

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL**

**Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas**



Tesina para optar por el título de Licenciada en  
Biotecnología

**DESARROLLO DE NANOPARTÍCULAS  
POLIMÉRICAS CON CORROLES  
FLUORESCENTES Y FOTOSENSIBILIZANTES**

Giorda, Valentina

Director: Dr. Neuman, Nicolás I.

Co-directora: Dra. Navarro, Lucila

Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria  
Química (INTEC – CONICET)

2026

# Tabla de contenido

|                                                                  |           |
|------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Abreviaturas y Símbolos .....</b>                             | <b>4</b>  |
| <b>Agradecimientos .....</b>                                     | <b>6</b>  |
| <b>Resumen .....</b>                                             | <b>7</b>  |
| <b>CAPÍTULO 1 .....</b>                                          | <b>8</b>  |
| <i>Introducción .....</i>                                        | <i>8</i>  |
| 1.1. Principios de la terapia fotodinámica .....                 | 9         |
| 1.2. Antecedentes de fotosensibilizadores.....                   | 12        |
| 1.3. Corroles como fotosensibilizadores .....                    | 14        |
| 1.4. Sistemas de vehiculización.....                             | 16        |
| <b>CAPÍTULO 2.....</b>                                           | <b>20</b> |
| <i>Objetivos .....</i>                                           | <i>20</i> |
| 2.1. Objetivos generales.....                                    | 21        |
| 2.2. Objetivos particulares .....                                | 21        |
| <b>CAPÍTULO 3.....</b>                                           | <b>22</b> |
| <i>Materiales y Métodos.....</i>                                 | <i>22</i> |
| 3.1. Síntesis de Nanopartículas por Nanoprecipitación.....       | 23        |
| 3.2. Caracterización de Nanopartículas .....                     | 24        |
| 3.2.1. Dispersión Dinámica de Luz .....                          | 24        |
| 3.2.2. Microscopía Electrónica de Barrido .....                  | 25        |
| 3.2.3. Espectroscopía de Energía Dispersiva .....                | 25        |
| 3.3. Espectroscopía UV/Visible.....                              | 25        |
| 3.4. Espectroscopía de Fluorescencia y Fotografías .....         | 26        |
| 3.4.1. Espectroscopía de Fluorescencia.....                      | 26        |
| 3.4.2. Seguimiento por Fotografía .....                          | 27        |
| 3.5. Determinación de la Estructura Cristalina de DPF2MCcor..... | 27        |
| 3.5.1. Cristalización .....                                      | 27        |

|                                     |                                                                                                  |           |
|-------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.5.2.                              | Determinación Cristalográfica .....                                                              | 28        |
| 3.6.                                | Liofilización de Nanopartículas .....                                                            | 28        |
| 3.7.                                | Ensayos <i>in vitro</i> de Producción de Oxígeno Singlete.....                                   | 28        |
| 3.7.1.                              | En solución orgánica (DMSO) .....                                                                | 29        |
| 3.7.2.                              | En nanopartículas de PLA 10-18 kDa.....                                                          | 30        |
| <b>CAPÍTULO 4</b>                   | .....                                                                                            | <b>31</b> |
| <i>Resultados y Discusión</i> ..... |                                                                                                  | 31        |
| 4.1.                                | Estructura Cristalina y Molecular de DPF2MCcor .....                                             | 32        |
| 4.2.                                | Caracterización de DPF2MCcor en solución orgánica .....                                          | 34        |
| 4.2.1.                              | Efecto de la concentración en los Espectros UV-Visible y de Fluorescencia .....                  | 34        |
| 4.2.2.                              | Efecto de la Deprotonación por Espectroscopía UV/Visible y de Fluorescencia .....                | 37        |
| 4.3.                                | Caracterización de Nanopartículas DPF2MCcor/PLA.....                                             | 41        |
| 4.3.1.                              | Determinación de la identidad por Espectroscopía UV/Visible.....                                 | 41        |
| 4.3.2.                              | Determinación de Tamaños mediante DLS .....                                                      | 42        |
| 4.3.3.                              | Liofilización de Nanopartículas .....                                                            | 45        |
| 4.3.4.                              | Análisis Morfológico mediante SEM.....                                                           | 46        |
| 4.3.5.                              | Análisis de Composición Elemental mediante EDS .....                                             | 47        |
| 4.3.6.                              | Evaluación de la Estabilidad de Fluorescencia mediante Fotografía...48                           |           |
| 4.3.6.1.                            | Nanopartículas DPF2MCcor/PLA 2 kDa .....                                                         | 49        |
| 4.3.6.2.                            | Nanopartículas DPF2MCcor/PLA 10-18 kDa .....                                                     | 50        |
| 4.3.7.                              | Efecto de la composición DPF/PLA estudiado mediante Espectroscopía de Fluorescencia .....        | 51        |
| 4.4.                                | Resumen del efecto de agregación del corrol en solución orgánica (THF) y en Nanopartículas ..... | 55        |
| 4.5.                                | Análisis de la Producción <i>in vitro</i> de Oxígeno Singlete .....                              | 57        |
| 4.5.1.                              | DPF2MCcor en solución orgánica (DMSO) .....                                                      | 57        |
| 4.5.2.                              | DPF2MCcor en Nanopartículas de PLA 10–18 kDa .....                                               | 58        |

|                                         |    |
|-----------------------------------------|----|
| <b>CAPÍTULO 5</b> .....                 | 61 |
| <i>Conclusiones</i> .....               | 61 |
| <b>CAPÍTULO 6</b> .....                 | 64 |
| <i>Referencias bibliográficas</i> ..... | 64 |
| <b>CAPÍTULO 7</b> .....                 | 70 |
| <i>Publicaciones y Congresos</i> .....  | 70 |
| 7.1. Congresos .....                    | 71 |
| 7.2. Publicaciones .....                | 71 |



# Abreviaturas y Símbolos

| Abreviatura     | Significado                                                         |
|-----------------|---------------------------------------------------------------------|
| $\tau$          | Constante de Tiempo                                                 |
| $\lambda_{em}$  | Longitud de onda de Emisión                                         |
| $\lambda_{exc}$ | Longitud de onda de Excitación                                      |
| $\Delta A$      | Cambio de Absorbancia                                               |
| $^1O_2$         | Oxígeno singlete                                                    |
| A               | Absorbancia                                                         |
| Ac              | Medio Acuoso                                                        |
| $D_h$           | Diámetro hidrodinámico                                              |
| DLS             | Dispersión Dinámica de Luz                                          |
| DMA             | 9,10 - dimetilantraceno                                             |
| DMSO            | Dimetilsulfóxido                                                    |
| DPF             | DPF2MCcor                                                           |
| DPF2MCcor       | 5,15-bis(2,3,4,5,6-pentafluorofenil)-10-(2-metilcarboxifenil)corrol |
| EDS             | Espectroscopía de Energía Dispersiva                                |
| EPR             | Efecto de Permeabilidad y Retención Mejoradas                       |
| $Et_3N$         | Trietilamina                                                        |
| EY              | Eosina Y                                                            |
| $\epsilon$      | Coeficiente de Absorción Molar                                      |
| FLA             | Fluoresceína amina I                                                |
| FS              | Fotosensibilizante                                                  |
| IPD             | Índice de Polidispersidad                                           |
| $K_{dim}$       | Constante de Dimerización                                           |
| NPs             | Nanopartículas                                                      |

|                 |                                    |
|-----------------|------------------------------------|
| PLA             | Ácido poliláctico                  |
| PLGA            | Poli(ácido láctico-co-glicólico)   |
| ROS             | Especies Reactivas de Oxígeno      |
| SD              | Desviación estándar                |
| SDS             | Dodecilsulfato de sodio            |
| SEM             | Microscopía Electrónica de Barrido |
| TFD             | Terapia Fotodinámica               |
| THF             | Tetrahidrofurano                   |
| ZnTPP           | Tetrafenilporfirina de Zinc (II)   |
| $\Phi_{\Delta}$ | Rendimiento cuántico               |

# Agradecimientos

---

Gracias a la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral por abrirme las puertas y darme el lugar para completar la carrera de grado. A todos los profesores y profesoras por brindarme excelencia académica a lo largo de estos años.

A INTEC y a mis directores, Nicolás y Lucila, por darme la confianza desde el primer momento para ser parte de esta investigación, por las herramientas, dedicación y orientación que dieron lugar a la Tesina. Gracias por acompañarme en mi desarrollo educativo y humano.

A SECEGRIN por el uso del SEM, a Agustina Schenone por el uso del Fluorímetro y a Carina Gaviglio por la difracción de rayos X del corrol. A Alcides Nicastro, de Lipomize, por proveernos del polímero PLA, y al grupo de polímeros por el uso del DLS.

Este trabajo se lo dedico especialmente a mi papá, por el apoyo incansable y sin límites, por su esfuerzo para que esta sea mi única ocupación. A mi mamá y a Paola por seguirme incondicionalmente en este camino, por cada espera y cada cariño a distancia. A mi novio Santiago, quien supo contenerme, y a mis amigos Anabela, Sofía, Franco y Bautista por el acompañamiento y apoyo del día a día. A mis hermanos Santino, Juliana y Luisana y a toda mi familia por entender mis ausencias. A Mandy, mi gata y compañera de días y noches.

Gracias por cada gesto, cada palabra. Sola era imposible.

¡Gracias!

# Resumen

---

La terapia fotodinámica (TFD) es una técnica de tratamiento de determinados tipos de cáncer e infecciones, basada en el uso de fotosensibilizadores que, activados por luz de determinada longitud de onda, son capaces de producir especies reactivas de oxígeno. Estas especies, entre las que se cuenta el oxígeno singlete ( $^1\text{O}_2$ ), generan citotoxicidad celular. La transparencia de los tejidos animales es máxima dentro de la denominada ventana terapéutica (600-1300 nm), por lo que es deseable encontrar fotosensibilizadores efectivos que absorban luz en este rango. Los compuestos porfirínicos, entre los que se incluyen los corroles, han demostrado elevada eficiencia en estudios fotodinámicos *in vivo* e *in vitro* debido a que poseen una buena absorción de luz en la región del rojo e infrarrojo cercano. Los corroles son compuestos tetrapirrólicos similares a las porfirinas, que presentan intensa absorción en el espectro visible, fluorescencia roja, y demostrada capacidad de fotosensibilización de  $\text{O}_2$ . Sin embargo, la mayoría de estos compuestos son hidrofóbicos y poseen baja o nula solubilidad en agua, lo que limita sus aplicaciones terapéuticas. Para desarrollar futuras aplicaciones de corroles en terapia fotodinámica es necesario vehiculizarlos adecuadamente, por ejemplo, introduciéndolos en nanopartículas poliméricas biocompatibles.

El presente trabajo reporta un estudio exhaustivo del corrol 5,15-bis(2,3,4,5,6-pentafluorofenil)-10-(2-metilcarboxifenil)corrol (DPF2MCcor), como fotosensibilizador alternativo para TFD, y de nanopartículas poliméricas de ácido poliláctico, (PLA) conteniendo dicho corrol en distintas proporciones. El corrol fue caracterizado por métodos estructurales (difracción de rayos X) y espectroscópicos (espectroscopía UV/Visible y fluorescencia). Las nanopartículas fueron caracterizadas por técnicas morfológicas, estructurales (dispersión dinámica de luz, microscopía electrónica) y espectroscópicas. Fue posible verificar la producción de  $^1\text{O}_2$  bajo iluminación con luz roja (630 nm) *in vitro*, tanto para el corrol en solución con solvente orgánico, como en suspensión acuosa dentro de nanopartículas. En conjunto, los resultados obtenidos posicionan a los sistemas nanoparticulados corrol/PLA como plataformas promisorias para futuras aplicaciones en terapia fotodinámica.

**Palabras clave:** Corrol, Fluorescencia, Nanopartículas.

# CAPÍTULO 1

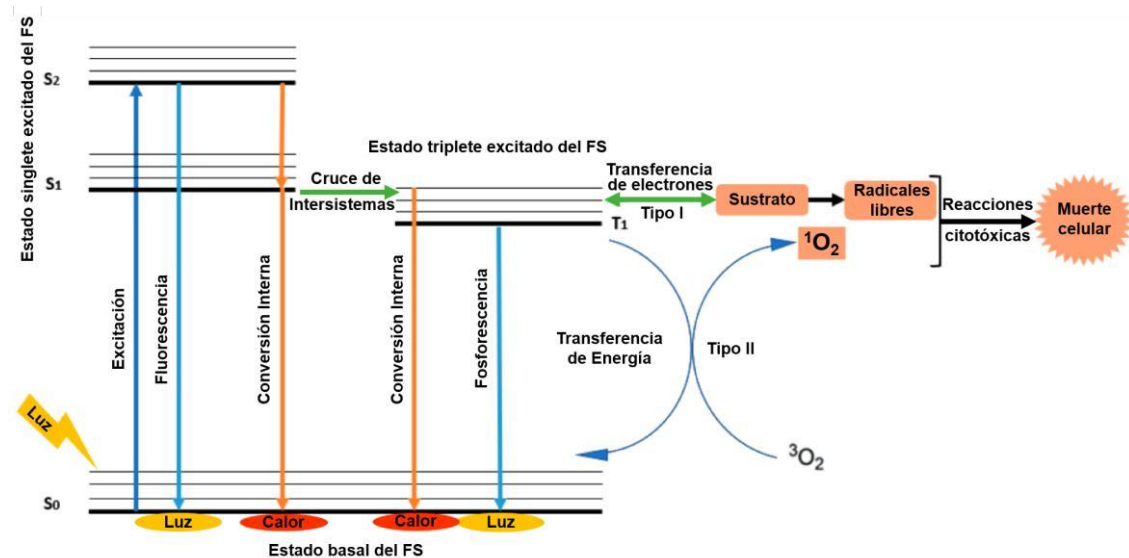
---

## *Introducción*

### 1.1. Principios de la terapia fotodinámica

La terapia fotodinámica (TFD) es una técnica moderna y en continuo desarrollo para el diagnóstico y tratamiento de una amplia gama de cánceres y enfermedades no oncológicas. A comienzos del año 2026, se registraron 775 estudios relacionados con la terapia fotodinámica, que incluyen estudios observacionales y ensayos clínicos en distintas fases, que abarcan áreas de oncología, dermatología, oftalmología, odontología e infecciones (ClinicalTrials.gov, 2026).

La TFD se basa en la acción combinada de tres elementos principales: un fotosensibilizador (FS), una fuente de luz apropiada y saturación de oxígeno molecular. En la Figura 1 se esquematiza el comportamiento fotoquímico (diagrama de Jablonski) de un fotosensibilizador. Bajo una irradiación de luz de longitud de onda que se encuentre dentro del espectro de absorción del FS, el mismo se promueve desde su estado fundamental ( $FS_0$ ) al estado excitado singlete ( $^1FS^*$ ), estado altamente inestable y de tiempo de vida corto, que puede regresar al estado fundamental emitiendo fluorescencia o disipando la energía en forma de calor. Alternativamente, el  $^1FS^*$  puede pasar a un estado excitado más estable, el estado triplete ( $^3FS^*$ ), lo que se denomina cruce de intersistemas. En estas condiciones, puede disiparse energía por fosforescencia, o se puede dar lugar a la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Existen dos tipos de procesos fotosensibilizadores. El tipo I tiene lugar tras la transferencia de electrones entre el  $^3FS^*$  y el oxígeno molecular y/o biomoléculas presentes en los tejidos para generar radicales libres, como anión superóxido ( $O_2^-$ ), radical hidroxilo ( $^*OH$ ) y peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ). Por otro lado, las reacciones de tipo II, implican la transferencia de energía desde  $^3FS^*$  hacia el oxígeno en su estado basal triplete ( $^3O_2$ ) para generar oxígeno singlete ( $^1O_2$ ) (Hua y col., 2025).



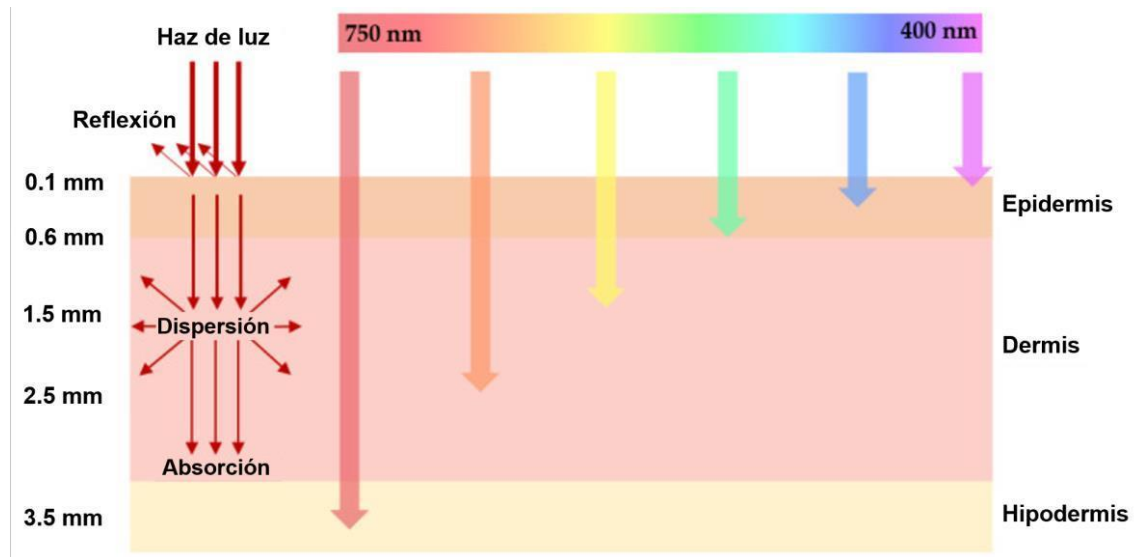
**Figura 1.** Diagrama de Jablonski del comportamiento fotoquímico de un fotosensibilizador y la producción de especies reactivas de oxígeno. Adaptado de Niculescu y col., 2021.

Los compuestos generados en las reacciones de tipo I y II son oxidantes altamente efectivos, especialmente el  $^1O_2$ . Esta ROS es de pequeño tamaño, capaz de generar estrés oxidativo en las células una vez que difunde en los sistemas biológicos, provocar la ruptura de membrana celular, mitocondrias, retículo endoplasmático y, finalmente, muerte celular mediante apoptosis, necrosis o autofagia (Gunaydin y col., 2021). El oxígeno singlete es de existencia muy corta, con una vida media que oscila típicamente entre  $10^{-9}$  y  $10^{-6}$  segundos, dependiendo del entorno biológico o el solvente en el que se encuentre. Esto garantiza que el daño provocado sea local, ya que limita su difusión en el organismo (Cui y col., 2024).

Una de las principales ventajas de la TFD es la destrucción de tejidos selectiva. Por un lado, las células tumorales o alteradas tienen mayor capacidad de captación y concentración de las moléculas de fotosensibilizante debido a su vascularización aumentada y mayor permeabilidad de los vasos sanguíneos. Por otro lado, el FS permanece inactivo y no es tóxico mientras no sea excitado, lo que permite enfocar el tratamiento en tiempo y zona deseada, y reduce el riesgo de daño de los tejidos sanos (Allamyradov y col., 2024).

La principal limitación de la TFD radica en la escasa penetración de luz en los tejidos, lo que restringe su aplicación a tumores relativamente superficiales o poco profundos, ya que la luz no puede penetrar más allá de la hipodermis con la longitud de onda de menor energía. En la Figura 2, se representa el grado de penetración que alcanza la luz en el tejido cutáneo en función a su longitud de onda. Además, la administración

sistémica de esta forma de terapia se dificulta en sentido a que los FS generalmente se agregan fácilmente y provocan fotosensibilidad prolongada a la luz, principalmente en los primeros tratamientos aprobados que involucraban FS de difícil eliminación. Una tercera desventaja extrínseca a la terapia se centra en la hipoxia generada por la proliferación excesiva de células cancerosas y al suministro ineficiente de sangre a los tumores, lo que reduce enormemente la eficacia, ya que la acción de los fotosensibilizantes depende estrictamente del oxígeno (Rodrigues & Correia, 2022).



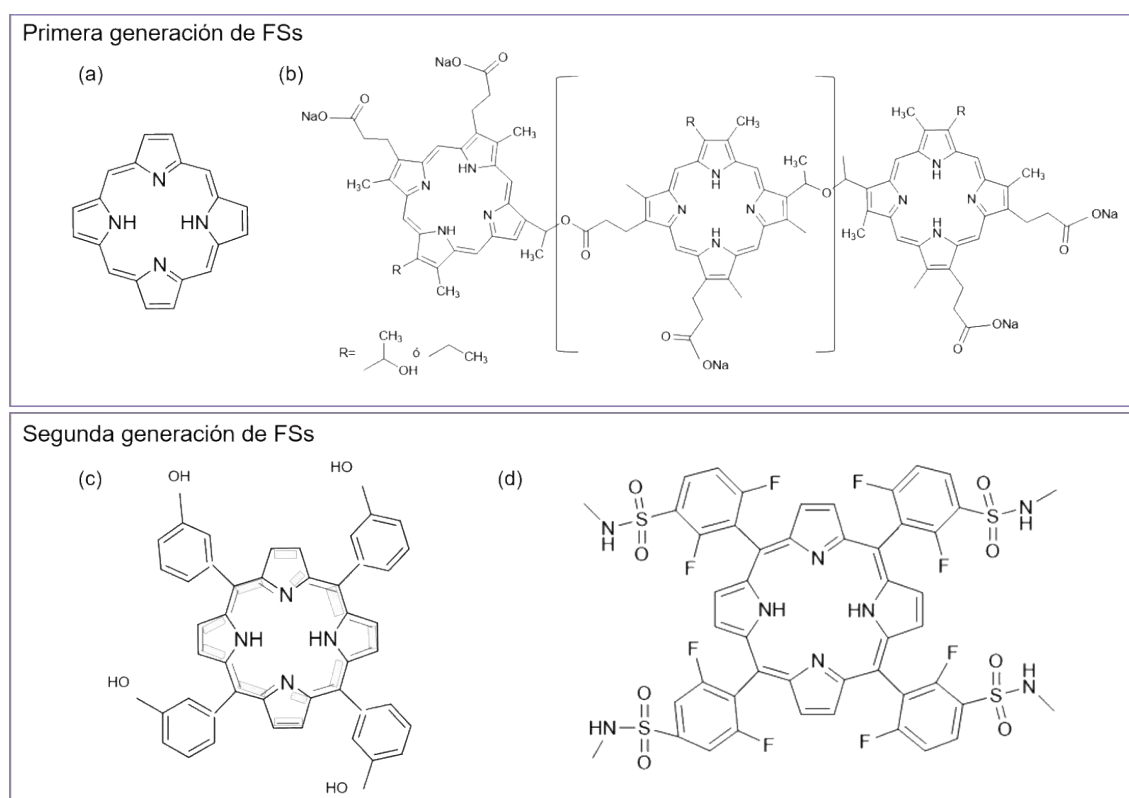
**Figura 2.** Representación esquemática de la penetración de la luz en el tejido biológico (epidermis, dermis y capa subcutánea), dependiente de la longitud de onda. Adaptado de Rodrigues & Correia 2022.

La absorción de luz por los tejidos animales está determinada por la presencia de pigmentos porfirínicos naturales (grupos hemo y citocromos). La hemoglobina es la proteína de la sangre más importante en términos cuantitativos en absorber luz, y lo hace tanto en la región violeta como en la región roja, alrededor de longitudes de 600 nm, por lo que los tejidos deben iluminarse con longitudes de onda superiores para garantizar una buena penetración tisular. La denominada ventana terapéutica se sitúa entre 600 y 1300 nm, aunque el rango útil para la TFD es de 620 a 850 nm, ya que por encima de esos valores la energía de los fotones no es suficiente para activar al oxígeno. En este contexto, las aplicaciones clínicas de la terapia fotodinámica se concentran principalmente en cáncer de piel, aunque también incluyen pulmón, esófago, vejiga, cabeza y cuello, además de su uso como terapia antimicrobiana (Gunaydin y col., 2021).



## 1.2. Antecedentes de fotosensibilizadores

Las propiedades intrínsecas de los fotosensibilizadores determinan gran parte de la eficacia terapéutica. Un FS ideal debe ser químicamente puro, de composición uniforme y presentar un alto rendimiento fotodinámico, es decir, alto rendimiento de generación de ROS. Además, debe absorber luz dentro del rango de 620 a 850 nm, con especial relevancia en longitudes de onda superiores a 700 nm. Asimismo, debe ser inocuo en ausencia de luz, acumularse selectivamente en el tejido diana, ser estable en solución y de eliminación fácil del organismo (Aebisher y col., 2024). En particular, sus características estructurales influyen significativamente en el accionar de la terapia. Los fotosensibilizantes naturales y sintéticos conocidos se pueden clasificar en tres generaciones. En la Figura 3 se presenta como ejemplo las estructuras químicas de fotosensibilizantes de la primera y segunda generación, comercialmente disponibles en la actualidad (Allamyradov y col., 2024).



**Figura 3.** Estructuras químicas de fotosensibilizadores de primera y segunda generación. (a) Porphirina, (b) Porfímero Sódico, (c) Temoporfin y (d) Redaporfin.

Las estructuras tetrapirrólicas aromáticas son especialmente adecuadas. Los FS de primera generación consisten en porfirinas naturales y sus derivados, entre los que destacan el Derivado de Hematoporfirina (HpD) y, posteriormente, su versión purificada Porfímero Sódico (Photofrin®, Figura 3 - b). Este último es una mezcla compleja de

oligómeros que presenta absorción a longitud de onda máxima de 632 nm con intensidad de absorción baja ( $\epsilon_{\text{máx}}$  3000 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>). Para que un fotosensibilizador sea efectivo, además de absorber luz, debe ser capaz de transferir esa energía para generar un efecto terapéutico. Esta eficiencia se mide a través del rendimiento cuántico ( $\Phi_{\Delta}$ ), el cual se define como la relación entre el número de eventos específicos que ocurren y el número total de fotones absorbidos por el sistema. Específicamente, el rendimiento cuántico de oxígeno singlete representa cuantas moléculas de <sup>1</sup>O<sub>2</sub> que se producen por fotón absorbido por un fotosensibilizador. De los fotosensibilizadores aprobados para TFD, el Porfímero Sódico es el que ofrece el mayor rendimiento cuántico de oxígeno singlete ( $\Phi_{\Delta} = 0,89$ ), empleándose para el tratamiento de cáncer de esófago, pulmón, bronquios y vejiga (Cui y col., 2024). El trabajo de Allamyradov y colaboradores en 2024 menciona que, si bien estos compuestos mostraron eficacia y una amplia aplicación, presentan limitaciones significativas, como su baja pureza química, activación que se logra eficientemente utilizando longitudes de onda inferiores a las ideales y una prolongada vida media que provoca hipersensibilidad cutánea a la luz durante varias semanas.

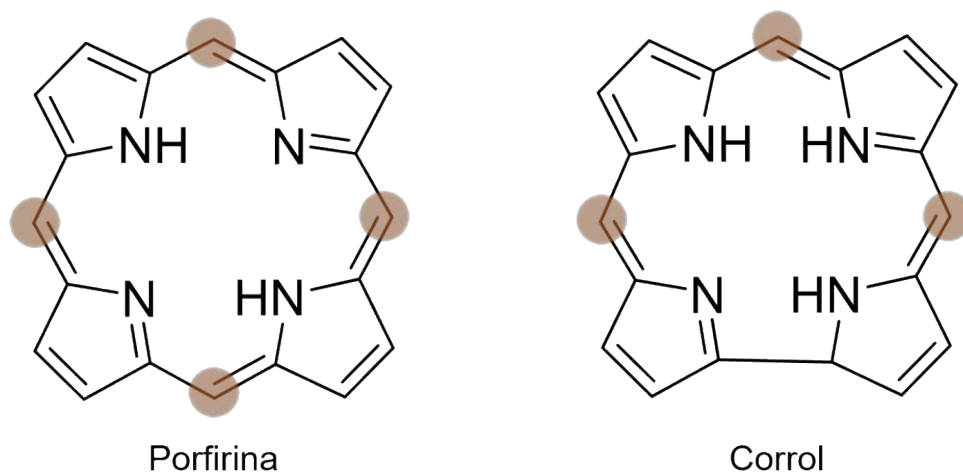
Los fotosensibilizantes de segunda generación son derivados de clorinas y ftalocianinas, que se caracterizan por ser compuestos sintéticos puros, de eliminación más rápida del organismo y con una mayor absorción de luz roja que los de primera generación y, por tanto, una mejor penetración en los tejidos. Sin embargo, al igual que sucede en los FSs de primera generación, su principal desventaja reside en la baja o nula solubilidad en agua. Ejemplos representativos son Temoporfin (Foscan®, Figura 3 - c) y Redaporfin (Figura 3 – d), los cuales presentan absorción a 652 nm y 749 nm respectivamente. Actualmente, se utilizan para el tratamiento de cáncer de cuello, cabeza y vías biliares (Allamyradov y col., 2024).

Por último, el desarrollo de los FS de tercera generación se centra en la síntesis de estructuras que buscan mejorar la selectividad por los tejidos diana y la estabilidad e hidrofiliidad de los compuestos fotosensibilizantes. Suelen estar compuestos por un FS de segunda generación conjugado a moléculas biológicas, encapsulado en nanopartículas (NPs) biodegradables/biocompatibles o aplicado en estrategias inmunotecnológicas. Si bien se han logrado avances importantes en la última década, los FS de tercera generación aún se encuentran en desarrollo (Allamyradov y col., 2024).

### 1.3. Corroles como fotosensibilizadores

Los corroles son macrociclos porfirinoides formados por cuatro unidades de pirrol unidas por tres puentes metino y caracterizados por la presencia de un enlace pirrol-pirrol directo. Los corroles tienen propiedades químicas, redox y espectroscópicas interesantes que les confieren múltiples aplicaciones, entre ellas, una intensa fluorescencia roja con rendimientos cuánticos moderados y capacidad fotosensibilizadora en la generación de oxígeno singlete.

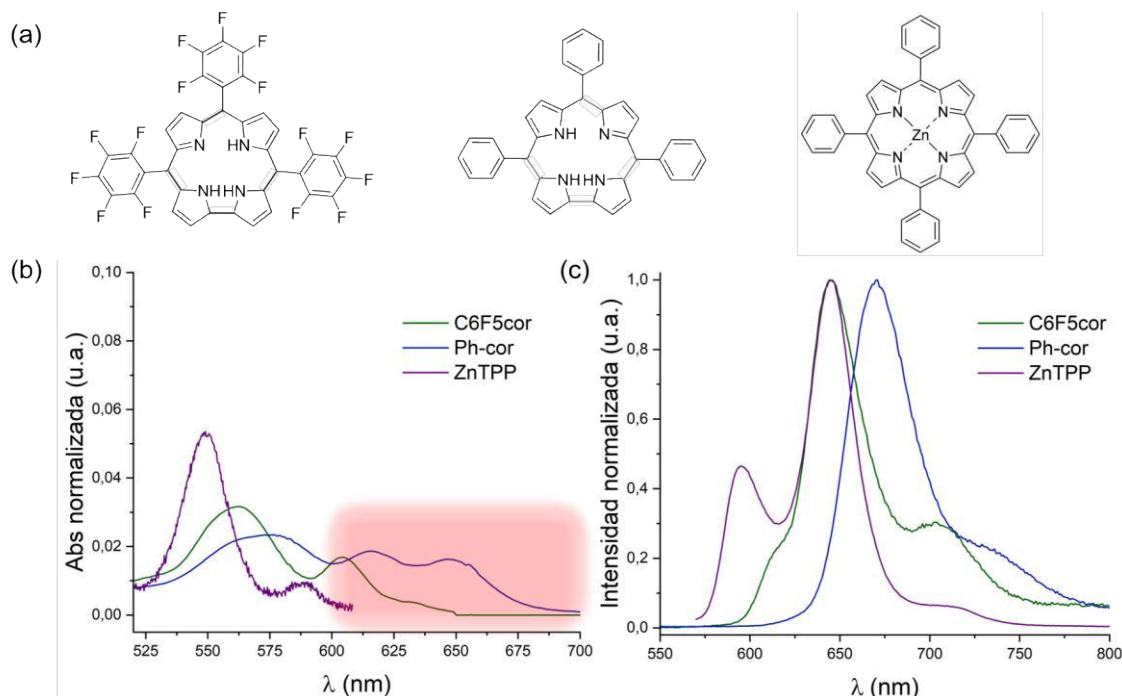
La presencia de tres puentes metino y un enlace pirrol-pirrol confiere a los corroles de menor simetría, cavidad central más contraída y un tamaño aproximadamente 10% menor en comparación con las porfirinas (Figura 4). Ambos contienen 18 electrones  $\pi$  pero, a diferencia de las porfirinas, los corroles tienen tres protones internos NH dentro de la cavidad, por lo que actúan como ligandos trianiónicos tetradentados frente a los iones metálicos y estabilizan estados de valencia más altos. Además, el efecto de los sustituyentes en las propiedades ópticas de los corroles es significativamente mayor que en las porfirinas normales, lo que da lugar a diversas diferencias espectrales al cambiar estos sustituyentes (Zhan y col., 2023). Esto impacta en su eficiencia fotodinámica y reactividad redox y los convierte en un punto de gran interés para su estudio en catálisis, sensores químicos, materiales ópticos y fármacos antitumorales (Jiang y col., 2019).



**Figura 4.** Cavidad tetrapirrólica de la porfirina (izquierda) y del corrol (derecha), cada uno con las posiciones meso resaltadas.

Los corroles presentan bandas típicas de tipo Soret con  $\lambda_{\text{max}}$  alrededor de 420 nm y bandas Q que se encuentran desplazadas hacia el rojo (entre 530 - 700 nm) en comparación con las porfirinas de primera generación (Figura 5), por lo que presentan

mayor absorción a menores energías de luz. Sin embargo, son marcadamente menos estables que las porfirinas ya que son fácilmente oxidables; por esta razón los corroles más estudiados poseen grupos fuertemente atractores de densidad electrónica, como los que se ejemplifican en la Figura 5.



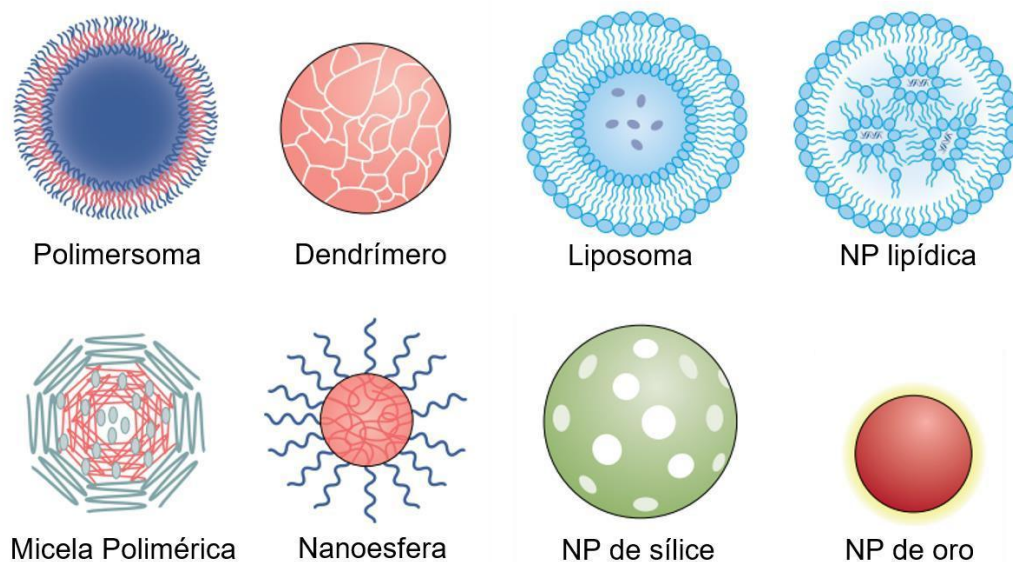
**Figura 5.** (a) Estructuras moleculares de los corroles C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>cor (5,10,15-Tris(pentafluorofenil)corrol, ID PhotochemCAD: R02), Ph-cor (5,10,15-Trifenilcorrol, ID PhotochemCAD: R01) y de Tetrafenilporfirina de Zinc (II) (ZnTPP, ID PhotochemCAD: Q10). (b) Espectro UV/Visible normalizado por máximo de absorción de las bandas Q de los corroles (en diclorometano) y la porfirina (en tolueno). (c) Espectros de emisión de fluorescencia normalizados. Los datos para (b) y (c) fueron obtenidos en PhotochemCAD.

Numerosos estudios preliminares han demostrado que los corroles pueden destruir eficazmente las células cancerosas en terapia fotodinámica. El estudio de Lemon en 2020 detalla que los corroles de base libre (no metalados) pueden exhibir rendimientos cuánticos ( $\phi_{\Delta}$ ) considerablemente altos para la generación de  $^1\text{O}_2$  (0,46 - 0,99), dependiendo de la naturaleza de los sustituyentes meso. En general, los corroles con sustituyentes pentafluorofenilo (C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>, Figura 5 - a) tienen un  $\phi_{\Delta}$  más alto en comparación al resto de los grupos (>70), reflejando una mayor estabilidad ante la fotooxidación. Además de presentar alto rendimiento de generación de ROS de tipo II ( $^1\text{O}_2$ ), los corroles también son eficientes en su generación mediante la vía tipo I debido a su elevada reactividad en comparación con las porfirinas convencionales. Esto permite mantener la generación de especies reactivas de oxígeno en condiciones de hipoxia, útil para tratamientos de tumores profundos (Lemon 2020).

En su estado monomérico, estos complejos son altamente luminiscentes y se consideran prometedores como agentes fotosensibilizantes. Recientemente se ha reportado que los corroles son capaces de agruparse para formar nanopartículas (NPs) en suspensión acuosa. Sin embargo, debido a sus características altamente hidrofóbicas, estas NPs carecen de fluorescencia por un fuerte efecto de *quenching* (o extinción) (Oppenheim y col., 2019). Para poder emplearlos en medios biológicos es necesario introducirlos en algún tipo de sistema de distribución y liberación que permita lograr una administración dirigida y selectiva en el tejido diana.

#### 1.4. Sistemas de vehiculización

Los avances en nanotecnología han tenido un impacto significativo en la industria farmacéutica, especialmente el uso de NPs para transportar y liberar (vehicular) drogas. Las NPs pueden clasificarse, según su composición, en: poliméricas, inorgánicas, lipídicas e híbridas (combinación de composiciones) (Figura 6), en las que el principio activo se disuelve en la partícula, queda atrapado y/o adsorbido o unido a la superficie (Ciftci y col., 2025). Las NPs poliméricas resultan muy atractivas por su capacidad de ser diseñadas químicamente para poseer tamaños y propiedades específicas y proteger a los fotosensibilizantes, superando sus problemas de solubilidad y tendencia a agregarse (Conte y col., 2016).



**Figura 6.** Representación esquemática de nanoestructuras utilizadas para el diagnóstico y tratamiento mediante TFD. Adaptado de Mitchell y col., 2021.

Los primeros ejemplos de FS conjugados a NPs surgen en 1990 por Brasseur y colaboradores (1991), en donde se buscó la adsorción de hematoporfirina en

nanopartículas de polialquilcianoacrilato. Sin embargo, los resultados no fueron prometedores, ya que indicaron una escasa capacidad de transporte y una liberación demasiado rápida del fármaco. Un año después, se reporta por el mismo autor la encapsulación de ftalocianina de zinc tetrasulfonada (ZnPcS4) dentro de nanocápsulas compuestas de poli(isobutilcianoacrilato), presentando un 100% de eficiencia de encapsulación.

Para su aplicación en terapia fotodinámica, estos transportadores tienen que cumplir con el requisito de ser biodegradables, tener inmunogenicidad mínima, suficiente capacidad de carga, e incorporar al fotosensibilizante sin pérdida o alteración a su actividad. La encapsulación debe proporcionar un entorno donde las moléculas de FS se encuentren separadas, es decir, reduciendo la agregación, lo que puede disminuir el rendimiento cuántico de producción de oxígeno singlete. Además, resulta esencial que permita una correcta transferencia de energía desde el fotosensibilizante hacia el oxígeno molecular para la generación del  $^1\text{O}_2$  y este, una vez generado, pueda difundir desde dentro hacia afuera de la nanopartícula (Singh y col., 2024).

Según estudios realizados por Vagena y colaboradores en 2025, los nanotransportadores ideales para aplicaciones en TFD presentan un tamaño estratégico con rango entre 10 y 100 nm para la administración de los fotosensibilizantes. Este tamaño permite a las nanopartículas evadir la rápida eliminación sistémica y filtración renal a la vez que favorece su acumulación por los tejidos tumorales mediante el efecto de permeabilidad y retención aumentada (EPR). El EPR es un fenómeno fisiopatológico en el cual la red vascular de los tumores sólidos se encuentra inmadura y altamente porosa, que, junto con un drenaje linfático defectuoso, produce acumulación local y retención prolongada de estas NPs que transportan al bioactivo (Al-Jamal y col., 2025).

Existe una multitud de tipos de NPs poliméricas, con polímeros biodegradables y no-degradables. Algunos de los polímeros biodegradables más empleados en aplicaciones farmacológicas son el poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) y ácido poliláctico (PLA). Las propiedades pueden ajustarse modificando el peso molecular y las proporciones (en caso de tratarse de un copolímero) para controlar la velocidad de liberación del fármaco o la biodegradabilidad de la nanopartícula. Por sus propiedades, el PLGA ofrece una liberación rápida del fármaco, mientras que los sistemas combinados PLGA/PLA crean una barrera física mucho más rígida y resistente a la degradación. Esta arquitectura logra una liberación altamente controlada, retardada y sostenida (Koza y col., 2025).

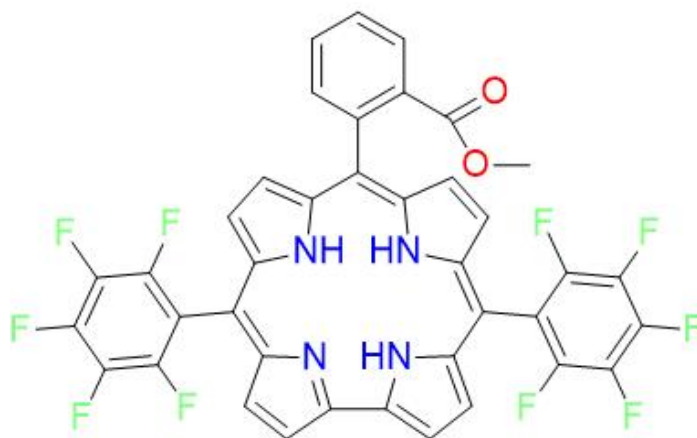
Por su lado, el PLA ofrece nanopartículas que se degradan lentamente por su naturaleza hidrofóbica en un período que va desde algunos días hasta varios meses, dependiendo principalmente de su peso molecular y cristalinidad. El PLA altamente cristalino y de alto peso molecular puede persistir en el cuerpo durante meses o más, mientras que el PLA amorfo puede degradarse completamente en semanas. Las NPs basadas en PLA liberan el compuesto activo en el sitio diana mediante hidrólisis y el ácido láctico generado a partir de la degradación de PLA se elimina fácilmente del cuerpo, lo que minimiza la toxicidad (Kim y col., 2025). La hidrofobicidad del PLA permite incorporar fotosensibilizadores como los corroles de manera no covalente, ya que estos no tienen tendencia intrínseca a difundir hacia el agua.

Para obtener nanopartículas de PLA con corroles, una de las técnicas más sencillas es la nanoprecipitación, en la cual se mezclan los componentes orgánicos en un solvente orgánico miscible con agua, y se dosifica esta solución a un recipiente con agua bajo agitación vigorosa, lo que genera microgotas. La difusión del solvente orgánico a la fase acuosa causa la precipitación de los componentes (polímero y corrol) que se encontraban originalmente en la solución orgánica. La nanoprecipitación es una técnica versátil y de bajo consumo energético para obtener NPs de tamaño controlado. Las propiedades finales de las NPs obtenidas van a depender de varios factores, particularmente de la naturaleza y cantidad de fotosensibilizante, el polímero utilizado (peso molecular e hidrofobicidad) y la identidad del solvente orgánico. También va a depender de las variables de preparación, como las proporciones finales de las fases, concentración del polímero, tasa de goteo y evaporación. En cuanto a los solventes, aquellos que presentan una mayor afinidad por el agua, como el dimetilsulfóxido (DMSO) o la acetona, promueven una difusión más eficiente del disolvente en fase acuosa, lo que a su vez condiciona la formación de partículas más pequeñas. En contraste, solventes más pobres, como el tetrahidrofurano (THF), provocan una menor solvatación del polímero, lo que lleva a un colapso más rápido y, consecuentemente, NPs más grandes por agregación (Beck-Broichsitter & Couvreur 2015).

En síntesis, buscamos estudiar las propiedades de nanopartículas poliméricas conteniendo corroles fotosensibilizantes, como una primera aproximación al desarrollo de sistemas que puedan ser empleados en terapia fotodinámica. En nuestro grupo se viene trabajando hace varios años con corroles y metalocorroles con sustituyentes metilésterfenilo, nitrofenilo y pentafluorofenilo. Entre todos los corroles sintetizados, se había observado que los que contienen grupos pentafluorofenilo eran los más estables y con fluorescencia más intensa. Teniendo en cuenta la experiencia previa, en este



trabajo de Tesina se decidió utilizar el corrol (5,15-bis(2,3,4,5,6-pentafluorofenil)-10-(2-metilcarboxifenil)corrol (DPF2MCcor, Figura 7) de peso molecular de 764,58 g/mol, inicialmente preparado por Orłowski y colaboradores (2017), para preparar nanopartículas poliméricas fluorescentes y fotosensibilizantes.



**Figura 7.** Estructura química del 5,15-bis(2,3,4,5,6-pentafluorofenil)-10-(2-metilcarboxifenil)corrol.

Este trabajo hace hincapié en el estudio de las propiedades espectroscópicas, morfológicas y fotoquímicas del DPF2MCcor, y en la exploración de su capacidad de producir  $O_2$  singlete bajo irradiación lumínica con luz en la ventana fototerapéutica.



## CAPÍTULO 2

---

### *Objetivos*

### 2.1. Objetivos generales

El objetivo general del presente trabajo de Tesina es desarrollar nanopartículas poliméricas con corroles fluorescentes y fotosensibilizantes, con potencial uso en terapia fotodinámica. Para esto, buscamos comprender las propiedades fisicoquímicas, espectroscópicas y fotoquímicas del corrol DPF2MCcor en solución y, principalmente, en el interior de nanopartículas poliméricas de ácido poliláctico, entender los factores que afectan estas propiedades y optimizar su morfología, fluorescencia, estabilidad en el tiempo y producción de oxígeno singlete.

### 2.2. Objetivos particulares

Para lograr los objetivos generales, los particulares se componen de:

- Sintetizar y optimizar la preparación por nanoprecipitación de nanopartículas poliméricas con PLA y corrol fluorescente, estudiando el efecto del uso de diferentes solventes, concentraciones y proporciones corrol/PLA y pesos moleculares del mismo.
- Estudiar la estabilidad y fluorescencia mediante fluorometría y fotografía entre las nanopartículas obtenidas por las distintas condiciones.
- Caracterizar el corrol en solución y las nanopartículas obtenidas de corrol y PLA, por espectroscopía UV/Visible, espectrofluorometría, dispersión dinámica de luz (DLS) y microscopía electrónica.
- Estudiar *in vitro* la producción de oxígeno singlete, realizando ensayos fotodinámicos bajo irradiación con luz roja de las nanopartículas en suspensión y del corrol en solvente orgánico, utilizando como sonda específica de  $^1\text{O}_2$  el 9,10-dimetilantraceno (DMA).

## CAPÍTULO 3

---

### *Materiales y Métodos*

Como se mencionó en la Introducción, el corrol utilizado para las caracterizaciones en solución y nanopartículas fue el 5,15-bis(2,3,4,5,6-pentafluorofenil)-10-(2-metilcarboxifenil)corrol, el cual a lo largo del trabajo se lo abrevia como DPF2MCcor o DPF, (Figura 7) previamente reportado por Orłowski y colaboradores (2017), y sintetizado, purificado y caracterizado por el director de Tesina. La pureza del compuesto se verificó por espectroscopía de RMN y UV/Visible. Los resultados experimentales de los espectros de UV/Visible, Fluorescencia o DLS recolectados durante este trabajo, se procesaron con el programa Origin 2024. Las figuras y esquemas representativos se generaron en los programas PowerPoint y ChemDraw.

### 3.1. Síntesis de Nanopartículas por Nanoprecipitación

Las nanopartículas de corrol puro (100% DPF2MCcor), de ácido poliláctico (0% DPF) con peso molecular de 2 kDa o 10-18 kDa, así como de corrol/PLA, se obtuvieron por la técnica de nanoprecipitación (Kuddushi y col., 2025). Para esto se prepararon soluciones de corrol, PLA o mezclas, en concentraciones en rangos de 0,0419 mg/mL hasta 2,1675 mg/mL de corrol y entre 5,5093 y 1,0769 mg/mL de PLA, utilizando solventes orgánicos como tetrahidrofurano (THF) o dimetilsulfóxido (DMSO). La mezcla orgánica (0,2 mL) se agregó por goteo manual con micropipeta a soluciones acuosas (1 mL) de dodecil sulfato de sodio (SDS) 0,2 M, bajo agitación vigorosa a aproximadamente 650 rpm. Esto da lugar a formación de nanopartículas de manera espontánea obteniendo concentraciones finales en rangos de 1,0000 mg/mL hasta 0,0022 mg/mL de corrol y 0,5743 hasta 0,1026 mg/mL de PLA. En su mayoría, se buscó mantener relativamente constante la masa de polímero en todos los puntos y utilizar como variable la masa de corrol. Las cantidades exactas y el solvente orgánico empleado es especificado en la descripción de cada experimento. A modo de ejemplo, las concentraciones de los componentes y la proporción de volúmenes de fase orgánica y acuosa empleados en la preparación de nanopartículas para mediciones de Fluorescencia y Dispersión Dinámica de Luz, se detallan en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Concentraciones de corrol y PLA en solvente orgánico (THF) y para un volumen final de 2 mL de SDS 0,2 M y 0,2 mL de THF (10:1) (Ac). Las soluciones orgánicas se prepararon mezclando una solución de DPF2MCcor (1,5 mg/mL en THF) y una de PLA (4 mg/mL en THF) en distintas relaciones. Además, se especifican las relaciones en masa DPF/PLA porcentual para cada punto.

| Punto | DPF <sup>THF</sup> (mg/mL) | PLA <sup>THF</sup> (mg/mL) | DPF <sup>Ac</sup> (mg/mL) | PLA <sup>Ac</sup> (mg/mL) | %   |
|-------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|-----|
| 1     | 1,0000                     | -                          | 0,1667                    | -                         | 100 |
| 2     | 0,4615                     | 1,0769                     | 0,0769                    | 0,1795                    | 30  |
| 3     | 0,1441                     | 1,0546                     | 0,0240                    | 0,1758                    | 12  |
| 4     | 0,0687                     | 1,0687                     | 0,0115                    | 0,1781                    | 6   |
| 5     | 0,0208                     | 1,0226                     | 0,0035                    | 0,1704                    | 2   |
| 6     | 0,0105                     | 1,0298                     | 0,0017                    | 0,1716                    | 1   |
| 7     | 0,0055                     | 1,0332                     | 0,0009                    | 0,1722                    | 0,5 |

La síntesis se realizó a temperatura ambiente (24-28°C), bajo protección de la luz para evitar la fotodegradación del corrol, pero en atmósfera de aire. En los casos en los que se utilizó THF, las suspensiones de NPs se mantuvieron bajo agitación posterior a la síntesis para facilitar la evaporación del solvente orgánico hasta volumen constante. En cambio, para los casos en los que se haya empleado DMSO, el solvente orgánico no se removió de la suspensión. Las NPs se mantuvieron en la oscuridad a temperatura ambiente para su rápida utilización o almacenadas en suspensión a 4°C en caso de requerir tiempos más prolongados antes de su aplicación. Sin pasos posteriores, estas suspensiones se caracterizaron por diversas técnicas.

### 3.2. Caracterización de Nanopartículas

#### 3.2.1. Dispersión Dinámica de Luz

Se determinó la distribución de tamaños, los diámetros hidrodinámicos ( $D_h$ ) y el índice de polidispersidad (IPD) de la serie de nanopartículas obtenidas según la Tabla 1, mediante Dispersión Dinámica de Luz (DLS), utilizando el equipo Litesizer 500 (Anton Paar). Además, se analizaron los correspondientes controles de NPs 100% DPF2MCcor y 100% PLA (2 kDa y 10-18 kDa). Las muestras se diluyeron con agua ultrapura (MilliQ) hasta obtener un porcentaje de transmitancia de 80%. Se utilizó un ángulo de detección de 90° y la medición se realizó a 25°C. Para cada muestra, el equipo realiza tres mediciones repetidas de DLS consecutivas, lo cual se utilizó para obtener parámetros

estadísticos que permitieron calcular las desviaciones estándar (SD) de los  $D_h$  e IPD de cada variante dentro de una misma muestra.

### 3.2.2. Microscopía Electrónica de Barrido

Se analizaron morfológicamente NPs 100% DPF2MCcor, 100% PLA 10-18 kDa y 2,9% DPF/PLA 10-18 kDa mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) utilizando el modelo FIB Carl Zeiss Crossbeam 350 (SECEGRIN). Las NPs se liofilizaron previamente y el producto liofilizado se resuspendió en agua ultrapura. Luego se sonicó durante unos minutos en baño de ultrasonido, y posteriormente se centrifugó por 15 minutos a 24000 rpm y el pellet se resuspendió nuevamente con el fin de eliminar el surfactante que puede interferir con la visualización de las NPs. Las muestras se depositaron luego sobre el soporte de análisis SEM y visualizadas a 2 kV. Este análisis resultó particularmente útil para evaluar la homogeneidad estructural, la presencia de agregados, defectos o porosidad, y para validar los resultados obtenidos por DLS.

### 3.2.3. Espectroscopía de Energía Dispersiva

El análisis elemental se realizó mediante espectroscopía de energía dispersiva (EDS) de equipo acoplado al SEM (FIB Carl Zeiss Crossbeam 350). El análisis se aplicó sobre las regiones de las imágenes SEM de NPs 2,9% DPF/PLA 10-18 kDa de mejor perfil y definición morfológica para determinar la composición química de estas nanopartículas.

## 3.3. Espectroscopía UV/Visible

Las mediciones de espectroscopía UV/Visible se realizaron con un espectrofotómetro Shimadzu UV-2401 PC, con lámparas de deuterio y halógeno, empleando una cubeta de cuarzo de 10 mm de paso óptico. El registro para cada experimento fue realizado en un rango de 200 a 1000 nm a una velocidad de barrido media. Se realizaron blancos previos de solvente orgánico (THF o DMSO, según corresponda) para las mediciones de corrol disuelto, y de SDS 0,2 M para las suspensiones de NPs.

Esta técnica se empleó para determinar si el DPF2MCcor permanece en su estado neutro, si se deprotona, o si se oxida para producir un radical corrol, analizando principalmente los cambios en las bandas Soret (400 - 450 nm) y Q (500 - 700 nm). Además, se empleó para determinar y comparar la identidad entre NPs 100% DPF2MCcor y NPs 1,1% DPF/PLA 10-18 kDa y en relación al corrol disuelto en THF.

### 3.4. Espectroscopía de Fluorescencia y Fotografías

#### 3.4.1. Espectroscopía de Fluorescencia

Todas las mediciones se realizaron utilizando un fluorímetro PerkinElmer LS 55 equipado con el software FL WINLAB. Se utilizó una cubeta de fluorescencia de cuarzo de paso óptico de 10 mm en la dirección de excitación y 2 mm en la dirección de emisión. Para la excitación se utilizó un rango de 350 - 625 nm y para la emisión un rango de 500 - 800 nm. Se utilizaron anchos de rendija de 10 nm, y el voltaje del fotomultiplicador se ajustó a 700 V.

Primeramente, esta técnica se utilizó para determinar el grado de agregación del corrol en solvente orgánico en función a su concentración en THF. Tras realizar un blanco de solvente puro, se adicionaron a la cubeta alícuotas graduales de corrol proveniente de una solución madre de concentración inicial de 0,15 mg/mL (196  $\mu$ M) de DPF2MCor. Se registraron los espectros de emisión ( $\lambda_{em}$  = 656 nm) y excitación ( $\lambda_{exc}$  = 414 nm) en un rango de concentraciones de 0,0003 mg/mL (0,39  $\mu$ M) hasta 0,0189 mg/mL (25  $\mu$ M) de corrol.

Además, se determinó el rendimiento cuántico de la fluorescencia del corrol en solvente orgánico ( $\Phi_{DPF}$ , relación de fotones emitidos por fotón absorbido) por el método relativo (Würth y col., 2013), integrando la banda fluorescente del espectro de emisión, determinando la absorbancia a la longitud de onda de excitación, y comparando estos valores con los del estándar Tetrafenilporfirina de Zinc (II) (ZnTPP) según la fórmula:

$$\Phi_{DPF} = \Phi_{ZnTPP} * \frac{I_{DPF}}{I_{ZnTPP}} * \frac{A_{ZnTPP}}{A_{DPF}}$$

Donde  $\Phi$  es el rendimiento cuántico,  $I$  son las intensidades integradas de emisión y  $A$  son las absorbancias en la longitud de onda de excitación, la cual es obtenida mediante la ley de Beer ( $A = cb\varepsilon$ ).

Por último, mediante esta técnica se analizaron las nanopartículas sintetizadas con PLA de 2 kDa y 10-18 kDa siguiendo las concentraciones de la Tabla 1. Inicialmente se realizó un blanco de SDS 0,2 M y para las mediciones se realizaron diluciones con agua ultrapura de 1/9 para los puntos 1 y 2, 1/5 para los puntos 3 y 5 y de 3/11 para los puntos 5, 6 y 7 (puntos especificados en Tabla 1). Para el registro de las poblaciones monoméricas, se obtuvieron los espectros de excitación con  $\lambda_{exc}$  = 425 nm para todas las NPs y de emisión con  $\lambda_{em}$  = 665 nm para la serie de NPs sintetizadas con PLA 2 kDa

y  $\lambda_{em} = 650$  nm para las de PLA 10-18 kDa. Para registrar la respuesta de las poblaciones de corrol dimérico sobre las NPs sintetizadas con PLA 10-18 kDa, se utilizó  $\lambda_{exc} = 458$  nm para los puntos 1, 2, 3, 6 y 7,  $\lambda_{exc} = 485$  nm para los puntos 4 y 5 y  $\lambda_{em} = 625$  nm para toda la serie. Las longitudes de onda se eligieron de acuerdo a los máximos de los espectros de excitación y emisión en cada medición.

### 3.4.2. Seguimiento por Fotografía

Para un seguimiento cualitativo, se realizó un registro fotográfico de la intensidad de fluorescencia de nanopartículas en diferentes relaciones DPF/PLA 2 kDa y 10-18 kDa bajo luz ultravioleta de 365 nm. Para el PLA 10-18 kDa, la síntesis se realizó siguiendo las concentraciones de la Tabla 1. Por otro lado, para el PLA 2 kDa se evaluó una misma cantidad de puntos con porcentajes de relación en masa DPF/PLA 2 kDa similares a las utilizadas para el polímero de mayor peso molecular, pero con concentraciones finales para el DPF2MCcor en SDS 0,2 M entre 0,0834 y 0,0022 mg/mL y para el polímero en concentraciones variantes entre 0,2119 y 0,1026 mg/mL. En cada registro se incluyó como control de referencia de máximo de fluorescencia un vial del corrol disuelto en el mismo solvente que se utilizó para la síntesis (THF en ambos casos) de concentración 0,1167 mg/mL.

Las suspensiones se mantuvieron a temperatura ambiente y protegidas de la luz durante 1 día en el caso de las NPs sintetizadas con PLA 2 kDa y 36 días para las de PLA 10-18 kDa. Durante este tiempo se monitoreó la presencia de agregados, cambios en el color y se realizó la toma de fotografías, siempre desde una misma distancia, ángulo y con una misma cámara y operador.

## 3.5. Determinación de la Estructura Cristalina de DPF2MCcor

### 3.5.1. Cristalización

El corrol DPF2MCcor se disolvió en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  en un vial de vidrio con tapa, dando lugar a una solución muy concentrada, sobre la cual se vertió cuidadosamente *n*-hexano, en un volumen dos a tres veces mayor que el de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . El vial se cerró y se guardó en la heladera. Al cabo de unos días aparecieron cristales con forma de aguja y color violeta oscuro. Estos se lavaron con hexano, y se guardaron en un tubo Eppendorf sumergidos en hexano, para su envío a la Dra. Carina Gaviglio (CNEA, Buenos Aires). Estos cristales resultaron no difractar lo suficiente para poder determinar su estructura por difracción de rayos X, por lo que la Dra. Gaviglio repitió el mismo procedimiento,



pero utilizando *n*-pentano en lugar de *n*-hexano, resultando en cristales de la misma morfología, y con calidad adecuada para su determinación cristalográfica.

### 3.5.2. Determinación Cristalográfica

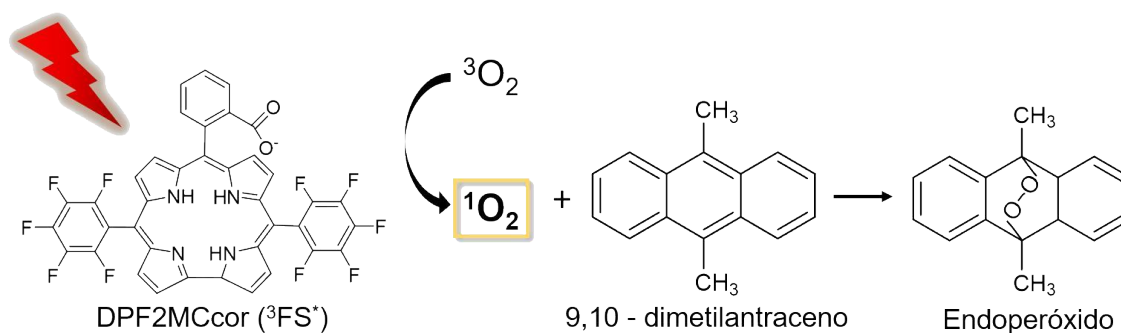
Se realizaron mediciones de difracción de rayos X de monocristal empleando el difractómetro Bruker del Departamento de Física de la Materia Condensada de la GlyA, CNEA, Buenos Aires. El modelo del equipo es el D8 Quest ECO equipado con una fuente de Mo K $\alpha$  ( $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$ ), monocromador de grafito y detector PHOTON 50 TM CMOS. La medición se realizó a 80 K utilizando el dispositivo Oxford Cryosystems Cryostream 800. El procesamiento de los datos se llevó a cabo con el software Apex3 y se aplicaron correcciones multi-scan. Se emplearon métodos directos SHELXT en la resolución y refinamiento de la estructura. Los ajustes por mínimos cuadrados basados en F2 se realizaron con SHELXL utilizando el software Olex2 1.5. Se utilizó el software Mercury para la visualización de la estructura y la selección de figuras.

### 3.6. Liofilización de Nanopartículas

El proceso de liofilización se aplicó a nanopartículas de formulación 100% DPF2MCcor, 100% PLA 10-18 kDa y 2,9% DPF/PLA 10-18 kDa. El producto liofilizado se resuspendió en agua ultrapura hasta alcanzar un volumen aproximado al original. Se realizó un análisis macroscópico de la suspensión para detectar la presencia de agregados y/o diferencias en el color y, para el caso de las NPs 2,9% DPF/PLA, se verificó si permanecía su fluorescencia original bajo luz ultravioleta (365 nm). Los resultados fueron registrados mediante fotografías. Además, estas tres variantes de NPs se caracterizaron por SEM (sección 3.2.2).

### 3.7. Ensayos *in vitro* de Producción de Oxígeno Singlete

La generación de oxígeno singlete por efecto del DPF2MCcor se evaluó de manera cualitativa y semicuantitativa en tiempo real empleando 9,10-dimetilantraceno (DMA) como sonda específica. El DMA es una molécula aromática que presenta absorción en la región violeta - azul del espectro electromagnético (300 - 420 nm). Sin embargo, al interaccionar selectivamente con el oxígeno singlete, el DMA se transforma en un endoperóxido estable de 9,10-dimetilantraceno, el cual carece de absorción (Figura 8). Esta propiedad permite utilizar la disminución de la absorbancia del DMA como un indicador directo de la generación de  $^1\text{O}_2$  (Gross y col., 1993).



**Figura 8.** Esquema del fenómeno molecular que da lugar a la generación de oxígeno singlete y el producto de su interacción con la sonda específica.

La disminución de la absorbancia del DMA se monitoreó mediante espectroscopía UV/Visible al someter, a las muestras saturadas de aire, a irradiación de luz de longitudes de onda dentro del espectro del rojo utilizando luces LED de 630 nm, durante tiempos controlados. Se colocaron los viales que contenían a las suspensiones a una distancia de aproximadamente 5 cm del LED rojo. Independientemente se determinó que la intensidad de luz de estos LEDs, a la distancia a la que se colocaron los viales, es aproximadamente de  $(40 \pm 10)$  mW/cm<sup>2</sup>. Los ensayos se realizaron tanto en solución orgánica DMSO como en nanopartículas poliméricas. Las muestras se protegieron cuidadosamente de la exposición a la luz blanca durante todo el procedimiento para evitar absorción de luz inespecífica y resultados erróneos por efecto de fotodegradación. Finalmente, se determinó la constante de tiempo ( $\tau$ ) del DMA tanto en DMSO como en agua, del DPF2MCcor y del estándar ZnTPP.

### 3.7.1. En solución orgánica (DMSO)

Se evaluaron tres sistemas experimentales, cada uno preparado en idénticas condiciones y saturados de aire. En todos los casos, se utilizó una concentración de sustrato DMA de 0,1468 mg/mL (712  $\mu$ M) y de fotosensibilizante (corrol y estándar) de 0,0183 mg/mL (24 u 26  $\mu$ M respectivamente). El primer sistema consistió en un control de DMA en ausencia de fotosensibilizante. El segundo, de una solución de DMA y DPF2MCcor en relación molar 8:1 respectivamente y, por último, un sistema referencia compuesto por DMA y Eosina Y, también en relación 8:1. Cada sistema se irradió por un periodo total de 8 minutos, dividido en intervalos separados por 1 minuto en oscuridad, con el fin de evitar el calentamiento excesivo de las muestras y una consecuente degradación térmica. Antes de la medición se realizó un blanco con DMSO y las muestras se diluyeron con el mismo solvente hasta alcanzar una densidad óptica adecuada.

La determinación de la constante de tiempo ( $\tau$ ) se realizó por ajuste exponencial en Origin 2024 de  $\Delta A_{\text{DMA}} = A_{379} - A_{367}$  obtenidos a partir del espectro de absorbancia y normalizado dividiendo por el valor a tiempo cero ( $\Delta A_{\text{DMA}}^0$ ).

### 3.7.2. En nanopartículas de PLA 10-18 kDa

En nanopartículas el estudio se realizó sobre cuatro sistemas, todos preparadas en las mismas condiciones, con PLA 10-18 kDa y saturadas de aire; el control, conformado por NPs 2% DMA/PLA (0,0932 mg/mL) en ausencia de fotosensibilizante. Otro sistema fue compuesto por NPs 1,6% DPF/PLA (0,0070 mg/mL de corrol) con DMA adicionado en la mezcla de THF antes del goteo en agua en relación DMA:DPF de 13:1. Como sistemas estándar, se sintetizaron NPs 1,7% FS/PLA, donde FS corresponde a ZnTPP (estándar positivo) y Fluoresceína amina I (FLA, estándar negativo), ambos en relación DMA:FS de 8:1 (0,0115 mg/mL de fotosensibilizante). Las NPs de corrol y DMA se irradiaron con luz roja por 30 minutos, aplicando intervalos progresivos de 2 minutos en tiempos iniciales, 4 minutos para las mediciones intermedias y 6 minutos hacia el final. En cambio, para los estándares, el análisis fue de 18 minutos totales.

La determinación de  $\tau$  se realizó de la misma manera que para el DMA en solvente orgánico, utilizando diferentes máximos de absorción:  $\Delta A_{\text{DMA}} = A_{400} - A_{385}$  normalizado por  $\Delta A_{\text{DMA}}^0$ . El análisis también se realizó para los fotosensibilizantes DPF2MCcor y ZnTPP, debido a un posible efecto de autosensibilización. En este caso, el decaimiento exponencial se calculó tanto para el corrol como para la porfirina a partir de las trazas de  $\Delta A_{\text{FS}} = A_{425} - A_{470}$ , igualmente normalizado por su valor a tiempo cero ( $\Delta A_{\text{FS}}^0$ ).

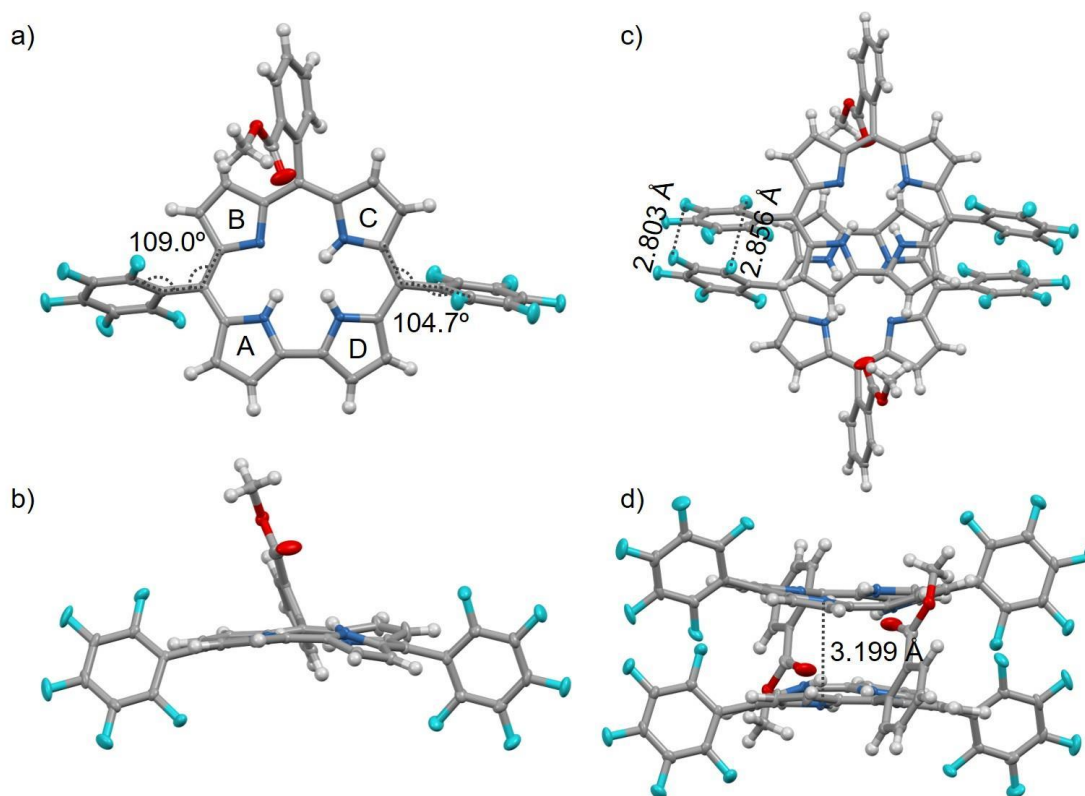
## CAPÍTULO 4

---

### *Resultados y Discusión*

#### 4.1. Estructura Cristalina y Molecular de DPF2MCcor

La estructura cristalina de DPF2MCcor se determinó por difracción de rayos X (DRX) de monocristal, a partir de monocristales obtenidos por evaporación lenta de una solución del corrol en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  con *n*-pentano. Los parámetros cristalográficos se resumen en la Tabla 2 y en la Figura 9 se muestran visualizaciones de la estructura molecular y el empaquetamiento molecular en el cristal.



**Figura 9.** Vista superior (a) y frontal (b) de la estructura molecular de DPF2MCcor, y vista superior (c) y frontal (d) de un dímero de DPF2MCcor, provenientes de la estructura cristalina. Se indican algunas distancias N-N y F-F, ángulos dihedros y la denominación de los anillos pirrólicos.

La estructura cristalina de DPF2MCcor muestra un empaquetamiento producido por interacciones no-covalentes, de tipo  $\pi$ -stacking, entre unidades discretas del corrol. El empaquetamiento se basa en dímeros de corroles en una conformación anti y eclipsada, con una distancia mínima entre los anillos centrales de 3,199 Å, que se da entre los átomos de N de los anillos pirrólicos A y D. Estos dímeros se encuentran además estabilizados por interacciones F-F entre los grupos *meso*-pentafluorofenilo, con distancias de 2,803 Å y 2,856 Å, y por puentes de H débiles entre el carbonilo de un grupo *meso*-2-metilcarboximetilo de un corrol y un átomo de H del anillo pirrólico A del otro corrol. Estos dímeros se empaquetan mediante interacciones  $\pi$ -stacking de sus

grupos *meso*-arilo con otros dímeros, pero no se mantiene el apilamiento entre los núcleos tetrapirrólicos.

**Tabla 2.** Datos cristalográficos de DPF2MCcor

| Aspecto             | Violeta, bloque 0,30 x 0,20 x 0,10 mm <sup>3</sup>                                                                                                                        |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Fórmula química     | C <sub>39</sub> H <sub>18</sub> F <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>                                                                                             |
| Peso Molecular      | 764,58                                                                                                                                                                    |
| Grupo Espacial      | Monoclínico C 1 2/c 1                                                                                                                                                     |
| Parámetros de Celda | $a = 29,416(3) \text{ \AA}$<br>$b = 11,1735(10) \text{ \AA}$<br>$c = 21,7743(19) \text{ \AA}$<br>$\alpha = 90^\circ$<br>$\beta = 112,184(3)^\circ$<br>$\gamma = 90^\circ$ |
| Volumen de Celda    | 6627,1(10) Å <sup>3</sup>                                                                                                                                                 |
| Densidad            | 1,533 g/cm <sup>3</sup>                                                                                                                                                   |

En la molécula de corrol, el anillo tetrapirrólico se encuentra distorsionado por la repulsión estérica de los átomos de H de la cavidad central, con el anillo D formando un ángulo de ~22° con el plano conformado por los anillos A, B y C. Los grupos meso-pentafluorofenilo se encuentran aproximadamente perpendiculares al anillo tetrapirrólico, con ángulos dihedros C( $\alpha$ )-C(meso)-C(1-Ph)-C(2-Ph) de 109,0 ° y 104,7 °. C( $\alpha$ ) es el carbono adyacente al N, C(meso) el que conecta dos pirroles, C(1-Ph) el átomo directamente unido a C(meso) y C(2-Ph) el adyacente en el anillo pentafluorofenilo). Los ángulos relativamente cercanos a 90° entre los anillos pentafluorofenilo y el anillo tetrapirrólico se deben a la repulsión estérica entre los átomos de F y los átomos de H exteriores de los pirroles. Su presencia posiblemente dificulta el apilamiento facial de los anillos tetrapirrólicos más allá de dímeros.

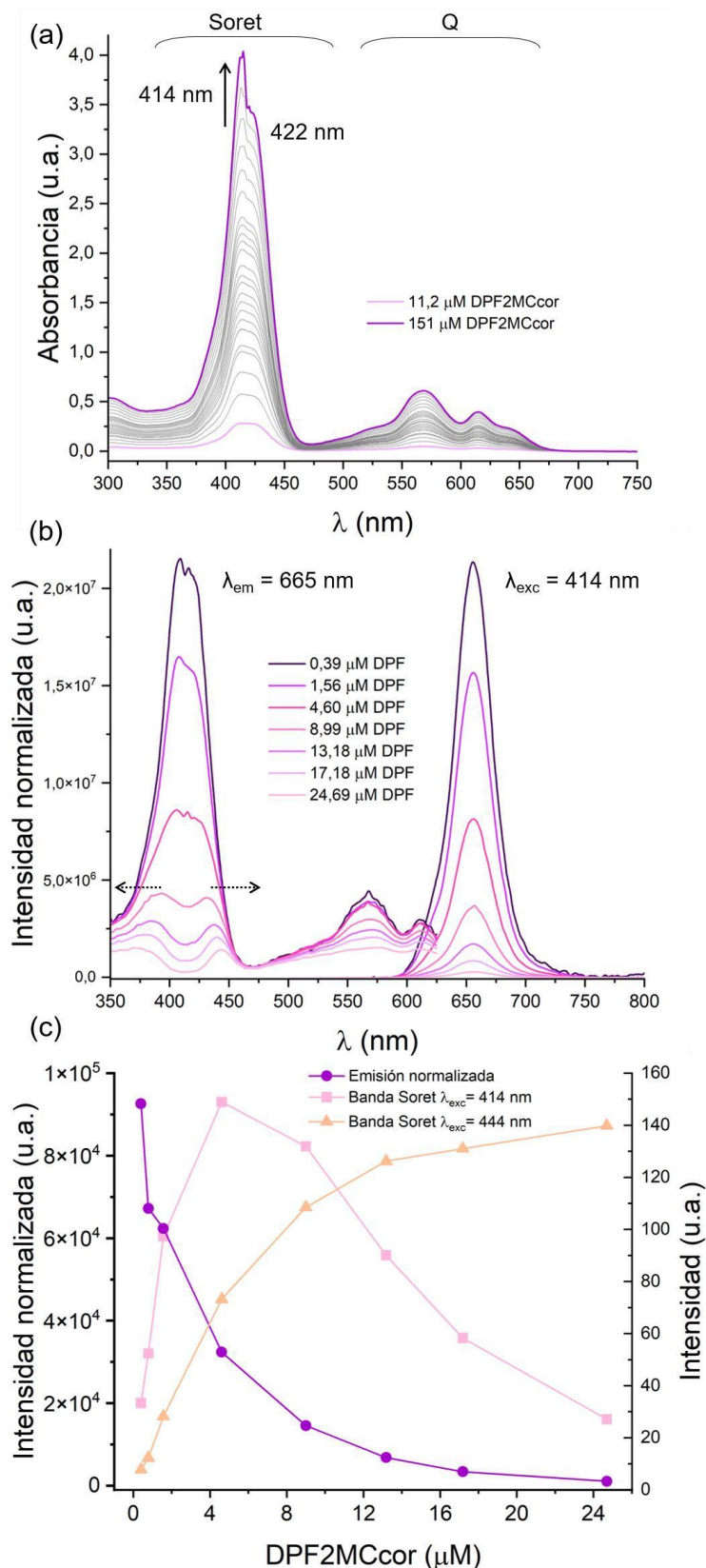
## 4.2. Caracterización de DPF2MCcor en solución orgánica

---

### 4.2.1. Efecto de la concentración en los Espectros UV-Visible y de Fluorescencia

Uno de los factores que inducen el fenómeno de *quenching* de la fluorescencia es la elevada concentración de DPF2MCcor en el medio, ya que provoca la agregación de moléculas y, con ello, una disminución de la fluorescencia intrínseca del corrol. La agregación puede inducir cambios en la simetría y en la distribución electrónica del sistema, lo que se refleja en alteraciones en las características espectrales de absorción, excitación y emisión (Oppenheim y col., 2019).

Utilizamos las técnicas de espectroscopía de fluorescencia y UV/Visible para determinar efectos de agregación de las moléculas de DPF2MCcor. Estas técnicas resultan particularmente adecuadas ya que las bandas Soret (400 - 450 nm) y Q (500 - 700 nm) son muy sensibles a estos cambios estructurales. Para esto adquirimos para soluciones de DPF2MCcor en THF a concentraciones crecientes, espectros de absorbancia, de excitación ( $\lambda_{em} = 656$  nm) y emisión ( $\lambda_{exc} = 414$  nm), presentados en las Figuras 10 - a y 10 - b. Las trazas de intensidad emisión ( $\lambda_{em} = 656$  nm) normalizada por concentración y las trazas de excitación con  $\lambda_{exc \text{ monómero}} = 414$  nm para detectar el cambio en la especie monomérica y  $\lambda_{exc \text{ dímero}} = 444$  nm para la especie dimérica, se muestran en la Figura 10 - c. Los resultados muestran modificaciones espectrales que sugieren interacciones intermoleculares debido a la cercanía molecular.



**Figura 10.** (a) Absorbancia del corrol normalizada por concentración de DPF2MCcor en THF. (b) Espectros de fluorescencia del corrol para  $\lambda_{\text{exc}} = 414$  nm y  $\lambda_{\text{em}} = 665$  nm normalizados por concentración de DPF. (c) Trazas de los máximos de intensidad de emisión normalizada (violeta) y máximos de banda Soret para  $\lambda_{\text{exc}} = 414$  nm (rosado) y  $\lambda_{\text{exc}} = 444$  nm (naranja) sin normalizar.



A bajas concentraciones (concentración inicial 11,2  $\mu\text{M}$ ), el espectro de absorbancia del DPF2MCcor en THF corresponde a su estado neutro, con bandas Soret de máximo en 414 nm y un hombro hacia 422 nm y tres bandas Q con máximos en 568, 615 y 642 nm (Figura 10 - a). Conforme se aumenta la concentración, no se observan cambios espectrales, excepto por la aparición de un pico a 414 nm que crece rápidamente con la concentración. Es posible que este pico se deba a la aparición de una especie nueva, pero no se puede descartar que sea un efecto instrumental a altos valores de absorbancia. No resultó posible hacer otros experimentos independientes para verificar si este pico corresponde a una especie real en la solución. En conjunto, vemos que en el rango de concentraciones estudiado (11,2 - 151  $\mu\text{M}$ ), la espectroscopía UV/Visible no resulta apropiada para observar claramente efectos de agregación. Por esta razón realizamos mediciones de Fluorescencia.

El fenómeno de agregación en cambio es muy evidente en los espectros de emisión y excitación presentados en la Figura 10 - b. Inicialmente, la excitación tiene un pico máximo en 414 nm, acompañado de una buena intensidad de emisión. Sin embargo, al aumentar la concentración de corrol, la intensidad relativa de este pico comienza a disminuir y aparecen dos nuevos picos con máximos en 394 y 431 nm. Estos picos se corren hacia el azul y el rojo respectivamente a medida que la concentración de corrol aumenta, posicionándose finalmente en máximos a 370 y 444 nm. Las bandas Q mantienen su forma tras el gradual aumento de concentración de corrol, lo que sugiere que estas bandas están menos afectadas por las interacciones intermoleculares. Es posible observar que la relación de intensidades entre las bandas Q y la banda Soret podría utilizarse para establecer el carácter monomérico o agregado del corrol.

Los datos de la Figura 10 – b, además, nos permitieron obtener el rendimiento cuántico de fluorescencia del DPF2MCcor ( $\Phi_{\text{DPF}}$ ) por método relativo de comparación con estándar ZnTPP como fue explicado en la sección 3.4.1. Según Wagner R. y colaboradores (1995), el rendimiento cuántico de fluorescencia de la Tetrafenilporfirina de Zinc (II) es  $\Phi_{\text{ZnTPP}} = 0,033$ , y su coeficiente de absorción molar es  $\epsilon_{\text{ZnTPP}} = 574.000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ , ambos valores obtenidos en tolueno (PhotochemCAD, 2026). Por análisis de los espectros, determinamos que el área bajo la curva del espectro de emisión para la porfirina de concentración  $2,06 \times 10^{-6} \text{ M}$  es de 39.072. Para el DPF2MCcor, esta integral resulta de 35.931 para una concentración de  $6,33 \times 10^{-6} \text{ M}$  y su coeficiente de absorción molar es en estas condiciones  $\epsilon_{\text{DPF}} = 110.000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ . Con estos datos, aplicamos la fórmula:

$$\Phi_{DPF} = 0,033 * \frac{35.931}{39.072} * \frac{574.000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1} * 2,06 \times 10^{-6} \text{ M}}{110.000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1} * 6,33 \times 10^{-6} \text{ M}} = 0,051$$

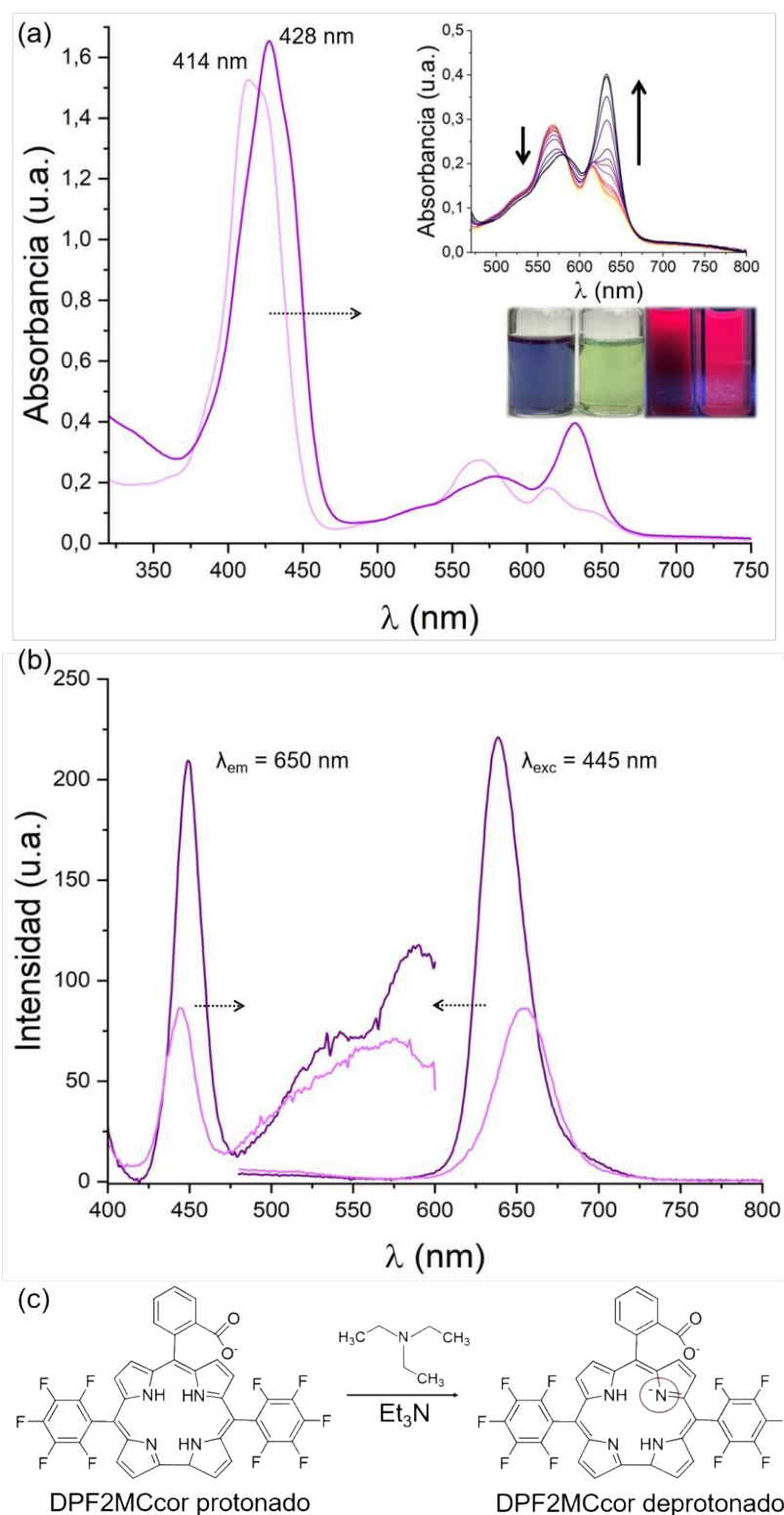
El valor de rendimiento cuántico del corrol ( $\Phi_{DPF} = 0,051$ ) resultó superior al reportado para la porfirina ( $\Phi_{ZnTPP} = 0,033$ ). Este comportamiento concuerda con lo reportado por Mahammed y Gross en 2002, donde se ha observado que los corroles exhiben rendimientos cuánticos de fluorescencia mayores que los de las porfirinas. Esto se atribuye principalmente a la mayor rigidez estructural del corrol, que disminuye la pérdida de energía por relajación vibracional de la molécula. Sin embargo, hay que tener en cuenta que los solventes orgánicos empleados para la determinación fueron diferentes para cada compuesto (THF en el caso del corrol y tolueno para la porfirina).

En la Figura 10 – c, al analizar los cambios sin normalización observamos primero un incremento lineal con la concentración, con un máximo para  $[DPF2MCcor] = 4,60 \mu\text{M}$ , seguido de un decrecimiento no lineal (traza rosada,  $\lambda_{exc} = 414 \text{ nm}$ ). Por otro lado, la intensidad a  $\lambda_{exc} = 444 \text{ nm}$  aumenta con un perfil sigmoideo lo que se puede asociar a espectros de dímeros u oligómeros (traza naranja) (Sharma y col., 2021).

#### 4.2.2. Efecto de la Deprotonación por Espectroscopía UV/Visible y de Fluorescencia

Los corroles poseen tres protones ionizables en su cavidad central, el primero de los cuales es relativamente ácido, y puede ser removido con distintas bases moderadas, como las aminas (Tarai y col., 2023). Es posible aumentar la fluorescencia roja intrínseca del DPF2MCcor al intervenir en el grado de protonación de la cavidad central del corrol, provocando una mono deprotonación de grupos NH. Los corroles aniónicos ( $\text{corH}_2^-$ ) poseen mayor fluorescencia que los corroles neutros ( $\text{corH}_3$ ), debido a la planarización del anillo dada por la reducción de la repulsión estérica entre los protones de la cavidad corrolíca. Sin embargo, su carga negativa podría facilitar su oxidación a un radical corrol, no fluorescente y potencialmente menos estable (Yadav & Sankar, 2017).

En este contexto, realizamos espectroscopía UV/Visible y de Fluorescencia con  $\lambda_{exc} = 445 \text{ nm}$  y  $\lambda_{em} = 650 \text{ nm}$  para el DPF2MCcor en THF con titulación de trietilamina ( $\text{Et}_3\text{N}$ ) como base. Los resultados obtenidos se presentan en la Figura 11.



**Figura 11.** (a) Espectros UV-Vis de DPF2MCcor en THF en estado neutro (lila) y deprotonado (violeta). Inset: Arriba, las bandas Q del DPF tras el gradual agregado de  $\text{Et}_3\text{N}$ . Debajo, fotografías de las soluciones de corrol neutro y deprotonado bajo luz natural (panel izquierdo) y bajo luz ultravioleta a 365 nm (panel derecho). (b) Espectros de excitación y emisión del corrol neutro (lila) y deprotonado (violeta). (c) Esquema molecular de los estados evaluados del corrol.

De la misma forma que se observa en la Figura 10 - a, el espectro de absorción del DPF2MCcor neutro en THF de la Figura 11 – a se caracteriza por una banda Soret de máximo en 414 nm acompañado de un hombro a 422 nm, y tres bandas Q más débiles con máximos ubicados en 568, 615 y 642 nm. Al inducir la deprotonación, se observa un corrimiento del espectro hacia el rojo. La intensidad de la banda Soret a 414 nm decrece al mismo tiempo que se incrementa a 428 nm. El máximo de mayor energía de las bandas Q disminuye y se desplaza hacia 580 nm, a la vez que aumentan concomitantemente las dos bandas de mayor longitud de onda, los cuales se integran con un único máximo en 632 nm, simplificando las tres bandas iniciales en dos finales. Tras la deprotonación, se mantienen dos puntos isosbéticos claros, posicionado en 421 nm para la banda Soret y en 584 nm para las bandas Q, lo cual indica una conversión química limpia entre dos únicas especies, es decir, el corrol protonado y deprotonado. Los datos numéricos correspondientes a los cambios inducidos por la trietilamina en el espectro de absorción del corrol, son resumidos en la Tabla 3.

Bajo luz natural, el corrol disuelto en THF presenta un color azul fuerte, mientras que, tras el último punto de la titulación con base, esta solución cambia a un color verde claro. Además, este cambio viene acompañado con un aumento en la intensidad de la fluorescencia bajo luz ultravioleta a 365 nm, donde el corrol deprotonado muestra una fluorescencia roja a simple vista más intensa que el corrol en estado neutro, el cual parece tener zonas saturadas a pesar de presentar la misma concentración (Inset, Figura 11 - a). Este efecto se confirma en el resultado de la Figura 11 – b, ya que al excitar a los distintos estados del corrol en mismas condiciones a 445 nm, el corrol deprotonado (espectro violeta) muestra una mayor intensidad tanto del espectro de excitación como de emisión en comparación al corrol en estado neutro (espectro lila). Adicionalmente, los máximos de excitación y emisión sufren un desplazamiento hacia el rojo y el azul respectivamente. Las longitudes de onda máximas obtenidas se detallan en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Longitudes de onda de las intensidades máximas de las bandas Soret y Q con sus respectivos valores  $\epsilon$  y los máximos de intensidad de los espectros de emisión y excitación para el corrol en estado protonado y deprotonado.

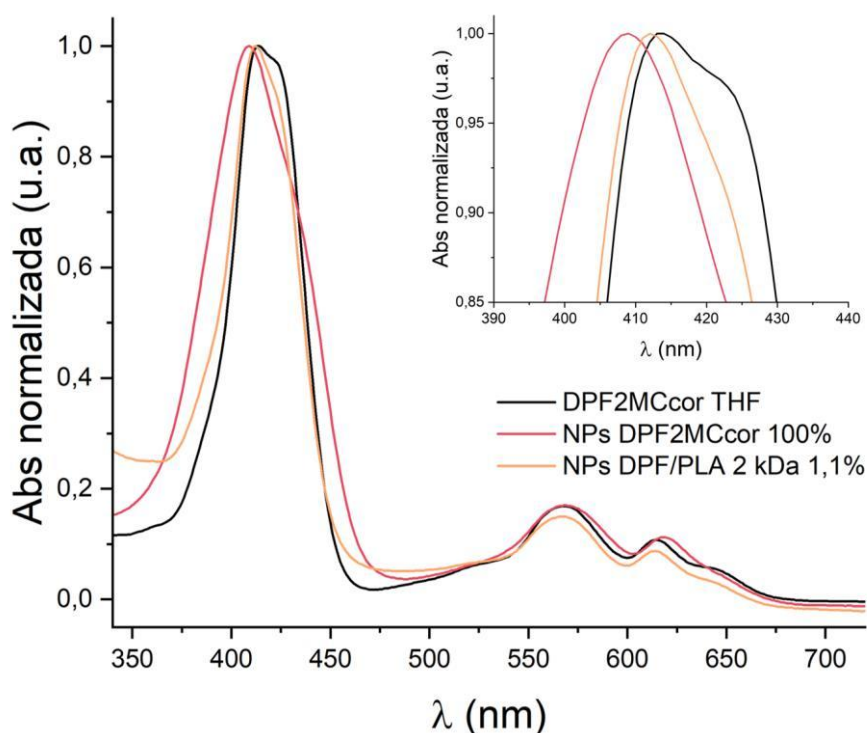
| Espectroscopía UV-Visible       |                                                    |                         |                                                |                         |
|---------------------------------|----------------------------------------------------|-------------------------|------------------------------------------------|-------------------------|
|                                 | Soret (nm) y ε (M <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> ) |                         | Q (nm) y ε (M <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> ) |                         |
| DPF Protonado                   | 414                                                | 568                     | 615                                            | 642                     |
|                                 | (1,00x10 <sup>5</sup> )                            | (1,72x10 <sup>4</sup> ) | (1,08x10 <sup>4</sup> )                        | (5,46x10 <sup>3</sup> ) |
| DPF deprotonado                 | 428                                                | 580                     | 632                                            |                         |
|                                 | (1,09x10 <sup>5</sup> )                            | (1,33x10 <sup>4</sup> ) | (2,54x10 <sup>4</sup> )                        |                         |
| Espectroscopía de fluorescencia |                                                    |                         |                                                |                         |
|                                 | Excitación (nm)                                    |                         | Emisión (nm)                                   |                         |
| DPF protonado                   | 444                                                |                         | 655                                            |                         |
| DPF deprotonado                 | 449                                                |                         | 638                                            |                         |

Estos resultados pueden indicar que el corrol aniónico presenta una menor tendencia a la agregación, ya que se pierde uno de los grupos NH capaces de dar lugar a enlaces puente de hidrógeno entre otras moléculas corrol y, además, el grupo negativo  $N^-$  resultante puede favorecer la repulsión electrostática intermolecular y minimiza el apilamiento  $\pi$ - $\pi$ .

### 4.3. Caracterización de Nanopartículas DPF2MCcor/PLA

#### 4.3.1. Determinación de la identidad por Espectroscopía UV/Visible

Determinamos la identidad espectral de nanopartículas 100% DPF2MCcor y en distintas composiciones DPF/PLA mediante espectroscopía UV/Visible. El objetivo fue identificar variaciones en la absorbancia del corrol vinculadas con su disposición dentro de la nanopartícula e interacciones con el medio. La Figura 12, compara el espectro del corrol disuelto en THF (0,0086 mg/mL, 11,2  $\mu$ M) frente a NPs 100% corrol (0,3167 mg/mL) y NPs 1,1% DPF/PLA 10-18 kDa (0,0032 mg/mL).



**Figura 12.** Espectros de absorbancia de NPs 100% DPF y 1,1% DPF/PLA 10-18kDa normalizado por máximo de absorbancia. Inset: ampliación de los espectros en la región de las bandas Soret.

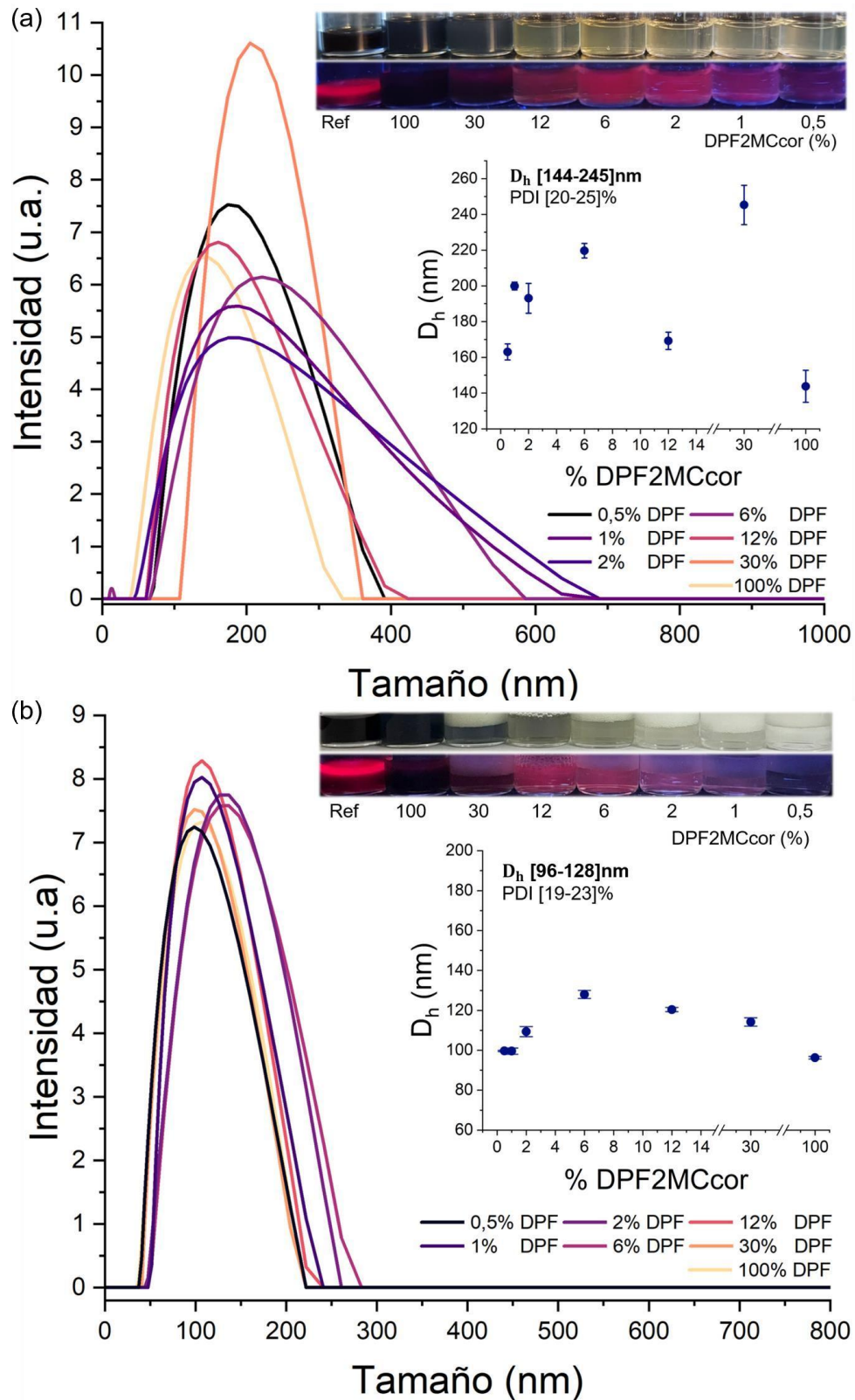
En todos los casos, los espectros siguen el perfil característico del corrol, una banda Soret de alta intensidad junto a un hombro y tres máximos de menor intensidad correspondientes a las bandas Q (Figura 12), como se estudió en la sección anterior. Sin embargo, para las NPs 1,1% DPF/PLA 10-18 kDa, el máximo de la banda Soret presenta un corrimiento hacia el azul de 2 nm, desplazándose de 414 a 412 nm, junto con una disminución de intensidad del hombro posicionado a 422 nm. En el caso de las NPs 100% corrol, el desplazamiento es más notorio, situando al nuevo máximo en 409 nm. La banda Soret para estas NPs se ensancha notablemente y el hombro desaparece. Por el contrario, las bandas Q permanecen inalteradas ante los cambios de

concentración de corrol, solo demuestran ensanchamiento del espectro propio a las variaciones del entorno.

#### 4.3.2. *Determinación de Tamaños mediante DLS*

Como fue mencionado en la introducción, el tamaño de las nanopartículas es un factor determinante en el diseño racional de un sistema para la terapia fotodinámica. Normalmente, el diámetro ideal varía entre 10 a 100 nm, lo que proporciona una acumulación satisfactoria a través del efecto EPR (Vagena y col., 2025), en el sistema vascular de tumores.

Realizamos la determinación de los diámetros hidrodinámicos de nanopartículas sintetizadas con PLA 2 kDa y PLA 10-18 kDa en todas las relaciones porcentuales DPF/PLA de la Tabla 1. El objetivo fue identificar el perfil polimérico y la composición óptima que minimice la polidispersidad dentro del rango de tamaños de 10 a 100 nm. Además, este análisis nos permite determinar si la carga de corrol dentro de la nanopartícula influye en su tamaño final. Los resultados se presentan en las gráficas de la Figura 13.



**Figura 13.** (a) Distribuciones de tamaño hidrodinámico obtenido por DLS para NPs DPF2Mccor/PLA 2 kDa para las diferentes relaciones DPF/PLA. Inset: Arriba, fotografía de las NPs analizadas bajo luz natural y, en el mismo orden, bajo luz ultravioleta (365 nm). Abajo, gráfica de puntos de los  $D_h$  en función al %DPF con sus respectivas desviaciones estándar. (b) Mismo análisis para NPs DPF2Mccor/PLA 10-18 kDa.



Todas las variantes presentan una distribución monomodal (área bajo la curva correspondiente 100% a un único pico), es decir, no presentan subpoblaciones separadas. El PLA 2 kDa ofrece nanopartículas con diámetros hidrodinámicos finales en un rango de 144 a 245 nm, picos anchos y distribución interna de tamaños elevada (Figura 13 – a). Por otro lado, para el PLA 10-18 kDa los  $D_h$  varían entre 96 y 128 nm, los picos son más angostos y la distribución de tamaño es más reducida en comparación con el polímero de menor peso molecular (Figura 13 – b). Estas diferencias de tamaños dependientes del peso molecular del PLA, pueden deberse a que durante la técnica de nanoprecipitación, el crecimiento espontáneo de las NPs formadas luego del contacto entre el solvente y el agua, es más lento para un polímero de considerable peso molecular (Seremeta y col., 2013). Entonces, esperamos que el PLA 10-18 kDa aumente la viscosidad del medio orgánico y de lugar a una formación más lenta de NPs, lo que conlleva a que la población sea más homogénea y de menores diámetros.

El índice de polidispersidad (IPD) es ligeramente superior para el PLA 2 kDa, pero en ambos casos se encuentra dentro de un rango aceptable (0,2). En este punto, es necesario tener en cuenta lo mencionado en la sección de introducción en referencia al solvente orgánico utilizado, ya que el THF puede estar provocando agregación de los componentes al entrar en contacto con el medio acuoso al provocar una velocidad de difusión baja en comparación con otros solventes, lo que impacta en el IPD final obtenido.

No observamos relación entre los tamaños obtenidos para las nanopartículas con la cantidad en masa de corrol presente, lo que sugiere que, dentro del rango de masas de corrol analizado, la carga de fotosensibilizante no tiene incidencia sobre el tamaño final de estos transportadores.

Por otro lado, encontramos que el diámetro de las nanopartículas 100% DPF2MCcor resultó diferente para la serie de NPs sintetizadas con PLA 10-18 kDa ( $96,3 \pm 0,7$  nm) y la serie de PLA 2 kDa ( $143,8 \pm 9,0$  nm). Esta variación probablemente se deba a un error operativo o ambiental, ya que se sintetizaron en días diferentes y tanto la temperatura como la velocidad de agitación o goteo pueden influir en las propiedades finales de las nanopartículas. En la Tabla 4, se presentan los  $D_h$  que representan la media aritmética de los valores obtenidos por DLS para cada suspensión, junto al valor de desviación estándar correspondiente.

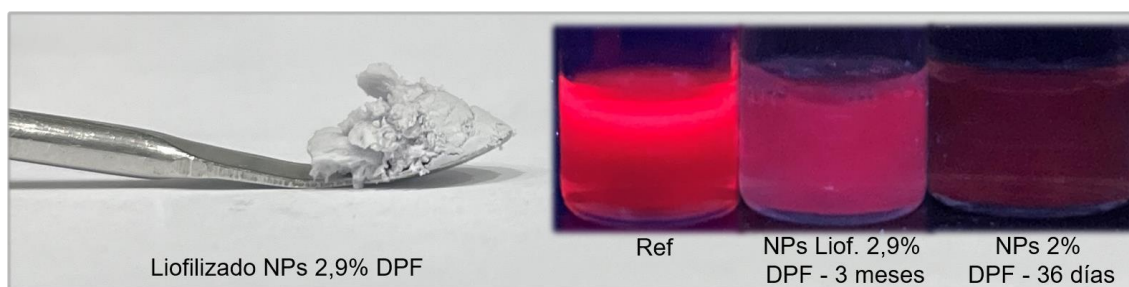
**Tabla 4.** Diámetros hidrodinámicos obtenidos para cada composición de nanopartículas para PLA 2 y PLA 10-18 kDa, con sus respectivas desviaciones estándar.

| Diámetro hidrodinámico (nm) $\pm$ SD |                  |                 |                 |                 |                 |                 |
|--------------------------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| DPF/PLA (%)                          | 30               | 12              | 6               | 2               | 1               | 0,5             |
| PLA 2 kDa                            | 245,3 $\pm$ 11,0 | 169,2 $\pm$ 4,8 | 219,7 $\pm$ 4,1 | 193,1 $\pm$ 8,4 | 199,9 $\pm$ 2,2 | 163,1 $\pm$ 4,5 |
| PLA 10-18 kDa                        | 114,2 $\pm$ 2,1  | 120,4 $\pm$ 1,0 | 128,0 $\pm$ 2,0 | 109,4 $\pm$ 2,5 | 99,6 $\pm$ 1,6  | 99,7 $\pm$ 0,3  |

#### 4.3.3. Liofilización de Nanopartículas

Las nanopartículas sintetizadas presentan una inestabilidad física inherente, posiblemente causada por la hidrólisis autocatalítica del polímero, lo que promueve la pérdida de fluorescencia durante períodos prolongados de almacenamiento, aun a bajas temperaturas.

Liofilizamos nanopartículas de composición 2,9% DPF2MCcor/PLA 10-18 kDa (0,0175 mg/mL DPF) luego de 3 días de su preparado, en los cuales asumimos la evaporación completa del solvente orgánico. Las mismas mostraron ser resistentes al proceso de deshidratación, resultando en un sólido seco, poroso, de estructura frágil mecánicamente y homogéneo, con un color levemente violeta correspondiente al corrol (Figura 14).



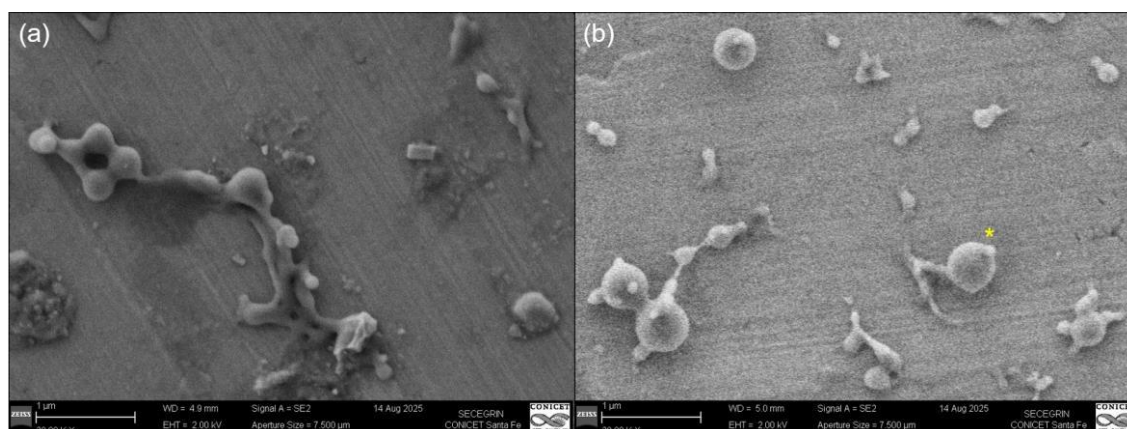
**Figura 14.** A la izquierda el liofilizado de las nanopartículas DPF/PLA 10-18 kDa 2,9%. A la derecha, fotografías bajo luz ultravioleta (365 nm) del corrol disuelto en THF (referencia de máximo de intensidad), la resuspensión de NPs DPF/PLA 10-18 kDa 2,9% liofilizadas y NPs de composición similar (2%) sin liofilizar y almacenadas a temperatura ambiente.

La reconstitución del liofilizado resultó eficiente, de disolución simple, sin agregados macroscópicos y recuperando un aspecto muy semejante al de las NPs tras su síntesis. Además, presentó fluorescencia roja al analizarla bajo luz con longitud de onda de 365

nm, comparable con nanopartículas de unos pocos días de síntesis sin liofilizar. Las partículas liofilizadas y almacenadas en refrigeración a 4°C por 3 meses presentaron, al ser resuspendidas, mayor fluorescencia que aquellas NPs de composición similar (2%, Tabla 1) luego de 36 días de su síntesis, lo que demuestra que esta técnica de almacenamiento es un método apropiado de conservación de la intensidad de fluorescencia y evita aquellos procesos fotodegradantes que pueden afectar al corrol. Sin embargo, aún no pudimos verificar que la morfología y propiedades fotodinámicas se conserven en su totalidad luego del liofilizado.

#### 4.3.4. Análisis Morfológico mediante SEM

Realizamos un análisis de microscopía electrónica de barrido (SEM) sobre NPs de composición 2,9% DPF/PLA 10-18 kDa para determinar su morfología. Además, incluimos en el estudio NPs 100% corrol y 100% PLA 10-18 kDa como control. Todas las suspensiones para las cuales obtuvimos los resultados de la Figura 15, se liofilizaron previamente, se resuspendieron y se sometieron a ciclos de lavado.



**Figura 15.** Imágenes obtenidas mediante SEM de (a) nanopartículas 100% PLA 10-18 kDa y (b) NPs DPF/PLA 10-18 kDa 2,9%. Marcado con asterisco amarillo, la región que posteriormente se analizó por EDS.

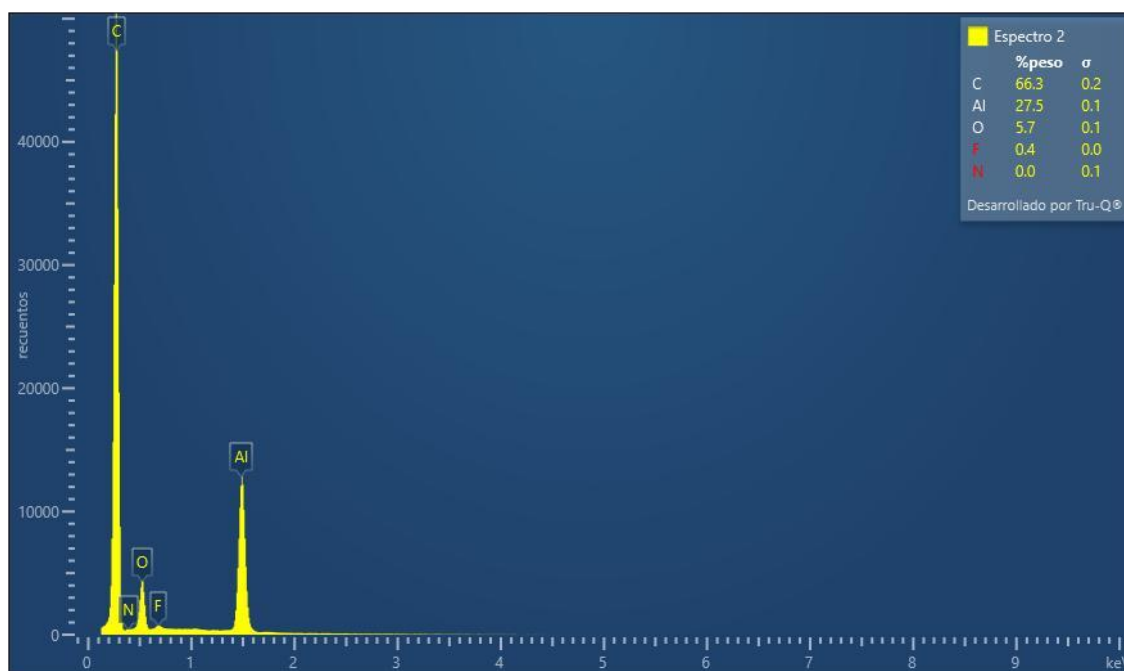
Los resultados de la Figura 15, demuestran para las poblaciones de NPs 100% PLA y 2,9% DPF/PLA morfologías polidispersas, siendo que algunas partículas son esféricas y otras más irregulares. Además, son pocas las que se encuentran dispersas individualmente, sino que la mayoría se encuentra formando aglomerados con otras nanopartículas y con elementos remanentes. Se puede estimar que las NPs presentan un tamaño aproximado de 250 nm, casi el doble más grande del rango de diámetros obtenidos para las NPs de este polímero mediante DLS. Sin embargo, esta distribución parece ser de forma homogénea. El DLS es una técnica que asume geometría esférica y no distingue aglomerados ni irregularidades relevantes que permitan confirmar

uniformidad del sistema. La falta de correlación con el análisis del comportamiento en suspensión puede ser propia de agregaciones inducidas tras los procesos de liofilización, por el lavado o el secado de las NPs.

Para el caso de las nanopartículas 100% DPF2MCcor, no se hallaron partículas estables en el medio. Esto sugiere que el polímero, si bien sufre deformaciones tanto en su morfología como en tamaño, protege al fotosensibilizante frente al estrés mecánico y térmico del congelamiento, liofilizado y lavados, ya que mediante DLS las NPs de esta composición sí son detectables.

#### 4.3.5. Análisis de Composición Elemental mediante EDS

Complementamos el resultado obtenido por SEM para las NPs 2,9% DPF/PLA 10-18 kDa con espectroscopía de energía dispersiva (EDS). Este análisis nos permitió determinar la composición química de las partículas. Específicamente, se eligieron regiones puntuales de la fotografía en las cuales había partículas para adquirir espectros EDS (señalizado con un asterisco en la Figura 15). El espectro obtenido se presenta en la Figura 16 junto con la tabla de resultados (Tabla 5).



**Figura 16.** Espectro EDS de nanopartículas DPF2MCcor - PLA 10-18 kDa 2,9% donde se observan las señales correspondientes a C, O, F, N y Al.

**Tabla 5.** Composición elemental obtenida por EDS de nanopartículas DPF2MCcor/PLA 10-18 kDa 2,9% expresada como concentración aparente, cociente k, porcentaje en peso y sigma del porcentaje en peso.

| Elemento  | Concentración aparente | Cociente k | % Peso | Sigma % peso |
|-----------|------------------------|------------|--------|--------------|
| <b>C</b>  | 154,53                 | 1,54534    | 66,34  | 0,15         |
| <b>N</b>  | 0,4                    | 0,00071    | 0,05   | 0,10         |
| <b>O</b>  | 35,32                  | 0,11886    | 5,74   | 0,07         |
| <b>F</b>  | 4,5                    | 0,00883    | 0,39   | 0,04         |
| <b>Al</b> | 103,96                 | 0,74670    | 27,48  | 0,13         |

La Figura 16 en conjunto con la Tabla 5, muestran que el elemento predominante es el carbono (66,34% en peso) seguido del oxígeno (5,74% en peso). Este resultado es consistente tanto con la matriz polimérica como con el corrol. La señal de flúor y nitrógeno es débil (0,39 y 0,05% en peso respectivamente), lo cual es esperable para estos elementos ligeros y que se encuentran en baja concentración. Estos resultados aportan evidencia directa de la presencia de DPF2MCcor dentro o asociado a la matriz polimérica, particularmente a través de la señal de F.

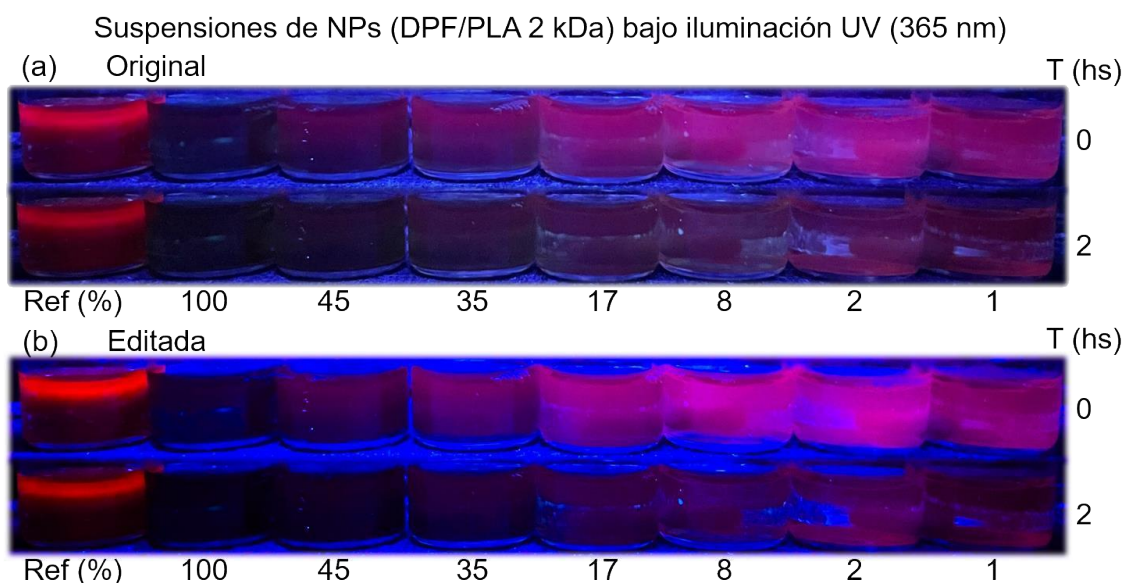
Por otro lado, la señal de aluminio, con un 27,48% en peso, no se asocia a la composición de las nanopartículas y puede atribuirse al sustrato o al soporte utilizado durante el análisis.

#### 4.3.6. Evaluación de la Estabilidad de Fluorescencia mediante Fotografía

La encapsulación de corrol debería mejorar su fotoestabilidad debido a la protección física y química que ofrece la matriz polimérica. Evaluamos la estabilidad de fluorescencia en el tiempo de nanopartículas en diferentes relaciones DPF/PLA, sintetizadas con PLA 2 kDa (Figura 17) y PLA 10-18 kDa (Figura 18). El seguimiento se realizó mediante el registro fotográfico de las NPs bajo luz ultravioleta a 365 nm. Este análisis nos permite determinar de manera cualitativa cómo impacta la carga de corrol dentro de las nanopartículas poliméricas y, a su vez, las diferencias que ofrece cada peso molecular de PLA. Los resultados de esta sección revelan una clara dependencia entre la composición de la nanopartícula y su capacidad de protección del corrol frente a la fotodegradación.

#### 4.3.6.1. Nanopartículas DPF2MCcor/PLA 2 kDa

En la figura 17 se muestran fotografías de suspensiones de NPs de DPF2MCcor con PLA 2 kDa, las cuales presentan una fluorescencia roja débil que decae rápidamente en el tiempo (2 horas).



**Figura 17.** (a) Suspensiones de NPs (DPF2MCcor/PLA 2 kDa) bajo iluminación UV (365 nm) (b) Fotografías editadas para evidenciar mejor el color rojo (Contraste y saturación al 100% y brillo mínimo).

A tiempo cero, las nanopartículas muestran una fluorescencia roja débil en comparación con la referencia. Las NPs de menor porcentaje DPF/PLA (1, 2, 8 y 17%) son las de mayor intensidad a tiempo cero, mientras que los puntos de 35 y 45% están mayormente saturados y presentan un claro efecto de *quenching*. Como es de esperar, las NPs 100% DPF no presentan intensidad de señal debido a la agregación por insolubilización en el medio acuoso.

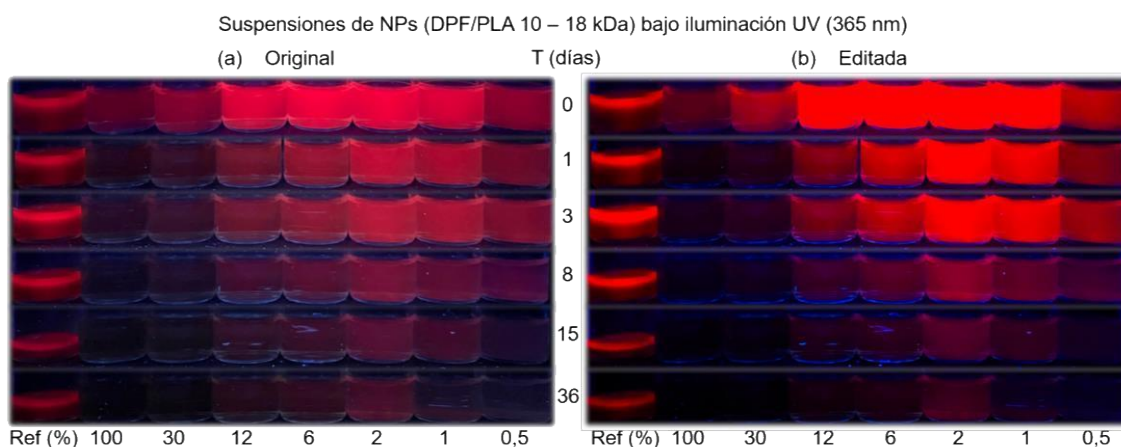
Transcurridas 2 horas desde la síntesis, solo las NPs de 1 y 2% corrol presentan intensidad de fluorescencia. Esto sugiere una mejor distribución de las moléculas de corrol dentro de la matriz, ya que la agregación de moléculas de corrol dentro de la nanopartícula es menor a bajas concentraciones. Además, al tratarse de una partícula polimérica no rígida, es posible que las moléculas de corrol difundan con el solvente desde el interior hacia el medio acuoso, lo que provoca la disminución de intensidad de fluorescencia.



Sin embargo, es necesario aclarar que la síntesis de nanopartículas se optimizó en cuanto al manejo de volúmenes, concentraciones y en técnica *per se* luego de este análisis, lo que puede influir en los resultados y su discusión.

#### 4.3.6.2. Nanopartículas DPF2MCcor/PLA 10-18 kDa

Realizamos el mismo análisis para NPs con PLA 10-18 kDa en la serie de relaciones con DPF2MCcor de la Tabla 1. El seguimiento se realizó por 36 días desde la síntesis y el resultado se presenta en la Figura 18.



**Figura 18.** (a) Suspensiones de NPs (DPF2MCcor/PLA 10-18 kDa) bajo iluminación UV (365 nm) (b) Fotografías editadas para evidenciar mejor el color rojo (Contraste y saturación al 100% y brillo mínimo).

A tiempo inicial, las nanopartículas muestran una fluorescencia roja mucho más intensa en comparación con los resultados obtenidos para el PLA de menor peso molecular. A menores concentraciones de corrol, la intensidad de fluorescencia es mayor, principalmente en los puntos 1, 2, 6 y 12% DPF2MCcor. Esta intensidad decrece en todos los puntos a medida que transcurre el tiempo, evidenciándose mayormente en aquellas nanopartículas de mayor carga de corrol, ya que el efecto de agregación está más favorecido en condiciones donde hay más masa de corrol. Finalmente, al día 36 únicamente las NPs con 2% de relación DPF/PLA mantienen una leve intensidad roja. Este resultado podría indicar que esta composición es, dentro de las analizadas, la que ofrece una concentración de corrol suficiente para emitir adecuada intensidad de fluorescencia a la vez que evita la agregación y decaimiento de intensidad en el tiempo.

Atribuimos la disminución y eventual extinción de fluorescencia a tres fenómenos principales. En primer lugar, la difusión de las moléculas de corrol desde el interior de las NPs hacia el medio acuoso. En segundo lugar, observamos que en composiciones de alta carga de corrol inducen más rápidamente la pérdida de fluorescencia ya que el

acercamiento de las moléculas provoca autoagregación, lo que resalta la idea fundamental que el fotosensibilizante debe permanecer encapsulado en su forma monomérica (Reisch & Klymchenko, 2016). Por el contrario, para las suspensiones de menor concentración, el mecanismo de apagamiento predominante podría estar asociado con la oxidación de las moléculas de corrol, dado que en ningún momento son aisladas del oxígeno molecular.

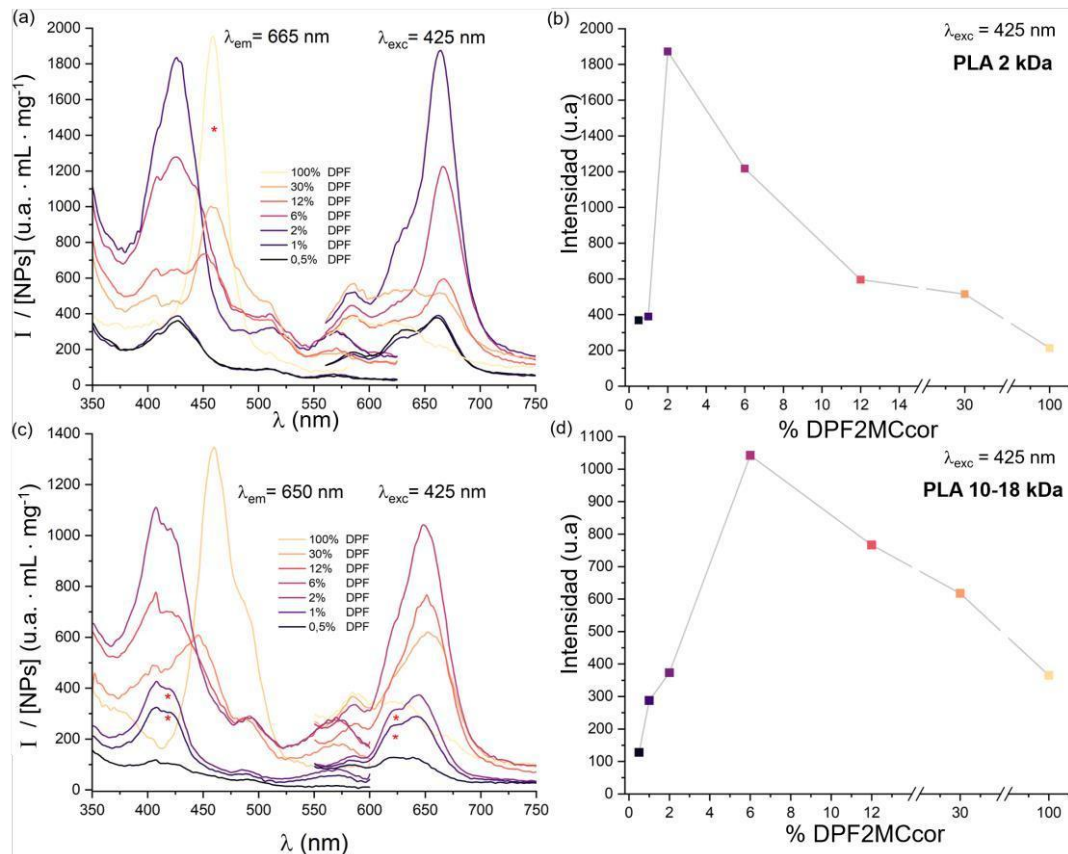
Presumiblemente, el PLA de peso molecular 10-18 kDa, demuestra mayor resistencia a los efectos que provocan fotodegradación de las moléculas de corrol. La encapsulación con este polímero da lugar a la generación de NPs que ofrecen una movilidad más reducida que aquellas formuladas con PLA 2 kDa, lo que podría reducir el efecto de difusión hacia el medio externo. Asimismo, esta composición podría reducir la difusión del O<sub>2</sub>, retrasando los procesos de fotooxidación y ofreciendo mayor protección. De esta forma, estos factores permitirían que la fluorescencia se conserve de manera estable en el tiempo, en comparación con el PLA 2 kDa, aunque con intensidad atenuada por la matriz polimérica.

En conclusión, el seguimiento de la estabilidad de fluorescencia mediante fotografía es útil para realizar un análisis visual de la distribución y presencia de intensidad de color, pero aporta información subjetiva dependiente de la luz, operador y resolución de la cámara. Estos resultados nos sirvieron entonces para plantear estudios de espectroscopía de Fluorescencia de las nanopartículas.

#### *4.3.7. Efecto de la composición DPF/PLA estudiado mediante Espectroscopía de Fluorescencia*

Realizamos un análisis cualitativo mediante espectroscopía de fluorescencia de la serie completa de NPs que incluye todas las relaciones DPF/PLA (Tabla 1) para ambos polímeros. En la Figura 19, salvo algunas excepciones, los espectros de excitación para las NPs sintetizadas con PLA 2 kDa se obtuvieron con  $\lambda_{em} = 665$  nm y, para las de PLA 10-18 kDa  $\lambda_{em} = 650$  nm. En ambos casos,  $\lambda_{exc}$  se mantuvo en 425 nm. Normalizamos la intensidad de los espectros por la masa total de nanopartícula en cubeta (mg/mL). Este valor se obtuvo asumiendo una eficiencia de encapsulación del 100% y al sumar la masa de corrol y de polímero final en medio acuoso y aplicando luego el factor de dilución correspondiente (sección 3.4.1).





**Figura 19.** (a) Espectros de fluorescencia con intensidad normalizada por la masa total de nanopartículas DPF/PLA 2 kDa en cubeta. El espectro señalado con asterisco rojo se obtuvo con  $\lambda_{em} = 617 \text{ nm}$ . (b) Trazas de los máximos de intensidad de emisión para la serie PLA 2 kDa. (c) Espectros de fluorescencia con intensidad normalizada por la masa de nanopartículas DPF/PLA 10-18 kDa en cubeta. Los espectros señalizados con asterisco rojo se obtuvieron con  $\lambda_{em} = 644 \text{ nm}$ . (d) Trazas de los máximos de intensidad de emisión para la serie PLA 10-18 kDa.

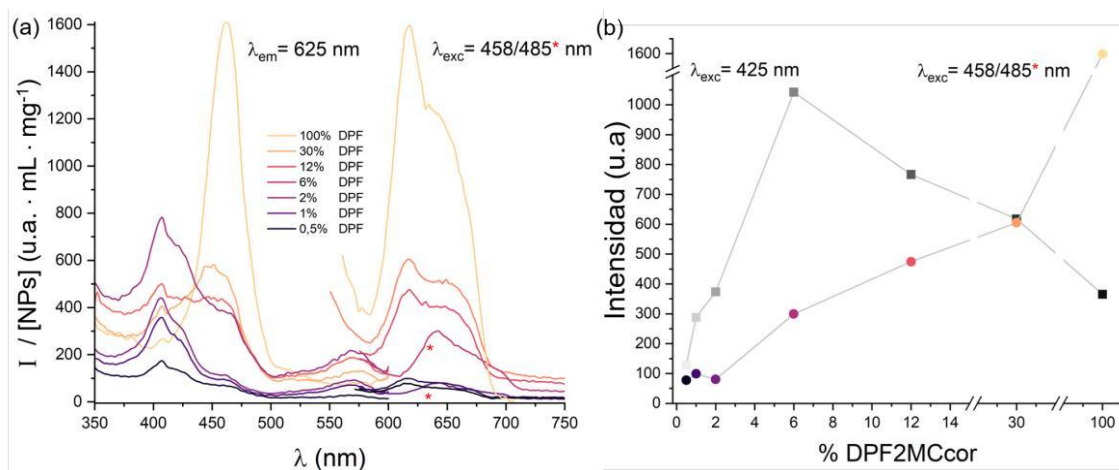
A bajas relaciones corrol/polímero, los espectros de excitación y emisión presentan un máximo en 425 nm y 665 nm respectivamente para el PLA 2 kDa y máximos en 408 nm y 650 nm para el PLA 10-18 kDa (Figuras 19 – a y 19 - c). A medida que la carga de DPF2MCcor aumenta y, por ende, lo hace la concentración, el espectro de excitación del corrol deja de comportarse como monómero y sufre un desplazamiento del pico hacia el rojo, con un nuevo máximo ubicado en 458 nm. Por su lado, los espectros de emisión también sufren un desplazamiento, pero hacia el azul (625 nm). Estos resultados posiblemente corresponden a la formación de dímeros de corrol dentro de las nanopartículas. Estos dímeros presentan una menor intensidad de fluorescencia que las especies monoméricas, ya que disipan la energía de forma no radiativa (Miao y col., 2025).

En las Figuras 19 a y b, observamos como para la serie de NPs de polímero 2 kDa la intensidad de señal de emisión sube con máximo en 2% DPF/PLA y luego comienza a

decaer en los puntos superiores, posiblemente por la predominancia de especies diméricas sobre las monoméricas. Para el PLA 10-18 kDa, (Figuras 19 c y d) este punto máximo se encuentra en la relación DPF/PLA de 6%. Posiblemente, los polímeros ofrecen diferentes disposiciones espaciales de las moléculas de corrol dentro de la nanopartícula. Sugerimos que el PLA de mayor peso molecular, al ser más hidrofóbico, es más eficiente en la estabilización de las moléculas de corrol, por lo que la predominancia de agregados se evidencia en cargas mayores en comparación con el PLA de menor peso molecular. No obstante, el experimento no se repitió las veces suficientes para confirmar esta conclusión.

El corrimiento de la banda de excitación hacia menores energías, es consistente con la formación de apilamientos tipo J. Este tipo de agregación se da con estructura "cabeza con cola" y provoca un corrimiento del espectro hacia el rojo, acompañado de un aumento en la intensidad de fluorescencia cuando el agregado es ideal. Sin embargo, debido a las reducidas distancias intermoleculares entre las moléculas de corrol dentro de la partícula, se facilita la pérdida de energía no radiativa por autoextinción (Liu y col., 2020).

Posterior a este análisis, obtuvimos una serie de espectros empleando  $\lambda_{em} = 625$  nm,  $\lambda_{exc} = 458$  nm (para las relaciones DPF/PLA 0,5, 1, 12, 30 y 100%) y  $\lambda_{exc} = 485$  nm (DPF/PLA 2 y 6%) para la serie de nanopartículas sintetizadas con el PLA 10-18 kDa, con el fin de evaluar el efecto de los dímeros al excitar exclusivamente a esta especie. El resultado se presenta en la Figura 20.



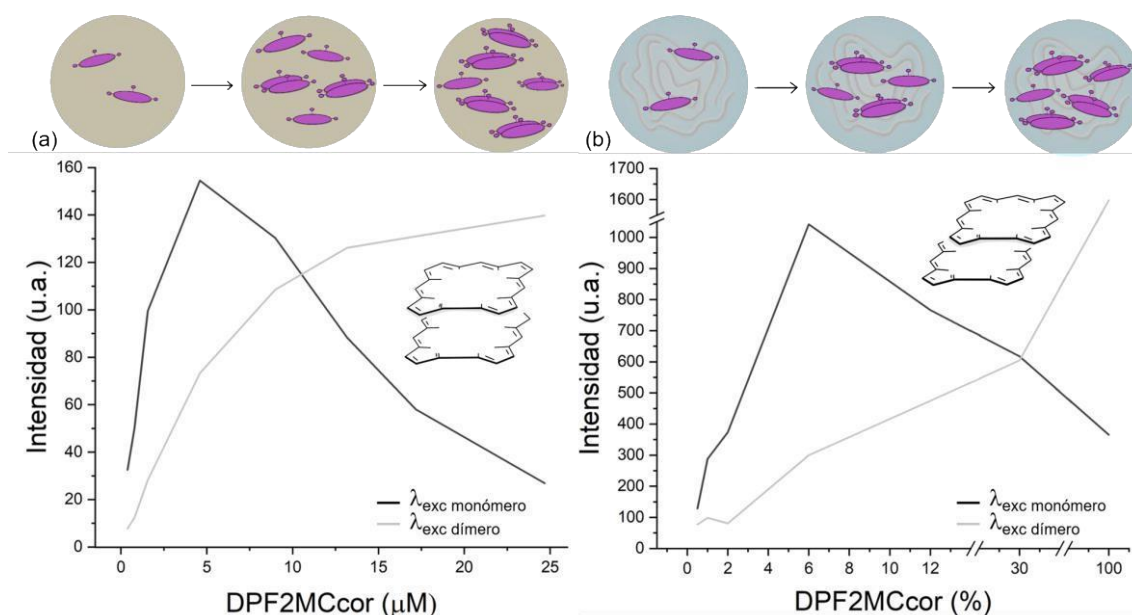
**Figura 20.** (a) Espectro de fluorescencia de intensidad normalizada por la masa de NPs sintetizadas con PLA 10-18 kDa, con  $\lambda_{exc} = 458/485$  nm (485 nm para los espectros señalizados con asterisco rojo) y  $\lambda_{em} = 625$  nm. (b) Trazas de los máximos de intensidad de emisión para cada variante con  $\lambda_{exc} = 458/485$  nm (en colores) y con  $\lambda_{exc} = 425$  nm (en escala de grises).

Al desplazar la longitud de onda de excitación a valores superiores, seleccionamos energéticamente una transición con mayor composición de una subpoblación de especies diméricas de menor rendimiento cuántico intrínseco, lo que se traduce en una menor intensidad de emisión (Figura 20 – a). Al no excitar de manera eficiente al producto monomérico, su pico de emisión representativo a 665 nm disminuye en intensidad y en su lugar se incrementa el pico a 625 nm, correspondiente a los dímeros. No esperamos la presencia de agregados de orden superior en concentración apreciable, ya que no observamos cambios abruptos o nuevas contribuciones espectrales al continuar aumentando la concentración de corrol.

La Figura 20 – b nos permite distinguir qué población predomina en cada relación DPF/PLA evaluada. En el punto correspondiente a 6% DPF2MCcor/PLA, podemos sugerir que la población está equilibrada entre las especies diméricas y monoméricas. Hacia porcentajes más bajos, el corrol se encuentra mayormente en su forma monomérica, mientras que a mayores concentraciones predomina su forma dimérica. Además, es posible que en los puntos de concentración más elevados el corrol ya no se encuentre solo dentro de la nanopartícula, sino que se encuentre además asociado a la superficie. En estas condiciones, las respuestas de absorción y emisión se ven influenciadas por la interacción con el medio externo.

#### 4.4. Resumen del efecto de agregación del corrol en solución orgánica (THF) y en Nanopartículas

Planteamos el esquema de la Figura 21 a modo de resumen de los resultados obtenidos en las secciones 4.2.1 y 4.3.7. En el modelo, se representan los espectros de fluorescencia obtenidos para los distintos entornos fisicoquímicos:  $\lambda_{\text{monómero}} = 414 \text{ nm}$  y  $\lambda_{\text{dímero}} = 444 \text{ nm}$  en THF y  $\lambda_{\text{monómero}} = 425 \text{ nm}$  y  $\lambda_{\text{dímero}} = 458/485 \text{ nm}$  en NPs, acompañados de los diagramas esquemáticos sobre la disposición del corrol en relación a la concentración en ambos medios.



**Figura 21.** Esquema representativo del DPF2MCcor (a) en solución y (b) en nanopartículas poliméricas en cada región de los espectros de fluorescencia obtenidos en las secciones 4.2.1 y 4.3.7 respectivamente.

Observamos que la población de dímeros en THF comienza a superar a la monomérica luego del punto máximo de concentración  $4,6 \mu\text{M}$  (Figura 21 – a). En este punto, podemos asumir que hay un equilibrio de especies del corrol. Si planteamos el balance de especies de DPF2MCcor como  $2 [\text{Monómero}] \rightleftharpoons [\text{Dímero}]$ , (Dixon & Steullet 1998) la constante de asociación está dada por:

$$K_{\text{dim}} = \frac{[\text{Dímero}]}{[\text{Monómero}]^2}$$

Para una concentración total de corrol de  $4,6 \mu\text{M}$ , asumiendo concentraciones similares de monómero y dímero, se puede estimar que  $C_m \sim C_d \sim 1,53 \mu\text{M}$  (considerando  $C_{\text{DPF}} \sim [\text{Monómero}] + 2[\text{Dímero}]$ ). A partir de estos valores la constante de dimerización del corrol en THF ( $K_{\text{dim}}^{\text{THF}}$ ) se puede estimar en  $0,65 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}$ .

Un efecto similar sucede con el corrol en nanopartículas (Figura 21 – b). El estado monomérico del corrol predomina hasta el punto con relación 6% DPF/PLA. Si bien no podemos estimar directamente la concentración molar del corrol dentro de la NP, el valor de 6% corresponde a una concentración mucho más alta que la estudiada en solución orgánica. Esto sugiere que el polímero efectivamente ayuda a estabilizar al corrol, disminuyendo su tendencia a la agregación. Los resultados obtenidos en solución orgánica permiten interpretar lo que sucede dentro de las NPs, cuyo entorno químico es más complejo.

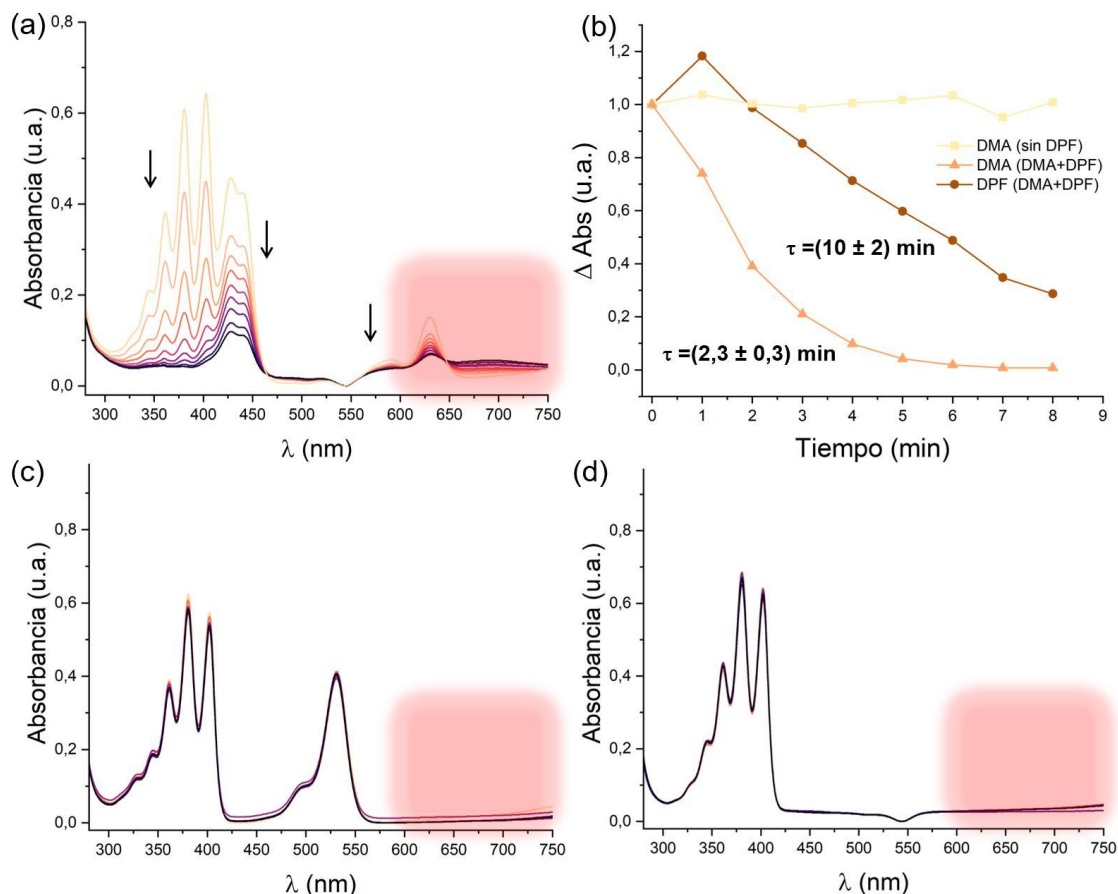
#### 4.5. Análisis de la Producción *in vitro* de Oxígeno Singlete

---

Como fue detallado en la sección 3.7, realizamos los ensayos de generación de oxígeno singlete utilizando como sonda el 9,10-dimetilantraceno (DMA). El tiempo de vida del oxígeno singlete es muy corto (escala de microsegundos), y el rango de distancia en el que puede existir y actuar está directamente limitado por su tiempo de vida. En DMSO, el tiempo de vida del  $^1\text{O}_2$  es de 5,5  $\mu\text{s}$  (Córdoba y col., 2019). Por otro lado, ese valor en agua corresponde a 3,1  $\mu\text{s}$  (Cui y col., 2024). Por esto, la cantidad de DMA utilizada en los experimentos fue mayor que la de corrol, para favorecer el atrapamiento por sobre otras vías de desactivación. Realizamos primero el análisis en medio orgánico para evaluar la efectividad de producción de  $^1\text{O}_2$  por DPF2MCcor, antes de evaluarla en las suspensiones de NPs en medio acuoso. Los resultados se presentan en las Figuras 22 para el corrol en solvente orgánico y en la Figura 23 para el corrol en nanopartículas poliméricas.

##### 4.5.1. DPF2MCcor en solución orgánica (DMSO)

Inicialmente realizamos un estudio *in vitro* en solución de DMSO, para determinar la capacidad de generación del oxígeno singlete por parte de DPF2MCcor. Analizamos de manera semicuantitativa el decrecimiento del espectro de absorción de la sonda específica de oxígeno, DMA, utilizando espectroscopía UV/Visible, en presencia de fotosensibilizador, y en función del tiempo de irradiación con luz roja (630 nm). En la Figura 22 se observan los espectros de una solución de DMSO de DPF2MCcor (0,0183 mg/mL, 24  $\mu\text{M}$ ) y DMA (0,1498 mg/mL, 712  $\mu\text{M}$ ) en relación en masa de 8:1 DMA/DPF para distintos tiempos de irradiación. La evolución de la cantidad de DMA ( $\Delta A_{\text{DMA}}$ ) y corrol ( $\Delta A_{\text{DPF}}$ ) determinada a partir de la diferencia de absorbancia, se analizó como se explicó en la sección 3.7. En la misma figura se muestran experimentos control, utilizando Eosina Y como fotosensibilizador (0,0183 mg/mL, 26  $\mu\text{M}$ , en relación con el DMA 8:1), y sin utilizar fotosensibilizador. En ambos casos la concentración de DMA permanece esencialmente constante.



**Figura 22.** (a) Espectro UV/Vis de DPF2MCCor y DMA en DMSO en función del tiempo de irradiación con luz roja. (b) Gráfica de puntos de  $\Delta \text{Abs}$  para el DMA en ausencia de corrol, DMA en presencia de corrol y DPF en presencia de DMA. (c) Espectro UV/Vis del DMA y Eosina Y en DMSO en el tiempo tras irradiación con luz roja. (d) Espectro UV/Vis del control de DMA en ausencia de fotosensibilizante.

En el caso de la solución conteniendo DPF2MCCor, se observó que la concentración de DMA decayó de manera exponencial, con una constante de tiempo de  $2,3 \pm 0,3 \text{ min}$ . Se observó además que el corrol se degradaba, con una constante de tiempo de  $10 \pm 2 \text{ min}$ . Los resultados sugieren la reacción del DMA con oxígeno singlete ( $^1\text{O}_2$ ), formando un endoperóxido (Gonzalez Lopez y col., 2023). El corrol también muestra degradación, muy posiblemente por reacción de apertura de anillo con el  $^1\text{O}_2$  que ataca los carbonos en posición meso, provocando la pérdida de aromaticidad del corrol y, en consecuencia, la reducción de la intensidad tanto de las bandas Soret como de las bandas Q (Wojaczyński y col., 2013).

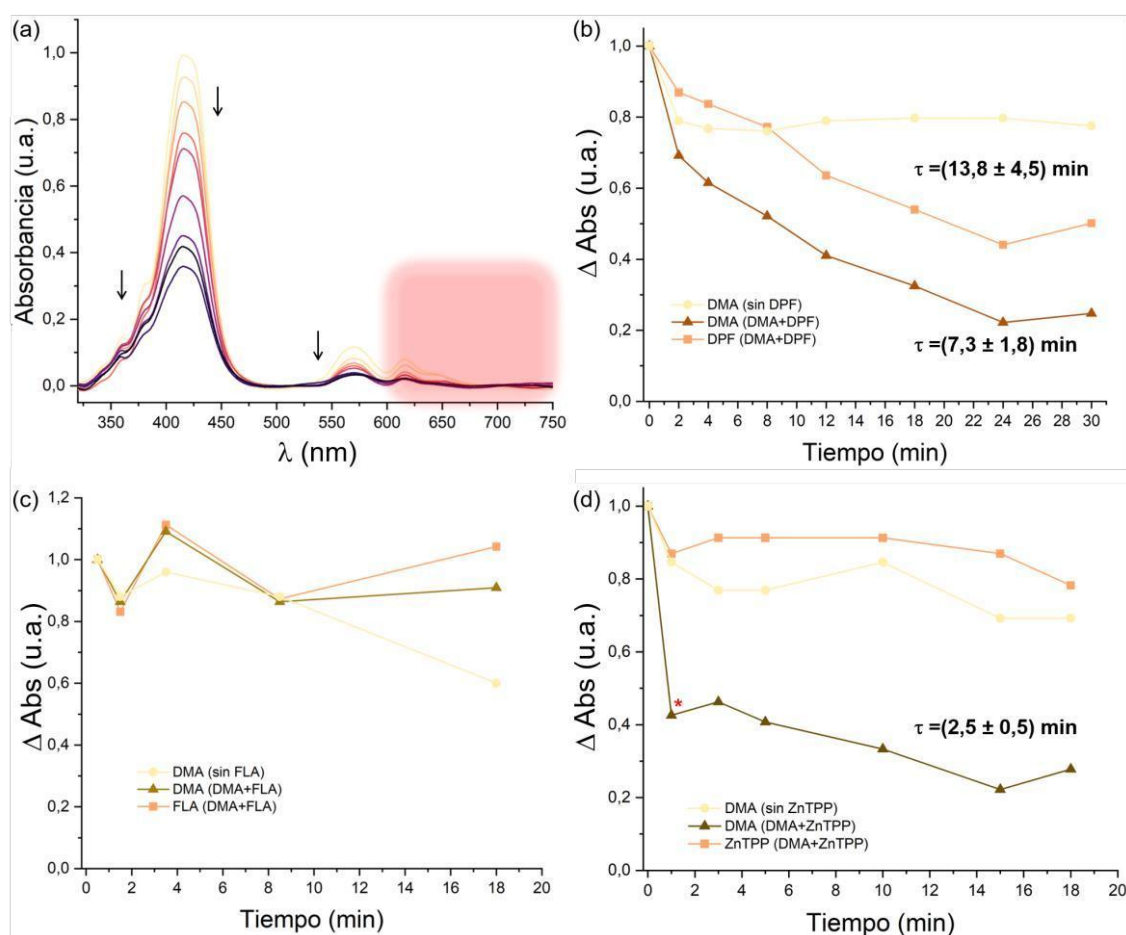
#### 4.5.2. DPF2MCCor en Nanopartículas de PLA 10–18 kDa

Por último, evaluamos la efectividad de producción de  $^1\text{O}_2$  de las partículas de DPF2MCCor/PLA 10-18 kDa en relación 1,6%, mediante experimentos de fotosensibilización en las suspensiones de NPs en  $\text{H}_2\text{O}$ . Para esto se incorporó el DMA



en la preparación de la NP, en relación 13:1 respecto al corrol (Figuras 23 - a y 23 - b). El objetivo de estos experimentos fue determinar si en el entorno polimérico de la NP, la fotosensibilización de O<sub>2</sub> era efectiva. A diferencia de los experimentos en solución, el tiempo total de irradiación fue de 30 minutos, lo cual evidencia la menor reactividad del sistema.

Como control negativo se utilizaron nanopartículas de Fluoresceína-Amina I (FLA)/PLA 10-18 kDa 1,7% (Figura 23 - c), y como control positivo se utilizaron nanopartículas de ZnTPP/PLA 10-18 kDa también en relación 1,7%, con una relación DMA a porfirina de 8:1 (Figura 23 - d), ya que las porfirinas de zinc son conocidos fotosensibilizadores de O<sub>2</sub> con alto rendimiento cuántico (Lin y col., 2020). Para estos controles, el tiempo de análisis total fue menor (18 minutos).



**Figura 23.** (a) Espectros de absorción en el tiempo de NPs DPF/PLA 10-18 kDa con DMA (b) Gráfica de puntos de  $\Delta Abs$  para el DMA en NPs PLA 10-18 kDa en ausencia de corrol, DMA en presencia de corrol y DPF en presencia de DMA. (c) Gráfica de puntos de  $\Delta Abs$  para el DMA en NPs PLA 10-18 kDa en ausencia de FS, DMA en presencia de FS y FLA en presencia de DMA. (d) Gráfica de puntos de  $\Delta Abs$  para el DMA en NPs PLA 10-18 kDa en ausencia de FS, DMA en presencia de FS y ZnTPP en presencia de DMA.



Los resultados de la Figura 23 - a concuerdan con los resultados obtenidos en solución de DMSO. Cuanto mayor es el tiempo al que se lo expone a irradiación, mayor es la degradación del sustrato. El DMA en ausencia de corrol disminuye muy levemente su concentración, mientras que en presencia del fotosensibilizante se degrada rápidamente. A partir del análisis de  $\Delta A_{\text{DMA}}$  y  $\Delta A_{\text{DFF}}$  (Figura 23 - b) con un modelo exponencial, pudimos determinar una constante de tiempo de  $7,3 \pm 1,8$  min para la degradación del DMA, y de  $13,8 \pm 4,5$  min para la degradación del corrol.

Por otro lado, el análisis de la degradación de DMA en presencia de Fluoresceína amina I, en un tiempo total de 18 minutos (Figura 23 - c), mostró una degradación nula respecto de la variabilidad de la medición, y menor que la degradación de DMA en ausencia de FLA, lo que sugiere que la degradación ocurre por el ingreso de luz espuria al vial de reacción durante el experimento. Los resultados de fotosensibilización por ZnTPP, permitieron estimar un tiempo de vida media del DMA de  $2,5 \pm 0,5$  minutos (el punto marcado con un asterisco en la Figura 23 - d no fue incluido en el ajuste exponencial). Durante el experimento la concentración de ZnTPP disminuye muy levemente, lo cual indica que la porfirina es un compuesto mucho más estable y menos reactivo que el corrol, por lo que reacciona menos con el oxígeno (menor autosensibilización). Sin embargo, es necesario destacar que las diferencias en las masas de cada FS utilizadas en las mediciones, así como efectos de agregación, pueden estar influyendo en los resultados finales.

## CAPÍTULO 5

---

### *Conclusiones*

En este trabajo de Tesina se estudiaron las propiedades espectroscópicas, fisicoquímicas, estructurales y fotoquímicas de un corrol conteniendo grupos pentafluorofenilo y metilcarboxifenilo (5,15-bis(2,3,4,5,6-pentafluorofenil)-10-(2-metilcarboxifenil)corrol, abreviado como DPF2MCcor), así como su comportamiento al ser encapsulado en distintas concentraciones en nanopartículas poliméricas (PLA). Las principales conclusiones de este trabajo fueron:

- El corrol pudo ser cristalizado y su estructura cristalina determinada por Difracción de Rayos X de monocristal, lo que reveló la presencia de dímeros estabilizados por interacciones no-covalentes de tipo  $\pi$ -stacking, fundamental para comprender el comportamiento de la molécula en estados agregados.
- Los efectos de agregación fueron también estudiados por espectroscopía de Fluorescencia. Esto reveló que en THF el corrol coexiste en equilibrio monómero-dímero a concentraciones de 4,6  $\mu$ M. En NPs este comportamiento también ocurre, a concentraciones mucho mayores (6% DPF/PLA). Estos dímeros muestran mucha menor fluorescencia, y una banda Q corrida al rojo. A partir de estos datos, se estimó el orden de magnitud de la constante de dimerización ( $K_{dim}$ ) del corrol en THF. A su vez, se determinó que la morfología de los agregados presenta diferencias estructurales según el medio, siendo que en THF predominan las interacciones tipo  $\pi$ - $\pi$  mientras que en suspensión los agregados sugieren ser de tipo J (apilamiento desplazado)
- La síntesis de nanopartículas 100% DPF, 100% PLA y en distintas relaciones DPF/PLA mediante nanoprecipitación fue exitosa. Estas NPs se caracterizaron por dispersión dinámica de luz, lo que evidenció tamaños de 144 - 245 nm al utilizar PLA 2 kDa y 96 - 128 nm para PLA 10-18 kDa de peso molecular. Adicionalmente se realizaron mediciones de microscopía de barrido electrónico (SEM), lo que mostró partículas esféricas de tamaños aproximados a 250 nm.
- Se realizaron estudios fotográficos de la fluorescencia de las nanopartículas conteniendo distintas proporciones de corrol. Las partículas con alto contenido de DPF2MCcor no mostraron fluorescencia, mientras que las de menor porcentaje (particularmente entre 0,5% y 6%) mostraron la mayor intensidad de fluorescencia. Esto pudo ser corroborado con mediciones espectroscópicas de fluorescencia de suspensiones acuosas de las nanopartículas. Estos resultados revelaron además espectros de distintas especies, las cuales se pueden asociar

al corrol aislado ( $\lambda_{\text{exc}}^{\text{max}} = 425 \text{ nm}$ ), y a corroles agregados, posiblemente dímeros ( $\lambda_{\text{exc}}^{\text{max}} \sim 458 - 485 \text{ nm}$ ).

- Finalmente se realizaron estudios de producción fotoquímica de  $^1\text{O}_2$  bajo irradiación del corrol con luz roja, en presencia de la sonda específica DMA, en solución y en suspensiones de nanopartículas, así como controles positivos y negativos apropiados. Los resultados muestran que DPF2MCcor es efectivo en la producción de  $^1\text{O}_2$  tanto en solución orgánica (constante de tiempo de  $2,3 \pm 0,3 \text{ min}$ ) como dentro de las partículas poliméricas ( $7,3 \pm 1,8 \text{ min}$ ). A su vez, el corrol experimenta una cierta degradación, aunque con una constante de tiempo mayor que la reacción con DMA.

Estos resultados en conjunto muestran la factibilidad de la producción de nanopartículas poliméricas cargadas con corroles fluorescentes y fotosensibilizantes, con potenciales aplicaciones en terapia fotodinámica, y arrojan luz sobre el comportamiento de agregación de los corroles en la matriz polimérica.

## CAPÍTULO 6

---

### *Referencias bibliográficas*

Aebisher, D., Serafin, I., Batóg-Szczęch, K., Dynarowicz, K., Chodurek, E., Kawczyk-Krupka, A., & Bartusik-Aebisher, D. (2024). Photodynamic Therapy in the Treatment of Cancer-The Selection of Synthetic Photosensitizers. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 17(7), 932. <https://doi.org/10.3390/ph17070932>

Al-Jamal, A. N., Al-Hussainy, A. F., Mohammed, B. A., Abbas, H. H., Kadhim, I. M., Ward, Z. H., Mahapatra, D. K., Joseph, T. M., Kianfar, E., & Thomas, S. (2025). Photodynamic therapy (PDT) in drug delivery: Nano-innovations enhancing treatment outcomes. *Health Sciences Review*, 14, 100218. <https://doi.org/10.1016/j.hsr.2025.100218>

Allamyradov, Y., ben Yosef, J., Annamuradov, B., Ateyeh, M., Street, C., Whipple, H., & Er, A. O. (2024). Photodynamic Therapy Review: Past, Present, Future, Opportunities and Challenges. *Photochem*, 4(4), 434-461. <https://doi.org/10.3390/photochem4040027>

Andreiuk, Bohdan, et al. "Fighting aggregation-caused quenching and leakage of dyes in fluorescent polymer nanoparticles: universal role of counterion." *Chemistry—An Asian Journal* 14.6 (2019): 836846.

Beck-Broichsitter, M., Nicolas, J., & Couvreur, P. (2015). Solvent selection causes remarkable shifts of the “Ouzo region” for poly (lactide-co-glycolide) nanoparticles prepared by nanoprecipitation. *Nanoscale*, 7(20), 9215-9221.

Brasseur, N., Brault, D., & Couvreur, P. (1991). Adsorption of hematoporphyrin onto polyalkylcyanoacrylate nanoparticles: carrier capacity and drug release. *International Journal of Pharmaceutics*, 70, 129-135.

Chatterjee, D. K., Fong, L. S., & Zhang, Y. (2008). Nanoparticles in photodynamic therapy: an emerging paradigm. *Advanced drug delivery reviews*, 60(15), 1627–1637. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2008.08.003>

Ciftci, F., Özarslan, AC, Kantarci, İ. C., Yelkenci, A., Tavukcuoglu, O. y Ghorbanpour, M. (2025). Avances en la focalización de fármacos, administración de fármacos y aplicaciones nanotecnológicas: Importancia terapéutica en el tratamiento del cáncer. *Pharmaceutics*, 17 (1), 121. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17010121>

ClinicalTrials.gov. (2026). *Photodynamic therapy – Search results*. U.S. National Library of Medicine. Recuperado el 21 de enero de 2026, de <https://clinicaltrials.gov>

Conte, C., Maiolino, S., Pellosi, D. S., Miro, A., Ungaro, F., & Quaglia, F. (2016). Polymeric Nanoparticles for Cancer Photodynamic Therapy. *Topics in current chemistry*, 370, 61–112. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-22942-3\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-22942-3_3)

Córdoba, D., Rodríguez, H. B., & Calvo, E. J. (2019). Singlet oxygen formation during the oxygen reduction reaction in DMSO LiTFSI on lithium air battery carbon electrodes. *ChemistrySelect*, 4(42), 12304-12307.

Cui, S., Guo, X., Wang, S., Wei, Z., Huang, D., Zhang, X., Zhu, T. C., & Huang, Z. (2024). Singlet Oxygen in Photodynamic Therapy. *Pharmaceuticals*, 17(10), 1274. <https://doi.org/10.3390/ph17101274>

Dixon, D. W., & Steullet, V. (1998). Dimerization of tetracationic porphyrins: ionic strength dependence. *Journal of inorganic biochemistry*, 69(1-2), 25–32. [https://doi.org/10.1016/s0162-0134\(97\)10005-8](https://doi.org/10.1016/s0162-0134(97)10005-8)

Gonzalez Lopez, E. J., Martínez, S. R., Aiassa, V., Santamarina, S. C., Domínguez, R. E., Durantini, E. N., & Heredia, D. A. (2023). Tuning the Molecular Structure of Corroles to Enhance the Antibacterial Photosensitizing Activity. *Pharmaceutics*, 15(2), 392. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020392>

Gross, E., Ehrenberg, B., & Johnson, F. M. (1993). Singlet oxygen generation by porphyrins and the kinetics of 9,10-dimethylantracene photosensitization in liposomes. *Photochemistry and photobiology*, 57(5), 808–813. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1993.tb09215.x>

Gunaydin, G., Gedik, M. E., & Ayan, S. (2021). Photodynamic Therapy-Current Limitations and Novel Approaches. *Frontiers in chemistry*, 9, 691697. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.691697>

Hua, Z., Dai, C., Yang, Y., & Song, Y. (2025). Wearable bioelectronics for cancer theranostics. *Microsystems & nanoengineering*, 11(1), 180. <https://doi.org/10.1038/s41378-025-01048-5>

Hwang, Jae Youn, et al. "Photoexcitation of tumor-targeted corroles induces singlet oxygen-mediated augmentation of cytotoxicity." *Journal of controlled release* 163.3 (2012): 368-373.

Jiang, X., Liu, R. X., Liu, H. Y., & Chang, C. K. (2019). Corrole-based photodynamic antitumor therapy. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 66(9), 1090-1099.

- Kim, Y., Kwak, J., Lim, M., Lim, S. Y., Chae, S., Ha, S. J., Won, Y. W., Kim, H. O., & Lim, K. S. (2025). Advances in PCL, PLA, and PLGA-Based Technologies for Anticancer Drug Delivery. *Pharmaceutics*, 17(10), 1354. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17101354>
- Koza, P., Kubiak, J., Goslinski, T., & Koczorowski, T. (2025). Recent Advances in Pharmaceutical and Medical Applications in the Area of Selected Porphyrinoids Connected with PLGA or PLGA-Based Modalities. *Polymers*, 17(23), 3190. <https://doi.org/10.3390/polym17233190>
- Kuddushi, M., Kanike, C., Xu, B. B., & Zhang, X. (2025). *Recent advances in nanoprecipitation: From mechanistic insights to applications in nanomaterial synthesis*. *Soft Matter*, 21(15), 2759–2781. <https://doi.org/10.1039/d5sm00006h>
- Lemon, C. (2020). Corrole photochemistry. *Pure and Applied Chemistry*, 92(12), 1901-1919. <https://doi.org/10.1515/pac-2020-0703>
- Lin, Y., Zhou, T., Bai, R., & Xie, Y. (2020). Chemical approaches for the enhancement of porphyrin skeleton-based photodynamic therapy. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 35(1), 1080-1099.
- Liu, Y., Yang, G., Jin, S., Zhang, R., Chen, P., Tengjisi, Wang, L., Chen, D., Weitz, D. A., & Zhao, C. X. (2020). J-Aggregate-Based FRET Monitoring of Drug Release from Polymer Nanoparticles with High Drug Loading. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 59(45), 20065–20074. <https://doi.org/10.1002/anie.202008018>
- Mahammed, A., & Gross, Z. (2002). Aluminum corrolin, a novel chlorophyll analogue. *Journal of inorganic biochemistry*, 88(3-4), 305–309. [https://doi.org/10.1016/s0162-0134\(01\)00373-7](https://doi.org/10.1016/s0162-0134(01)00373-7)
- Miao, X., Jia, M., Weng, X. *et al.* Alleviating NIR-II emission quenching in ring-fused fluorophore via manipulating dimer populations for superior fluorescence imaging. *Light Sci Appl* 14, 109 (2025). <https://doi.org/10.1038/s41377-025-01787-0>
- Mitchell, M. J., Billingsley, M. M., Haley, R. M., Wechsler, M. E., Peppas, N. A., & Langer, R. (2021). Engineering precision nanoparticles for drug delivery. *Nature reviews. Drug discovery*, 20(2), 101–124. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-0090-8>
- Niculescu, A.-G., & Grumezescu, A. M. (2021). Photodynamic Therapy—An Up-to-Date Review. *Applied Sciences*, 11(8), 3626. <https://doi.org/10.3390/app11083626>



Oppenheim, Julius, et al. "Structures and spectroscopic properties of metallocorrole nanoparticles." *Inorganic chemistry* 58.15 (2019): 10287-10294

Orłowski, R., Tasior, M., Staszewska-Krajewska, O., Dobrzycki, Ł., Schilf, W., Ventura, B., Cyrański, M. K., & Gryko, D. T. (2017). Hydrogen Bonds Involving Cavity NH Protons Drives Supramolecular Oligomerization of Amido-Corroles. *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)*, 23(42), 10195–10204. <https://doi.org/10.1002/chem.201701674>

Orłowski, Rafał, et al. "Hydrogen Bonds Involving Cavity NH Protons Drives Supramolecular Oligomerization of Amido-Corroles." *Chemistry—A European Journal* 23.42 (2017): 10195-10204.

PhotochemCAD. (2026). Recuperado el 16 de marzo de 2026, de <https://www.photochemcad.com/databases/common-compounds?search=ZnTPP>

Reisch, A., & Klymchenko, A. S. (2016). Fluorescent Polymer Nanoparticles Based on Dyes: Seeking Brighter Tools for Bioimaging. *Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)*, 12(15), 1968–1992. <https://doi.org/10.1002/sml.201503396>

Rodrigues, J. A., & Correia, J. H. (2022). Enhanced Photodynamic Therapy: A Review of Combined Energy Sources. *Cells*, 11(24), 3995. <https://doi.org/10.3390/cells11243995>

Seremeta, K. P., Chiappetta, D. A., & Sosnik, A. (2013). Poly(ε-caprolactone), Eudragit® RS 100 and poly(ε-caprolactone)/Eudragit® RS 100 blend submicron particles for the sustained release of the antiretroviral efavirenz. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 102, 441–449. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.06.038>

Sharma, V. K., Mahammed, A., Mizrahi, A., Morales, M., Fridman, N., Gray, H. B., & Gross, Z. (2021). Dimeric Corrole Analogs of Chlorophyll Special Pairs. *Journal of the American Chemical Society*, 143(25), 9450–9460. <https://doi.org/10.1021/jacs.1c02362>

Singh, S., Sharma, A., Chatterjee, S., & Singh, B. (2024). Recent advances in corrole-based nanomaterials for photodynamic therapy. *Nanoscale*, 16(3), 1076–1100. <https://doi.org/10.1039/D3NR05801H>

Tarai, A., Mallick, J., Singh, P., Conradie, J., Kar, S., & Ghosh, A. (2023). Free-Base Corrole Anion. *The Journal of organic chemistry*, 88(18), 13022–13029. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.3c01125>

Vagena, I.-A., Malapani, C., Gatou, M.-A., Lagopati, N., & Pavlatou, E. A. (2025). Enhancement of EPR Effect for Passive Tumor Targeting: Current Status and Future Perspectives. *Applied Sciences*, 15(6), 3189. <https://doi.org/10.3390/app15063189>

Wojaczyński, J., Duszak, M., & Latos-Grażyński, L. (2013). Photooxidation of unhindered triarylcorroles. *Tetrahedron*, 69(48), 10445-10449.

Würth, C., Grabolle, M., Pauli, J., Spieles, M., & Resch-Genger, U. (2013). Relative and absolute determination of fluorescence quantum yields of transparent samples. *Nature protocols*, 8(8), 1535–1550. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.087>

Yadav, P., & Sankar, M. (2017). Spectroscopic and theoretical studies of anionic corroles derived from phosphoryl and carbomethoxyphenyl substituted corroles. *Chemical Physics Letters*, 677, 107-113.

Zhan, X., Kim, D., Ullah, Z., Lee, W., Gross, Z., & Churchill, D. G. (2023). Photophysics of corroles and closely related systems for emergent solar energy, medicinal, and materials science applications. *Coordination Chemistry Reviews*, 495, Article 215363. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2023.215363>

## CAPÍTULO 7

---

### *Publicaciones y Congresos*

Parte de los resultados obtenidos en el marco del presente trabajo de tesina, dieron lugar a las siguientes presentaciones a congresos y publicaciones:

### 7.1. Congresos

Presentación Oral en el Encuentro de Jóvenes Investigadores llevado a cabo en octubre del 2024 en la ciudad de Santa Fe bajo el título: “Síntesis de nanopartículas fluorescentes basadas en corroles”. Autores: Valentina Giorda, Lucila Navarro, Neuman, Nicolás.

XXIV Congreso Argentino de Fisicoquímica y Química Inorgánica (Neuquén – Bahía Blanca) de modalidad virtual en abril 2025. Título: “Nanopartículas poliméricas con corroles fluorescentes. Caracterización y fotosensibilización de O<sub>2</sub>”. Autores: Valentina Giorda, Gianella Van Cauwenberghe, Matías Picchio, Marcelo Calderón, Lucila Navarro, Nicolás I. Neuman.

### 7.2. Publicaciones

Neuman NI, Giorda V, Gaviglio C, Singha Hazari A, González PJ, Vaillard SE, Sarkar B. Electronic Structure and Hypercorrole Features of Deprotonated Free-Base and Reduced Copper Corroles. Inorg Chem. 2025 Nov 24;64(46):22592-22603. doi: <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.5c02893>. Epub 2025 Nov 6. PMID: 41199416.

En esta publicación, como colaboradora mi trabajo consistió en caracterizar a los corroles Cu(5,15-bis-(4-metilcarboxifenil)-10-(2-metilcarboxifenil)corrol (**1Cu**) y Cu(5,15-bis-(4-nitrofenil)-10-(2-metilcarboxifenil)corrol (**2Cu**) durante procesos de reducción mediante titulación con NaBH<sub>4</sub>. Los cambios electrónicos fueron monitoreados mediante espectroscopía UV-Visible. Además, registré las variaciones del color de las soluciones mediante fotografía como información complementaria, y determiné coeficientes de extinción molar de los corroles libres. El trabajo fue destacado en tapa suplementaria (Supplementary Cover) en la revista Inorganic Chemistry.