS 5-6

PRESENTACIÓN 5-6

CAPÍTULO I NANOPARTÍCULAS BIOACTIVAS PARA EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER 5-6

1.1. La mitocondria como diana terapéutica 9

1.2. La importancia de la nanomedicina 11

1.2.1. Tipos de nanovehículos 12

1.3. La importancia de los antioxidantes en tratamientos moderados para algunos tipos de cáncer 22 15

CAPÍTULO II MITOCANES: SUCCINATO DE LA VITAMINA E (a-TOS) 16

2.1. Actuales nanovehículos para la administración de a-TOS 16

2.1.1. Los liposomas 16

2.1.2. Los conjugados poliméricos 19

2.1.3. Los nanovehículos poliméricos 20

2.2. Terapias avanzadas 21

2.2.1. Resonancia magnética de imagen e hipertemia 21

2.2.2. Terapia fotodinámica 21

2.2.3. Terapia fototérmica por luz infrarroja 21

2.2.3. Terapia fototérmica por luz infrarroja 21

2.2.4. Sonda de imagen IR - 780 21

2.3 Limitaciones de los nanovehículos actuales basados en a-TOS 21

CAPÍTULO III CONSIDERACIONES EXPERIMENTALES 40

3.1. Fotodegradación de a-tocoferol por espectroscopia de absorción, fluorescencia y lente térmica 37 40

3.2. Fotodegradación de b-caroteno por solución usando espectroscopia de absorción y espectroscopia de fluorescencia 40

3.3. Dependencia de polarización en la espectroscopia de absorción de dos fotones de un marcador natural: curcumina en solución 40

APÍTULO CUARTO ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO LINEAL Y NO LINEAL DE ANTIOXIDANTES: a-TOCOFEROL, b-CAROTENO y CURCUMINA 5-6

4.1. Proceso de fotodegradación de a-tocoferol por espectroscopia de absorción, fluorescencia y lente térmica 9

4.2. Proceso de fotodegradación de b-caroteno en solución usando espectroscopia de absorción y espectroscopia de fluorescencia 9

4.3. Dependencia de la polarización en la espectroscopia de absorción de dos fotones de un marcador natural: curcumina en solución 9

APÍTULO QUINTO CONSIDERACIONES FINALES 16

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 16

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resumen de resultados para los cálculos teóricos para TPA 20

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Efecto del tratamiento con UVA (a) en el espectro de absorbancia de la molécula de vitamina E en etanol 9

Figura 2. Efecto del tratamiento con UVC (b) en el espectro de absorbancia de la molécula de vitamina E en etanol 9

Figura 3. Efecto sobre el espectro de fluorescencia excitado con longitudes de onda de 290 nm (a) de la molécula de vitamina E en etanol, bajo tratamiento con luz UVC 9

Figura 4. Efecto sobre el espectro de fluorescencia excitado con longitudes de onda de 440 nm (b) de la molécula de vitamina E en etanol, bajo tratamiento con luz UVC 9

Figura 5. Efecto del tratamiento de luz UVC sobre la señal de lente térmica de la vitamina E acetato en etanol. (a) Señal transitoria de lente térmica 9

Figura 6. Efecto del tratamiento de luz UVC sobre la señal de lente térmica de la vitamina E acetato en etanol. (b) Evolución temporal de la señal de lente térmica bajo tratamiento continuo con luz UVC 9

Figura 7. Espectros de absorción del b-caroteno, expuesto a radiación UV a longitud de onda de 366 nm. (a) Durante 48 minutos 9

Figura 8. Espectros de absorción del b-caroteno, expuesto a radiación UV a longitud de onda de 254 nm. (b) Durante 24 minutos 9

Figura 9. Absorbancia máxima versus tiempo de exposición, (a) 366 nm, y el correspondiente ajuste al modelo de cinética de primer orden para la fotodegradación de b-caroteno 9

Figura 10. Absorbancia máxima versus tiempo de exposición, (b) 254 nm, y el correspondiente ajuste al modelo de cinética de primer orden para la fotodegradación de b-caroteno 9

Figura 11. Intensidad de fluorescencia versus tiempo de exposición a radiación UV a 254 nm, de b-caroteno a dos diferentes concentraciones: (□) corresponde a C0 = 3.0□10-5 M y (□) corresponde a C0 = 1.5□10-6 M 9

Figura 12. Intensidad de emisión de máxima fluorescencia versus tiempo de exposición a radiación UV a 254 nm y ajuste a modelo de cinética de primer orden para la fotodegradación de b-caroteno en THF 9

Figura 13. Espectro de absorción lineal experimental (línea azul punteada) de curcumina en THF. Espectro de emisión (línea roja a trazos) y espectro de anisotropía de fluorescencia (línea sólida negra) para curcumina en etilenglicol 9

Figura 14. Espectro experimental para absorción de dos fotones (TPA) para la curcumina en THF (cuadrados dispersos) para LPL (a) y CPL (b), con sus correspondientes transiciones electrónicas teóricas TPA (esferas dispersas) y convolución con lorentzianas [ancho de la línea 0.15 eV FWHM] (línea punteada) 9

Figura 15. Orbitales moleculares de curcumina calculados usando Gaussian 09TM al nivel B3LYP/6-31++G** en THF 9

Figura 16. Gráfica log-log de cambios en la transmitancia normalizada versus irradiancia de entrada a 600 (cuadrados negros), 740 (esferas azules) y 840 nm (triángulos rojos) 9

Figura 17. Espectros TPLCD teórico (línea roja punteada) y experimental (línea sólida negra) de curcumina en THF 9

PRESENTACIÓN

En este libro se presenta el estudio espectroscópico sistemático de tres moléculas antioxidantes: a-tocoferol, b-caroteno y curcumina sometidas a la acción de irradiación ultravioleta. Estos aspectos son fundamentales en la comprensión de los sistemas químicos y biológicos que involucran esas sustancias y compuestos afines.

Por ello, es necesario tener conocimiento sobre algunos aspectos como el de la tensión oxidativa, la cual es generada por radicales libres que causan serios problemas a la salud humana. A su vez, estos son provocados por fuentes externas, tales como luz solar, polución y humo de cigarro, lo que explica por qué la luz ultravioleta, el humo de cigarro y los efectos de la contaminación ambiental han sido señalados como causas de cáncer de piel y pulmón. Por otro lado, el estrés inducido por radicales libres también puede generar múltiples enfermedades. En consecuencia, la patogénesis de varias enfermedades involucra a la tensión oxidativa.

El círculo vicioso de producción de radicales libres, estrés oxidativo e inflamación provocaría inflamaciones crónicas, las cuales pueden desarrollar enfermedades más complicadas. Por lo tanto, es necesario tener un balance en la producción y detoxificación de moléculas ROS mediante los antioxidantes, que son compuestos con la habilidad para donar electrones o átomos de hidrógeno para reaccionar con los radicales libres, además, inhiben la reacción en cadena y oxidación de la molécula.

Por muchos años, el entendimiento sistemático de las interacciones de la luz con la materia, desde un punto de vista fundamental y práctico, ha llamado la atención de químicos, físicos y estudiosos de la ciencia de materiales, porque algunas de las más prometedoras aplicaciones tecnológicas están relacionadas con arquitecturas atómicas o moleculares basadas en las propiedades ópticas de estas sustancias.

Por consiguiente, el diseño y estudio de nuevas drogas con potenciales aplicaciones en terapia fotodinámica, bioimágenes de células humanas y almacenamiento óptico de datos son algunas de las muchas áreas que han tenido un profundo impacto en la vida diaria de la sociedad. Los avances realizados basados en la comprensión de propiedades ópticas de los materiales han sido principalmente conectados al uso de diferentes técnicas espectroscópicas, las cuales proveen una invalorable información con respecto a sus características electrónicas y estructurales.

En este sentido, el desarrollo de láseres ultrarrápidos ha hecho posible realizar estas caracterizaciones en áreas tales como la fotoquímica y fotofísica para alcanzar nuevas escalas en la comprensión de fenómenos ópticos incluso a niveles moleculares. Particularmente, la absorción de dos fotones (TPA) es un proceso en el cual un átomo o molécula absorbe simultáneamente dos fotones para llevar a cabo una transición electrónica. Esta ha sido ampliamente aplicada en la caracterización de colorantes que muestran aplicaciones en áreas como la microscopia, microfabricación, potencia óptica límite, entre otras.

En ese aspecto, el rápido avance en la ingeniería molecular a través del diseño con colorantes altamente eficientes que poseen alta TPA ha significado un impacto en diferentes campos de la tecnología. Asimismo, el desarrollo de modelos computacionales sofisticados para la predicción de estas propiedades ha beneficiado, ciertamente, el diseño de cromóforos basados en absorción de dos fotones, los cuales son importantes en el estudio sistemático de las propiedades de diversos compuestos.

Por ello, es necesario caracterizar bajo diferentes puntos de vista a estas moléculas y es de vital importancia estudiar sus propiedades térmicas, ópticas y espectroscópicas para poder plantear potenciales aplicaciones en diferentes campos relacionados con la vida diaria, uno de los más importantes es el área de medicina. Ello debido a que estos tres antioxidantes pueden ser utilizados como tratamiento para algunas enfermedades como el cáncer. A pesar de que existen tratamientos para el cáncer, la mayoría de estos dañan los tejidos de los órganos sanos y generan, posteriormente, otro tipo de complicaciones. Por tal motivo, la investigación presentada en este libro ha sido motivada.

En el primer capítulo, se describirán las nanopartículas involucradas en los tratamientos contra el cáncer, la importancia de la nanomedicina y los tipos de nanovehículos que se utilizan en los tratamientos anticancerígenos. En el segundo capítulo, se presentará al mitocan, succinato de la vitamina E o a-tocoferol (a-TOS), como pieza fundamental para el desarrollo de innovadoras terapias anticancerígenas, así como cuáles son aquellos nanovehículos que permiten la administración de dicho mitocan. De igual manera, se explicará cómo se utilizan los nanovehículos teranósticos en terapias avanzadas contra el cáncer, como la terapia fotodinámica, y las limitaciones que presentan.

Por otro lado, en el tercer capítulo, se explican algunas consideraciones para tener en cuenta antes de proseguir con el análisis basado en las normas ópticas que se hallaron en el proceso. En el cuarto capítulo, se describirá el estudio teórico y experimental que se ha realizado con la molécula de curcumina a través de técnicas espectroscópicas, como la absorción, y se explicará detalladamente cada procedimiento realizado y los resultados obtenidos al finalizar cada proceso. Por último, en el quinto capítulo se presentarán las consideraciones finales respecto a lo hallado en el experimento con el fin de aportar a la nanomedicina y la medicina en general.

CAPÍTULO I

NANOPARTÍCULAS BIOACTIVAS PARA EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER

El cáncer es una enfermedad que se puede desarrollar en diferentes partes del organismo humano y se produce por el aumento de células anormales que proliferan y se propagan de forma descontrolada por el organismo en razón de su facilidad para invadir otros tejidos, penetrar en los vasos sanguíneos y linfáticos, así como su resistencia a la muerte celular. Hasta la actualidad, se conoce más de un centenar de tipos distintos de cáncer que, generalmente, adquieren la nominación de los órganos o tejidos donde se forman (1).

En ese sentido, los procesos cancerígenos tienen inicio en las modificaciones genéticas que dañan a los protooncogenes, los cuales son genes supresores de tumores y reparadores del ADN (2). Entonces, las proteínas modificadas por estos genes normalizan los mecanismos de proliferación, de distinción y muerte celular, también de la reparación del ADN (3), (4).

Por ello, el progreso en los estudios de cambios en los genes responsables de los procesos oncogénicos se ha convertido en un avance relevante en el entendimiento del cáncer. No obstante, ciertas características de las células tumorales no se explican en estas mutaciones, sino que existen otros aspectos que desempeñan un rol imprescindible en el avance de esta enfermedad.

Por otra parte, en los últimos años, el cáncer se ha considerado como la segunda causa de muerte en el mundo, por debajo de enfermedades de tipo cardiovascular. De acuerdo con los datos de la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC), cerca de 15 millones de casos nuevos de cáncer se dieron en el 2012, con un total de más de 8 millones de muertes.

De manera precisa, los cánceres de pulmón, mama y colon son los que tienen más incidencia en las personas; respecto a ello, en razón del aumento y envejecimiento de la población mundial, se calcula cerca de 22 millones de casos nuevos para el 2030 (5). Estos números dan cuenta de la preponderancia de esta enfermedad para la humanidad, así como la incapacidad de los tratamientos para hacerle frente.

Ahora bien, la cirugía y radioterapia son los tratamientos más frecuentes para tumores locales y no metastásicos. No obstante, estos no son suficientes cuando el cáncer ha invadido otros órganos. En esos casos, la práctica de fármacos citotóxicos y antineoplásicos por medio del torrente sanguíneo es necesaria en lo que respecta a la quimioterapia.

De forma particular, los quimioterápicos realizan su función inhibiendo el avance sin control de las células cancerígenas (6). El primero de estos fue la mostaza nitrogenada (mecloretamina) que luego de su empleo con propósitos militares en la Primera Guerra Mundial se conoció que amenguaba los niveles de glóbulos blancos en los militares que se expusieron a este tipo de sustancia (7).

Desde esa fecha hasta el momento, el avance de fármacos citostáticos ha sido grandioso con muchas probabilidades y cuya elección se adecúa al tipo de tumor, su ubicación, el estado general del paciente, entre otros. Algunos de los ejemplares más característicos de fármacos antineoplásicos empleados hoy en día son cisplatino [CPT] (8), 5-fluoroacilo [5-FU] (9), doxorrubicina [DOX]

(10) y paclitaxel [PTX] (11).

A pesar del progreso de los tratamientos contra el cáncer con los que se cuenta hasta el momento en el mercado, estos se particularizan por su alta toxicidad en perjuicio de células tumorales y sanas, sobre todo si se ubican en división activa. Ello conlleva al debilitamiento del sistema inmune del paciente que frecuentemente se ve afectado por efectos secundarios. También sucede que gran parte de los fármacos quimioterapéuticos no llegan al lugar de acción donde se les necesita en dosis eficaces, lo cual limita en gran parte la efectividad del tratamiento.

Por dichos aspectos, los estudios en este campo se enfocan en el descubrimiento de novedosos medicamentos y tratamientos que ataquen de forma selecta a las células cancerígenas sin dañar a las sanas. Dada esta particularidad, hacia finales de los noventa, se crearon las terapias dirigidas para impedir de forma determinada dianas moleculares que se ubican sobreexpresadas en células cancerígenas en beneficio de su avance incontrolado.

En efecto, de los diecinueve fármacos anticancerígenos nuevos que tuvieron la aprobación de la Agencia Reguladora del Medicamento (FDA) entre 2012 y 2014, solo uno no se sustenta en terapias dirigidas (3). Por otro lado, el rituximab fue el primer anticuerpo monoclonal en 1997, luego se han creado muchos otros tratamientos sustentados en anticuerpos monoclonales [trastuzumab, pertuzumab, cetuximab, entre otros] (12), inhibidores de la tirosina quinasa [erlotinib, gefitinib, imanitib] (13), inhibidores de la formación de vasos sanguíneos (bevacizumab), agentes inmunomoduladores (mifamurtida, ipilimumab) y novedosas terapias hormonales (abiraterona o enzalutamida).

En síntesis, teniendo en cuenta los progresos en terapias dirigidas, aún queda un largo camino por recorrer para conducir eficazmente la biología de las células tumorales con el fin de ubicar dianas terapéuticas pertinentes que impidan la resistencia frecuente a este tipo de tratamientos (14).

1.1. La mitocondria como diana terapéutica

Las mitocondrias son orgánulos altamente móviles que se encuentran en gran parte de las células eucarióticas. Se conocen como el foco neurálgico de las células y funcionan como la más importante fuente de energía por medio de la síntesis de adenosín trifosfato (ATP) a expensas de glucosa, ácidos grasos y aminoácidos mediante fosforilación oxidativa (15). En términos estructurales, la mitocondria se basa en dos membranas que circundan el espacio intermembrana y la matriz mitocondrial.

Por otro lado, la membrana interna se conforma de una serie de pliegues conocidos como crestas donde se encuentran las proteínas que realizan las reacciones de oxidación de la cadena respiratoria, el complejo enzimático ATPasa que sintetiza el ATP, así como determinadas proteínas que regulan el paso de metabolitos a la matriz. Además, la matriz mitocondrial contiene a los ribosomas y las moléculas del ADN y ARN mitocondrial, los cuales se convierten en los orgánulos que cuentan con un material genético particular. También, en la matriz de las mitocondrias, se hallan las enzimas encargadas de relevantes caminos metabólicos como el ciclo de Krebs (16), (17).

Además de funcionar como dadoras de energía primaria para las células, las mitocondrias se encuentran implicadas en la transducción de señales mediadas por calcio y especies reactivas al oxígeno (ROS); también desempeñan un rol importante en la supervivencia y muerte celular. Estas particularidades han convertido a las mitocondrias en un elemento clave para el adecuado manejo de la maquinaria celular del organismo humano y la desregulación de algunos de los mecanismos que

en ellas tienen lugar, por lo que son importantes en enfermedades como la diabetes, la obesidad, el Alzheimer y el cáncer.

Cabe señalar que una de las investigaciones pioneras acerca de la alteración mitocondrial en células cancerígenas, fue realizada por el científico alemán Otto Warburg a inicios del pasado siglo (18), (19). El científico descubrió que la velocidad de glucólisis de las células tumorales era mayor a la normal, tal vez en razón del daño de la capacidad respiratoria de este tipo de células. Por este descubrimiento, Warburg fue galardonado con el Premio Nobel de Medicina en 1931 (20).

Si bien en las células normales, casi el total de la energía en forma de ATP se debe a la fosforilación oxidativa que se realiza en las mitocondrias, sucede lo contrario en las células tumorales. Dado que mediante la glucólisis que se origina con anterioridad en el citosol de las células, las células tumorales, reciben esa energía (21). Este proceso de supervivencia de las células cancerígenas es conocido como efecto Warburg y se considera un mecanismo de respuesta ante un ambiente de hipoxia que les posibilita seguir proliferando sin discriminación a raíz de un metabolismo altamente glucolítico (22).

En consecuencia, el hallazgo del efecto Warburg dio a conocer la existencia de determinadas diferencias en la estructura, composición y función de las células tumorales (23). Estas son menos, más reducidas y con una cantidad inferior de crestas. La estructura proteica y lipídica de la membrana interna es distinta y se han hallado diferencias en el potencial de la membrana, la velocidad en la conducción de electrones y aniones, la síntesis de proteínas y la producción de ROS (24).

Por último, serias mutaciones y cambios en el ADN mitocondrial se detectaron en distintos tipos de cáncer (25), (26). Por ello, la mitocondria presenta un rol determinante en gran parte de las particularidades distintivas del fenotipo de una célula tumoral que se conocieron gracias a Hanahan y Weinberg en 2011 (27). Las señales de identidad descubiertas fueron las siguientes: potencial de replicación ilimitado, angiogénesis, evasión de la apoptosis, autosuficiencia de señales de crecimiento, insensibilidad a señales antiproliferativas, así como capacidad de invasión de tejidos y metástasis.

A pesar de que estas disfunciones mitocondriales son generalmente habituales en el progreso de la enfermedad del cáncer, cabe señalar que tanto las modificaciones morfológicas como funcionales vistas en las mitocondrias de las células cancerígenas requieren de diferentes factores, como el tipo de cáncer, el tejido donde se forma inicialmente, el estadio de la enfermedad, entre otros.

Por ello, se creó el Índice Bioenergético Celular (BEC), un índice que involucra el nivel de expresión de marcadores mitocondriales que normalizan la biosíntesis de proteínas mitocondriales, regulando la biosíntesis de proteínas mitocondriales y manejando el metabolismo glucolítico de las células tumorales (28), (29). Este índice fue creado para 60 líneas celulares humanas provenientes de nueve tumores (mama, colon, pulmón, próstata, riñón, células de sangre, ovario, sistema nervioso central y melanoma) que indicaron el panel NCI-60 del Instituto Nacional del Cáncer a mediados de los ochenta (30).

Las consecuencias de esta investigación hicieron posible saber que ciertas líneas celulares estudiadas presentaban niveles de disfunción mitocondrial especialmente llamativos, como diferentes células provenientes de cáncer de mama, colon o pulmón. Cabe recalcar que estos estudios se han convertido en un instrumento muy importante para la elaboración de nuevos fármacos y terapias contra el cáncer (31).

Otro rol importante de las mitocondrias es su desempeño en la adecuada puesta en marcha de la muerte celular programada, proceso también llamado apoptosis (32), (33). A diferencia de la necrosis que es un modo de muerte celular sin control que señala la ruptura de la membrana celular y conlleva una respuesta inflamatoria, la apoptosis es la contestación a distintos estímulos fisiológicos que activan los receptores de la muerte en la vía extrínseca o actúan como respuesta al estrés involucrando la cascada de señalización vía mitocondrial (vía intrínseca). Las rutas mencionadas convergen en la liberación de caspasas (34).

Por un lado, la vía extrínseca se conoce por la colaboración de receptores de muerte como son la proteína Fas y el factor de necrosis tumoral (TNF). Estos receptores de muerte convergen en ligandos de muerte extrínsecos que generan la oligomerización y modificaciones conformacionales en los receptores y en la elaboración del complejo de señalización de muerte (DISC), gracias a la activación de la caspasa 8.

De manera contraria, las mitocondrias controlan la vía intrínseca de apoptosis como contestación al estrés celular. Ello deviene en la liberación de citocromo c al citosol de las células por medio de la activación de proteínas proapoptóticas tales como bax, bak o miméticas BH3 que regulan de manera determinada la permeabilidad de la membrana mitocondrial externa. Estas proteínas también confiscan y bloquean la colaboración de proteínas antiapoptóticas Bcl-2 y se integran creando una estructura porosa que permeabiliza la membrana mitocondrial externa, de manera que obtienen el esparcimiento del citocromo c, además de la caspasa 9.

En células normales, las mitocondrias se encuentran en la posibilidad de llevar a cabo su función en el manejo de la apoptosis y desarrollar la muerte celular en respuesta a distintos estímulos. Caso contrario sucede con las células cancerígenas, las cuales realizan diferentes procedimientos para la evasión de la apoptosis y permiten una correcta proliferación sin discriminación (35).

También en las células tumorales con un metabolismo muy glucolítico, la fosforilación oxidativa no se desarrolla adecuadamente de forma similar al transporte de electrones en la cadena respiratoria. Ello conlleva a la generación de elevadas concentraciones de ROS, generalmente, en los complejos I, II y III de esta cadena de transporte de electrones.

Por lo tanto, la menor concentración de enzimas antioxidantes en las células tumorales conlleva al almacenamiento de estas especies reactivas, con resultados impertinentes en la progresión de la proliferación celular y carcinogénesis, lo que genera falta de estabilidad y cambios en el ADN mitocondrial o perjuicio en diferentes componentes celulares (36).

1.2. La importancia de la nanomedicina

En los últimos años, la ejecución de la nanotecnología en el área de la medicina ha surgido como un campo interesante para la optimización del tratamiento del cáncer y algunas otras enfermedades. En el momento en que la materia se confina en dimensiones en el rango de los nanómetros surgen novedosas e importantes características físico-químicas que no se notan a escala macroscópica (1).

En resumen, el esparcimiento controlado de fármacos es una de las ejecuciones más notables y con un alto grado de proyección de la nanomedicina. Gran parte de los sistemas tradicionales para la administración de fármacos se encuentran sujetos a limitaciones por la solubilidad y toxicidad de los principios activos (37). De esa manera, el empleo de móviles de propiedades nanométricas se presenta como una alternativa pertinente para la dosificación permanente y sostenida de medicamentos en un

periodo de tiempo particular en el lugar donde llevan a cabo su función (38), (39).

Por lo tanto, se considera que la utilización de la nanomedicina para la administración de fármacos contra el cáncer presenta varias ventajas, entre las que sobresalen el recorte de la toxicidad y la optimización de la eficacia y particularidad de los fármacos empleados, en protección de la degradación y mejora de los perfiles farmacocinéticos luego de su administración.

Además, otra de las ventajas primarias del aprovechamiento de nanovehículos es su aptitud para incrementarse con preferencia en los tejidos tumorales en razón del Efecto de Permeación y Retención Aumentada (EPR) conocido como vectorización pasiva (40). Este fenómeno es resultado de la aleación de dos elementos, la mayor permeabilidad de los vasos sanguíneos tumorales y la ausencia de drenaje linfático en el tejido tumoral que genera; por consiguiente, la acumulación de las macromoléculas. La vectorización pasiva en razón del efecto EPR se debe a la concentración en plasma de las macromoléculas aprovechadas y es posible solo cuando su masa molecular supera los 30 kDa (41).

En ciertas circunstancias, la vectorización pasiva no se da de la forma que se espera, sobre todo en tumores que tienen un ambiente hipóxico con disminuida vascularización y permeabilidad. Para estas ocasiones, es posible crear nanofármacos con vectorización activa a través de la puesta en marcha de ligandos que reconocen diferentes especies de receptores que sí tienen una ubicación sobreexpresada en las células tumorales como el receptor del factor de crecimiento endotelial vascular [VEGFR] (42), los receptores de transferrina (43) o los receptores tirosina quinasa.

Aparte de ello, los ligandos empleados se encuentran en la capacidad de ser de distinta procedencia, entre los cuales sobresale la utilización de anticuerpos monoclonales (44), moléculas pequeñas como el ácido fólico (45), glicoproteínas y distintas secuencias peptídicas, entre otros (46).

1.2.1. Tipos de nanovehículos

En la actualidad, el tipo de nanovehículos con los que se cuenta es variado. En su uso en terapias anticancerígenas sobresale el progreso en el estudio de novedosos y sofisticados nanovehículos lipídicos, preferentemente liposomas, conjugados poliméricos y nanovehículos respaldados en polímeros terapéuticos anfifílicos que están en la capacidad de formar micelas o nanopartículas poliméricas [NPs] (47).

Nanovehículos lipídicos: liposomas

Los nanovehículos lipídicos o liposomas se pueden entender como vesículas esféricas compuestas por capas dobles lipídicas ubicadas de forma concéntrica y conformadas por diferentes especies de fosfolípidos como la lecitina o la fosfatidilcolina (PC), entre otros (48). Por consiguiente, los liposomas pueden albergar uno o más cuadros acuosos en razón del procedimiento ejecutado para su elaboración.

Asimismo, existen distintas tecnologías para su obtención, aunque sustentadas en la preparación de una suspensión de fosfolípidos en un ambiente hidrofóbico que se reemplaza gradualmente por una solución acuosa por medio de procesos de dilución, evaporación o diálisis. Esa modificación de disolvente genera que los fosfolípidos se aglomeren a sí mismos (49).

En efecto, a mediados de los noventa, se aceptaron por la FDA en los Estados Unidos los primeros

nanovehículos para su aprovechamiento en humanos respecto a tratamientos anticancerígenos, en concreto el doxil, cuyo principio activo es la doxorrubicina. Estos liposomas se cambiaron de manera superficial con polietilenglicol (PEG) y encapsularon de forma eficaz la DOX para el cuidado del cáncer de ovario y el sarcoma de Kaposi (50).

Luego de ello, tan solo cinco formulaciones lipídicas más se aprobaron para el tratamiento del cáncer sustentadas en liposomas no modificados superficialmente con PEG para la encapsulación de DOX (51), citarabina (52), vincristina (53) y mifamurtida (54). Estos nanovehículos lipídicos se emplean en el cuidado del sarcoma de Kaposi, el cáncer a la piel o el osteosarcoma (47). Las formulaciones mencionadas no toman en cuenta ningún procedimiento de vectorización activa, aunque a pesar de ello se ha mejorado la toxicidad y los perfiles farmacocinéticos de los fármacos que administran.

En los últimos años se han continuado realizando investigaciones acerca de este tipo de formulaciones con más de medio millar de ensayos clínicos en Norteamérica y diferentes sistemas lipídicos (55). Dado este panorama, uno de los modelos más representativos es la formulación pegilada MBP-426 que pasó la fase II de los ensayos clínicos, por lo que es pionera en considerar un ingrediente de vectorización activa.

Durante esta fase, el ras de los liposomas cambia con transferrina que es una glicoproteína que traslada hierro hasta las células por medio de su contacto con receptores celulares determinados que se encuentran sobreexpresados en células tumorales. Estos liposomas encapsulan, de forma eficaz, oxiplatino que sirve para la terapia del cáncer de mama o hígado (56).

Conjugados poliméricos

Otro tipo de nanovehículos son los conjugados poliméricos, los cuales se fundamentan en el enlace covalente de un fármaco a la estructura de un polímero y se diferencian dos especies: conjugados polímero-fármaco y conjugados polímero-proteína. En los años setenta, Ringsford aplicó un modelo de sistema conjugado, de manera que al sistema del polímero se le agregó un conjunto solubilizador que optimizó la biodisponibilidad del proceso de transporte y un ligado para llegar de forma conveniente al lugar de acción (57).

Tanto la elección del portador polimérico como la del vínculo covalente son elementos importantes en el manejo de este modelo de macromoléculas poliméricas. Por una parte, el polímero no debe ser tóxico, tampoco inmunogénico y debe contar con una capacidad conveniente de carga. Por otro lado, el enlace covalente tiene que ser firme en plasma y apto de biodegradarse a la velocidad conveniente cuando el conjugado alcance a la diana molecular elegida (58).

Hasta el momento, no se encuentran conjugados polímero-fármacos avalados por la FDA para la cura contra el cáncer (55). Solo dos conjugados polímero-proteína se encuentran habilitados en términos comerciales. Asimismo, el PEG-L-asparaginasa fue el conjugado pionero anticancerígeno PEG-proteína en lograr la aceptación de la FDA para el tratamiento de la leucemia (59).

Por su lado, Maeda et al. (41) llevaron a cabo el primer conjugado polímero-proteína que se encontró en el mercado, conocido como SMANCS. El método utilizado se sustentaba en el enlace de la neocarzinostatina con el copolímero de ácido maleico y estireno debido a su manejo regional en pacientes con carcinoma hepatocelular.

A pesar de sus ventas, el progreso en el proceso de conjugados polímero-fármaco se ha vuelto abrumador últimamente. En la actualidad, se cuenta con más de 15 conjugados en distintas fases de pruebas clínicas. Gran parte de estos sistemas emplean polímeros sintéticos como el PEG (60), el poli HPMA (61) y el ácido poliglutámico (62) en razón de la conjugación de fármacos como la DOX (63), el PTX (64) y la camptotecina (65), entre otros. Un caso importante de los referidos es el NKTR-102 que pasó recientemente por la fase III (66). En el particular del irinotecan, un derivado de la camptotecina, este se sienta covalentemente al PEG para el control del cáncer de mama, ovario y colon.

En los últimos años, solo un conjugado polímero-fármaco con elementos de vectorización activa pasa por medición clínica. Este es el caso del sistema polimérico PK2 en el que la DOX se ancla al HPMA haciendo uso de la galactosamina ligado con el propósito de incentivar la vectorización hacia el receptor asialoglicoproteico en favor del control de cáncer hepatocelular o de hígado. Por otro lado, este conjugado toma en cuenta el tetrapéptido Gly-Phe-Leu-Gly como espaciado de manera que posibilita el esparcimiento del fármaco mediante su partición por enzimas lisosomales encontradas en las células tumorales (67).

1.3. La importancia de los antioxidantes en tratamientos moderados para algunos tipos de cáncer

Los antioxidantes se caracterizan por ser compuestos químicos que interactúan y neutralizan los radicales libres de manera que impiden dañar el cuerpo humano. Cualquier antioxidante tiene una elevada efectividad, variabilidad operativa y versatilidad que le permite combinarse con una variedad importante de especies de radicales libres.

Asimismo, González-Mateo et al. determinan que "las defensas antioxidantes se pueden clasificar en función de su naturaleza como antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos y en función de su procedencia como antioxidantes endógenos y exógenos" (68). Por ello, se determina que la mayoría de los antioxidantes pueden limitar e incluso prevenir el cáncer. Ello debido a que "los antioxidantes pueden interactuar con los radicales libres y estabilizarlos, pudiendo evitar parte del daño que éstos [sic] pueden causar a nivel celular y actuar como prevención para el desarrollo del cáncer" (69).

No obstante, algunos estudios demuestran que estos tienen un efecto preventivo como resultado del consumo de alimentos ricos en antioxidantes, mientras que otros no observan esa correlación. Esto se debe a que, mayormente, cada alimento está compuesto por diferentes bioactivos, algunos conocidos y bien estudiados, y otros desconocidos, difíciles de cuantificar y, por ende, resulta imposible delimitar sus efectos. Por otra parte, las condiciones experimentales (dosis, tipo de células, condiciones de cultivo y duración del tratamiento) que se utilizan en el estudio para una mejor interpretación de resultados son consideradas fundamentales, ya que pueden mostrar efectos opuestos a los esperados.

Dado que el rol de los antioxidantes en la quimioterapia no es muy conocido puede entorpecer el mecanismo de acción de los agentes terapéuticos y, por ende, aumentar o disminuir su eficacia. Al respecto, González-Mateo et al. establecen que "algunos fármacos aplicados en la quimioterapia actúan contra las células cancerosas a través de la formación de ERONs, como los agentes alquilantes, las antraciclinas, los derivados de la podofilina, complejos de coordinación de platino, y las camptotecinas. Algunos de estos fármacos actúan también sobre otras células y pueden causar o contribuir a los efectos secundarios comunes a muchos fármacos anticancerígenos" (68).

Se comprende, entonces, que el tratamiento con antioxidantes puede reducir o prevenir muchos

de estos efectos secundarios. Además, estudios in vitro han mostrado que las vitaminas A, C y E, así como los carotenoides pueden incrementar la eficacia de la quimioterapia. Sin embargo, se debe tener en cuenta que también existen ocasiones en las que al intervenir sobre su mecanismo de acción se puede interferir en el efecto de la quimioterapia.

Asimismo, al momento de ejecutar una terapia o tratamiento contra el cáncer, es importante tomar en consideración que todos los antioxidantes no pueden ser tratados como iguales en la evaluación de su impacto y no se puede anticipar que uno de ellos tenga la misma actividad sobre todos los agentes quimioterapéuticos.

CAPÍTULO II

MITOCANES: SUCCINATO DE LA VITAMINA E (a-TOS)

Las diferencias metabólicas, morfológicas y funcionales halladas en las mitocondrias de células normales y tumorales han convertido a estos orgánulos celulares en una diana terapéutica conveniente para el progreso de métodos más eficaces y selectivos contra el cáncer (70). En ese sentido, los estudios en este campo se enfocan con más razón en atacar estas desigualdades por medio de la elaboración de novedosos fármacos que se conocen como mitocanes.

Neuzil et al. (71) los clasificaron en ocho tipos distintos en relación con el lugar de acción: inhibidores hexoquinasa, miméticos BH3, inhibidores redox, acción vía canal aniónico de voltaje, cadena transporte de electrones, membrana mitocondrial interna, ciclo de Krebs y ADN mitocondrial. Uno de los mitocanes más alentadores para el proceso de novedosas terapias anticancerígenas es el succinato de la vitamina E o A-tocoferol (a-TOS). Se trata de un mitocan que induce de forma selecta el deceso celular programado o apoptosis de células tumorales (72) o células endotiliales en proliferación (73) vía mitocondrial (74).

En términos estructurales, el a-TOS es un derivado éster de la vitamina E, asequible monetariamente y en el que Neuzil et al. (71) distinguen tres dominios a escala molecular, los cuales son de funcionalización, de señalización e hidrofóbico. En concreto, estos autores señalan que el primero es el encargado de su actividad, mientras que el último presenta un rol determinante como mediador en el acoplamiento en membranas lipídicas (75).

Ahora bien, el a-TOS funciona como un mitocan clase 2 en la cadena de transporte de electrones encontrada en la membrana interna de las mitocondrias. En concreto, este fármaco impide la actividad succinato deshidrogenasa del complejo II de la cadena respiratoria, desplazando a la ubiquinona en las células cancerígenas. Como resultado, los electrones conseguidos por la acción de este complejo se combinan con el oxígeno molecular y generan elevadas concentraciones de ROS. Estas especies reactivas logran un importante nivel de estrés celular que activa la familia de proteínas proapoptóticas Bax.

En consecuencia, las proteínas Bax se encuentran en la capacidad de dimerizarse y padecen modificaciones conformacionales que mueven a la formación de canales multiméricos en la membrana mitocondrial externa. Además, los altos niveles de ROS dados oxidan con eficacia el complejo de la cardiolipina (CL) y liberan el citocromo c que llega a obtener con facilidad el citosol de las células mediante el canal producido con anterioridad en la membrana externa. Al llegar el citocromo c al citosol de las células tumorales, se inicia una serie de manifestaciones de la vía intrínseca de la

apoptosis que parte con la activación de la caspasa 9 y culmina con la muerte celular.

Sin embargo, la actividad antitumoral de a-TOS no sería capaz de explicarse solamente por este procedimiento activo. Para que la actividad sea factible, es conveniente que este fármaco anule la actividad de las proteínas antiapoptóticas Bcl-2 presentes en las células tumorales. Por tal razón, el a-TOS funciona como un mitocan clase 5 que bloquea la acción de estas proteínas mediante su enlace por los dominios miméticos tipo BH3 (76).

La administración del a-TOS para su aplicación médica es un gran inconveniente para el avance de terapias fundamentadas en su sistema de acción selectivo. Ello debido a que la solubilización en medios orgánicos o emulsiones no es una buena opción para su dosis en el torrente sanguíneo, ya que generó consecuencias adversas en ratones inoculados, entre ellas, reacciones inflamatorias o síntomas de embolización. Asimismo, la esencia hidrofóbica del a-TOS reduce su proyección terapéutica con unos perfiles famacocinéticos en plasma no apropiados.

2.1 Actuales nanovehículos para la administración de a-TOS

Pese a su elevado potencial terapéutico, el a-TOS es un fármaco altamente hidrofóbico insoluble fisiológicamente y, por ende, tedioso de administrar. Estas particularidades han frenado su acción en el manejo selectivo del cáncer, por lo que se han dejado de lado las investigaciones *in vitro e in vivo* (77).

En ese sentido, la evolución de la nanomedicina permite pensar sobre la elección de un procedimiento correcto para superar los inconvenientes de administración del a-TOS. Uno de estos está relacionado con la conjugación con PEG (1 kDa de masa molecular) mediante el dominio funcional de este fármaco para dar con el conjugado conocido como TPGS (a-tocopheryl polyethylene glycol succinate). Este fue dado a conocer por E. Kodak a mediados del siglo XX y se ha solventado en su capacidad de autoensamblamiento por medio de la formación de micelas de alrededor de 13 nm con una concentración micelar crítica del 0.02 % w/w a 37 °C (34).

No obstante, no se utilizó hasta cuando Youk et al. (78) garantizaron su competencia antitumoral. De hecho, el referido conjugado inhibió in vivo el agrandamiento de células cancerígenas de pulmón de manera más conveniente que el mismo a-TOS debido a su gran capacidad para producir radicales libres e inducir la apoptosis.

El sistema por el que el TPGS genera el deceso celular mediante la apoptosis no es ciertamente conocido. Por un lado, la duración de un dominio hidrofílico en la molécula, que conserva su lado hidrofóbico, mejora notablemente su solubilidad en un ambiente fisiológico. Además, este cambio en la estructura presenta consecuencias positivas en el contacto del TPGS con membranas lipídicas en favor de su competencia para producir estrés por medio de ROS en células tumorales.

Por otro lado, ciertos autores han garantizado que el TPGS impide la puesta en marcha de la función de la glicoproteína de membrana PGP (79). Esta proteína suele ser la encargada de una reducción en los niveles de diferentes fármacos como la DOX o el PTX en el seno de las células tumorales por medio de un procedimiento de trasporte subsidiario de ATP (80). Por esta razón, ciertos tipos de cáncer no logran los resultados esperados mediante fármacos antitumorales conocidos como MDR (81).

Más allá de sus características antitumorales, el TGPS es una molécula frecuentemente

empleada como medio estabilizante y surfactante en procesos de liberación controlada de fármacos (82). En efecto, su aplicación con estos propósitos se encuentra avalada por la FDA, pues a partir del 2005 se incorporó en formulaciones en emulsión para el manejo de PTX. Su capacidad emulsionante sobrepasa en setenta y siete veces a otros emulsionantes convencionales como el polialcohol vinílico-PVA (83).

2.1.1. Los liposomas

La inclusión de a-TOS en nanovehículos lipídicos es una modalidad muy usada para optimizar su vía en ambientes fisiológicos. En términos estructurales, esta molécula coopera con capas dobles lipídicas, de manera que su cadena alifática llega hasta su centro, paralelamente a los collares de fosfolípidos. Además, la estructura cromanol de la molécula se ubica en la bicapa de forma superficial, lo que permite que el grupo succinato se quede en la interfase acuosa e incremente la carga superficial de la membrana lipídica.

Por otro lado, el fosfolípido más utilizado para la integración de a-TOS ha sido la PC (84). Al respecto, Koudelka et al. (85) elaboraron liposomas con una ratio a-TOS/PC de 3:17 luego de liofilizarlos ante sacarosa. Con este procedimiento se consiguieron liposomas con magnitudes entre 130-140 nm que se estabilizaron por medio año a temperaturas mediadas entre 2 y 8 °C.

Según la misma perspectiva, Hama et al. (86) consiguieron el equilibrio de liposomas de a-TOS por medio de la integración de PC de huevo. Del mismo modo, al conseguir liposomas de 300 nm equilibradas, la efectividad antitumoral in vitro superó en siete veces a las células de melanomas B16-F1 con respecto a la formulación en carencia de EPC (86).

2.1.2. Los conjugados poliméricos

De igual manera que el a-TOS, el TGPS ha sido empleado para combinar diferentes fármacos que combaten tumores en su estructura. Respecto a ello, Cao y Feng (87) afianzaron la DOX al TGPS con el propósito de impedir los inconvenientes de resistencias vinculados a este fármaco y, así, mejorar su efectividad en la terapia. De manera adicional, Anbharasi et al. (88) optimizaron este manejo por medio de la integración de ácido fólico que le permitía al sistema una vectorización activa en células tumorales de mama.

En efecto, el referido conjugado notó una citotoxicidad cuarenta y cinco veces mayor que la DOX libre en células MCF, lo que mejoró su distribución biológica in vivo (88). De acuerdo con este punto de vista, Duhem et al. (89) combinaron el mismo fármaco a la estructura del a-TOS por medio de la elaboración de un vínculo amida. Este conjunto diseñó nanoestructuras aproximadamente de 250 nm al adicionarse el TGPS como surfactante. De manera puntual, el núcleo de estos añadidos se conformó por la DOX enlazada al a-TOS, en tanto que el PEG se posicionó en la corona exterior de las mismas.

Los estudios de carácter biológico con estas micelas permitieron una elevada acción anticancerígena. Por último, cabe destacar la conjugación de ciertos fármacos como PTX (90) y cisplatino (91) a la estructura del TGPS con alentadores efectos *in vitro e in vivo*.

2.1.3. Los nanovehículos poliméricos

El establecimiento de nanovehículos poliméricos ensamblados a sí mismos para mejorar la

efectividad terapéutica del a-TOS se reduce al empleo del TGPS en diferentes formulaciones. No obstante, esta molécula se debe ejecutar en conjunto con ciertos polímeros en razón a que su elevada CMC puede generar la separación de sus micelas en plasma (34). En ese sentido, el procedimiento más frecuente es la polimerización por apertura de anillo del TGPS con distintos poliésteres biodegradables como el PLA o la PCL (92).

A mediados de la década anterior, se copolimerizaron el TGPS con distintas ratios de láctico por ROP empleando el octoato de estaño como catalizador (93). Aparte de ello, la formación de NPs desde estos copolímeros se realiza de forma fácil y a partir de varios procedimientos como la nanoprecipitación (94), diálisis (95) y emulsión (96). En los referidos casos, estas metodologías de obtención de las NPs posibilitaron la encapsulación pertinente de una serie de fármacos anticancerígenos, entre los que sobresalen el docetaxel-DTX (97), la DOX (31), el PTX (95), la curcumina (97), entre otros.

En gran parte de ellos, el uso de un móvil con TGPS en su integración optimizó significativamente la internalización de las partículas en las células tumorales con buenos perfiles de distribución biológica y una acción antitumoral superior in vivo e in vitro en referencia al uso libre de los diferentes fármacos.

Estos nanovehículos poliméricos han crecido notablemente por medio de la integración de diferentes ligandos en su superficie como anticuerpos monoclonales (98) o moléculas reducidas como el ácido fólico (99) para mejorar su acción y, sobre todo, su capacidad de juntarse en la zona del tumor para producir una disminución de su toxicidad.

2.2. Terapias avanzadas

En lo que va del siglo XXI, el progreso en el área de conocimiento de la nanomedicina ha sido muy significativo, ya que ha logrado el avance de nanovehículos para el tratamiento y diagnóstico paralelo a la enfermedad del cáncer. Estos nanovehículos se conocen como teranósticos y, en la actualidad, se aplican como terapias de vanguardia en etapa de investigación para frenar con precocidad del cáncer.

Para desarrollar a cabalidad su función, los nanovehículos teranósticos juntan mediadores terapéuticos y de imagen en solo un sistema. Luego, se agregan ligandos en la superficie de los referidos para mejorar su vectorización activa en el área tumoral en favor de su conveniencia y en detrimento de su toxicidad (100).

2.2.1. Resonancia magnética de imagen e hipertemia

La puesta en práctica de los nanovehículos teranósticos son diversos, incluso se incluye una gama de métodos de diagnóstico como los ultrasonidos, la tomografía por emisión de positrones, entre otros (101). No obstante, la resonancia magnética de imagen (MIR) es la que se usa más en razón de sus propiedades, sobre todo por su elevada resolución espacial, de manera que se evita el manejo de radiación ionizante.

Asimismo, la muestra de los factores de la imagen que más se usan en ondas electromagnéticas produce calor a temperaturas que oscilan entre 42 y 45 °C en el espacio donde se juntan, de manera que es viable generar la muerte celular. Esta incidencia es conocida como hipertemia y es de gran provecho para la ablación térmica de tumores (102).

En ese sentido, los mediadores de imagen encargados de esta función necesitan de elevadas concentraciones con el propósito de optimizar la sensibilidad del análisis. Ello puede generar inconvenientes debido a su elevada toxicidad, de manera que integrarlos en un nanovehículo es una opción atractiva. El gadolinio, los ION y las SPION (103) son los agentes magnéticos usados con más frecuencia para la MRI.

2.2.2. Terapia fotodinámica

La terapia fotodinámica (PDT) se basa en la gestión tópica de un compuesto con características fotosensibilizadoras que se juntan en tejidos tumorales. La ulterior irradiación de estos tejidos con luz de cierta longitud de onda genera la elaboración de tipos reactivos de oxígeno que se encargan de la eliminación focalizada del tumor. Por lo tanto, el fotosensibilizador es capaz de perjudicar a los vasos sanguíneos del tumor o, en todo caso, impulsar el sistema inmune para dar muerte a las células cancerosas (104).

Por otra parte, la PDT tiene ciertos aspectos positivos en referencia a otros tipos de tratamientos tradicionales anticancerígenos como lo es su poca toxicidad sistémica. Ello en razón de que el Ps (Ps, del inglés photosensitizer) se activa solo al estar expuesto a la luz, también por su aptitud para eliminar tumores de forma selecta para luego amenguar efectos secundarios en otros tejidos.

En la actualidad, la FDA ha aprobado el empleo de más de cinco fotosensibilizadores y otros tantos se hallan en etapa clínica. No obstante, su integración en nanovehículos es pertinente para optimizar su efectividad, selectividad y solubilidad (41). De esta manera, se tiene que las restricciones de la PDT son relevantes.

En efecto, los Ps con los que cuenta el comercio presentan un tiempo de vida medio corto en el tejido y son complejos de estabilizar. Dadas estas particularidades, se ha estudiado con énfasis el uso de agentes más convenientes, entre los que destaca la ejecución de NPs de oro (105) y quantum dots-QDs (106).

Los QDs se identificaron en los años ochenta y su sinopsis se reprodujo a partir de la década siguiente. No obstante, no fue hasta mediados del 2004 que se propuso su ejecución para la PDT (107). Estas pequeñas partículas, con dimensiones entre 2 a 9 nm, se encuentran diseñadas por materiales semiconductores, que emiten luz en extenso espectro de longitudes de onda en relación con su tamaño y composición, con una elevada estabilidad e intensidad (108).

Para potenciar su compatibilidad biológica, los QDs se encapsularon con el DTX en liposomas (109) y nanovehículos poliméricos fundamentados en TPGS. Estos últimos se cambiaron de forma superficial con ácido fólico para mejorar in vitro e in vivo el tratamiento anticancerígeno de mama (110).

2.2.3. Terapia fototérmica por luz infrarroja

La terapia fototérmica (PTT) por luz infrarroja es una de las modalidades teranósticas más representativas de los últimos tiempos. Se realiza mediante el uso de radiación infrarroja entre valores de 700 y 1000 nm; se particulariza por su escasa absorción y autofluorescencia en los tejidos, ya que consigue optimizar la competencia de penetración en los mismos con una elevada sensibilidad y de manera no invasiva. Por otro lado, la absorción de la radiación infrarroja de los representantes fototérmicos genera un incremento de temperatura que posibilita eliminar las células tumorales y, a

su vez, cuidar el tejido sano que se encuentra alrededor (111).

Ahora bien, los operadores fototérmicos empleados para la PTT deben contar con una alta capacidad de absorción, eficacia y fotosensibilidad en la zona del infrarrojo circundante. Asimismo, es preciso que sean compuestos atóxicos y con una conveniente selectividad para disminuir las consecuencias secundarias del tratamiento. En ese sentido, se han empleado agentes fototérmicos no orgánicos en investigaciones preclínicas con distintos metales como el oro, la plata, entre otros, y nanoestructuras de carbono. No obstante, su esencia no biodegradable y su elevada toxicidad volvió lenta su ejecución clínica (112).

Por tal motivo, se buscaron otros agentes que cumplieran con dicha función, a su vez, que sean biodegradables y no tóxicos; de esta manera, se llegó a los colorantes de ciannina. Estos son moléculas orgánicas pequeñas con dos heterociclos con aroma que presentan nitrógeno y están enlazados por un puente de polimentino. La ampliación de la cantidad de carbono del enlace entre estos genera un movimiento en la absorción de las moléculas, de manera que incorporan más de 1000 nm. Estos colorantes son muy empleados en ingredientes semiconductores, pinturas, entre otros.

En efecto, el verde de indocianina fue aprobado hace más de medio siglo por la FDA para el estudio del torrente sanguíneo. Sin embargo, ciertos colorantes presentan inconvenientes de fotoestabilidad, un disminuido rendimiento cuántico y poca especificidad en células tumorales.

2.2.4. Sonda de imagen IR-780

Una muestra del avance en el proceso de colorantes para PDT y PTT es el yoduro de IR-780 (113). Este se basa en un colorante lipófilo y de múltiples funciones con una aproximado de emisión a 780 nm. Su composición química se particulariza por la presencia de un círculo en su cadena principal, que vuelve firme a la molécula, y un átomo de cloro en el centro que brinda más fotoestabilidad, por lo que disminuye el efecto de fotodegradación.

Aparte de lo mencionado, es permanente en suero y presenta una masa molecular conveniente, ello lo convierte en una molécula apropiada para el diagnóstico y seguimiento in vivo de tumores (114). De hecho, se emplea para hallar lesiones reducidas como el comienzo de una metástasis o, incluso, en células tumorales en circulación, por lo tanto, es viable hallar hasta diez células cancerígenas por milímetro en la sangre, lo que implica un progreso clínico en la detección de tumores.

2.3. Limitaciones de los nanovehículos actuales basados en a-TOS

A pesar del progreso de la nanomedicina y las ventajas que poseen los nanovehículos, aquellos que integran a-TOS en su conformación encuentran serias dificultades y no son aptos de aprovechar las más importantes particularidades de este mitocan para conseguir un tratamiento más efectivo, selectivo y menos tóxico en términos anticancerígenos.

En síntesis, la mayoría de nanovehículos que se basan en a-TOS lo integran en forma de TGPS. No obstante, este combinado con PEG alberga solo una molécula de a-TOS en su composición y es muy tóxica debido a sus características como surfactante, de manera que daña la viabilidad tanto de células tumorales como de células sanas. Ello produce que se pierda una de las más importantes propiedades del a-TOS para el avance de nuevos tratamientos anticancerígenos: su selectividad en detrimento de células tumorales.

CAPÍTULO III

CONSIDERACIONES EXPERIMENTALES

Con el fin de determinar el accionar de tres importantes antioxidantes (a-tocoferol, b-caroteno y curcumina) frecuentes en dietas alimenticias diarias o empleados como suplementos vitamínicos para efectos de fotoprotección debido a las altas radiaciones y, además, en el cuidado de ciertas enfermedades, se realizó un estudio utilizando procedimientos espectroscópicos.

Durante el proceso de trabajo, se hallaron normas ópticas que se encuentran fuertemente vinculadas con factores como la determinación de características ópticas no lineales, las cuales han entrado en auge en los últimos años. Por ello, se tuvieron algunas consideraciones experimentales para dicho propósito.

3.1. Fotodegradación de a-tocoferol por espectroscopia de absorción, fluorescencia y lente térmica

Para el desarrollo del experimento se utilizó a-tocoferol acetato en su versión comercial E-400 dl-a-tocoferol. Este compuesto fue preparado con alcohol etílico (99.9 %) adquirido de JT Baker, a un nivel de concentración de 21 mm.

Después, la solución de vitamina E en etanol fue vertida en una cubeta de cuarzo de 1 cm de recorrido óptico, sellada con parafilm (para prevenir la evaporación) y luego fue irradiada con luz ultravioleta usando una lámpara modelo Multiband UV-254/366 UVGL-25 nm UVP, Inc. (California, USA). El tratamiento de irradiación a la luz ultravioleta se llevó a cabo a dos longitudes de onda de 254 nm (luz UVC) y 366 nm (luz UVA) durante periodos de 10 minutos.

Al final de cada tratamiento con luz ultravioleta, la solución fue estudiada por absorción óptica visible usando una lámpara (UV-2Dm NJ, USA) y un espectrómetro Ocean Optics S2000. El estudio de la señal de fluorescencia fue realizado empleando un fluorímetro (FluoroMax-3 Horiba Scientific) y longitudes de onda de excitación de 290 nm y 368 nm.

Por último, la solución fue estudiada por espectroscopia de lente térmica. Para determinar la señal de lente térmica resuelta en el tiempo se usó un arreglo experimental según la configuración de haces dobles con focos no coincidentes (26), en la cual el haz de bombeo fue un láser de Argón (Lexel Model 95, Laser Inc.) a una longitud de onda de 488 nm, y el haz de prueba, un láser de He-Ne, Melles Griot, a una longitud de onda de 632 nm.

En esta configuración experimental, un circuito electrónico acoplado controla una apertura, la cual consiste de un diafragma mecánico para limitar la exposición de la luz a la muestra en estudio. Cuando el diafragma está abierto, la muestra es iluminada, una parte del haz de bombeo activa un fotodiodo conectado al disparador de un osciloscopio para inicializar la secuencia de adquisición de datos; desde un segundo fotodiodo se captura la señal transitoria que modifica el centro del haz de prueba.

3.2. Fotodegradación de b-caroteno por solución usando espectroscopia de absorción y espectroscopia de fluorescencia

Para el desarrollo de los estudios se utilizó b-caroteno Tipo I y tetrahidrofurano (THF), los cuales

fueron adquiridos de Sigma-Aldrich. Se preparó una solución inicial disolviendo 20 mg de b-caroteno en 5 ml de THF (concentración de la muestra 4 mg/ml). A partir de esta, se prepararon dos muestras adicionales con concentraciones de
3.0x10-5 M y 1.5x10-6 M. Las muestras fueron almacenadas en frascos color ámbar para prevenir el efecto de degradación luminosa y a la temperatura recomendada de -20 °C.

Las muestras se colocaron en una cubeta de cuarzo con un camino óptico de 1 cm y selladas con parafilm para prevenir la evaporación. Por otro lado, la irradiación con luz UV se llevó a cabo en periodos de 4 minutos hasta alcanzar un máximo de 60 minutos, con una lámpara de generación de luz ultravioleta, modelo ENF-260C (Spectronic Corporation, Westbury, New York, USA) con intensidades de 350 uW/cm2 para 254 nm y 390 uW/cm2 para 366 nm.

Asimismo, los espectros de absorción lineal fueron realizados usando un espectrómetro de haz simple (Agilent 8453 Diode Array UV-Vis), en el intervalo comprendido de 350 nm a 540 nm, en una celda de cuarzo de 1 cm a una concentración de 3.0x10-5 M. Las contribuciones del solvente y la celda son consideradas en el proceso de normalización.

De igual manera, los espectros de fluorescencia fueron medidos usando un espectrómetro de fibra óptica modelo USB2000 (Ocean Optics, Inc.). Por otra parte, los espectros de emisión se obtuvieron bajo un arreglo perpendicular y con la excitación de un diodo láser de intensidad 10 mW/cm2 y longitud de onda de 410 nm. Las soluciones fueron analizadas en concentraciones de 3.0x10-5 M y 1.5x10-6 M.

3.3. Dependencia de polarización en la espectroscopia de absorción de dos fotones de un marcador natural: curcumina en solución

La curcumina (98 %) y THF (en grado espectroscópico) fueron adquiridos de Sigma-Aldrich y usados sin purificación adicional. Por otro lado, el espectro de absorción lineal de la curcumina en THF fue medido usando un espectrofotómetro (Agilent 8453 Diode Array UV-Vis) de haz simple desde 190 nm a 1100 nm, y la solución se colocó en una cubeta de cuarzo de 1 cm de camino óptico a una concentración de 3x10-5 M; las contribuciones del solvente y la cubeta de cuarzo se restaron del espectro.

De igual modo, la anisotropía de fluorescencia fue obtenida con un espectrofluorímetro PTI Quanta-Master a una excitación de 350 nm con luz polarizada linealmente. Además, la intensidad de la emisión fue medida a través de un polarizador orientado paralela (I//) y perpendicularmente (I) a la dirección de la excitación polarizada.

Por otra parte, las medidas experimentales de la dependencia de la polarización de TPA se realizaron en una solución homogénea de curcumina/THF a una concentración de 2.3×10-2 M empleando la técnica de barrido de doble brazo. Asimismo, la excitación de dos fotones fue inducida mediante un amplificador óptico paramétrico (OPerA Solo, COHERENT) en el régimen de femtosegundos, el cual es controlado por una computadora. Este amplificador es bombeado por un sistema láser amplificado COHERENT modelo Mira 900.

El sistema es capaz de generar pulsos de 90 fs (FWHM) en un rango amplio de longitudes de onda que van desde 290 nm hasta 2.6 μm, con energías de pulso de 4 mJ y un rango de velocidad de repetición de 1 Hz a 1 KHz. En ese sentido, los experimentos se ejecutaron entre 600 a 840 nm, con energías de entrada típicas en el rango de 7 a 45 J/pulso a una velocidad de repetición de 50 Hz para

evitar cualquier contribución de efectos acumulativos.

Por último, el ancho de los pulsos fue determinado usando un autocorrelacionador de golpe simple (Coherent Inc.) y un instrumento óptico de frecuencias resueltas (Swamp Optics LLC). Asimismo, el estado de polarización fue ajustado usando placas de cuarto de onda de banda ancha de orden cero.

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO LINEAL Y NO LINEAL DE ANTIOXIDANTES: a-TOCOFEROL, b-CAROTENO y CURCUMINA

Las enfermedades crónicas prevenibles, tales como las cardiovasculares y el cáncer, son causa de un gran porcentaje de muertes a nivel mundial. Recientes investigaciones han atribuido la causa de estas enfermedades a la tensión oxidativa provocada por radicales libres. Además, se ha demostrado que pueden ser minimizadas incrementando el consumo de antioxidantes en la dieta de las personas.

En este sentido, las políticas de salud pública han llevado a la necesidad de enriquecer los alimentos con antioxidantes potentes. Sin embargo, dicho enriquecimiento con estos antioxidantes es limitado porque usualmente tienen una pobre solubilidad y son químicamente inestables, además de ser afectados por la temperatura y algunas fuentes de radiación, principalmente la radiación ultravioleta proveniente del Sol.

Por ello, es necesario y de vital importancia conocer la respuesta de estos compuestos en condiciones extremas de trabajo. Una de las posibilidades de llevar a cabo este estudio es a través de las bien conocidas técnicas espectroscópicas, que son métodos que pueden ayudar a caracterizar la estabilidad de estas moléculas y la determinación experimental de algunos parámetros ópticos que son necesarios tener en cuenta para potenciales aplicaciones en los campos médicos, biológicos y farmacéuticos.

Con el avance de la tecnología, nuevos equipos experimentales y poderosas fuentes de luz están ahora disponibles para llevar a cabo estos estudios. En el desarrollo de este trabajo se ha usado la espectroscopia de absorción y fluorescencia, las cuales son realizadas bajo un análisis de caracterización lineal. Sin embargo, también ha sido posible la determinación de propiedades no lineales que ofrecen nuevas alternativas para superar algunas deficiencias de la espectroscopia lineal con fuentes convencionales de luz.

Bajo estas consideraciones y teniendo en cuenta las limitaciones de usar estos análisis en las moléculas, se ha realizado el estudio teórico y experimental de la absorción de dos fotones dependientes de la polarización de la luz de la molécula de curcumina en solución.

En ese sentido, la combinación de las técnicas espectroscópicas experimentales tales como absorción, fluorescencia, anisotropía, dicroísmo circular de absorción de dos fotones y dicroísmo circular-lineal de absorción de dos fotones, en conjunto con los cálculos realizados bajo la teoría funcional de densidad, han permitido distinguir y asignar la posición espectral de las principales transiciones electrónicas.

Los resultados hallados representan una contribución a la comprensión de la estructura

electrónica de estas moléculas antioxidantes, las cuales tienen un potencial interés en diferentes campos de la vida diaria.

4.1. Proceso de fotodegradación de a-tocoferol por espectroscopia de absorción, fluorescencia y lente térmica

La molécula de a-tocoferol (provitamina E) y otros compuestos antioxidantes se han puesto a la vanguardia de las ciencias médicas y nutrición debido, principalmente, a sus funciones antioxidantes. Asimismo, el gran interés en la vitamina E se debe a su disponibilidad, comercialización y un potencial de fuerte impacto en la salud en general, dado que desempeña un papel central en la prevención de la tensión de oxidación en el nivel celular. Además, esta vitamina es considerada un antioxidante muy importante tanto en la industria de alimentos como en los sistemas biológicos.

Esta función de antioxidante ha sido atribuida generalmente a su capacidad para reaccionar con radicales libres y eliminarlos cuando se encuentran en entornos lípidos, tales como las membranas, de este modo se protege a los ácidos grasos polisaturados de ser dañados por la oxidación y se evita la aparición de algunas enfermedades crónicas como la arterioesclerosis y algunos tipos de cáncer (115).

Por otro lado, la vitamina E está representada por una familia de compuestos relacionados estructuralmente, los cuales contienen una cadena de isoprenoides hidrofóbicos y anillos cromanol hidrofílicos. Además, esta vitamina comprende ocho isoformas: cuatro tocoferoles y cuatro tocotrienoles, los cuales poseen cadenas laterales saturadas y no saturadas, respectivamente.

Cada grupo puede estar en las formas a, b, Y y 8, las cuales difieren en el número y posición de los grupos metilo en el anillo cromanol. Por ejemplo, la molécula de a-tocoferol que tiene tres grupos metil es la más abundante y activa biológicamente de todas sus homólogas y está disponible en su forma natural como RRR-a-tocoferol, aislada de fuentes vegetales, pero es más común en su forma manufacturada sintética como all-rac-a-tocoferol. Los suplementos vitamínicos comercialmente disponibles de vitamina E usualmente solo contienen a-tocoferol acompañado de la forma no esterificada de acetato, succinato o nicotinato (116).

Varios estudios han demostrado que la vitamina E es una molécula sensitiva a la luz, por lo que se degrada por exposición a la luz ultravioleta, lo cual involucra un proceso de fotooxidación y la consecuente pérdida de su actividad antioxidante (117).

No obstante, ambas formas de la vitamina E, forma libre y esterificada, pueden ser expuestas a la luz durante varios procesos, tales como exposición de la piel a la luz solar (118), preparación de fórmulas de nutrición infantil (119), una variedad de procedimientos en la industria farmacéutica y cosmética, y preparación de alimentos refinados y procesados.

En tal sentido, el estudio de los procesos de fotodegradación de la forma más comercial de la vitamina E, a-tocoferol acetato, debe contribuir a un mejor entendimiento del rol de la exposición de la luz sobre la estabilidad de la forma esterificada de esta vitamina. Por ello, se realizó un estudio de investigación que permitió determinar la influencia de la exposición de esta molécula a la exposición de la luz ultravioleta de onda corta y larga mediante técnicas espectroscópicas de absorción, fluorescencia y lente térmica.

Al finalizar el análisis, se pudo observar que la molécula de vitamina E en forma de acetato

disuelta en etanol muestra un máximo de absorbancia a la longitud de onda de 292 nm (120). También se reportó que los tocoferoles en etanol exhiben un rango máximo de absorción entre 292-298 nm, mientras que en su forma esterificada con acetato tienen un máximo de absorbancia a 285 nm en etanol. Esto se puede apreciar en las Figuras 1 y 2.

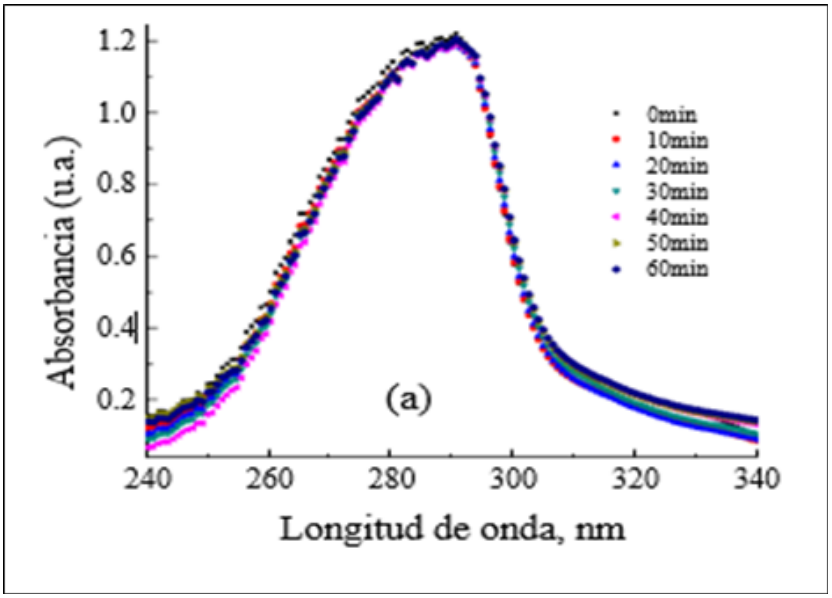


Figura 1. Efecto del tratamiento con UVA (a) en el espectro de absorbancia de la molécula de vitamina E en etanol

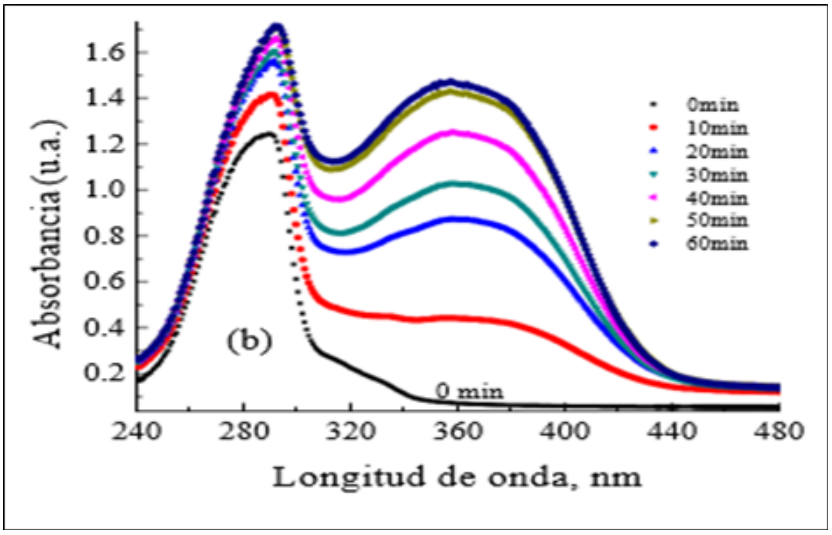


Figura 2. Efecto del tratamiento con UVC (b) en el espectro de absorbancia de la molécula de vitamina E en etanol

Cuando la muestra fue expuesta a luz ultravioleta en el rango UVA, la forma del espectro de absorbancia no fue afectada, tal como se muestra en las Figuras 1 y 2 (120). Este fenómeno también fue estudiado por Damiani et al. (118), quienes reportaron la fotoestabilidad de varios compuestos de pantallas solares expuestos a la radiación UVA y encontraron que la vitamina E en forma de acetato mostró una ausencia en su degradación.

Por otro lado, el espectro de la solución en estudio cambió considerablemente durante el tratamiento bajo irradiación con luz ultravioleta en la región UVC, con la aparición de una ancha

banda de absorción en el rango comprendido entre 310-440 nm y un pico de absorbancia máxima a la longitud de onda de 368 nm (120). Esta banda de absorción crece progresivamente cuando el tiempo de exposición a la irradiación ultravioleta UVC es incrementada (Figura 2).

Hasta la última década del siglo pasado, se reportó la ausencia o la presencia de una débil fluorescencia de emisión a la longitud de onda de excitación comúnmente usada para el análisis de vitamina E en forma de acetato. En la investigación, una fluorescencia nativa fue detectada para la muestra bajo estudio, tal como se señala en las Figuras 3 y 4.

Para monitorear el espectro de fluorescencia de la solución, se usaron las dos longitudes de onda correspondientes a los dos máximos obtenidos en el espectro de absorbancia UV-visible del acetato de vitamina E, tratados con luz ultravioleta UVC. Estas longitudes de onda fueron de 290 nm y 368 nm.

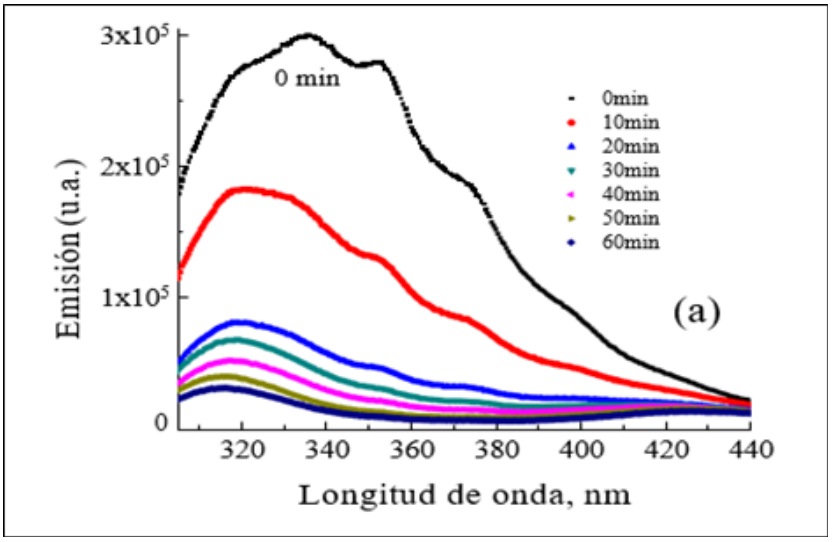


Figura 3. Efecto sobre el espectro de fluorescencia excitado con longitudes de onda de 290 nm (a) de la molécula de vitamina E en etanol bajo tratamiento con luz UVC

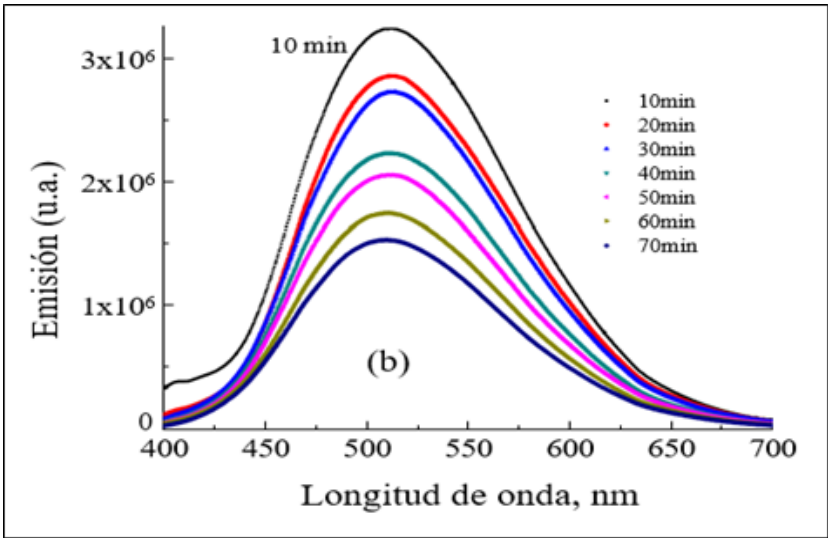


Figura 4. Efecto sobre el espectro de fluorescencia excitado con longitudes de onda de 440 nm (b) de la molécula de vitamina E en etanol bajo tratamiento con luz UVC

El espectro de emisión de la muestra excitada con la longitud de onda de 290 nm, sin tratamiento previo de luz ultravioleta mostró una intensa y ancha banda de emisión (300-440 nm) con un máximo a 340 nm (Figura 4). Además, la fluorescencia de acetato de vitamina E obtuvo el máximo de emisión a la longitud de onda de 520 nm. La diferencia puede ser debido al uso de un diferente solvente, trifluoroacético, respecto al etanol usado en esta investigación.

Asimismo, cabe señalar que los espectros de emisión similares a los obtenidos en la investigación han sido reportados para la forma no esterificada de la vitamina E, usando como solventes metanol, etanol y hexano. Además, la vitamina E fue tratada con luz UVC y su espectro de emisión excitado a 290 nm mostró que la banda correspondiente a la emisión decrece progresivamente cuando el tiempo de irradiación se incrementa, tal como se aprecia en la Figura 4.

Similares resultados han sido reportados en la literatura, en particular por Fygle y Melo (121), quienes analizaron el espectro de emisión de micelas de linoleato y vitamina E en soluciones acuosas y encontraron que la emisión se debe principalmente a la presencia de vitamina E, con un pico máximo cerca a la longitud de onda de 333 nm, la cual disminuye para tiempos de irradiación más grandes con luz UVC. Tomando en cuenta dichos resultados, así como los datos experimentales recopilados durante la investigación, se puede inferir que el espectro de emisión de la vitamina E en la forma no esterificada y el acetato son afectados cuando se exponen a la irradiación con luz en el rango UVC.

Los resultados hallados en el presente estudio indican que el espectro de emisión del acetato de vitamina E excitado con una longitud de onda de 368 nm, sin tratamiento previo de irradiación ultravioleta, no muestra ninguna fluorescencia. Sin embargo, cuando la fluorescencia fue inducida excitando la solución a la longitud de onda de 368 nm, en la muestra tratada con luz UVC aparece una banda ancha de emisión con un máximo de 513 nm, la cual decrece progresivamente cuando el tiempo de irradiación se incrementa, tal como se aprecia en la Figura 4.

En los experimentos llevados a cabo con la espectroscopia de lente térmica, ninguna señal pudo ser detectada en el acetato de vitamina E sin un previo tratamiento de luz ultravioleta (Figura 5). Curiosamente, la señal fototérmica apareció y creció progresivamente a medida que los tiempos de irradiación con luz UVC fueron incrementándose, tal como se presenta en la Figura 6.

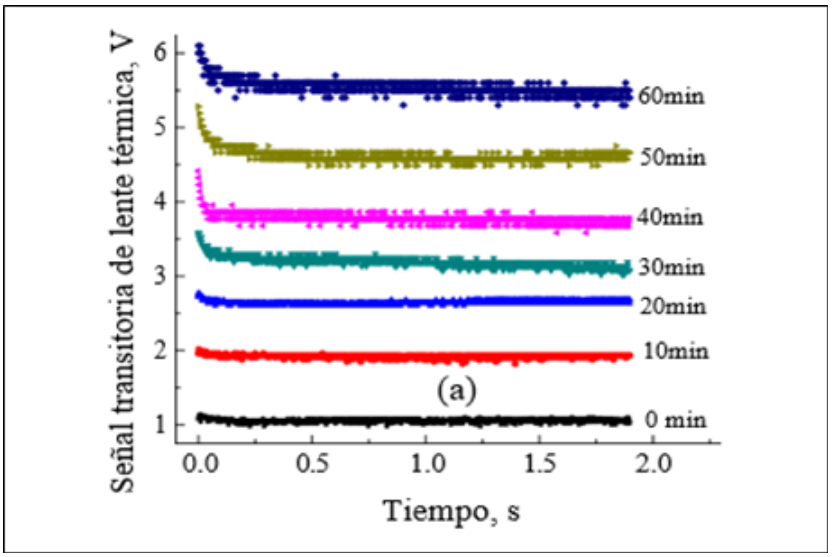


Figura 5. Efecto del tratamiento de luz UVC sobre la señal de lente térmica de la vitamina E acetato en etanol. (a) Señal transitoria de lente térmica

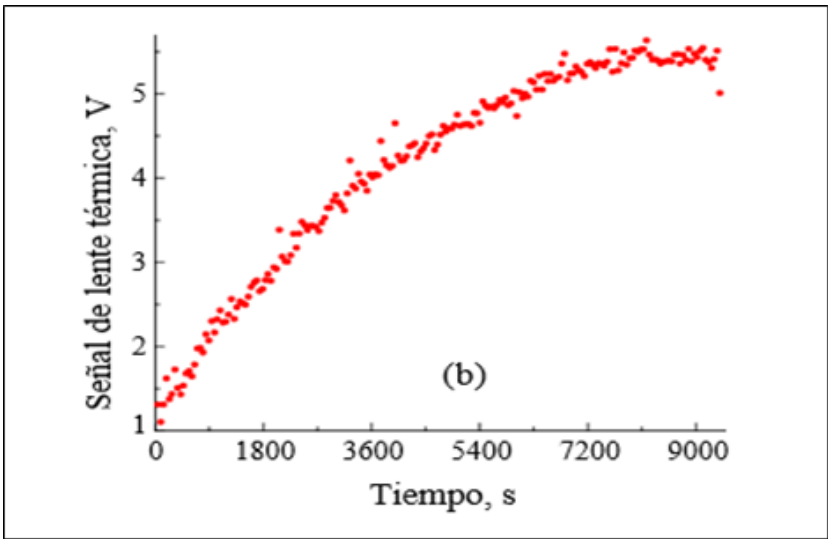


Figura 6. Efecto del tratamiento de luz UVC sobre la señal de lente térmica de la vitamina E acetato en etanol. (b) Evolución temporal de la señal de lente térmica bajo tratamiento continuo con luz UVC

Asimismo, se realizaron experimentos adicionales usando espectroscopia de lente térmica para monitorear la evolución temporal del proceso de fotodegradación durante irradiación continua de luz UVC, en la cual la solución de acetato de vitamina E mostró un progresivo incremento de la señal de lente térmica hasta alcanzar una señal constante al tiempo de 8000 s (Figura 6).

Cabe señalar que a pesar de la débil absorción de los productos de fotodegradación de la molécula bajo estudio a la longitud de onda de 488 nm, usada como bombeo en los experimentos de lente térmica, los resultados indicaron que la absorción óptica de los productos fotodegradados de la vitamina E se incrementó debido al proceso de fotodegradación. Como se observa, tal incremento en absorción es suficiente para producir un efecto apreciable sobre la señal fototérmica.

4.2. Proceso de fotodegradación de b-caroteno en solución usando espectroscopia de absorción y espectroscopia de fluorescencia

Los carotenoides constituyen una importante clase de moléculas que exhiben un alto grado de deslocalización electrónica y una dinámica ultra rápida. Por ello, la molécula de b-caroteno es uno de los miembros más estudiados de la familia de los carotenoides debido a su significante rol en procesos fotobiológicos, fotosíntesis y fotoprotección (122). Este compuesto es encontrado, principalmente, en raíces vegetales, tales como la zanahoria, la calabaza y el camote, que el cuerpo humano puede convertir en vitamina A, la cual actúa como antioxidante y refuerzo en el sistema inmune.

Además, el b-caroteno en su forma natural existe como dos isómeros moleculares; all-trans-b-carotene y 9-cis-b-carotene. Este último es una estructura muy ordenada con enlaces fuertes C-C, vibraciones coherentes y débilmente amortiguadas (122). También es sintetizado y comercializado como un suplemento diario para la dieta alimenticia.

Por otro lado, la molécula de all-trans-b-carotene es un carotenoide no polar con once enlaces dobles conjugados. Este presenta una alta actividad antioxidante a través del bloqueo de oxígeno singulete *in situ*, así como también reacciona con radicales fenoxil (123). También se le considera la más efectiva precursora de la vitamina A y se ha reportado que su ingesta puede ayudar a la prevención de ciertos tipos de cáncer (124) y enfermedades cardiovasculares (125).

Por otra parte, se ha reportado que la estabilidad del B-caroteno es afectada por la luz y las altas temperaturas durante procesamientos térmicos (126). Ello debido a que los carotenoides son afectados como resultado de complejas reacciones de antioxidación, las cuales con frecuencia están relacionadas con degradaciones oxidativas. Además, un factor importante de la degradación de carotenoides y la iniciación de cambios oxidativos es la luz.

Ahora bien, la degradación fotoinducida de carotenoides ha sido tema de muchas investigaciones. Sin embargo, hasta la actualidad, los cambios en la molécula de B-caroteno todavía no son bien comprendidos. En ese sentido, el objetivo de esta investigación ha sido la evaluación y análisis de los cambios en las respuestas en las propiedades térmicas y ópticas de B-caroteno bajo irradiación ultravioleta con dos longitudes de onda: 254 nm y 366 nm.

En la Figura 7 se muestran los espectros de absorción de B-caroteno en una solución de THF (a una concentración de 3.0x10-5 M) después de 48 minutos de exposición a la irradiación UV a una longitud de onda de 366 nm. Se puede notar, en primer lugar, que, en todos los espectros, en el rango comprendido entre 350 nm y 540 nm, los tres picos característicos de absorción de este compuesto están conformados por dos picos principales centrados en 455 nm y 485 nm, y un pico secundario situado en 435 nm (127). También se observa que los espectros de absorción experimentan una disminución moderada de aproximadamente 20 % en la absorbancia. Este resultado sugiere que el B-caroteno no sufre una significante fotodescomposición a esta longitud de onda específica.

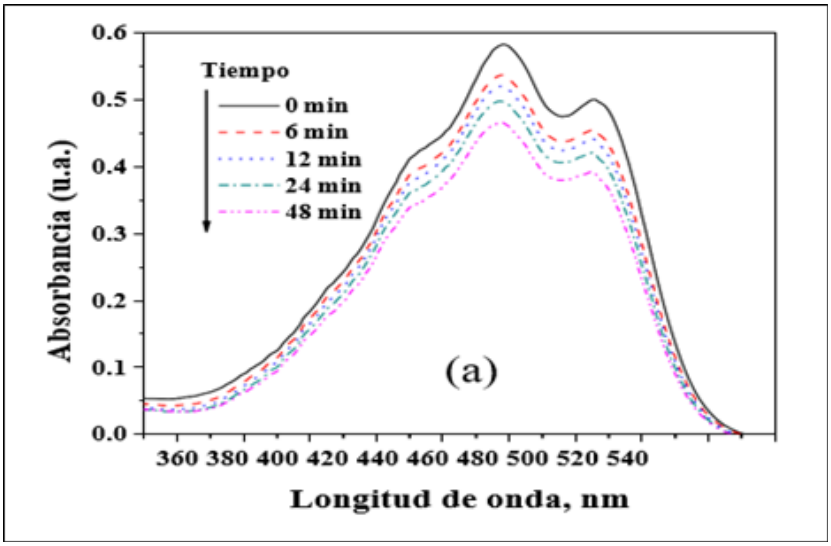


Figura 7. Espectros de absorción del B-caroteno, expuesto a radiación UV a longitud de onda de 366 nm. (a) Durante 48 minutos

En las Figura 7 y 8 se presentan los espectros de absorción de una solución similar de B-caroteno en THF (concentración de 3.0x10-5 M) después de ser irradiada con luz UV a una longitud de onda de 254 nm por 24 minutos. En este experimento, los tres picos principales de absorción decrecen sustancialmente con el tiempo de irradiación, tal como se puede observar de la Figura 8. Después de 20 minutos, los picos de máxima absorbancia decrecen en amplitud en aproximadamente 90 %.

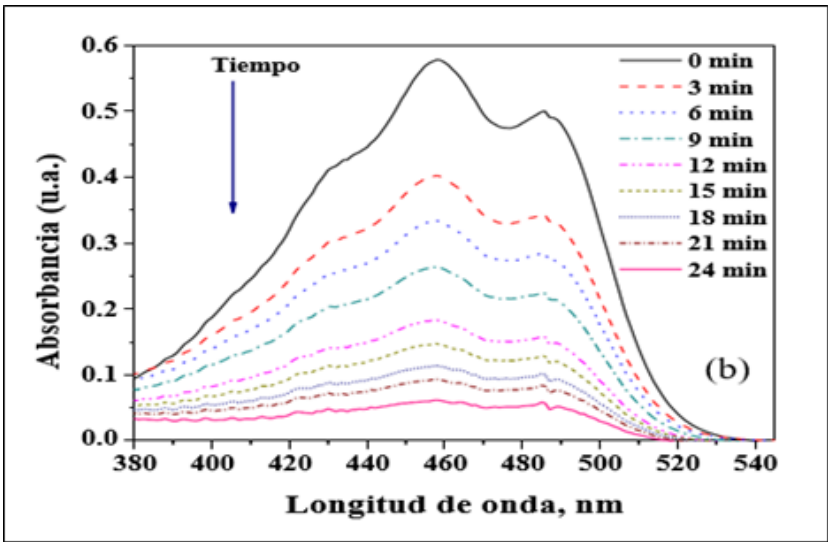


Figura 8. Espectros de absorción del B-caroteno, expuesto a radiación UV a longitud de onda de 254 nm. (b) Durante 24 minutos

La rápida cinética del desarrollo observado a esta longitud de onda corta de luz UV es atribuida a un proceso más eficiente de fotodegradación de la molécula de B-caroteno que toma lugar casi exclusivamente a través de sus estados singletes excitados (128).

Ahora, para determinar el orden de magnitud del proceso de fotodegradación de la molécula de B-caroteno en THF bajo irradiación a longitudes de onda de 366 nm (Figura 9) y 254 nm (Figura 10), se graficó el máximo de absorbancia a 455 nm (A) versus el tiempo de irradiación (t).

Por tanto, en las Figuras 9 y 10, se grafica la relación ln(A) versus t y su correspondiente ajuste. El modelo cinético para este caso corresponde a una reacción de primer orden en el reactante siguiendo la relación: ln(A) = ln(AO) - kt. Esta ecuación es proporcional a la concentración de B-caroteno, tal como describe la ley de Beer.

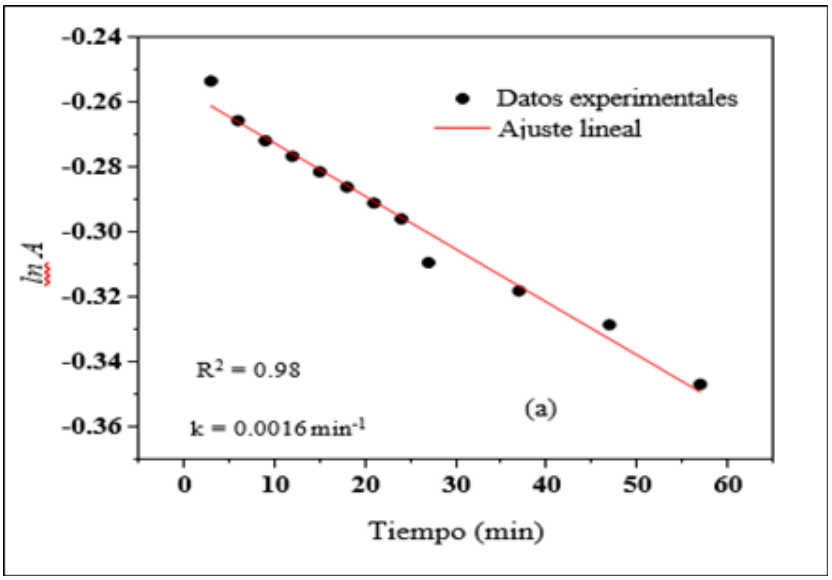


Figura 9. Absorbancia máxima versus tiempo de exposición, (a) 366 nm, y el correspondiente ajuste al modelo de cinética de primer orden para la fotodegradación de B-caroteno

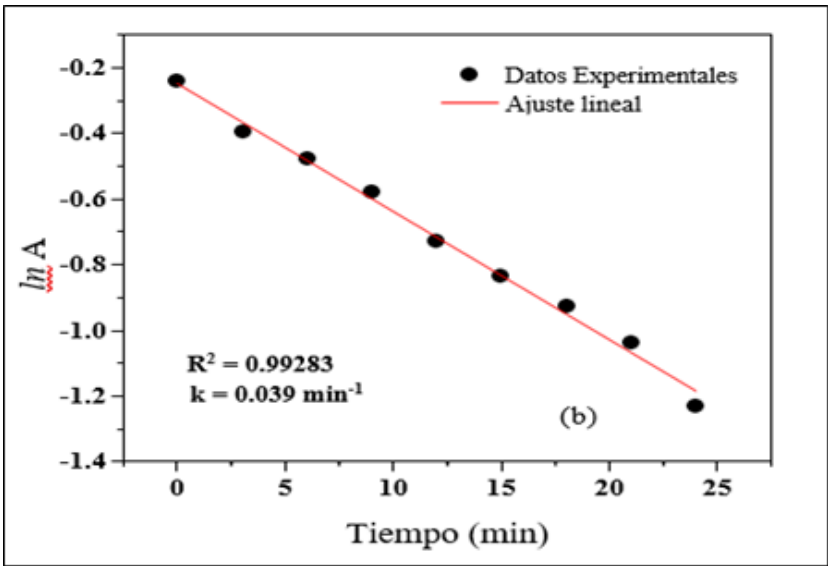


Figura 10. Absorbancia máxima versus tiempo de exposición, (b) 254 nm, y el correspondiente ajuste al modelo de cinética de primer orden para la fotodegradación de B-caroteno

En la ausencia de oxígeno, los carotenoides son esperados a degradarse por procesos unimoleculares. Tal como ha sido discutido en la literatura, la degradación de carotenoides toma lugar mediante el comportamiento de uno de los enlaces centrales C-C vía un estado excitado. Este mecanismo involucra la producción de radicales (128) que pueden contribuir a la desactivación de especies oxidativas.

Por otro lado, los valores de las constantes asociadas con la velocidad de fotodegradación fueron determinadas usando el ajuste lineal de los datos experimentales. Los valores obtenidos para las constantes fueron k366 = (0.0016 ± 0.0001) NIN-1 y k254 = (0.039 ± 0.001) nin-1. Estos resultados demuestran claramente que el B-caroteno es más sensitivo a los procesos de fotodegradación por radiación ultravioleta de onda corta.

Para corroborar estos procesos de fotodescomposición de la molécula de B-caroteno en solución, se determinó la medida del espectro de emisión de este compuesto a diferentes tiempos de irradiación de dos soluciones a diferentes concentraciones:
3.0x10-5 M (●) y 1.5x10-6 M (■), con una longitud de onda de 254 nm.

Sin embargo, en virtud de que la eficiencia cuántica de fluorescencia del B-caroteno en solución es débil, se ha demostrado que aún puede ser posible la medida de estos espectros usando una fuente de excitación relativamente potente, lo cual ha sido reportado en investigaciones anteriores (129), (130). Por ello, en este trabajo, se empleó un diodo láser a una longitud de onda de 410 nm como fuente de excitación para realizar esta medida específica.

En la Figura 11 se muestra la relación entre la intensidad de emisión versus el tiempo de irradiación para las muestras de B-caroteno/THF bajo estudio. La primera observación importante es una inesperada elevación de la intensidad de fluorescencia de la solución altamente concentrada a través de los primeros 30 minutos de irradiación UV.

Para ello, la concentración inicial de B-caroteno en THF fue de 3.0x10-5 M. Basado en experimentos previos, la irradiación de esta molécula a la longitud de onda de 254 nm induce una fotodescomposición significativa de la misma, por lo que se debería esperar un decrecimiento en la

intensidad de fluorescencia en el tiempo.

En este sentido, cuando se analizaron los datos experimentales, se señaló un umbral en la concentración de 1.5x10-6 M, para la cual la fluorescencia sigue el comportamiento mostrado en la Figura 11.

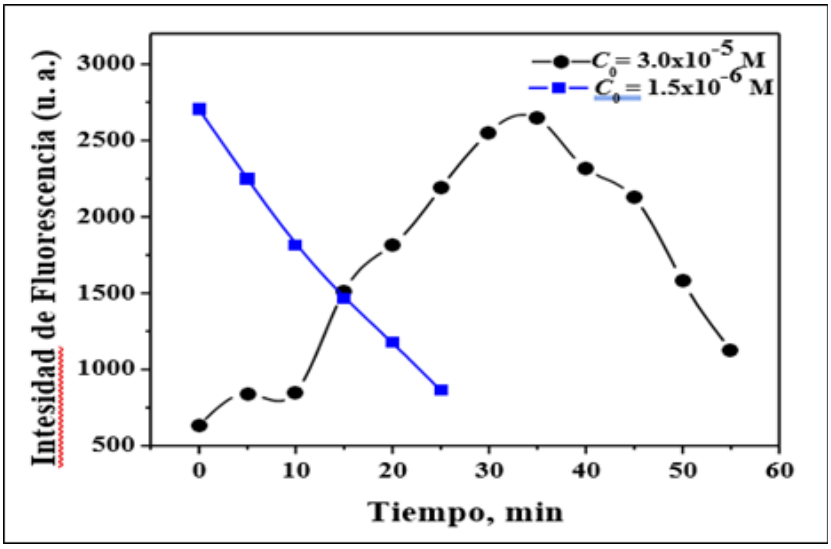


Figura 11. Intensidad de fluorescencia versus tiempo de exposición a radiación UV a 254 nm, de B-caroteno a dos diferentes concentraciones: (●) corresponde a C0 = 3.0x10-5 M, y (■), a C0 = 1.5x10-6 M

Este resultado indica que para la concentración de B-caroteno en solución mayor que 1.5x10-6 M se presenta una significante autoabsorción de la fluorescencia. Después de la reducción de algunas moléculas iniciales de B-caroteno en THF (tiempo > 30 min), la solución es más transparente a la radiación emitida, entonces, se observa un típico decrecimiento en la intensidad de fluorescencia debido a la fotodegradación.

Para probar esta afirmación, se realizaron experimentos de B-caroteno en solución con una concentración inicial de 1.5x10-6 M (■). Tal como se aprecia en la Figura 12, la intensidad de fluorescencia de la solución diluida siempre decrece bajo esta irradiación. Usando estos datos experimentales, se calculó la constante de velocidad asociada a este proceso.

Por otro lado, como la energía liberada por el diodo láser (410 nm) empleado para la excitación es casi treinta veces más grande que de la lámpara UV para una radiación de 254 nm, se podría esperar una contribución a la fotodescomposición producida por la fuente de excitación utilizada. Este efecto puede dar lugar a la impresión de una cinética mucho más rápida. De este modo, las constantes asociadas a la velocidad del proceso son k254,F = (0.045 ± 0.002) min-1, en tal sentido, las medidas para la fluorescencia son mayores que las obtenidas por absorbancia.

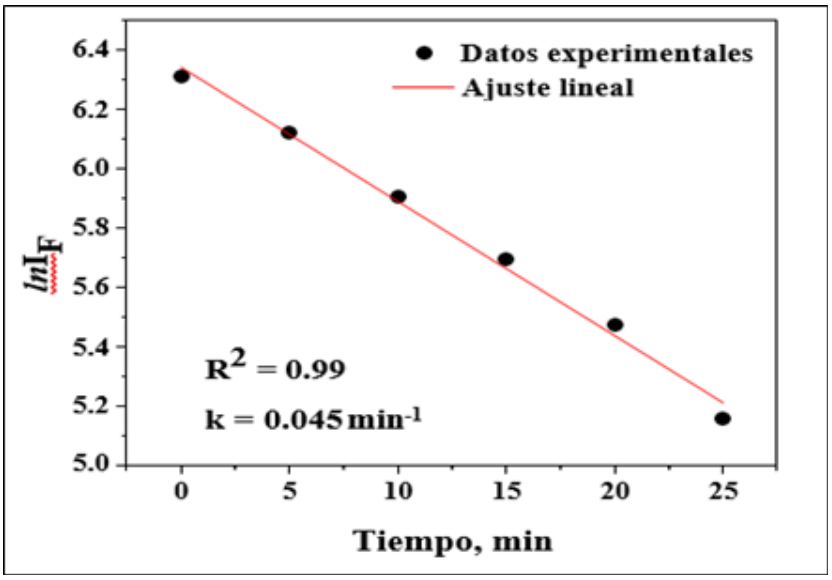


Figura 12. Intensidad de emisión de máxima fluorescencia versus tiempo de exposición a radiación UV a 254 nm y ajuste a modelo de cinética de primer orden para la fotodegradación de B-caroteno en THF

4.3. Dependencia de la polarización en la espectroscopia de absorción de dos fotones de un marcador natural: curcumina en solución

El turmérico (curcumina) es una sustancia importante que está presente en la dieta diaria de millones de personas en el mundo, sobre todo en países del Medio Oriente y Asia. Asimismo, este producto natural se ha usado extensivamente en potajes de comida de la India y para propósitos terapéuticos médicos en Asia y Europa, debido a su actividad antioxidante, antiinflamatoria, antiséptica y antimalaria (131).

Por otra parte, la curcumina es un pigmento natural amarillo-naranja que se encuentra en el rizoma del turmérico (Curcuma longa), también es uno de los principales componentes que se encuentra en el curry. Además de la ya mencionada significancia biológica (131), se suscriben sus propiedades antitumorales (132) y actividad amiloidea (133). La curcumina presenta una moderada eficiencia cuántica de singlete de oxígeno en solventes no polares, tal como ha sido reportado por Chignell et al. (134) y una relativamente alta eficiencia cuántica de fluorescencia ($\Phi_F > 0.30$) en solventes polares (135).

De igual manera, la curcumina ha sido empleada como un agente en la terapia fotodinámica en el tratamiento de cáncer a la piel (136), (137); sin embargo, la aplicación de este pigmento como marcador en muestras biológicas no es aún de uso corriente y existen pocos reportes en la literatura (138).

Por otro lado, es conocido que la transferencia de protones intermoleculares en el estado excitado es el principal proceso fotofísico en la fotoexcitación de la curcumina (139), con un espectro característico de emisión de fluorescencia entre 480 y 660 nm. En ese sentido, teniendo en cuenta el rendimiento cuántico de fluorescencia y su extraordinaria biocompatibilidad, la curcumina es una excelente candidata para ser usada en bioimágenes que podrían sobrepasar las expectativas de colorantes y nanopartículas diseñados específicamente, los cuales tienen una toxicidad intrínseca (140). En suma, la deslocalización del electrón π y aceptor π hacen de esta molécula un marcador adecuado para aplicarla en bioimágenes multifotónicas.

De igual modo, se sabe que la excitación electrónica vía absorción de dos fotones (TPA) con longitudes de onda mayores que aquellas requeridas para absorción lineal producen una reducción de pérdidas debido a dispersión y absorción de un fotón (OPA). Además, la dependencia cuadrática en TPA con la irradiancia incidente confiere a este proceso de excitación una menor resolución espacial y profundidad de penetración, así como una mejor discriminación de ruido (141). Entonces, la TPA reduce el fotoblanqueo del fluoróforo y el daño debido a la luz para especímenes vivos (142).

Estas características han encontrado enormes aplicaciones tecnológicas en los campos de la biología (141), (143) y medicina (144), entre otros (145), (146). En ese sentido, Farkas et al., citados en Hwang et al. (147), utilizaron curcumina para la excitación de dos fotones por campo multimodal amplio para muestras oculares de ratones transgénicos.

Asimismo, la curcumina ha sido probada como un fluoróforo multifotónico, su máxima sección transversal TPA ($\delta^{TPA}(\lambda)$) está entre 780 y 900 nm para la región espectral investigada (147); además, ha sido reportada como de solo unos pocos Goeppert-Mayer, es decir, < 6 GM [1 GM = $1\times10\text{-}50\ \mathrm{cm^4 \cdot s \cdot photons^{-1}}$] (148).

Por otro lado, la acción de la sección transversal TPA se define como $\delta^{TPA}(\lambda)^* = \delta^{TPA}(\lambda)\times\varphi_F$, que es el parámetro que sirve para evaluar cromóforos específicos para microscopía de fluorescencia de dos fotones. Para la curcumina, esta cantidad todavía es relativamente baja debido a su muy modesta $\delta^{TPA}(\lambda)$.

Con el fin de revelar todo el potencial de este colorante natural como un biomarcador de dos fotones, se requiere una caracterización sistemática de la absorción de dos fotones (TPA) de la curcumina en solución y, así, determinar sus potenciales aplicaciones en estudios de absorción de dos fotones de esta importante molécula.

En esta investigación, se reportó un análisis teórico experimental de espectros TPA y dicroísmo circular-lineal de dos fotones (TPCLD) de (1E,6E)-1,7-bis (4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione (curcumina) en una solución de tetrahidrofurano (THF-curcumina/THF), y para determinar los parámetros experimentales, se usó un sistema amplificador sintonizable OPA en el rango de femtosegundos ~90 fs, el cual trabaja a una velocidad de repetición de 50 Hz en un rango espectral amplio (600-900 nm).

Asimismo, se midió el espectro completo TPA de este colorante con polarización lineal y circular empleando la técnica de barrido de doble brazo (double L-scan) (149). Los resultados de esta investigación revelaron una máxima sección transversal TPA en 740 nm y mostraron la posición y simetría de los principales estados excitados involucrados en este proceso.

Por otra parte, los cálculos teóricos realizados, los cuales están basados en la teoría del funcional de densidad dependiente del tiempo (TD-DFT), se llevaron a cabo empleando la teoría de respuesta en el nivel B3LYP con el conjunto base 6-31++G, por ende, este hecho certifica sólidamente los resultados experimentales. Asimismo, los estudios de esta molécula motivarán estudios futuros sobre ella y abrirán una nueva vía para la aplicación de este colorante natural en campos biomédicos y farmacéuticos.

En la Figura 13 se muestran los espectros normalizados de absorción y emisión de la curcumina/THF a una concentración de 3x10-5 M. La caracterización lineal de esta molécula en solución fue realizada para corroborar, a través de comparación directa con los datos reportados en la literatura,

las propiedades ópticas de este compuesto.

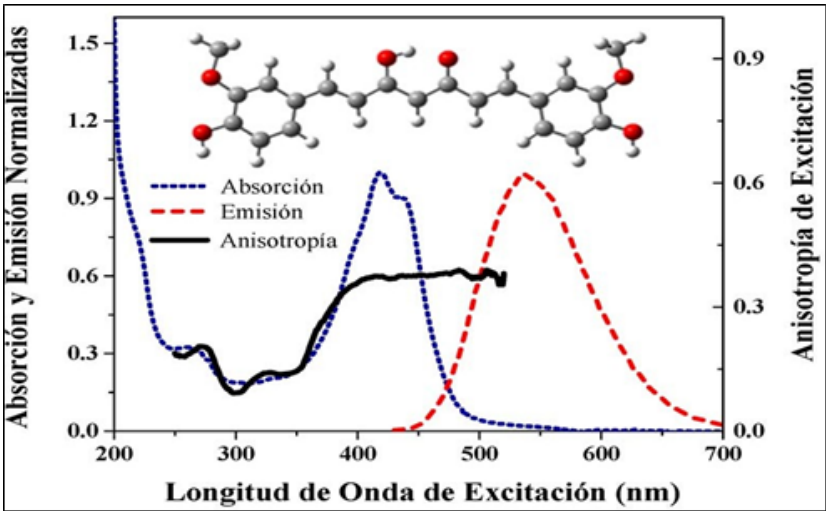


Figura 13. Espectro de absorción lineal experimental (línea azul punteada) de curcumina en THF. Espectro de emisión (línea roja a trazos) y espectro de anisotropía de fluorescencia (línea sólida negra) para curcumina en etilenglicol

En la Figura 13 también se nota en el espectro de absorción lineal una estructura vibracional resuelta con un total de dos picos de absorción (uno centrado en 422 nm y otro en 438 nm), los cuales son atribuidos a un modo interno de vibración efectivo en aquella región.

Para identificar la región donde se hace más evidente la contribución de la TPA se midió el espectro de anisotropía de fluorescencia en etilenglicol a una concentración de 3x10-5 M. Esta curva revela tres diferentes regiones espectrales 390-520 nm, 330-390 nm y 250-330 nm correspondientes a tres transiciones $S_0 \rightarrow S_1$, $S_0 \rightarrow S_2$ y $S_0 \rightarrow S_n$, respectivamente.

Asimismo, la curcumina no es una molécula con simetría central, la restricción de la paridad, impuesta por las reglas de selección, es crucial para la molécula (148). Por consiguiente, se debería esperar una fuerte TPA en la región central (330-390 nm, la cual corresponde a una excitación de dos fotones en el rango entre 660-780 nm), donde los dos estados que están involucrados en la transición presentan igual paridad. En ese sentido, recientes investigaciones sobre la anisotropía de fluorescencia de la curcumina realizados por Mukerjee et al. (150) indican que los resultados hallados en este estudio son correctos.

En la Figura 14 se presenta el espectro teórico y experimental TPA de este pigmento natural amarillo-naranja en una solución homogénea de THF a una concentración de 2.3×10-2 M. Las medidas fueron realizadas con polarización LPL y CPL. Lo primero que se puede apreciar es que existe una excelente correspondencia entre los cálculos teóricos y los resultados experimentales. Entre las transiciones calculadas, el estado electrónico S2 (722 nm) presenta la sección transversal más alta de TPA dentro de las regiones medidas.

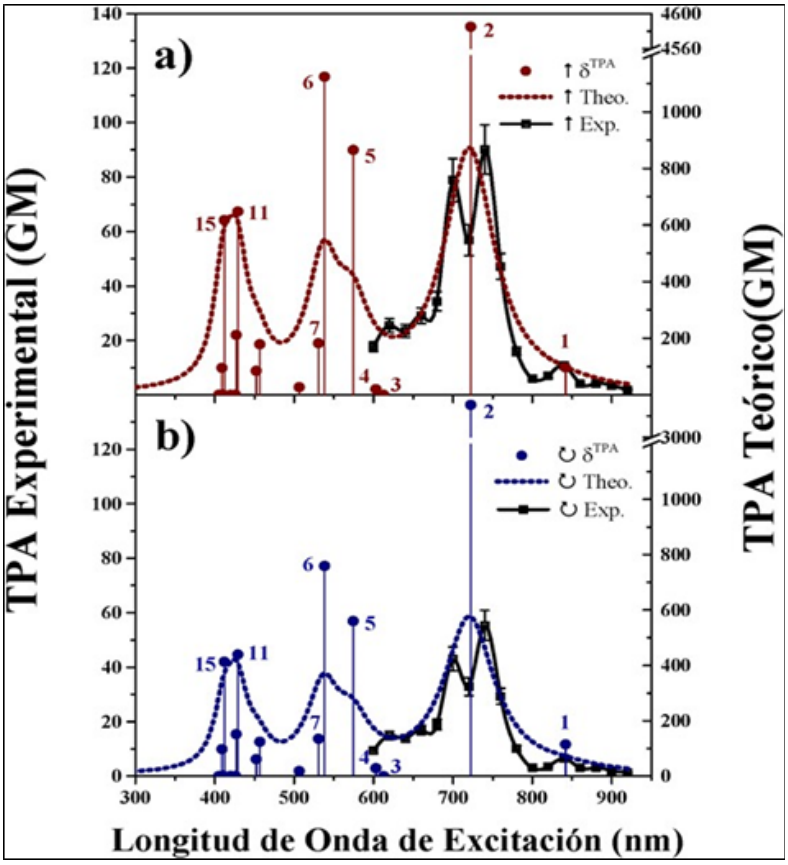


Figura 14. Espectro experimental para absorción de dos fotones (TPA) para la curcumina en THF (cuadrados dispersos) para LPL (a) y CPL (b), con sus correspondientes transiciones electrónicas teóricas TPA (esferas dispersas) y convolución con lorentzianas [ancho de la línea 0.15 eV FWHM] (línea punteada)

En suma, se puede observar un pequeño pico de 842 nm correspondiente a una transición altamente probable OPA a S1 (tal como se puede apreciar en el *inset* de la Figura 14, 420 nm). La amplitud y posición espectral de estas dos bandas están acorde con las predicciones basadas en las diferentes reglas de selección para OPA y TPA.

El análisis del espectro de anisotropía de fluorescencia y la de TPCLD, el cual es presentado más adelante, corrobora estos resultados. Adicionalmente, las transiciones preferenciales de uno y dos fotones entre $S_0 \rightarrow S_1$ y $S_0 \rightarrow S_2$, respectivamente, pueden ser validadas basándose en los resultados de la Figura 15 (orbitales moleculares correspondientes a las dos principales transiciones).

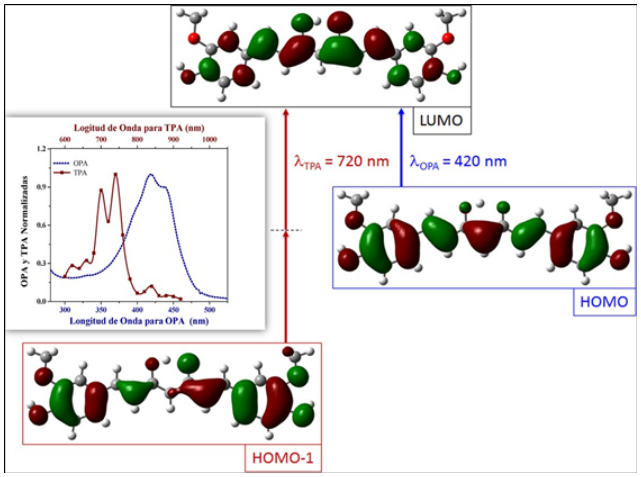


Figura 15. Orbitales moleculares de curcumina calculados usando Gaussian 09TM al nivel B3LYP/6-31++G** en THF

En este caso, la transferencia intramolecular más fuerte está típicamente asociada con una transición más grande del momento dipolar (151). Es importante resaltar que hay un corrimiento espectral hacia el azul de aproximadamente 80 nm (Tabla 1), que fue aplicado al espectro teórico (LPL y CPL) para alcanzar una superposición espectral.

Tabla 1. Resumen de resultados para los cálculos teóricos para TPA

S_1	921.816	$9.66X10^{01}$	$1.15X10^{02}$	0.087
S_2	802.487	$4.58X10^{03}$	$3.02X10^{03}$	-0.205
S_3	692.649	$1.73X10^{-03}$	$2.59X10^{-03}$	0.200
S_4	683.109	$2.07X10^{10}$	$2.88X10^{01}$	0.167
S_5	654.270	$8.66X10^{02}$	$5.60X10^{02}$	-0.212
S_6	618.375	$1.12X10^{03}$	$7.59X10^{02}$	-0.190
S_7	610.760	$1.83X10^{02}$	$1.35X10^{02}$	-0.156
S_8	586.214	$2.72X10^{01}$	$1.85X10^{01}$	-0.190
S_9	536.728	$1.79X10^{02}$	$1.24X10^{02}$	-0.183
S_{10}	532.121	$8.56X10^{01}$	$6.16X10^{01}$	-0.163
S_{11}	509.176	$6.48X10^{02}$	$4.40X10^{02}$	-0.190
S_{12}	507.093	$2.12X10^{02}$	$1.52X10^{02}$	-0.163
S_{13}	506.058	$7.37X10^{-01}$	$1.11X10^{00}$	0.200
S_{14}	499.936	$2.86X10^{-01}$	$4.30X10^{0-01}$	0.200
S_{15}	492.001	$6.18X10^{02}$	$4.13X10^{02}$	-0.198
S_{16}	490.056	$1.73X10^{00}$	$2.59X10^{00}$	0.200
S_{17}	489.090	$9.52X10^{01}$	$9.78X10^{01}$	0.015
S_{18}	485.261	$3.41X10^{-02}$	$5.11X10^{-02}$	0.200

Este procedimiento puede ser justificado considerando que los cálculos teóricos, usando PCM para incluir los efectos del solvente, fueron realizados bajo una aproximación de Lorentz-Lorenz, la cual no considera una aproximación específica soluto-solvente (152), por lo que un corrimiento espectral del espectro teórico no es inusual. Sin embargo, las transiciones a estos estados excitados están en total acuerdo con los revelados en el experimento, en los cuales se observa una fuerte sobreestimación de la sección transversal TPA correspondiente a la banda de energía más baja.

Estos resultados están asociados a las imprecisiones en la determinación del ancho de la línea y energías (152). Además, se puede observar que la sección transversal TPA es más grande usando LPL en lugar de CPL, a través de casi todo el espectro. Este hecho indica fuertemente que las transiciones TPA están tomando lugar entre estados de igual simetría (153), lo cual se puede corroborar por el espectro TPCLD.

Adicionalmente, la división más notable en la banda TPA, es decir, la transición a un segundo estado excitado es atribuida a un acoplamiento vibracional. Este efecto ha sido asociado con grandes contribuciones Herzberg-Teller en moléculas conjugadas similares (154). Es importante mencionar el hecho de que el espectro TPA presenta dos picos distintos (Figura 16) con secciones transversales TPA de ~80 GM y ~90 GM en 700 nm y 740 nm, respectivamente (155).

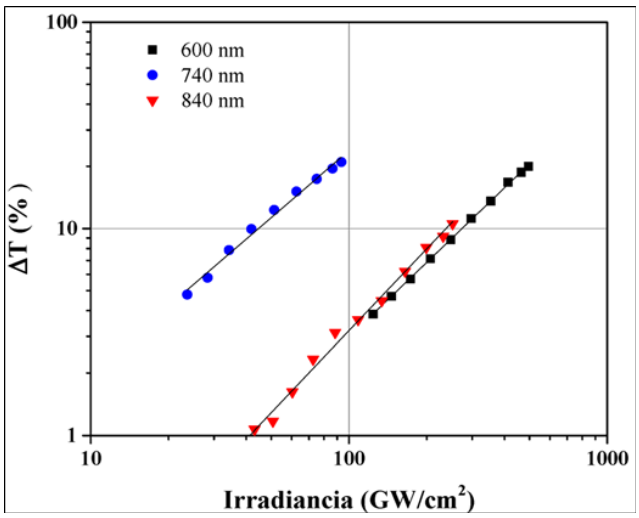


Figura 16. Gráfica log-log de cambios en la transmitancia normalizada versus irradiancia de entrada a 600 (cuadrados negros), 740 (esferas azules) y 840 nm (triángulos rojos)

En efecto, la aplicación importante de este pigmento natural se registra en las bioimágenes de dos fotones, coincidentemente en uno de los mínimos del espectro TPA de esta molécula (Figura 15). Por consiguiente, los resultados revelan un amplio potencial de este marcador biocompatible en la absorción de dos fotones para bioimágenes y, desde luego, descubren la excitación óptima de la longitud de onda para conseguir la excitación más eficiente de dos fotones en la región del infrarrojo cercano (NIR).

Es importante mencionar que tomando en consideración que el rendimiento cuántico de fluorescencia de la curcumina no varía dentro del rango de la longitud de onda de excitación de dos fotones bajo estudio, la correspondiente $\delta_{TPA(\lambda)}$ debería también incrementarse en más de un orden de magnitud cuando se excita la curcumina/ THF vía TPA a 740 nm.

Las flechas representan las transiciones de uno y dos fotones entre $S_0 \rightarrow S_1$ (99%_HOMO→LUMO) y , $S_0 \rightarrow S_2$ (97%_HOMO-1→LUMO) respectivamente, a su máximo de absorción correspondiente. (Inset- espectros normalizados OPA y TPA).

Las medidas TPA no fueron realizadas por debajo de 600 nm para evitar caer en algunas regiones de resonancia donde la absorción de un fotón es importante (153). No obstante, de acuerdo con el espectro teórico $\delta^{TPA}(\lambda < 600\ nm)$ de la curcumina, la región visible del espectro permanece por debajo del máximo valor obtenido a 740 nm.

Ahora bien, para corroborar la absorción de dos fotones, dentro del rango espectral estudiado, se midió el cambio en la transmitancia normalizada versus la irradiancia de entrada a 600, 740 y 840 nm (Figura 16). Una pendiente igual a uno, en la gráfica log-log, evidencia la ley cuadrática típica con respecto a la irradiancia de entrada para el proceso de TPA.

Esta nueva técnica espectroscópica puede ser utilizada para determinar la simetría de los estados excitados y la orientación relativa entre transiciones de momentos dipolares eléctricos. Lo primero que se puede apreciar en la Figura 17 es el buen acuerdo entre el espectro teórico y el resultado experimental. La diferencia en magnitud entre los dos espectros es atribuida a los mismos factores analizados anteriormente en el análisis de espectros TPA.

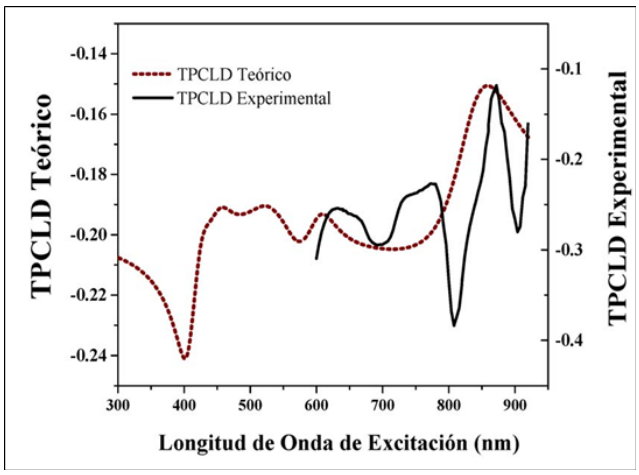


Figura 17. Espectros TPLCD teórico (línea roja punteada) y experimental (línea sólida negra) de curcumina en THF

En segundo lugar, de acuerdo con los resultados teóricos reportados por Nascimento (153) sobre la dependencia en la polarización de la razón TPA para moléculas orientadas aleatoriamente y los resultados reportados por De Boni et al. (149) sobre la dependencia de la polarización TPA de perileno (154); se puede observar que el valor de TPCLD es negativo $(\delta^{TPCLD} < 0)$ a lo largo de casi toda la región del espectro.

Este hecho indica que las principales transiciones TPA toman lugar entre estados de la misma simetría, lo que puede ser corroborado por una inspección cuidadosa de los valores de $\Delta\delta^{TPCLD}$ostrados en la Tabla 1, aunque las excitaciones a estados excitados S1, S3 y S4 presentan $0 < \Delta\delta^{TPCLD} \leq 0.2$, y a S13, S14, S16, S17 y S18, $\Delta\delta^{TPCLD}$ 0.2, correspondientes a transiciones entre estados de diferente simetría (153). El valor relativamente pequeño de $\delta^{TPA}(\lambda)$ para todas estas transiciones particulares representa una insignificante contribución a la forma y signo del espectro de TPCLD de curcumina/THF.

Este tipo de efecto ha sido observado por De Boni et al. (149) en perileno. En tercer lugar, la teoría reproduce claramente el máximo a~870 nm y el valle amplio entre aproximadamente 630 nm y 780 nm. Estas dos regiones, las cuales corresponden a transiciones $S_0 \rightarrow S_1$ y $S_0 \rightarrow S_2$, están en concordancia con los resultados de la anisotropía de fluorescencia (150), por lo que el pequeño mínimo centrado en~700 nm es atribuido a un acoplamiento vibracional mencionado anteriormente (154).

CAPÍTULO III

CONSIDERACIONES FINALES

En esta investigación se ha realizado un estudio sistemático basado en técnicas espectroscópicas para determinar las potenciales aplicaciones de tres principales antioxidantes que se encuentran en la dieta diaria o son utilizados como suplementos vitamínicos para efectos de fotoprotección, debido a radiaciones intensas y en el tratamiento de algunas enfermedades. Así también, se aplican en otros campos como la biología, medicina, nutrición e industria farmacéutica. En el desarrollo del trabajo se determinaron parámetros ópticos que están íntimamente relacionados con estos factores, por ejemplo, en la determinación de propiedades ópticas no lineales que en los últimos años han adquirido enorme interés.

Ahora bien, el estudio del proceso de fotodegradación de vitamina E en forma de acetato irradiado con luz UV fue exitosamente monitoreado con tres diferentes técnicas espectroscópicas: absorción óptica lineal, fluorescencia y lente térmica. Por otra parte, los análisis de los espectros de absorción demostraron que la vitamina E permanece estable por acción de luz UVA; pero si se le aplica un tratamiento con luz UVC, induce a la formación de productos de fotodegradación. Por lo tanto, esta técnica espectroscópica puede ser usada para realizar un estudio de esta naturaleza debido a su simplicidad y practicidad, pues puede ser aplicada a este tipo de muestras sin mayores modificaciones.

Por otro lado, la espectroscopia de lente térmica ofrece una mayor ventaja sobre la espectroscopia convencional por su extrema sensibilidad. Esta técnica, debido a la geometría y considerando los efectos de la propagación de haces Gaussianos, minimiza los errores debido a la dispersión de la luz. En la presente investigación se demostró que esta técnica fue muy sensible aun cuando se tiene débil absorción de los productos fotodegradados de la vitamina E. Asimismo, se determinó que la espectroscopia de lente térmica es una invalorable metodología, además de usar excitación luminosa no invasiva y no degradante en muestras orgánicas.

Adicionalmente, el proceso de fotodegradación de β-caroteno en una solución de THF fue monitoreado usando estudios experimentales de absorción óptica, fluorescencia y absorción no lineal. A partir de ello, se demostró que el mecanismo de fotodegradación obedece a una cinética de primer orden. Estos resultados confirman procesos unimoleculares del desarrollo, el cual toma lugar más rápido a longitudes de onda corta UV.

En los experimentos de espectroscopia de fluorescencia se confirmaron estos resultados y se observó que a altas concentraciones de la solución se produce un efecto de autoabsorción de fluorescencia, el cual podría llevar a conclusiones incorrectas. También se confirmó que la molécula de β-caroteno presenta altas secciones transversales de absorción de dos fotones en el rango de longitudes de onda comprendido entre 600-660 nm, lo cual corrobora que esta molécula antioxidante puede ser usada en múltiples aplicaciones y para un mejor entendimiento de sus parámetros térmicos y ópticos.

Asimismo, en esta investigación, se mostró de manera original el análisis de los espectros tanto teórico como experimental del proceso de absorción de dos fotones (TPA) para este antioxidante natural en una solución de THF. La espectroscopia TPA de este pigmento natural, en el régimen de tiempos muy cortos y realizado sobre un amplio rango espectral, reveló un máximo valor en el cálculo de la sección transversal de absorción de dos fotones de alrededor $\delta^{TPA} \cong 90$ GM cuando

se aplica un haz láser de 740 nm. Además, se demostró que es casi diez veces más grande que los valores previamente calculados, los cuales habían sido reportados en la literatura cuando se realizaron aplicaciones de la curcumina en bioimágenes y excitadas a 800 nm.

Este importante hallazgo ayudará a estimular el uso de esta molécula no tóxica para la generación de bioimágenes multifotónicas y en la terapia fotodinámica. Ello debido a que, mediante la aplicación del dicroísmo de dos fotones circular-lineal (TPLCD), se identificó la simetría y posición espectral de estados excitados de esta interesante y valiosa molécula. Por lo tanto, los resultados contenidos en este trabajo de investigación serán útiles para determinar potenciales aplicaciones y el uso como marcador biocompatible en el estudio de sustancias biológicas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nazir S, Hussain T, Ayub A, Rashid U, MacRobert AJ. Nanomaterials in combating cancer: therapeutic applications and developments. Nanomedicine [Internet] 2014 [consultado 2020 Ago 15]; 10(1): 19-34. DOI https://doi.org/10.1016/j.nano.2013.07.001

2. Branco MC, Schneider JP. Self-assembling materials for therapeutic delivery. Acta Biomater [Internet] 2009 [consultado 2020 Ago 14]; 5(3): 817-831. DOI https://doi.org/10.1016/j.actbio.2008.09.018

3. Alexis F, Pridgen EM, Langer R, Farokhzad OC. Nanoparticle technologies for cancer therapy. Handb Exp Pharmacol [Internet] 2010 [consultado 2020 Ago 16]; (197): 55-86. DOI https://doi.org/10.1007/978-3-642-00477-3_2

4. Lu Y, Park K. Polymeric micelles and alternative nanonized delivery vehicles for poorly soluble drugs. Int J Pharm [Internet] 2013 [consultado 2021 Feb 11]; 453(1): 198-214. DOI https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.08.042

5. Oerlemans C, Bult W, Bos M, Storm G, Nijsen J, Hennink W. Polymeric micelles in anticancer therapy: targeting, imaging and triggered release. Pharm Res [Internet] 2010 [consultado 2021 Feb 9]; 27(12): 2569-2589. DOI https://doi.org/10.1007/s11095-010-0233-4

6. Wang R, Billone PS, Mullett WM. Nanomedicine in action: an overview of cancer nanomedicine on the market and in clinical trials. J Nanomater [Internet] 2013 [consultado 2021 Abr 17]; 1: 1-12. DOI https://doi.org/10.1155/2013/629681

7. Shaji J, Lal M. Nanocarriers for targeting in inflammation. Asian J Pharm Clin Res [Internet] 2013 [consultado 2021 Abr 18]; 6(Suppl. 3): 3-12. Disponible en: https://innovareacademics.in/journals/index.php/ajpcr/article/view/314

8. Wang AZ, Langer R, Farokhzad OC. Nanoparticle delivery of cancer drugs. Annu Rev Med [Internet] 2012 [consultado 2021 May 8]; 63: 185-198. DOI https://doi.org/10.1146/annurev-med-040210-162544

9. Egusquiaguirre SP, Igartua M, Hernández RM, Pedraz JL. Nanoparticle delivery systems for cancer therapy: advances in clinical and preclinical research. Clin Transl Oncol [Internet] 2012 [consultado 2021 May 15]; 14(2): 83-93. DOI https://doi.org/10.1007/s12094-012-0766-6

10. Davis ME, Chen ZG, Shin DM. Nanoparticle therapeutics: an emerging treatment modality for cancer. Nat Rev Drug Discov [Internet] 2008 [consultado 2021 May 22]; 7(9): 771-782. DOI https://doi.org/10.1038/nrd2614

11. Misra R, Upadhyay M, Mohanty S. Nanoparticles as carriers for chemotherapeutic drugs: A review. J

Nanopharm Drug Deliv [Internet] 2013 [consultado 2021 May 22]; 1(2): 103-137. DOI https://doi.org/10.1166/jnd.2013.1018

12. Parveen S, Misra R, Sahoo SK. Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging. Nanomedicine [Internet] 2012 [consultado 2021 May 22]; 8(2): 147-166. DOI https://doi.org/10.1016/j.nano.2011.05.016

13. Kedar U, Phutane P, Shidhaye S, Kadam V. Advances in polymeric micelles for drug delivery and tumor targeting. Nanomedicine [Internet] 2010 [consultado 2021 May 16]; 6(6): 714-729. DOI https://doi.org/10.1016/j.nano.2010.05.005

14. Rösler A, Vandermeulen GWM, Klok HA. Advanced drug delivery devices via self-assembly of amphiphilic block copolymers. Adv Drug Deliv Rev [Internet] 2001 [consultado 2021 Abr 19]; 53(1): 270-279. DOI https://doi.org/10.1016/S0169-409X(01)00222-8

15. Duncan R. Polymer therapeutics as nanomedicines: new perspectives. Curr Opin Biotechnol [Internet] 2011 [consultado 2021 Abr 20]; 22(4): 492-501. DOI https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.05.507

16. Duncan R, Vicent MJ. Polymer therapeutics-prospects for 21st century: the end of the beginning. Adv Drug Deliv Rev [Internet] 2013 [consultado 2021 Abr 20]; 65(1): 60-70. DOI https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.08.012

17. Mousa SA, Bharali DJ. Nanotechnology-based detection and targeted therapy in cancer: nano-bio paradigms and applications. Cancers (Basel) [Internet] 2011 [consultado 2021 Jun 9]; 3(3): 2888-2903. DOI https://doi.org/10.3390/cancers3032888

18. Miyata K, Christie RJ, Kataoka K. Polymeric micelles for nano-scale drug delivery. React Funct Polym [Internet] 2011 [consultado 2021 Jun 11]; 71(3): 227-234. DOI https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2010.10.009

19. Gombotz W, Hoffman A. B. 6-polymeric micelles. En Ratmer B, et al., editores. Biomaterials Science. Academic Press; 2013. 1041-1045.

20. Ding H, Wang X, Zhang S, Liu X. Applications of polymeric micelles with tumor targeted in chemotherapy. J Nanopart Res [Internet] 2012 [consultado 2021 Ago 15]; 14(1254): 1-13. DOI https://doi.org/10.1007/s11051-012-1254-1

21. Rapoport N. Physical stimuli-responsive polymeric micelles for anti-cancer drug delivery. Prog Polym Sci [Internet] 2007 [consultado 2021 Ago 16]; 32(8-9): 962-990. DOI https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2007.05.009

22. Jones M, Leroux J. Polymeric micelles-a new generation of colloidal drug carriers. Eur J Pharm Biopharm [Internet] 1999 [consultado 2021 Oct 15 15]; 48(2): 101-111. DOI https://doi.org/10.1016/S0939-6411(99)00039-9

23. Brigger I, Dubernet C, Couvreur P. Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. Adv Drug Deliv Rev [Internet] 2012 [consultado 2021 Sep 15]; 54(5): 631-651. DOI https://doi.org/10.1016/s0169-409x(02)00044-3

24. Choi JH, Jang JY, Joung YK, Kwon MH, Park KD. Intracellular delivery and anti-cancer effect of self-assembled heparin-Pluronic nanogels with RNase A. J Control Release [Internet] 2010 [consultado 2021 Sep 24]; 147(3): 420-427. DOI https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.07.118

25. Mora-Huertas CE, Fessi H, Elaissari A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. Int J Pharm [Internet] 2010 [consultado 2021 Sep 28]; 385(1-2), 113-142. DOI https://doi.org/10.1016/j.

ijpharm.2009.10.018

26. She W, Li N, Luo K, Guo C, Wang G, Geng Y, et al. Dendronized heparin-doxorubicin conjugate-based nanoparticle as pH-responsive drug delivery system for cancer therapy. Biomaterials [Internet] 2013 [consultado 2021 Sep 2]; 34(9): 2252-2264. DOI https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.12.017

27. Schlüter AD, Rabe JP. Dendronized polymers: synthesis, characterization, assembly at interfaces, and manipulation. Angew Chem Int Ed Engl [Internet] 2000 [consultado 2021 Ago 14]; 39(5): 864-883. DOI https://doi.org/10.1002/(sici)1521-3773(20000303)39:5%3C864::aid-anie864%3E3.0.co;2-e

28. Frauenrath H. Dendronized polymers-building a new bridge from molecules to nanoscopic objects. Prog Polym Sci [Internet] 2005 [consultado 2021 Ago 15]; 30(3-4): 325-384. DOI https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2005.01.011

29. Saeed A, Magnusson J, Moradi E, Soliman M, Wang W, Stolnik S, et al. Modular construction of multifunctional bioresponsive cell-targeted nanoparticles for gene delivery. Bioconjug Chem [Internet] 2011 [consultado 2019 Ago 16]; 22(2): 156-168. DOI https://doi.org/10.1021/bc100149g

30. Sanna V, Siddiqui I, Sechi M, Mukhtar H. Resveratrol-loaded nanoparticles based on poly (epsiloncaprolactone) and poly (llactic-co-glycolic acid)-poly (ethylene glycol) blend for prostate cancer treatment. Mol Pharm [Internet] 2013 [consultado 2019 Ago 30]; 10(10): 3871-3881. DOI https://doi.org/10.1021/mp400342f

31. Li B, Wang Q, Wang X, Wang C, Jiang X. Preparation, drug release and cellular uptake of doxorubicin-loaded dextran-b-poly (-caprolactone) nanoparticles. Carbohydr Polym. [Internet] 2013 [consultado 2019 Mar 25]; 93(2): 430-437. DOI https://10.1016/j.carbpol.2012.12.051

32. Cirstoiu A, Buchegger F, Bossy L, Kosinski M, Gurny R, Delie F. Nanomedicines for active targeting: physico-chemical characterization of paclitaxel-loaded anti-HER2 immunonanoparticles and in vitro functional studies on target cells. Eur J Pharm Sci. [Internet] 2009 [consultado 2020 May 9]; 38(3): 230-237. DOI https://doi.org/10.1016/j.ejps.2009.07.006

33. Koo H, Min K, Lee S, Park J, Park K, Jeong S, et al. Enhanced drug-loading and therapeutic efficacy of hydrotropic oligomer-conjugated glycol chitosan nanoparticles for tumor-targeted paclitaxel delivery. J Control Rel. [Internet] 2013 [consultado 2019 Abr 28]; 172(3): 823-831. DOI https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.08.297

34. Zhang C, Li G, Wang Y, Cui F, Zhang J, Huang Q. Preparation and characterization of 5-fluorouracil-loaded PLLA-PEG/PEG nanoparticles by a novel supercritical CO2 technique. Int J Pharm. [Internet] 2012 [consultado 2019 Abr 19]; 436(1-2): 272-281. DOI https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.06.022

35. Bae Y, Kataoka K. Intelligent polymeric micelles from functional poly (ethylene glycol)-poly (amino acid) block copolymers. Adv Drug Deliv Rev. [Internet] 2009 [consultado 2020 Jul 2]; 61(10): 768-784. DOI https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.04.016

36. Rettig H, Krause E, Börner H. Atom transfer radical polymerization with polypeptide initiators: a general approach to block copolymers of sequence-defined polypeptides and synthetic polymers. Macromol Rapid Commun. [Internet] 2004 [consultado 2019 Jul 23]; 25(13): 1251-1256. DOI https://doi.org/10.1002/marc.200400140

37. Williams H, Trevaskis N, Charman S, Shanker R, Charman W, Pouton C, et al. Strategies to address low drug solubility in discovery and development. Pharmacol Rev. [Internet] 2013 [consultado 2019 Ago 15]; 65(1): 315-499. DOI http://dx.doi.org/10.1124/pr.111.005660

38. Bamrungsap S, Zhao Z, Chen T, Wang L, Li C, Fu T, et al. Nanotechnology in therapeutics: a focus on

nanoparticles as a drug delivery system. Nanomedicine. [Internet] 2012 [consultado 2019 Oct 12]; 7(8): 1253-1271. DOI https://doi.org/10.2217/nnm.12.87

39. Uchegbu I, Siew A. Nanomedicines and nanodiagnostics come of age. J Pharm Sci. [Internet] 2013 [consultado 2021 Nov 15]; 102(2): 305-310. DOI https://doi.org/10.1002/jps.23377

40. Maeda H. SMANCS and polymer-conjugated macromolecular drugs: advantages in cancer chemotherapy. Adv Drug Deliv Rev. [Internet] 2001a [consultado 2019 Ago 25]; 46(1-3): 169-185. DOI https://doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00134-4

41. Maeda H, Nakamura H, Fang J. The EPR effect for macromolecular drug delivery to solid tumors: Improvement of tumor uptake, lowering of systemic toxicity, and distinct tumor imaging in vivo. Adv Drug Deliv Rev. [Internet] 2013 [consultado 2020 Ago 15]; 65(1): 71-79. DOI https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.10.002

42. Neri D, Bicknell R. Tumour vascular targeting. Nat Rev Cancer [Internet] 2005 [consultado 20 Ago 15]; 5(6): 436-446. DOI https://doi.org/10.1038/nrc1627

43. Li H, Qian Z. Transferrin/transferrin receptor-mediated drug delivery. Med Res Rev. [Internet] 2002 [consultado 2020 Ago 11]; 22(3): 225-250. DOI https://doi.org/10.1002/med.10008

44. Acharya S, Dilnawaz F, Sahoo S. Targeted epidermal growth factor receptor nanoparticle bioconjugates for breast cancer therapy. Biomaterials. [Internet] 2009 [consultado 2021 Oct 13]; 30(29): 5737-5750. DOI https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.07.008

45. Hilgenbrink A, Low P. Folate receptor□mediated drug targeting: From therapeutics to diagnostics. J Pharm Sci. [Internet] 2005 [consultado 2020 Feb 13]; 94(10): 2135-2146. DOI https://doi.org/10.1002/jps.20457

46. Bertrand N, Wu J, Xu X, Kamaly N, Farokhzad O. Cancer nanotechnology: the impact of passive and active targeting in the era of modern cancer biology. Adv Drug Deliv Rev. [Internet] 2014 [consultado 2021 Jul 15]; 66: 2-25. DOI https://doi.org/10.1016/j.addr.2013.11.009

47. Wicki A, Witzigmann D, Balasubramanian V, Huwyler J. Nanomedicine in cancer therapy: challenges, opportunities, and clinical applications. J Control Rel. [Internet] 2015 [consultado 2021 Ene 14]; 200: 138-157. DOI https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.12.030

48. Allen T, Cullis P. Liposomal drug delivery systems: from concept to clinical applications. Adv Drug Deliv Rev. [Internet] 2013 [consultado 2020 Jun 15]; 65(1): 36-48. DOI https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.037

49. Mozafari M. Liposomes: an overview of manufacturing techniques. Cell Mol Biol Lett. [Internet] 2005 [consultado 2021 Oct 8]; 10(4): 711-719. Available in https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16341279/

50. Northfelt D, Dezube B, Thommes J, Miller B, Fischl M, Friedman A, et al. Pegylatedliposomal doxorubicin versus doxorubicin, bleomycin, and vincristine in the treatment of AIDS-related Kaposi's sarcoma: results of a randomized phase III clinical trial. J Clin Oncol. [Internet] 1998 [consultado 2021 Oct 15]; 16(7): 2445-2451. DOI https://doi.org/10.1200/JCO.1998.16.7.2445

51. Rivera E. Liposomal anthracyclines in metastatic breast cancer: clinical update. The Oncologist. [Internet] 2003 [consultado 2020 Jun 21]; 8(S2): 3-9. DOI https://doi.org/10.1634/theoncologist.8-suppl_2-3

52. Glantz M, Jaeckle K, Chamberlain M, Phuphanich S, Recht L, Swinnen L, et al. A randomized controlled trial comparing intrathecal sustained-release cytarabine (DepoCyt) to intrathecal methotrexate in

patients with neoplastic meningitis from solid tumors. Clin Cancer Res. [Internet] 1999 [consultado 2021 Jun 12]; 5(11): 3394-3402. Available https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10589750/

53. Rodriguez M, Pytlik R, Kozak T, Chhanabhai M, Gascoyne R, Lu B, et al. Vincristine sulfate liposomes injection (Marqibo) in heavily pretreated patients with refractory aggressive non□Hodgkin lymphoma. Cancer. [Internet] 2009 [consultado 2021 May 13]; 115(15): 3475-3482. DOI https://doi.org/10.1002/cncr.24359

54. Venkatakrishnan K, Liu Y, Noe D, Mertz J, Bargfrede M, Marbury T, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of liposomal mifamurtide in adult volunteers with mild or moderate hepatic impairment. Br J Clin Pharm. [Internet] 2014 [consultado 2020 Mar 15]; 77(6): 998-1010. DOI https://doi.org/10.1111/bcp.12261

55. Pérez E, Fernández A. Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. Eu J Pharm Biopharm. [Internet] 2015 [consultado 2021 Ago 15]; 93: 52-79. DOI https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.03.018

56. Suzuki R, Takizawa T, Kuwata Y, Mutoh M, Ishiguro N, Utoguchi N, et al. Effective anti-tumor activity of oxaliplatin encapsulated in transferrin-PEG-liposome. Int J Pharm. [Internet] 2008 [consultado 2019 Ago 13]; 346(1-2): 143-150. DOI https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2007.06.010

57. Ringsdorf H. Structure and properties of pharmacologically active polymers. J Polymer Sci: Symposium. [Internet] 1975 [consultado 2020 Abr 11]; 51(1): 135-153. DOI https://doi.org/10.1002/polc.5070510111

58. Greco F, Vicent M. Combination therapy: opportunities and challenges for polymer-drug conjugates as anticancer nanomedicines. Adv Drug Deliv Rev. [Internet] 2009 [consultado 2019 Ago 13]; 61(13): 1203-1213. DOI https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.05.006

59. Graham M. Pegaspargase: a review of clinical studies. Adv Drug Deliv Rev. [Internet] 2003 [consultado 2019 Ago 13]; 55(10): 1293-1302. DOI https://doi.org/10.1016/S0169-409X(03)00110-8

60. Pasut G, Veronese F. PEG conjugates in clinical development or use as anticancer agents: an overview. Adv Drug Deliv Rev. [Internet] 2009 [consultado 20 Ago 15]; 61(13): 1177-1188. DOI https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.02.010

61. Duangjai A, Luo K, Zhou Y, Yang J, Kope□ek, J. Combination cytotoxicity of backbone degradable HPMA copolymer gemcitabine and platinum conjugates toward human ovarian carcinoma cells. Eu J Pharm Biopharm. [Internet] 2014 [consultado 2021 Ago 15]; 87(1): 187-196.

62. Ye H, Jin L, Hu R, Yi Z, Li J, Wu Y, et al. Poly (□, l-glutamic acid)-cisplatin conjugate effectively inhibits human breast tumor xenografted in nude mice. Biomaterials. [Internet] 2006 [consultado 2020 Ago 13]; 27(35): 5958-5965. DOI https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.08.016

63. Etrych T, Šubr V, Laga R, □íhová B, Ulbrich K. Polymer conjugates of doxorubicin bound through an amide and hydrazone bond: Impact of the carrier structure onto synergistic action in the treatment of solid tumours. Eu J Pharm Scien. [Internet] 2014 [consultado 2021 Mar 9]; 58: 1-12. DOI https://doi.org/10.1016/j.ejps.2014.02.016

64. Terwogt J, Schellens J, Schot M, Mandjes I, Zurlo M, Rocchetti M, et al. Phase I clinical and pharmacokinetic study of PNU166945, a novel water-soluble polymerconjugated prodrug of paclitaxel. Anti-Cancer Drugs. [Internet] 2001 [consultado 2020 May 9]; 12(4): 315-323. https://doi.org/10.1097/00001813-200104000-00003

65. Yurkovetskiy A, Fram R. XMT-1001, a novel polymeric camptothecin prodrug in clinical development

for patients with advanced cancer. Adv Drug Deliv Rev. [Internet] 2009 [consultado 2021 Jul 17]; 61(13): 1193-1202. DOI https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.01.007

66. Awada A, Garcia A, Chan S, Jerusalem G, Coleman R, Huizing M, et al. Two schedules of etirinotecan pegol (NKTR-102) in patients with previously treated metastatic breast cancer: a randomised phase 2 study. The Lancet Oncol. [Internet] 2013 [consultado 2021 Jul 17]; 14(12): 1216-1225. DOI https://doi.org/10.1016/s1470-2045(13)70429-7

67. Seymour L, Ferry D, Anderson D, Hesslewood S, Julyan P, Poyner R, et al. Hepatic drug targeting: phase I evaluation of polymer-bound doxorubicin. J Clin Oncol. [Internet] 2002 [consultado 2021 Jul 17]; 20(6): 1668- 1676. DOI https://doi.org/10.1200/jco.2002.20.6.1668

68. González-Mateo S, Cavia-Saiz M, García-Girón C, Muñiz P, Coma MJ. Antioxidantes naturales y quimioterapia antitumoral. Rev. Electron Biomed [Internet]. 2011 [consultado 2021 Abr 20]; (2): [aprox. 5 p.]. Disponible en: https://biomed.uninet.edu/2011/n2/gmateo.html

69. Llacuna L. Papel de los antioxidantes en la prevención del cáncer. [Internet]. 2012 [consultado 2020 Abril 2]. Disponible en: https://core.ac.uk/download/pdf/9636148.pdf

70. Biasutto L, Dong L, Zoratti M, Neuzil J. Mitochondrially targeted anticancer agents. Mitochondrion. [Internet] 2010 [consultado 2020 Abr 2]; 10(6): 670-681. DOI https://doi.org/10.1016/j.mito.2010.06.004

71. Neuzil J, Dong L, Rohlena J, Truksa J, Ralph S. Classification of mitocans, anti-cancer drugs acting on mitochondria. Mitochondrion. [Internet] 2013 [consultado 2021 Oct 15]; 13(3): 199-208. DOI https://doi.org/10.1016/j.mito.2012.07.112

72. Dong Y, Guo Y, Gu, X. Anticancer mechanisms of vitamin E succinate. Chinese J of Cancer. [Internet] 2009 [consultado 2021 Jul 2; 28(10): 1114-1118. DOI https://doi.org/10.5732/cjc.008.10182

73. Dong L, Swettenham E, Eliasson J, Wang X, Gold M, Medunic Y, et al. Vitamin E analogues inhibit angiogenesis by selective induction of apoptosis in proliferating endothelial cells: the role of oxidative stress. Cancer Res. [Internet] 2007 [consultado 2021 Mar 18]; 67(24): 11906-11913. DOI https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-3034

74. Dong L, Neuzil J. Mitochondria: The anti-cancer target for the third millennium. Springer. 2014.

75. Brigger I, Dubernet C, Couvreur P. Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. [serie en internet]. Adv Drug Deliv Rev. [Internet] 2012 [consultado 2021 Nov 15]; 64: 24-36, ISSN 0169-409X. DOI https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.006.

76. Neuzil J, Dyason J, Freeman R, Dong L, Prochazka L, Wang X, et al. Mitocans as anti-cancer agents targeting mitochondria: lessons from studies with vitamin E analogues, inhibitors of complex II. J Bioenergetics and Biomembranes. [Internet] 2007 [consultado 2021 Nov 23]; 39(1): 65-72. DOI https://doi.org/10.1007/s10863-006-9060-z

77. Duhem N, Danhier F, Préat V. Vitamin E-based nanomedicines for anti-cancer drug delivery. J Control Rel. [Internet] 2014 [consultado 2021 Nov 22]; 182: 33-44. DOI https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.03.009

78. Youk H, Lee E, Choi M, Lee Y, Chung J, Kim S, et al. Enhanced anticancer efficacy of □-tocopheryl succinate by conjugation with polyethylene glycol. J Control Rel. [Internet] 2005 [consultado 2021 Ene 15]; 107(1): 43-52. DOI https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2005.05.014

79. Dintaman J., Silverman J. Inhibition of P-glycoprotein by D-□-tocopheryl polyethylene glycol 1000

succinate (TPGS). Pharm Res. [Internet] 1999 [consultado 2021 Ene 14]; 16(10): 1550-1556. DOI https://doi.org/10.1023/a:1015000503629

80. Shieh M, Hsu C, Huang L, Chen H, Huang F, Lai P. Reversal of doxorubicin-resistance by multifunctional nanoparticles in MCF-7/ADR cells. J Control Rel. [Internet] 2011 [consultado 2021 Feb 15]; 152(3): 418-425.

81. Collnot E, Baldes C, Schaefer U, Edgar K, Wempe M, Lehr C. Vitamin E TPGS P-glycoprotein inhibition mechanism: influence on conformational flexibility, intracellular ATP levels, and role of time and site of access. Mol Pharm. [Internet] 2010 [consultado 2021 May 15]; 7(3): 642-651. DOI https://doi.org/10.1021/mp900191s

82. Bernabeu E, Chiappetta D. Vitamin E TPGS used as emulsifier in the preparation of nanoparticulate systems. J Bio Tissue Eng. [Internet] 2013 [consultado 2021 Sep 30]; 3(1): 122-134. DOI https://doi.org/10.1166/jbt.2013.1076

83. Sadoqi M, Lau C, Wu S. Investigation of the micellar properties of the tocopheryl polyethylene glycol succinate surfactants TPGS 400 and TPGS 1000 by steady state fluorometry. J Colloid and Interf Scie. [Internet] 2009 [consultado 2020 Mar 9]; 333(2): 585-589. DOI https://doi.org/10.1016/j.jcis.2009.01.048

84. Parmentier J, Hartmann F, Fricker G. In vitro evaluation of liposomes containing bio-enhancers for the oral delivery of macromolecules. Eu J Pharm Biopharm. [Internet] 2010 [consultado 2021 Ago 15]; 76(3): 394-403. DOI https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2010.09.002

85. Koudelka Š, Mašek J, Neuzil J, Turánek J. Lyophilised liposome□based formulations of □□tocopheryl succinate: Preparation and physico□chemical characterisation. J Pharm Sci. [Internet] 2010 [consultado 2021 Oct 9]; 99(5): 2434-2443. DOI https://doi.org/10.1002/jps.22002

86. Hama S, Utsumi S, Fukuda Y, Nakayama K, Okamura Y, Tsuchiya H, et al. Development of a novel drug delivery system consisting of an antitumor agent tocopheryl succinate. J Control Release. [Internet] 2012 [consultado 2021 Oct 16]; 161(3): 843-851. DOI https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.05.031

87. Cao N, Feng S. Doxorubicin conjugated to d-□-tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate (TPGS): Conjugation chemistry, characterization, in vitro and in vivo evaluation. Biomaterials. [Internet] 2008 [consultado 2021 Feb 27]; 29(28): 3856-3865. DOI https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.05.016

88. Anbharasi V, Cao N, Feng S. Doxorubicin conjugated to D□□□tocopheryl polyethylene glycol succinate and folic acid as a prodrug for targeted chemotherapy. J Biomed Mater Res A. [Internet] 2010 [consultado 2021 Feb 27]; 94(3): 730-743. DOI https://doi.org/10.1002/jbm.a.32734

89. Duhem N, Danhier F, Pourcelle V, Schumers J, Bertrand O, LeDuff C, et al. Selfassembling doxorubicin-tocopherol succinate prodrug as a new drug delivery system: synthesis, characterization, and in vitro and in vivo anticancer activity. Bioconjugate Chemistry. [Internet] 2013 [consultado 2021 Oct 10]; 25(1): 72-81. DOI https://doi.org/10.1021/bc400326y

90. Lee P, Feng S. Vitamin E TPGS-modified paclitaxel: synthesis, characterizations, in vitro activities. Cancer Res. [Internet] 2005 [consultado 2021 Ene 10]; 65(9): 337-337. Available in https://aacrjournals.org/cancerres/article/65/9_Supplement/337/519800/Vitamin-E-TPGS-modified-paclitaxel-synthesis

91. Mi Y, Zhao J, Feng S. Targeted co-delivery of docetaxel, cisplatin and herceptin by vitamin E TPGS-cisplatin prodrug nanoparticles for multimodality treatment of cancer. J Control Rel. [Internet] 2013 [consultado 2021 Ene 10]; 169(3): 185-192. DOI https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.01.035

92. Jérôme C, Lecomte P. Recent advances in the synthesis of aliphatic polyesters by ring-opening

polymerization. Adv Drug Deliv Rev. [Internet] 2008 [consultado 2021 Abr 15]; 60(9): 1056-1076. DOI https://doi.org/10.1016/j.addr.2008.02.008

93. Zhang Z, Feng S. Nanoparticles of poly (lactide)/vitamin E TPGS copolymer for cancer chemotherapy: synthesis, formulation, characterization and in vitro drug release. Biomaterials. [Internet] 2006 [consultado 2021 Abr 15]; 27(2): 262-270. DOI https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.05.104

94. Gan C, Feng S. Transferrin-conjugated nanoparticles of poly (lactide)-D□-tocopheryl polyethylene glycol succinate diblock copolymer for targeted drug delivery across the blood-brain barrier. Biomaterials. [Internet] 2010 [consultado 2021 May 9]; 31(30): 7748-7757. DOI https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.06.053

95. Zhang Z, Lee S, Gan C, Feng S. In vitro and in vivo investigation on PLA-TPGS nanoparticles for controlled and sustained small molecule chemotherapy. Pharm Res. [Internet] 2008 [consultado 2021 Ago 21]; 25(8): 1925-1935. DOI https://doi.org/10.1007/s11095-008-9611-6

96. Wee C, Chien S, Feng S. Nanomedicine: enhancement of chemotherapeutical efficacy of docetaxel by using a biodegradable nanoparticle formulation. Curr Pharm Des. [Internet] 2010 [consultado 2021 Ago 21]; 16(21): 2308-2320. DOI https://doi.org/10.2174/138161210791920487

97. Ma Y, Huang L, Song C, Zeng X, Liu G, Mei, L. Nanoparticle formulation of poly (□-caprolactone-co-lactide)-d-□-tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate random copolymer for cervical cancer treatment. Polymer. [Internet] 2010 [consultado 2021 Ago 21]; 51(25): 5952-5959. DOI https://doi.org/10.1016/j.polymer.2010.10.029

98. Sun B, Feng S. Trastuzumab-functionalized nanoparticles of biodegradable copolymers for targeted delivery of docetaxel. Nanomedicine. [Internet] 2009 [consultado 2021 Ago 15]; 4(4): 431-445. DOI https://doi.org/10.2217/nnm.09.17

99. Zhang Z, Lee S, Feng S. Folate-decorated poly (lactide-co-glycolide)- vitamin E TPGS nanoparticles for targeted drug delivery. Biomaterials. [Internet] 2007 [consultado 2021 Mar 17]; 28(10): 1889-1899. DOI https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.12.018

100. Muthu M, Leong D, Mei L, Feng S. Nanotheranostics: application and further development of nanomedicine strategies for advanced theranostics. Theranostics. [Internet] 2014 [consultado 2021 Mar 21]; 4(6): 660-677. DOI https://doi.org/10.7150/thno.8698

101. Janib S, Moses A, MacKay J. Imaging and drug delivery using theranostic nanoparticles. Adv Drug Deliv Rev. [Internet] 2010 [consultado 2021 Abr 15]; 62(11): 1052-1063. DOI https://doi.org/10.1016/j.addr.2010.08.004

102. Luk B, Zhang, L. Current Advances in Polymer-Based Nanotheranostics for Cancer Treatment and Diagnosis. ACS Appl Mater & Interfaces. [Internet] 2014 [consultado 2021 Abr 17]; 6(24): 21859-21873. DOI https://doi.org/10.1021/am5036225

103. Hong G, Zhou J, Yuan R. Folate-targeted polymeric micelles loaded with ultrasmall superparamagnetic iron oxide: Combined small size and high MRI sensitivity. Int J Nanomedicine. [Internet] 2012 [consultado 2021 Nov 15]; 7: 2863-2872. DOI https://doi.org/10.2147/ijn.s25739

104. Debele T, Peng S, Tsai H. Drug carrier for photodynamic cancer therapy. Int J Mol Sci. [Internet] 2015 [consultado 2021 Jul 22]; 16(9): 22094-22136. DOI https://dx.doi.org/10.3390%2Fijms160922094

105. Arvizo R, Bhattacharya R, Mukherjee P. Gold nanoparticles: opportunities and challenges in nanomedicine. Expert Opin on Drug Deliv. [Internet] 2010 [consultado 2021 Jul 10]; 7(6): 753-763. DOI https://dx.doi.org/10.1517%2F17425241003777010

107. Bakalova R, Ohba H, Zhelev Z, Ishikawa M, Baba Y. Quantum dots as photosensitizers? Nat Biotechnol. [Internet] 2004 [consultado 2021 Feb 15]; 22(11): 1360-1361. DOI https://doi.org/10.1038/nbt1104-1360

108. Singh S. Multifunctional magnetic quantum dots for cancer theranostics. J Biomed Nanotechnol. [Internet] 2011 [consultado 2020 Mar 7]; 7(1): 95-97. DOI https://doi.org/10.1166/jbn.2011.1219

109. Muthu M, Kulkarni S, Raju A, Feng S. Theranostic liposomes of TPGS coating for targeted co-delivery of docetaxel and quantum dots. Biomaterials. [Internet] 2012 [consultado 2021 Mar 19]; 33(12): 3494-3501. DOI https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.01.036

110. Pan J, Liu Y, Feng S. Multifunctional nanoparticles of biodegradable copolymer blend for cancer diagnosis and treatment. Nanomedicine. [Internet] 2010 [consultado 2020 Jun 3]; 5(3): 347-360. DOI https://doi.org/10.2217/nnm.10.13

111. Luo S, Zhang E, Su Y, Cheng T, Shi C. A review of NIR dyes in cancer targeting and imaging. Biomaterials. [Internet] 2011 [consultado 2021 Jun 9]; 32(29): 7127-7138. DOI https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.06.024

112. Song X, Chen Q, Liu Z. Recent advances in the development of organic photothermal nano-agents. Nano Research. [Internet] 2015 [consultado 2021 Jul 26]; 8(2): 340-354. DOI https://doi.org/10.1007/s12274-014-0620-y

113. Conceição D, Ferreira D, Ferreira L. Photochemistry and cytotoxicity evaluation of heptamethinecyanine near infrared (NIR) Dyes. Int J Mol Sci. [Internet] 2013 [consultado 2021 Ago 6]; 14(9): 18557-18571. DOI https://dx.doi.org/10.3390%2Fijms140918557

114. Zhang C, Liu T, Su Y, Luo S, Zhu Y, Tan X, et al. A near-infrared fluorescent heptamethine indocyanine dye with preferential tumor accumulation for in vivo imaging. Biomaterials. [Internet] 2010 [consultado 2021 Ago 6]; 31(25): 6612-6617. DOI https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.05.007

115. Bramley P, Elmadfa I, Kafatos A, Kelly F, Manios Y, Roxborough H, et al. Reviews-Vitamin E. J Sci Food Agr. [Internet] 2000 [consultado 2021 Ago 13]; 80(7): 913-938.

116. Brigelius R, Traber M. Vitamin E: function and metabolism. The FASEB J. [Internet] 1999 [consultado 2020 Jun 21]; 13(10): 1145-1155. Available in https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10385606/

117. Kramer K, Liebler D. UVB induced photooxidation of vitamin E. Chem Res Toxicol. 1997 [consultado 2021 Oct 25]; 10(2): 219-224. DOI https://doi.org/10.1021/tx960163u

118. Damiani E, Rosati L, Castagna R, Carloni P, Greci, L. Changes in ultraviolet absorbance and hence in protective efficacy against lipid peroxidation of organic sunscreens after UVA irradiation. J Photochem Photobio B: Biology [Internet] 2006 [consultado 2021 Oct 11]; 82(3): 204-213. DOI https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2005.03.011

119. Allwood M, Martin H. The photodegradation of vitamins A and E in parenteral nutrition mixtures during infusion. Clin Nutr. [Internet] 2000 [consultado 2019 Ago 30]; 19(5): 339-342. DOI https://doi.org/10.1054/clnu.2000.0109

120. Tiburcio J, Marcelín G, Leanos O, Yanez J, Alvarado J. Study of the Photodegradation process of vitamin E acetate by optical absorption, fluorescence, and thermal lens spectroscopy. Int J Thermophysics. [Internet] 2012 [consultado 2020 Feb 15]; 33(10-11): 2062-2068. DOI https://doi.org/10.1007/s10765-012-1311-0

121. Fygle K, Melo T. Optical absorption studies of the kinetics of UV-and self-initiated autoxidation of

linoleate micelles. Chem Physics of Lipids. [Internet] 1996 [consultado 2021 Ago 15]; 79(1): 39-46. DOI https://doi.org/10.1016/0009-3084(95)02505-7

122. Siefermann D. Carotenoids in photosynthesis. I. Location in photosynthetic membranes and light-harvesting function. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Rev Bioenerg. [Internet] 1985 [consultado 2021 Ene 15]; 811(4): 325-355. DOI https://doi.org/10.1016/0304-4173(85)90006-0

123. Baranska M, Schütze W, Schulz H. Determination of lycopene and □-carotene content in tomato fruits and related products: comparison of FT-Raman, ATR-IR, and NIR spectroscopy. Anal Chem. [Internet] 2006 [consultado 2020 Oct 23]; 78(24): 8456-8461. DOI https://doi.org/10.1021/ac061220j

124. Steinmetz KA, Potter JD. Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. J Am Diet Assoc. [Internet] 1996 [consultado 2020 Ago 15]; 96(10): 1027-1039. DOI https://doi.org/10.1016/s0002-8223(96)00273-8

125. Gaziano JM, Manson JE, Buring JE, Hennekens CH. Dietary antioxidants and cardiovascular disease. Ann New York Acad Sci. [Internet] 1992 [consultado 2020 Jul 18]; 669(1): 249-259. DOI https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1992.tb17104.x

126. Bonnie T, Choo Y. Valuable minor constituents of commercial red palm olein: carotenoids, vitamin E, ubiquinones and sterols. J Oil Palm Res. [Internet] 2000 [consultado 2020 Oct 25]; 12(1): 14-24. Available in https://eurekamag.com/research/003/608/003608115.php

127. Krisko A, Piantanida I, Kveder M, Pifat G. Analysis of □-carotene absorbance for studying structural properties of human plasma low-density lipoproteins. Anal Biochem. [Internet] 2004 [consultado 2020 Nov 23]; 331(1): 177-182. DOI https://doi.org/10.1016/j.ab.2004.03.048

128. Nielsen B, Mortensen A, Jørgensen K, Skibsted L. Singlet versus triplet reactivity in photodegradation of C40 carotenoids. J Agric Food Chem. [Internet] 1996 [consultado 2021 Ago 15]; 44(8): 2106-2113. DOI https://doi.org/10.1021/jf9508007

129. Bachilo S. □-carotene triplet state absorption in the near-IR range. J Photochem Photobio A: Chem. [Internet] 1995 [consultado 2021 Ago 13]; 91(2): 111-115. DOI https://doi.org/10.1016/1010-6030(95)04077-S

130. Cherry R, Chapman D, Langelaar J. Fluorescence and phosphorescence of □-carotene. Trans. Faraday Soc. [Internet] 1968 [consultado 2021 Ago 13]; 64: 2304-2307. DOI https://doi.org/10.1039/TF9686402304

131. Goel A, Kunnumakkara A, Aggarwal B. Curcumin as "Curecumin": from kitchen to clinic. Biochem Pharmacol. [Internet] 2008 [consultado 2021 Mar 15]; 75(4): 787-809. DOI https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.08.016

132. O'Sullivan-Coyne G, O'sullivan G, O'Donovan T, Piwocka K, McKenna S. Curcumin induces apoptosis-independent death in oesophageal cancer cells. Br J Cancer. [Internet] 2009 [consultado 2020 Oct 25]; 101(9): 1585-1595. DOI https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605308

133. García M, Borrelli L, Rozkalne A, Hyman B, Bacskai B. Curcumin labels amyloid pathology in vivo, disrupts existing plaques, and partially restores distorted neurites in an Alzheimer mouse model. J Neurochem. [Internet] 2007 [consultado 2020 Oct 25]; 102(4): 1095-1104. DOI https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.04613.x

134. Chignell C, Bilskj P, Reszka K, Motten A, Sik R, Dahl TA. Spectral and photochemical properties of curcumin. Photochem photobiol. [Internet] 1994 [consultado 2021 Sep 3]; 59(3): 295-302. DOI https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1994.tb05037.x

135. Barik A, Priyadarsini K. Solvent dependent photophysical properties of dimethoxy curcumin. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy [Internet] 2013 [consultado 2021 Jul 25]; 105: 267-272. DOI https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.12.036

136. Koon H, Leung A, Yue K, Mak, N. Photodynamic effect of curcumin on NPC/CNE2 cells. J Environ Pathol, Toxicol Oncol. [Internet] 2006 [consultado 2019 Ago 16]; 25(1-2): 205-215. DOI https://doi.org/10.1615/jenvironpatholtoxicoloncol.v25.i1-2.120

137. Lee J, Lee J, Kahng J, Kim S, Park J, Yoon S, et al. Human glioblastoma arises from subventricular zone cells with low-level driver mutations. Nature [Internet] 2018 [consultado 2021 Sep 11]; 560(7717): 243-247. DOI https://doi.org/10.1038/s41586-018-0389-3

138. Koronyo-Hamaoui M, Koronyo Y, Ljubimov A, Miller C, Ko M, Black K, et al. Identification of amyloid plaques in retinas from Alzheimer's patients and noninvasive in vivo optical imaging of retinal plaques in a mouse model. Neuroimage. [Internet] 2011 [consultado 2021 Ago 15]; 54: S204-S217. DOI https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2010.06.020

139. Adhikary R, Mukherjee P, Kee T, Petrich, J. Excited-state intramolecular hydrogen atom transfer and solvation dynamics of the medicinal pigment curcumin. J Phys Chem. B. [Internet] 2009 [consultado 2021 Sep 24]; 113(15): 5255-5261. DOI https://doi.org/10.1021/jp901234z

140. Yao J, Larson D, Vishwasrao H, Zipfel W, Webb W. Blinking and nonradiant dark fraction of water-soluble quantum dots in aqueous solution. Proceedings of the National Academy of Sciences. [Internet] 2005 [consultado 2021 Jul 5]; 102(40): 14284-14289. DOI https://doi.org/10.1073/pnas.0506523102

141. Denk W, Strickler J, Webb W. Two-photon laser scanning fluorescence microscopy. Science. [Internet] 1990 [consultado 2021 Oct 15]; 248(4951): 73-76. DOI https://doi.org/10.1126/science.2321027

142. Squirrell J, Wokosin D, White J, Bavister B. Long-term two-photon fluorescence imaging of mammalian embryos without compromising viability. Nat Biotechnol. [Internet] 1999 [consultado 2021 Nov 1]; 17(8): 763-767. DOI https://doi.org/10.1038/11698

143. Starkey J, Rebane A, Drobizhev M, Meng F, Gong A, Elliott A, et al. New two-photon activated photodynamic therapy sensitizers induce xenograft tumor regressions after near-IR laser treatment through the body of the host mouse. Clin Cancer Res [Internet], 2008 [consultado 2020 Feb 14]; 14(20): 6564-6573. DOI https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-07-4162

144. Parthenopoulos D & Rentzepis P. Three-dimensional optical storage memory. Science. [Internet] 1989 [consultado 2020 Feb 14]; 245(4920): 843-845. DOI https://doi.org/10.1126/science.245.4920.843

145. Perry J, Mansour K, Lee I, Wu X, Bedworth P, Chen C, et al. Organic optical limiter with a strong nonlinear absorptive response. Science. [Internet] 1996 [consultado 2020 Feb 15]; 273(5281): 1533-1536. DOI https://doi.org/10.1126/science.273.5281.1533

146. Kuebler S, Cumpston B, Ananthavel S, Barlow S, Ehrlich J, Erskine L, et al. Three-dimensional microfabrication using two-photon-activated chemistry. Micro-and Nano-photonic Materials and Devices. International Society for Optics and Photonics. [Internet] 2000 [consultado 2021 Ago 15]; 3937: 97-105. DOI https://doi.org/10.1117/12.382799

147. Hwang J, Wachsmann-Hogiu S, Ramanujan V, Nowatzyk A, Koronyo Y, Medina-Kauwe L, et al. Multimodal wide-field two-photon excitation imaging: characterization of the technique for in vivo applications. Biomed Opt Express. [Internet] 2011 [consultado 2021 Oct 18]; 2(2): 356-364. DOI https://doi.org/10.1364/boe.2.000356

148. Goeppert M. Double beta-disintegration. Phys Rev. [Internet] 1935 [consultado 2021 Nov 22]; 48(6):

512. DOI https://doi.org/10.1103/PhysRev.48.512

149. De Boni L, Wood E, Toro C, Hernandez F. Optical saturable absorption in gold nanoparticles. Plasmonics. [Internet] 2008 [consultado 2021 Nov 21]; 3(4): 171. DOI http://dx.doi.org/10.1007/s11468-008-9071-1

150. Mukerjee A, Sørensen T, Ranjan A, Raut S, Gryczynski I, Vishwanatha JK, et al. Spectroscopic properties of curcumin: orientation of transition moments. J Phys Chem B. [Internet] 2010 [consultado 2021 Oct 15]; 114(39): 12679-12684. DOI https://doi.org/10.1021/jp104075f

151. Wang X, Wang D, Zhou G, Yu W, Zhou Y, Fang Q, et al. Symmetric and asymmetric charge transfer process of two-photon absorbing chromophores: bis-donor substituted stilbenes, and substituted styrylquinolinium and styrylpyridinium derivatives. J Mater Chem. [Internet] 2001 [consultado 2021 Dic 10]; 11(6): 1600-1605. DOI http://dx.doi.org/10.1039/b009769l

152. Day P, Nguyen K, Pachter R. TDDFT study of one-and two-photon absorption properties: Donor□ π□ acceptor chromophores. J Phys Chem B. [Internet] 2005 [consultado 2021 Dic 10]; 109(5): 1803-1814. DOI https://doi.org/10.1021/jp0471i

153. Nascimento M. The polarization dependence of two-photon absorption rates for randomly oriented molecules. Chem Phys. [Internet] 1983 [consultado 2021 Nov 11]; 74(1): 51-66. DOI https://doi.org/10.1016/0301-0104(83)80007-X

154. Vivas M, Diaz C, Echevarria L, Mendonca C, Hernández F, De Boni L. Two-Photon Circular-Linear Dichroism of Perylene in Solution: A Theoretical-Experimental Study. J Phys Chem B. [Internet] 2013 [consultado 2021 Dic 15]; 117(9): 2742-2747. DOI https://doi.org/10.1021/jp311065n

155. Tiburcio J, Alvarado JJ, Diaz C, Echevarria L, Hernández F. Polarization dependent two-photon absorption spectroscopy on a naturally occurring biomarker (curcumin) in solution: A theoretical-experimental study. Chem Phys Lett. [Internet] 2013 [consultado 2021 Dic 15]; 583: 160-164. DOI https://doi.org/10.1016/j.cplett.2013.07.080



EDITORIAL
NAVEGANTE