

Saltillo, Coahuila a 9 de octubre de 2020

**Programa de Maestría en Tecnología de Polímeros**

**Coordinación de Posgrado  
Presente**

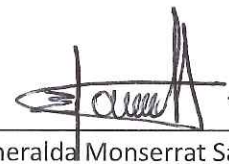
Por este conducto nos permitimos informar a esta coordinación que, el documento de tesis preparado por **LUIS ANTONIO RIVERA ESCOBEDO** titulado Síntesis de un nanocompósito de poli(vinilcaprolactama)- $\text{Hf}_x\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$  con propiedades termo-responsivas para su uso como liberador de medicamentos el cual fue presentado el día 7 de octubre de 2020, ha sido modificado de acuerdo a las observaciones, comentarios y sugerencias, realizadas por el Comité Evaluador asignado. Por tal motivo, avalamos que el documento adjunto corresponde a la versión final del documento de tesis.

Atentamente,




Dr. Carlos Alberto Gallardo Vega

**SINODALES**



Dra. Esmeralda Monserrat Saucedo Salazar



Dr. José de Jesús Kú Herrera

**Vo. Bo. de los asesores**



Dr. Luis Alfonso García Cerda

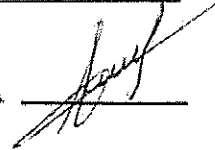


Dr. Héctor Iván Meléndez Ortiz

# TESIS CON CARACTER ABIERTO

PROGRAMA: MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE POLÍMEROS

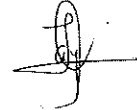
AUTOR: LUIS ANTONIO RIVERA ESCOBEDO FIRMA



TITULO: Síntesis de un nanocompósito de poli(vinilcaprolactama)-Hf<sub>x</sub>Fe<sub>3-x</sub>O<sub>4</sub> con propiedades termo-responsivas para su uso como liberador de medicamentos.

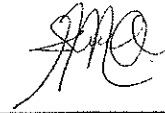
ASESORES: Dr. Luis Alfonso García Cerda

FIRMA



Dr. Héctor Iván Meléndez Ortiz

FIRMA



El Centro de Investigación en Química Aplicada clasifica el presente documento de tesis como ABIERTO.

Un documento clasificado como Abierto se expone en los estantes del Centro de Información para su consulta. Dicho documento no puede ser copiado en ninguna modalidad sin autorización por escrito del Titular del Centro de Información o del Director General del CIQA.

Saltillo, Coahuila, a 7 de Octubre de 2020



Sello de la Institución



Dr. Oliverio Santiago Rodríguez Fernández  
Director General del CIQA

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA**  
**Programa de Maestría en Tecnología de Polímeros**

**TESIS**

**Síntesis de un nanocompósito de poli(vinilcaprolactama)- $\text{Hf}_x\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$  con propiedades termo-responsivas para su uso como liberador de medicamentos**

*Presentada por:*

**LUIS ANTONIO RIVERA ESCOBEDO**

*Para obtener el grado de:*

**Maestro en Tecnología de Polímeros**

*Asesorado por:*

**Dr. Luis Alfonso García Cerda**  
**Dr. Héctor Iván Meléndez Ortiz**

**SINODALES**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Carlos Alberto Gallardo Vega**  
**Presidente**

  
\_\_\_\_\_  
**Dra. Esmeralda Monserrat Saucedo Salazar**  
**Secretario**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. José de Jesús Kú Herrera**  
**Vocal**

**Saltillo, Coahuila**

**Octubre, 2020**

---

# Centro de Investigación en Química Aplicada

Maestría en Tecnología de Polímeros



TESIS:



---

“Síntesis de un nanocompósito de poli(vinilcaprolactama)- $\text{Hf}_x\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$  con propiedades termo-responsivas para su uso como liberador de medicamentos”

---



PRESENTADA POR:  
Ing. Luis Antonio Rivera Escobedo

PARA OBTENER EL GRADO DE:  
Maestro en Tecnología de Polímeros

Asesorado por:  
Dr. Luis Alfonso García Cerda  
Dr. Héctor Iván Meléndez Ortíz

Saltillo, Coahuila | Octubre 2020

---

## DECLARACIÓN

Declaro que la información contenida en la Parte Experimental así como en la Parte de Resultados y Discusiones de este documento y que forman parte de las actividades de investigación y desarrollo realizadas durante el período que se me asignó para llevar a cabo mi trabajo de tesis, será propiedad del Centro de Investigación en Química Aplicada.

Saltillo, Coahuila a 7 de octubre de 2020



LUIS ANTONIO RIVERA ESCOBEDO

Nombre y Firma



*“Así que recordemos mirar arriba, a las estrellas y no abajo, a nuestros pies. Intentemos dar sentido a lo que vemos y preguntémonos curiosos. Por difícil que la vida pueda parecer, siempre hay algo que podemos hacer y tener éxito. Lo único que cuenta es no rendirse. Demos rienda suelta a nuestra imaginación. Demos forma al futuro.*

-Stephen Hawking  
(1942 – 2018)

---



## Dedicatoria

Dedico este logro principalmente a Dios, por brindarme la fortaleza y la sabiduría para culminar mis estudios de posgrado superando las adversidades y obstáculos que se presentaron en el camino durante la realización de este trabajo.

A todas aquellas personas que fueron parte de este proceso, que estuvieron a mi lado brindándome su apoyo y su verdadera amistad.

Sobre todo, a mis padres y hermano, quienes han sido mi mayor soporte y motor a lo largo de mi vida con cada palabra de aliento. Este logro es fruto de su inmensurable amor y apoyo incondicional a cada decisión que he tomado. Gracias por siempre motivarme a perseguir mis sueños.

## Agradecimientos

A mis asesores el Dr. Luis Alfonso García Cerda y el Dr. Héctor Iván Meléndez Ortíz, por regalarme su confianza y amistad durante el desarrollo de este trabajo, por guiarme y brindarme su conocimiento para la comprensión de este proyecto, ustedes me han hecho crecer profesional y académicamente. Gracias.

A CONACYT por el apoyo parcial del proyecto 924033 y la beca de maestría otorgada No. 718582 que me permitió realizar mi posgrado.

Al Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA) por permitirme cursar el posgrado, así como por brindarme todas las facilidades para la realización de este trabajo.

Al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV), en especial a la Dra. Dora Cortez y a la MC. Laura Elena De León Prado por permitirme llevar a cabo las pruebas de hipertermia magnética en sus equipos y por todo el apoyo brindado.

A la Lic. Bertha A. Puente Urbina, encargada del Laboratorio de Síntesis de Nanomateriales por brindarme su amistad y apoyo, además de su disponibilidad y ayuda durante la etapa experimental de este proyecto.



Al Ing. Jesús Alfonso Mercado Silva del Laboratorio Nacional de Materiales Grafénicos por permitirme utilizar sus equipos de TGA.

Al MC. Gilberto Francisco Hurtado López por su apoyo en las caracterizaciones por magnetometría de muestra vibrante (VSM).

Al Dr. Enrique Díaz Barriga por su apoyo y asistencia en las caracterizaciones por microscopía electrónica de transmisión.

A la LCQ. Julieta Sánchez por su apoyo y asistencia en las pruebas de caracterización por Infrarrojo (FT-IR).

A la MC. Adriana Núñez y al MC. Jorge Orozco por su guía y consejo durante la realización de este trabajo.

A mi familia por su consejo y apoyo, así como su continua motivación durante todo el posgrado, han sido un pilar importante en este logro.

A Camila Quezada por su apoyo y amor incondicional, has sido una parte fundamental en este logro. Gracias por siempre creer en mí y motivarme a dar lo mejor. Un paso más juntos, Te amo.

A todos mis amigos: Antonio, Dafne, Daniel, David, Elton, Gabriela, Ilse, Karla, Lariza, Leonel, Lidi, Marco, Miguel, Paola, Roberto y Sergio, por regalarme su amistad y confianza en esta etapa, por sus valiosos consejos, apoyo emocional y todos los hermosos momentos que compartimos juntos. Sin ustedes no estaría aquí; Gracias.

## Resumen

En este trabajo se sintetizó un nanocompósito formado por nanopartículas de magnetita dopadas con hafnio y un polímero termosensible, la poli(vinil caprolactama) (PNVCL), el cual se propuso como un sistema inteligente para liberación controlada de doxorubicina (DOX). La síntesis de las nanopartículas magnéticas de tamaños menores a 20 nm se llevó a cabo por coprecipitación química inversa. Las partículas magnéticas fueron funcionalizadas con viniltrimetoxisilano y usadas para la síntesis de un nanocompósito de poli(vinilcaprolactama)- $Hf_xFe_3-xO_4$  con propiedades termo-responsivas mediante polimerización vía radicales libres. Se evaluó la influencia de la cantidad de monómero y tiempo de reacción en el porcentaje de injerto de PNVCL en el nanocompósito para estudiar su relación con la capacidad de carga-liberación de DOX. Los materiales obtenidos fueron caracterizados mediante difracción de rayos X (XRD), espectroscopía por transformada de Fourier (FTIR), análisis termogravimétrico (TGA), microscopía electrónica de transmisión (TEM) y magnetometría de muestra vibrante (VSM). Se obtuvieron dos nanocompósitos con un injerto de PNVCL de 20% y 37.5%, los cuales se cargaron con DOX a partir de una solución acuosa y posteriormente se estudió su liberación a 25 y 37 °C. Tanto las partículas de magnetita dopada como los nanocompósitos presentaron un comportamiento superparamagnético, lo cual es ideal para su aplicación en sistemas de liberación de medicamentos. Los estudios de carga mostraron que el nanocompósito pudo cargar aproximadamente un 61.1% (con 20% de injerto) y 80.2% (con 37.5% de injerto) de DOX con respecto al total utilizado en la preparación. Respecto a los estudios de liberación, los resultados mostraron una clara influencia de la temperatura utilizada, al aumentar la temperatura la liberación se incrementó, en ambos nanocompósitos el porcentaje de liberación a 25 °C estuvo en el rango de 45-50%, mientras que a 37 °C este porcentaje aumento en un rango entre 69-75% en un tiempo de 71 h.

# Contenido

<b>Dedicatoria</b> .....	<b>i</b>
<b>Agradecimientos</b> .....	<b>ii</b>
<b>Resumen</b> .....	<b>iv</b>
<b>Abreviaturas</b> .....	<b>vii</b>
1. Introducción .....	1
2. Antecedentes .....	3
2.1 El cáncer .....	3
2.1.1 Tratamientos convencionales .....	4
2.1.2 Tratamientos poco convencionales .....	5
2.1.3 Tratamientos Innovadores .....	6
2.1.4 Medicamentos más utilizados en tratamientos contra el cáncer .....	9
2.1.5 Doxorrubicina (DOX) .....	10
2.2 Nanopartículas de óxidos de hierro.....	11
2.2.1 Nanopartículas de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> .....	12
2.2.2 Nanopartículas de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> dopadas .....	14
2.2.3 Nanopartículas de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> dopadas con hafnio (Hf <sub>x</sub> Fe <sub>3-x</sub> O <sub>4</sub> ) .....	16
2.2.4 Síntesis de nanopartículas magnéticas.....	18
2.3 Polímeros estímulo-sensibles .....	19
2.3.1 Poli(vinil-caprolactama) .....	24
2.4 Sistemas ferritas-polímero inteligente para liberación de fármacos ....	27
3. Objetivo general .....	31
3.1 Objetivos específicos.....	31
4. Justificación .....	32
5. Hipótesis .....	33
6. Metodología.....	33
6.1 Materiales y reactivos .....	33

6.2	Síntesis de nanopartículas magnéticas de $Hf_xFe_{3-x}O_4$ .....	33
6.2.1	Funcionalización de nanopartículas magnéticas de $Hf_xFe_{3-x}O_4$ con VTMS .....	34
6.2.2	Preparación del nanocompósito .....	35
6.3	Carga y liberación del fármaco .....	38
6.4	Pruebas de hipertermia magnética .....	39
6.5	Técnicas de caracterización .....	39
6.5.1	Análisis termogravimétrico (TGA) .....	39
6.5.2	Espectroscopia de Infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR) .....	40
6.5.3	Difracción de rayos X (XRD) .....	40
6.5.4	Magnetometría de muestra vibrante (VSM) .....	40
6.5.5	Microscopía electrónica de transmisión (TEM) .....	40
6.5.6	Espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-vis) .....	41
7.	Resultados .....	42
7.1	Difracción de Rayos X (XRD) .....	42
7.2	Magnetometría de muestra vibrante (VMS) .....	43
7.3	Hipertermia magnética .....	45
7.4	Análisis Termogravimétrico (TGA) – MNPs-VTMS .....	46
7.5	Microscopía electrónica de transmisión (TEM) – MNPs-VTMS .....	48
7.6	Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) – MNPs-VTMS .....	49
7.7	Análisis Termogravimétrico (TGA) – MNPs-g-PVCL .....	50
7.9	Microscopía electrónica de transmisión (TEM) – MNPs-g-PVCL .....	55
7.10	Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) – MNPs-g-PVCL .....	57
7.11	Estudios de carga y liberación de doxorrubicina .....	58
8.	Conclusiones .....	63
	Perspectivas futuras .....	65
9.	Referencias .....	66
10.	Apéndices .....	79

## Abreviaturas

**ENT:** Enfermedades no transmisibles

**NPs:** Nanopartículas

**MNPs:** Nanopartículas de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )

**MNPs-Dop:** Nanopartículas de magnetita dopadas con Hafnio

**NCs:** Nanocompósitos

**NVCL:** N-vinil caprolactama

**PVCL:** Poli(vinilcaprolactama)

**PDT:** Terapia fotodinámica

**PTT:** Terapia fototérmica

**DOX:** Doxorubicina

**DOXIL:** Doxorubicina en estructura liposomal

**DAU:** Daunorrubicina

**$\text{AB}_2\text{O}_4$ :** Fórmula general de estructura tipo espinela

**$\text{Fe}^{2+}$ :** Cation de hierro con carga 2+

**$\text{Fe}^{3+}$ :** Cation de hierro con carga 3+

**$\text{Hf}^{4+}$ :** Cation de hafnio con carga 4+

**JCPDS:** Joint Committee on Powder Diffraction Standards

**PTX:** Paclitaxel

**MTX:** Metotrexato

**Tc:** Temperatura de Curie

**$M_xFe_{3-x}O_4$** : Magnetita dopada con diferentes cationes “M”

**$M_s$** : Magnetización de saturación

**$M_r$** : Magnetización remanente

**$H_c$** : Coercitividad

**UCST**: Temperatura de solución crítica superior

**LCST**: Temperatura de solución crítica inferior

**PNIPAM**: Poli(N-isopropilacrilamida)

**MNPs-PNVCL**: sistema híbrido formado por nanopartículas y poli(vinilcaprolactama)

**VTMS**: Viniltrimetoxisilano

**XRD**: Difracción de rayos X

**FT-IR**: Espectroscopía de Infrarrojo por transformada de Fourier

**TGA**: Análisis termogravimétrico

**VSM**: Magnetometría de muestra vibrante

**TEM**: Microscopía electrónica de transmisión

**UV-vis**: Espectrometría de ultravioleta-visible

**SAED**: Difracción de electrones de área específica

## 1. Introducción

---

Las enfermedades no transmisibles (ENT) o crónicas son afecciones de larga duración con una progresión generalmente lenta, que son resultado de una combinación de factores genéticos, fisiológicos, ambientales y de comportamiento. Las principales ENT son las enfermedades cardiovasculares (infartos de miocardio o accidentes cerebrovasculares), respiratorias (neumopatía obstructiva crónica o el asma), diabetes y el cáncer. Las ENT son responsables de la mayoría de las muertes a nivel mundial, y se espera que el cáncer se convierta en la principal causa de muerte a nivel mundial y la barrera de mayor importancia para incrementar el promedio de vida en cualquier país en el siglo 21. Cada año el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) estima el número de nuevos casos, mortalidad y predominio de 36 tipos diferentes de cáncer en 185 países, datos del GLOBOCAN reportan que en el 2018 hubo cerca de 18.1 millones de nuevos casos y 9.6 millones de muertes por cáncer. Durante ese año, el tipo de cáncer diagnosticado con mayor frecuencia en ambos sexos fue: pulmón (11.6%), mama (11.6%), próstata (7.1%), colorrectal (6.1%), estómago (8.2%) e hígado (8.2%), siendo el cáncer de pulmón la principal causa de muerte en varones seguido por el cáncer de próstata y colorrectal, mientras que en mujeres el cáncer de mama fue la principal causa de muerte seguido por el cáncer colorrectal y de pulmón. En este mismo año existieron 190,667 nuevos casos en México y 83,476 muertes por cáncer siendo las principales causas de muerte en varones el cáncer de próstata, colorrectal y pulmón, mientras que en mujeres el cáncer de mama, tiroides y cervicouterino<sup>[1]</sup>. Actualmente los tratamientos empleados para combatir el cáncer son: cirugía, radioterapia, quimioterapia, hormonoterapia e inmunoterapia. La efectividad de cada uno de estos tratamientos depende de la etapa en que se detecte la

enfermedad, por lo que su eficiencia puede ser exitosa o deficiente, además que son poco precisos y seguros<sup>[2]</sup>.

Actualmente, la ciencia busca nuevos tratamientos que puedan reemplazar o incrementar la efectividad de los tratamientos convencionales. Por esto, se ha propuesto el uso de nanomateriales capaces de mejorar los tratamientos incrementando su eficacia por dosis además de su selectividad dirigida<sup>[2]</sup>. El uso de la nanotecnología permite crear y diseñar dispositivos a escala de átomos, los cuales exhiben mejores propiedades y eficiencia. Dichos materiales destacan algunas características como su diminuto tamaño de partícula, estrecha distribución de tamaño, bajos niveles de aglomeración, alta área superficial y alta selectividad específica<sup>[3]</sup>.

Por lo anterior, en este trabajo se propone la preparación de nanomateriales que pueden ser empleados como una alternativa para el tratamiento de cáncer, para esto se planteó desarrollar nanocompósitos a base de nanopartículas de magnetita dopadas con hafnio ( $\text{Hf}_x\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ ) y polivinilcaprolactama (PVCL) que se empleen como sistemas liberadores de fármacos y posiblemente en tratamientos de hipertermia magnética contra cáncer como una alternativa a la quimioterapia. El uso de polímeros inteligentes, como la PVCL, representa una opción promisoriosa en el área biomédica, debido a que cuenta con buenas cualidades que lo hacen apropiado para terapias contra el cáncer, tales como: solubilidad en agua y disolventes orgánicos, estabilidad a la hidrólisis, bicompatibilidad, alta capacidad de absorción, termosensibilidad y no toxicidad<sup>[4]</sup>.



## 2. Antecedentes

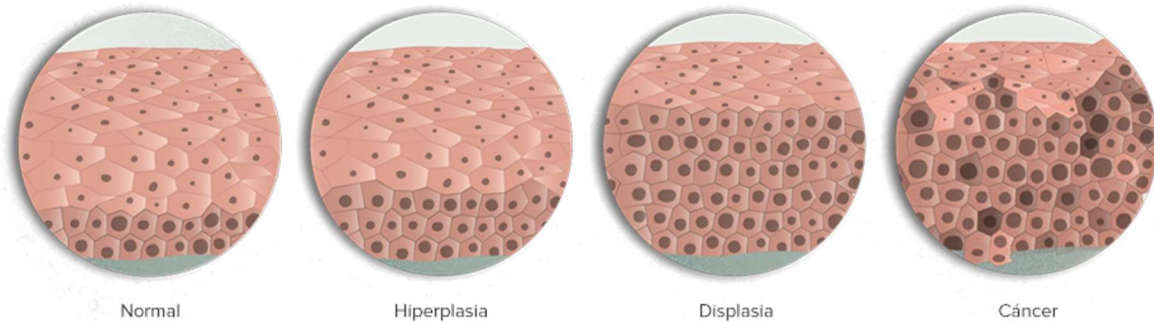
---

### 2.1 El cáncer

El cáncer es una enfermedad compleja causada por inestabilidad genética y acumulación de múltiples alteraciones moleculares. Este fundamento se basa en el descubrimiento de mutaciones que producen oncogenes con función dominante y genes supresores de tumores con función recesiva; ambas clases de genes cancerosos han sido identificados a través de su alteración en células cancerígenas humanas y animales y por la obtención de fenotipos de cáncer en modelos experimentales<sup>[5]</sup>.

Las células normales sólo se reproducen cuando son instruidas a hacerlo por otras células vecinas. Esta colaboración asegura que cada tejido mantenga su tamaño y arquitectura apropiada a las necesidades del cuerpo. Las células cancerígenas, en contraste, violan este esquema; no ven afectadas por los controles usuales de proliferación y siguen su propia agenda para reproducirse sin restricciones y de manera descontrolada. Incluso adoptan la habilidad de migrar del sitio donde comenzaron, invadiendo tejidos cercanos y formando masas en distintas partes del cuerpo, que son aglomerados de células llamados tumores. El desarrollo de un tumor comienza cuando una célula experimenta una mutación genética que incrementa su propensión a proliferar cuando normalmente descansaría. La célula alterada y sus descendientes comienzan a reproducirse en mayor proporción (hiperplasia) y después de algunos años una de esas células sufre otra mutación que provoca la pérdida de control en su crecimiento. La descendencia de esta célula presenta formas anormales y diferentes orientaciones (displasia), una vez más después de un tiempo, ocurre otra mutación que altera el comportamiento celular. La célula afectada se vuelve más anormal en crecimiento y apariencia, hasta formar un tumor apreciable; ocurren más mutaciones en las demás células y dicho tumor comienza a invadir tejido subyacente hasta arrojar células en vasos sanguíneos para invadir otros órganos, es entonces cuando la

masa se considera maligna (figura 1). Estas células enviadas por el torrente sanguíneo pueden formar nuevos tumores (metástasis) a través del cuerpo hasta ser letal al irrumpir en órganos vitales<sup>[6]</sup>.



**Figura 1.** Desarrollo de las etapas principales del cáncer.

### 2.1.1 Tratamientos convencionales

El cáncer actualmente es la segunda principal causa de muerte a nivel mundial. Su diagnóstico y tratamiento temprano han resultado en una mejora significativa de sobrevivencia. El tratamiento de esta enfermedad depende de la edad, estado de salud, y tipo, tamaño y etapa del cáncer. Durante años, los tratamientos más utilizados para combatir cáncer han sido:

- a) **Cirugía:** Es el tratamiento más antiguo. Si el cáncer no ha hecho metástasis, puede ser removido por cirugía. El objetivo es remover el tumor u órgano entero junto con tejido circundante, para asegurar la eliminación de todas las células cancerosas<sup>[7]</sup>.
- b) **Radioterapia:** Utiliza radiación de alta energía para eliminar células cancerosas, se utilizan rayos x y gamma en este tratamiento. La radioterapia daña directamente el ADN de las células cancerígenas y las elimina generando radicales libres dentro de la célula. La radiación puede dañar ambas, células sanas y cancerosas pero la diferencia radica en que las células normales pueden reparar daños en el ADN y restaurar sus funciones más rápido que las células cancerígenas. Este tipo de tratamiento normalmente se emplea en conjunto con otras terapias<sup>[7]</sup>.

- c) **Quimioterapia:** Los agentes quimioterapéuticos o antineoplásicos son fármacos citotóxicos utilizados para el tratamiento de cáncer, los cuales atacan células de crecimiento rápido, mediante el bloqueo de algún elemento crítico del proceso de división celular alterando la mitosis y consecuentemente promoviendo la apoptosis. El tipo de tratamiento, duración, dosis, fármacos, etc., dependerá del tipo de cáncer, localización y estado del paciente. Mientras que el éxito de la terapia depende de la liberación de concentraciones suficientes de fármaco a células tumorales sin causar toxicidad intolerable al paciente. Este tratamiento puede ser utilizado para diversos tipos de cáncer debido a que en la actualidad se cuenta con gran cantidad de medicamentos que pueden administrarse de manera individual o combinada<sup>[8]</sup>.

### 2.1.2 Tratamientos poco convencionales

Además de los tratamientos ya mencionados, existen una variedad de tratamientos que, si bien han mostrado ser eficaces y comparables con los tratamientos convencionales, han sido poco difundidos y por lo tanto son poco conocidos. Los tratamientos poco convencionales son:

- a) **Hormonoterapia:** Es una terapia en la que se administran fármacos que viajan por todo el cuerpo, en lugar de ser administrados directamente al tumor y funcionan añadiendo, bloqueando o removiendo hormonas del cuerpo para alentar o detener el crecimiento de células cancerígenas. Se utiliza en conjunto con otros tratamientos, principalmente cirugía y radioterapia<sup>[9]</sup>.
- b) **Inmunoterapia:** El sistema inmune detectará y destruirá células anormales, previniendo el desarrollo del cáncer, pero en algunos casos no es así, la célula cancerígena evita su detección y eliminación. Por esto, la inmunología desarrolló este tratamiento en el cual se incrementa la fuerza del sistema inmune mediante estimulación de algunos de sus componentes específicos o mediante la supresión de señales producidas por la célula cancerígena que suprimen el sistema inmune<sup>[10]</sup>.
- c) **Trasplante de células madre:** El trasplante de médula ósea es un procedimiento que restaura las células madre que fueron destruidas por altas dosis de quimioterapia o radioterapia. Un trasplante de células

madre puede ser usado para introducir células madre sanas al cuerpo que estimulen el crecimiento de médula ósea nueva, suprimiendo la enfermedad y reduciendo las posibilidades de un relapso<sup>[11]</sup>.

### **2.1.3 Tratamientos Innovadores**

El cáncer sigue siendo uno de los mayores problemas de salud alrededor del mundo; Nuevas terapias dirigidas o biológicas e inmunoterapias han sido recientemente (2016) aprobadas que mejoran la eficacia de los tratamientos mientras reducen el daño colateral a tejidos no cancerosos<sup>[12]</sup>. Las terapias convencionales para cáncer como la quimioterapia y radioterapia permanecen como un pilar en los tratamientos, pero en muchos casos hace falta un enfoque dirigido, y los pacientes pueden ser vulnerables a la resistencia de los medicamentos. En años recientes, conceptos novedosos han surgido para mejorar las opciones terapéuticas tradicionales en cánceres terminales. Nuevas estrategias terapéuticas involucrando áreas como biología molecular, avances en medicina y nanotecnología están impulsando la nueva generación de tratamientos contra cáncer <sup>[13]</sup>. Algunas de las terapias actuales para combatir el cáncer son:

**Fototerapia:** Es una forma de tratamiento que utiliza luz de longitud de onda específica para tratar diferentes enfermedades. Existen principalmente dos tipos: terapia fotodinámica (PDT) y terapia fototérmica (PTT). La PTT convierte la energía de los fotones en calor para destruir células cancerígenas. Es llevada a cabo en presencia de un agente fototérmico el cual ayuda en el calentamiento selectivo en el sitio del tumor, provocando una desnaturalización de proteínas y disrupciones en la membrana celular, causando la muerte de la célula<sup>[14]</sup>. La PDT es un tratamiento en el que se utiliza un agente fotosensible, el cual es administrado en el tumor y es irradiado selectivamente con luz láser de una longitud de onda específica. Para destruir efectivamente los tumores es importante evitar agregación de fármacos, ya que esto reduce la potencia de la terapia<sup>[15]</sup>.

**Terapia génica:** Consiste en la introducción de material genético dentro de células para compensar genes anormales o para promover la síntesis de una proteína benéfica. La terapia génica puede ser una alternativa para

el tratamiento de enfermedades a nivel genético, modificando la biología de las células para un beneficio terapéutico [16, 17] .

**Sistemas nanoacarreadores:** El campo de la nanomedicina diseña y desarrolla nanoacarreadores (usualmente menores a 200 nm de diámetro) para transportar agentes terapéuticos y/o de diagnóstico en humanos. Este campo ha atraído gran interés en terapias contra cáncer debido a que los sistemas de liberación de fármaco tienden a incrementar la vida media de los fármacos, mejorar su farmacocinética y reducir efectos secundarios<sup>[18]</sup>. Los materiales a escala nanométrica como nanopartículas o nanocompósitos son acarreadores de fármaco prometedores debido a su habilidad para entregar moléculas de fármaco hidrófobas e hidrófilas en el sitio tumoral con la mínima toxicidad a los tejidos circundantes. Debido a su tamaño en escala nanométrica, son lo suficientemente pequeñas para pasar a través de la vasculatura del tumor y unirse a él usando ligandos específicos al tipo de cáncer, para liberar el fármaco. El primer éxito de la nanomedicina fue cuando la FDA aprobó el primer nanomedicamento para tratamiento contra cáncer; el cual consistía en doxorrubicina (DOX) cargada en una estructura liposomal (DOXIL) para tratamiento de sarcoma de Kaposi, cáncer de ovario y mieloma múltiple<sup>[19]</sup>.

**Hipertermia magnética:** La hipertermia magnética es un tipo de tratamiento térmico contra cáncer que toma ventaja del calor generado por nanopartículas magnéticas (MNPs) a base de hierro. Cuando estas son expuestas a un campo magnético alterno de una amplitud y frecuencia apropiada, las MNPs liberan calor lo que da como resultado un aumento moderado de temperatura entre 40-43 °C, lo cual reduce la viabilidad de las células cancerígenas a través de vías apoptóticas o necróticas<sup>[20]</sup>. El calentamiento magnético es atractivo como una modalidad física para tratamiento contra cáncer debido a características específicas como su no invasividad, controlabilidad remota, resolución espacial nanométrica, especificidad molecular y a su ausencia de límite de profundidad de penetración<sup>[21]</sup>. La especificidad de esta técnica se debe a la alta sensibilidad de las células tumorales a temperaturas por encima de los 42 °C, temperaturas a las que los procesos enzimáticos naturales que mantienen las células vivas son destruidos, permitiendo su ataque

selectivo<sup>[22]</sup>. Para aplicaciones biomédicas, se prefiere que las nanopartículas magnéticas muestren un comportamiento superparamagnético, indicando que la magnetización cae a cero cuando el campo magnético aplicado es removido. Este hecho implica que no existen fuerzas coercivas existentes, previniendo interacciones dipolares magnéticas entre las partículas y, eventualmente, su aglomeración, que podría llevar a serios problemas adversos derivados de la formación de coágulos en el sistema de circulación sanguínea. La magnetización de saturación debe ser lo mayor posible para garantizar el calentamiento eficiente de las nanopartículas bajo un campo magnético oscilante. Esta característica está estrechamente relacionada con el tamaño y distribución de las nanopartículas. Las propiedades superparamagnéticas de las nanopartículas magnéticas son dependientes del tamaño, un aumento en el tamaño de partícula conducirá a mayores valores de magnetización de saturación y a un mejor desempeño en hipertermia magnética; sin embargo, esto es verdadero cuando el tamaño de partícula se encuentra bajo un valor crítico sobre el cual las nanopartículas magnéticas se vuelven ferromagnéticas (límite superparamagnético), el cual es en principio un comportamiento magnético indeseado para aplicaciones biomédicas debido a un potencial fenómeno de aglomeración.

Se necesita encontrar un balance adecuado entre la distribución de tamaño de partícula y sus propiedades magnéticas, dado que, nanopartículas muy pequeñas podrían no mostrar efecto de hipertermia mientras que nanopartículas muy grandes podrían no ser capaces de cruzar la barrera endotelial a través de capilares continuos. Esto produciría que el calentamiento local afecte solo a las células tumorales externas, y que las internas solo experimenten un débil efecto térmico, no suficiente para inducir muerte celular<sup>[23]</sup>. De manera contraria, si las nanopartículas magnéticas son lo suficientemente pequeñas para atravesar la barrera sanguínea, podrían penetrar y distribuirse más homogéneamente dentro del tumor, provocando una difusión de calor que afectaría un mayor número de células tumorales vecinas<sup>[24]</sup>. Además de eliminar células cancerígenas mediante el calor irradiado por las nanopartículas magnéticas bajo un campo magnético alterno, la hipertermia magnética

puede ofrecer otras acciones sinérgicas, por ejemplo, la liberación de fármaco inducida magnéticamente. Una estrategia para conseguir esto es el incorporar nanopartículas magnéticas en polímeros termosensibles, los cuales pueden encogerse y expandirse reversiblemente como consecuencia del incremento de temperatura inducido magnéticamente por el efecto de hipertermia, de manera tal que puedan liberar los agentes terapéuticos de manera controlada<sup>[25]</sup>.

### **2.1.4 Medicamentos más utilizados en tratamientos contra el cáncer**

El tratamiento contra cáncer es una espada de doble filo: debe ser lo más agresivo posible para eliminar completamente un tumor, pero es precisamente esta agresividad la cual usualmente causa efectos secundarios severos, razón por la cual algunos terapéuticos prometedores no logran ser aplicados sistémicamente, además de su carencia de selectividad que les permita distinguir entre células sanas y enfermas<sup>[26]</sup>. Es por eso por lo que actualmente en el tratamiento del cáncer se utilizan distintos medicamentos que se pueden clasificar en los siguientes grupos:

**Agentes alquilantes:** Estos agentes generan efectos citotóxicos como resultado de reacciones con el ADN evitando así la reproducción de las células cancerosas, sin embargo, carecen de selectividad específica. En este tipo de medicamentos se encuentran las nitrosoureas, los alquil-sulfonatos, las triazinas, las metilhidrazinas, las etileniminas, así como también algunos medicamentos con platino (cisplatino, carboplatino y oxaliplatino)<sup>[27, 28]</sup>.

**Antimetabolitos:** Son un tipo de fármacos que interfieren con el metabolismo celular, impidiendo su crecimiento y que afectan directamente la producción de ADN y ARN al sustituir los elementos fundamentales (purinas, pirimidinas, etc.) de estas moléculas. Ejemplos de estos fármacos son: el 5-fluorouracilo, la capecitabina, la 6-mercaptopurina, la hidroxiurea, el metotrexato, gemcitabina, citarabina, fludarabina y pemetrexed<sup>[29, 30]</sup>.

**Antraciclinas:** Son antibióticos citostáticos que se comportan como agentes intercalantes que se insertan y unen a la doble hélice del ADN interfiriendo con la replicación, transcripción y reparación del ADN. Dentro

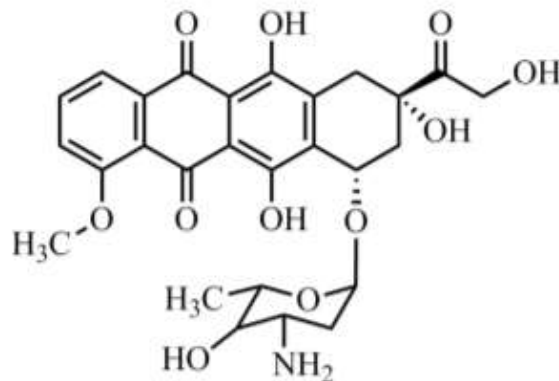


de las antraciclinas se encuentran: daunorubicina, doxorubicina, epirubicina e idarubicina. Uno de los medicamentos (familia antraciclinas) más empleados actualmente es la doxorubicina (DOX), conocida también por su nombre comercial como adriamicina®, debido a su amplio espectro anti-tumoral (para el tratamiento de varios tipos de cáncer), solubilidad y citotoxicidad<sup>[31, 32]</sup>.

**Inhibidores mitóticos:** Son compuestos derivados de productos naturales como las plantas. Ejercen su acción interfiriendo con la fase M (mitosis) del ciclo celular, pero pueden dañar las células en todas las fases al evitar que las enzimas sintetizen las proteínas necesarias para la reproducción celular. Algunos ejemplos de este tipo de medicamentos son: paclitaxel, docetaxel, ixabepilona, vinblastina, vincristina, vinorelbina, estramustina. El paclitaxel es un medicamento que pertenece al grupo de inhibidores mitóticos, es similar a la doxorubicina y ha sido utilizado en investigación clínica<sup>[32, 33]</sup>.

### 2.1.5 Doxorubicina (DOX)

La DOX es un antibiótico antineoplásico del grupo de las antraciclinas utilizado como agente terapéutico oncológico desde la década de los años 60. Este fármaco (de fórmula empírica  $C_{27}H_{29}NO_{11}$ ) presenta una estructura tetracíclica unida por un enlace glucosídico al azúcar daunosamina (figura 2). La DOX junto con la daunorubicina (DAU), representan las antraciclinas de primera generación y muestran un amplio espectro de actividad frente a tumores sólidos y neoplasias hematológicas, constituyendo una pieza clave en gran número de protocolos clínicos del tratamiento del cáncer<sup>[34]</sup>.





**Figura 2.** Estructura química de la doxorubicina (DOX).

La configuración espacial de DOX favorece la intercalación entre los pares de bases del ADN alterando su estructura y estabilizando el complejo ADN-topoisomerasa II, provocando la fragmentación del ADN, el bloqueo de la síntesis de nuevo material genético y su reparación. Esta inserción provoca alteraciones en los cromosomas que desencadenan efectos mutagénicos y teratogénicos. Otros mecanismos de acción implicados son la formación de radicales libres hidroxilos, el efecto alquilante y la peroxidación de lípidos celulares (toxicidad cardíaca); de la misma manera también es responsable de la unión a proteínas de la membrana celular originando sobreexpresión del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF) e inhibición de la transferrina<sup>[35]</sup>. Este medicamento también es utilizado en otras indicaciones que incluyen cáncer de endometrio, páncreas, hepático, próstata, tiroides, útero, sarcoma de Kaposi, leucemia linfocítica crónica, linfoma de células del manto o mieloma múltiple<sup>[36]</sup>. La dosis recomendada depende del tipo de tumor, de la función hepática y de la quimioterapia asociada.

La actividad clínica de la DOX está limitada por sus importantes efectos adversos dosis-dependiente, siendo la mielosupresión y la cardiotoxicidad crónica los más graves y relevantes. La mielosupresión producida por DOX es el efecto adverso más prevalente, se caracteriza por leucopenia, anemia y trombocitopenia pasajeras. La mielosupresión intensa puede originar hemorragias, sepsis e infecciones lo que constituye un indicador para reducir o suspender el tratamiento con DOX. La DOX es una sustancia cardiotóxica dosis-dependiente que puede ocasionar síntomas como taquicardia o insuficiencia cardíaca de forma aguda, subaguda o crónica. Este efecto adverso es una de las principales limitaciones del tratamiento con este antineoplásico pudiendo llegar a ser letal debido al desarrollo de una miocardiopatía congestiva irreversible<sup>[37]</sup>.

## **2.2 Nanopartículas de óxidos de hierro**

Los óxidos de hierro son compuestos naturales comunes que pueden ser fácilmente sintetizados en laboratorio. Tienen una composición básica de Fe, O y/o OH, pero difieren en la valencia del hierro y en la estructura cristalina. Puede encontrarse en la naturaleza de diferentes fases, tales

como goethita, akaganeíta, lepidocrocita, magnetita, hematita y maghemita. Siendo la magnetita una de las fases más importantes debido a que cuenta con características como biocompatibilidad, biodegradabilidad y no citotóxicidad para humanos<sup>[38,39]</sup>. Las nanopartículas de óxido de hierro biocompatibles consisten principalmente de partículas de maghemita ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) y/o magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) con diámetros de entre 1 y 100 nanómetros, y son principalmente utilizadas en fluidos magnéticos, almacenamiento de información, catálisis, entre otras. En investigación biomédica son utilizadas en biosensores, liberación de fármaco, bioseparación magnética, hipertermia magnética y diagnóstico médico<sup>[40]</sup>.

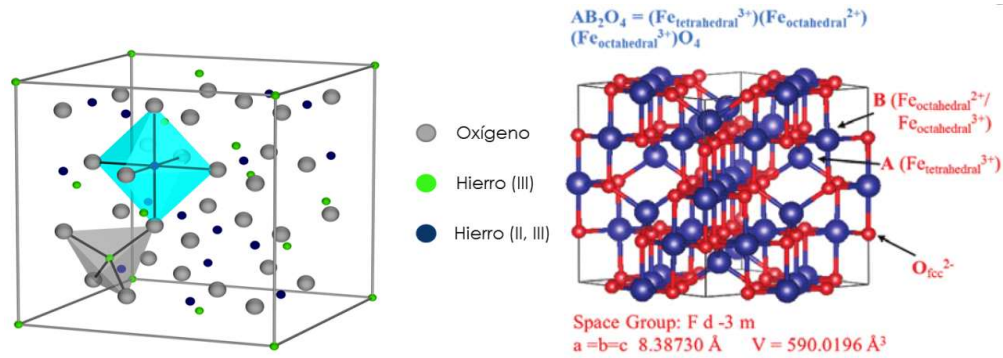
### 2.2.1 Nanopartículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4$

Las nanopartículas magnéticas, con tamaños entre 2 y 20 nm muestran comportamiento superparamagnético por lo que han atraído considerable interés de la comunidad científica, además de sus aplicaciones biomédicas potenciales debido a su alta compatibilidad y no toxicidad<sup>[41]</sup>.

La magnetita presenta una estructura cristalina tipo espinela, idealmente cúbica compacta, típica en los compuestos de la forma  $\text{AB}_2\text{O}_4$  (formalmente  $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Fe}_2^{\text{III}}\text{O}_4$ ) y exhibe uno de los momentos magnéticos más grandes entre los óxidos de hierro. Presenta una estructura cristalina del tipo espinela inversa, que se deriva de un empaquetamiento cúbico de oxígenos mientras que los iones de hierro llenan los huecos, con cationes ocupando los sitios octaédricos y tetraédricos de la siguiente manera<sup>[42]</sup>:

1. Sitios tetrahédricos: el ión de hierro es rodeado por cuatro iones oxígeno.
2. Sitios octahédricos: el ión de hierro es rodeado por seis iones oxígeno.

En la estructura tipo espinela inversa, como es el caso de la magnetita, los sitios tetrahédricos están ocupados por la mitad de los cationes B ( $\text{Fe}^{3+}$ ), mientras que la mitad restante de cationes B y los cationes A ( $\text{Fe}^{2+}$ ) ocupan desordenadamente los sitios octaédricos <sup>[43, 44]</sup> (Figura 3).



**Figura 3.** Estructura cristalina de la magnetita con O (Oxígeno), A (el catión  $Fe^{3+}$  tetraédrico) y B (el catión  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$  octaédrico).

La síntesis de nanopartículas de magnetita con buen control del tamaño ha sido de gran interés científico y tecnológico por lo que varios métodos han sido reportados en la literatura para su preparación, como la coprecipitación química, el método sol-gel, ultrasonido e hidrotérmal<sup>[45]</sup>. El tamaño y forma de las partículas de magnetita son generalmente controlados por el método de síntesis utilizado, por ejemplo, el método de coprecipitación química provee generalmente partículas esféricas con un tamaño por debajo de los 20 nm y esta síntesis comúnmente se lleva a cabo por medio de la coprecipitación de sales acuosas de  $Fe^{2+}$  y  $Fe^{3+}$ .

La modificación superficial de las nanopartículas es de suma importancia para aplicaciones biomédicas con el fin de mejorar no solo su estabilidad en el disolvente sino también para prevenir su aglomeración. Esta modificación puede utilizarse también para mejorar su compatibilidad con materiales que sirvan de recubrimiento para sistemas de liberación controlada de fármaco<sup>[46]</sup>. Los recubrimientos de las NPs pueden ser orgánicos no poliméricos, polímeros y moléculas inorgánicas, siempre cuidando la biocompatibilidad, particularmente en el caso de aplicaciones biomédicas.

Para esta investigación en particular el uso de las nanopartículas de  $Fe_3O_4$  se enfoca en aplicaciones biomédicas, específicamente como un sistema de liberación de fármacos o para tratamiento de hipertermia magnética para cáncer, por lo que es importante citar algunos de los trabajos previos realizados:

- a) Nanopartículas de magnetita superparamagnéticas han sido utilizadas en aplicaciones de hipertermia magnética para adenocarcinoma de mama en conjunto con fármacos antimitóticos como el paclitaxel (PTX). En este trabajo los autores encontraron que la hipertermia magnética mostró sinergia con el fármaco al potencializar la respuesta de células resistentes al medicamento lo que llevó a una reducción en la tasa de sobrevivencia en células cancerígenas a bajas concentraciones de PTX. Sin embargo, estos sistemas presentan la desventaja de un pobre control del incremento en la temperatura causando daño en tejidos sanos. Además de que no erradica por completo la presencia de células cancerígenas, dejando una tasa de sobrevivencia del 20-40% de células cancerígenas resistentes al PTX<sup>[47]</sup>.
- b) Sistemas de liberación de fármaco han sido desarrollados con las nanopartículas de magnetita para tratamiento de hipertermia magnética, utilizando un recubrimiento sobre las nanopartículas para encapsulamiento de fármaco anticáncer como la DOX. Se ha utilizado quitosano como recubrimiento debido a sus propiedades como biodegradabilidad y biocompatibilidad, además de ser un material sensible a cambios de pH. Es por esto que se han desarrollado MNPs recubiertas con quitosano como medio de transporte de DOX a sitios tumorales donde la sensibilidad a pH del quitosano promueve la liberación del fármaco en medios ácidos. Los resultados indican que las MNPs pueden ser adecuadas para su uso en sistemas de liberación de fármaco inteligentes al ser recubiertas con un componente estímulo-sensible <sup>[48]</sup>.

### **2.2.2 Nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> dopadas**

Existe una extensa literatura sobre el uso de nanopartículas magnéticas (MNPs) para bioaplicaciones, y el tratamiento de hipertermia magnética para cáncer es una de estas. El rango de temperaturas ideal (42-46 °C) para este tratamiento es logrado por un efecto combinado de histéresis, y pérdidas de Néel o Brown exhibidas por las nanopartículas magnéticas en un campo magnético alterno. Generalmente, la magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) o la maghemita (γ-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) son utilizadas para estos propósitos debido a sus

adecuadas propiedades magnéticas además de su biocompatibilidad. Sin embargo, un continuo incremento en la temperatura durante la hipertermia es inevitable con las MNPs a base de óxidos de hierro y las probabilidades de dañar tejido sano no pueden ser descartadas<sup>[49]</sup>. Un método para controlar este incremento en la temperatura es el usar MNPs que posean una temperatura de Curie ( $T_C$ ) en el rango terapéutico (42-46 °C). Así, tan pronto como la temperatura alcance valores cercanos a la  $T_C$ , las MNPs se transforman de ferromagnéticas/ferrimagnéticas a paramagnéticas y el calentamiento se detiene automáticamente comportándose como un switch *in-vivo*, protegiendo los tejidos normales. Este comportamiento es posible mediante el dopado de las nanopartículas de magnetita, ya que las sustituciones en los sitios de los iones de hierro por otros iones causan un decaimiento en los valores de la temperatura de Curie <sup>[50]</sup>. Este tipo de materiales pueden servir como candidatos potenciales para aplicaciones de hipertermia magnética controlada sin efectos indeseados. Sin embargo, la magnetita dopada suele presentar bajos valores específicos de magnetización y pobre biocompatibilidad, limitando su aplicación para hipertermia, por lo que el dopante debe ser elegido cuidadosamente. En la literatura se reportan varios métodos de preparación de MNPs dopadas con las propiedades deseadas, siendo los más usados la coprecipitación química, descomposición térmica, síntesis solvotermal, método sol-gel, microemulsión, sonoquímica, electroquímica y métodos asistidos por microondas<sup>[51]</sup>.

Algunas de investigaciones sobre nanopartículas de magnetita dopadas como alternativas al tratamiento de cáncer que han sido llevadas a cabo son:

- a) Se ha reportado la modificación de la temperatura de Curie de nanopartículas magnéticas mediante su dopado con otros elementos, algunos óxidos férricos ejemplo de esto son:  $ZnGd_xFe_{2-x}O_4$ ,  $Zn_xGd_{1-x}Fe$ ,  $Ni_{1-x}Cr_x$ , aleaciones Cu-Ni y  $La_{1-x}Sr_xMnO_3$ . Sin embargo, se encontró que estos materiales tienen 2 desventajas importantes, su baja magnetización específica y su poca biocompatibilidad. Por tanto, se ha propuesto la síntesis de nanopartículas del tipo  $Zr_xFe_{3-x}O_4$  debido a que los iones  $Zr^{4+}$  son más biocompatibles que los iones de

las ferritas previamente reportadas y además se ha encontrado que los iones tetravalentes son más efectivos en reducir la temperatura de Curie del material. Estos materiales dopados mostraron una mayor estabilización de la temperatura en rangos de 42-46 °C durante su uso en hipertermia magnética mediante la selección de una frecuencia y amplitud de fuerza de campo magnético adecuados. De esta manera, se ha planteado su uso potencial para aplicaciones hipertermia magnética controlada, sistemas teranósticos y de liberación de fármacos sin generar un daño significativo a tejido sano<sup>[52]</sup>.

- b) Nanopartículas de magnetita dopada con iones tetravalentes de la forma  $M_xFe_{3-x}O_4$  siendo  $M = Zr$  y  $Hf$ , han sido sintetizadas y estudiadas en su aplicación para hipertermia magnética<sup>[53]</sup>. Debido a esto magnetitas dopadas con otros átomos tetravalentes como el Cerio fueron producidas por coprecipitación química en métodos hidrotermales asistidos por microondas. Se plantea el uso de Cerio como dopante debido a que el  $CeO_2$  presenta una excelente biocompatibilidad y propiedades antiinflamatorias. Dicho material presenta una temperatura de estabilización de aproximadamente 42 °C, observándose un alto valor de magnetización de saturación y una temperatura de Curie cercana a los 50 °C. Esto indica que la temperatura terapéutica controlada magnéticamente puede ser fácilmente conseguida usando este tipo de nanopartículas dopadas, reduciendo los efectos colaterales de la hipertermia general y la hipertermia magnética <sup>[54]</sup>.

### **2.2.3 Nanopartículas de $Fe_3O_4$ dopadas con hafnio ( $Hf_xFe_{3-x}O_4$ )**

En 1984, Marcel Pourbaix incluyó al Hafnio ( $Hf^{4+}$ ) dentro del grupo de metales para ser considerados para implantes quirúrgicos debido al estado pasivo presentado por el metal. Sin embargo, debido a la falta de información sobre su toxicidad en el cuerpo humano en esa época, fue descartado de la lista final. La capa pasiva encontrada en la superficie del Hafnio, principalmente formada por  $HfO_2$ , es altamente estable en soluciones neutras <sup>[54]</sup>. Recientemente, Matsuno y col. implantaron materiales a base de titanio, hafnio, niobio, tántalo y renio en tejido

subcutáneo de ratas. Los resultados del estudio *in vivo* mostraron que el hafnio presenta una buena compatibilidad por lo que es un material interesante para aplicaciones biomédicas<sup>[55]</sup>.

El hafnio ha sido utilizado como dopante de magnetita para aplicaciones de hipertermia magnética de acuerdo con los resultados reportados en diferentes investigaciones:

- a) Se estudió el comportamiento estructural y magnético de nanopartículas de magnetita dopadas con hafnio del tipo  $\text{Hf}_x\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ . Se encontró que los iones de Hf ocupan solamente sitios octaédricos a bajas concentraciones ( $x \leq 0.2$ ) pero se distribuyen a sitios tetraédricos a concentraciones mayores ( $x \geq 0.4$ ) lo que causa que a mayores concentraciones de hafnio exista un decaimiento continuo en el valor de magnetización de saturación observado. Además, la temperatura de estabilización mostró ser función de la concentración de Hf en la magnetita, así como de la amplitud y frecuencia del campo magnético. Sin embargo, todas las muestras estudiadas mostraron una temperatura de estabilización cercana a la temperatura terapéutica (42-46 °C) con diferentes combinaciones de frecuencia y amplitudes del campo magnético alterno. Además, estos materiales presentan alto grado de biocompatibilidad debido a la presentada por los óxidos individuales ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$  y  $\text{HfO}_2$ ), por lo que se sugiere este tipo de materiales para aplicaciones hipertermia magnética controlada, sin mostrar efectos colaterales indeseables<sup>[53]</sup>.
  
- b) Nanopartículas de magnetita dopada con hafnio fueron sintetizadas y caracterizadas por Martínez y col. (2018). Los resultados mostraron que estos materiales presentan un comportamiento superparamagnético, y que su valor de magnetización de saturación disminuye conforme incrementa la concentración de dopaje. Las propiedades magnéticas como magnetización de saturación ( $M_s$ ), magnetización remanente ( $M_r$ ) y coercitividad ( $H_c$ ) de las nanopartículas son adecuadas para su aplicación en biomedicina. De acuerdo con los resultados de Martínez (2018) la



magnetita dopada con hafnio logra mantener de manera homogénea la temperatura. Además, se observó que el grado de hemólisis aumenta con el incremento de concentración de muestra. Los datos obtenidos, indican que las muestras dopadas resultan ser menos hemolíticas que las de magnetita pura por lo que se puede mencionar que el sistema de magnetita dopada con  $\text{Hf}^{4+}$  cumple los requerimientos adecuados para su utilización en hipertermia magnética<sup>[56]</sup>.

#### **2.2.4 Síntesis de nanopartículas magnéticas**

Existen diferentes técnicas para la obtención de MNPs de diferentes composiciones, la aplicación exitosa de estos materiales es altamente dependiente de la estabilidad de las partículas bajo un rango de diferentes condiciones. En las últimas décadas se ha destinado gran trabajo de investigación para la síntesis de nanopartículas magnéticas con un tamaño de partícula menor a 20 nm para aplicaciones biomédicas. Las técnicas de síntesis más utilizadas son el método de coprecipitación química, la descomposición térmica y micro o nanoemulsiones. A la fecha el método de coprecipitación química y descomposición térmica son los más ampliamente usados<sup>[57]</sup>.

##### **2.2.4.1 Método de coprecipitación química**

La coprecipitación química es un método de síntesis muy efectivo para la obtención de óxidos de hierro con una estructura de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  o  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ , este método es sencillo y provee una eficiencia de 96-99%. Los óxidos se preparan por coprecipitación a partir de soluciones acuosas de sales de  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  bajo condiciones alcalinas a temperatura controlada (aprox. 70 °C). Se ha encontrado que un número de factores experimentales tienen impacto significativo en las MNPs sintetizadas, como el tipo de sales usadas (cloruros, sulfatos, nitratos), la razón molar de iones ferrosos y férricos, la temperatura de reacción y el valor de pH. El tamaño de partícula, la forma y la composición de las MNPs sintetizadas puede ser controlado cambiando las condiciones experimentales. Recientemente se han obtenido nanopartículas de magnetita monodispersas mediante el uso de aditivos orgánicos como agentes de estabilización. Por medio de esta



técnica se pueden producir partículas finas de óxidos metálicos, con estequiometría simple y múltiple [57, 58].

#### **2.2.4.2 Descomposición térmica**

Las nanopartículas magnéticas monodispersas pueden ser sintetizadas a través de la descomposición térmica de compuestos organometálicos en disolventes orgánicos que contienen surfactantes estabilizantes. La selección de los compuestos organometálicos, surfactante y disolvente, en conjunto con la temperatura y tiempo de reacción, son los parámetros principales para el control de la síntesis de nanopartículas magnéticas. Se ha reportado la síntesis de nanocristales de magnetita monodispersos con tamaños ajustables entre los 3-50 nm, con formas controladas como esferas y cubos, usando cloruro férrico y oleato de sodio para generar un complejo de oleato de hierro *in situ*, el cual luego se descompone a temperaturas entre los 240 y 320 °C en diferentes solventes [58].

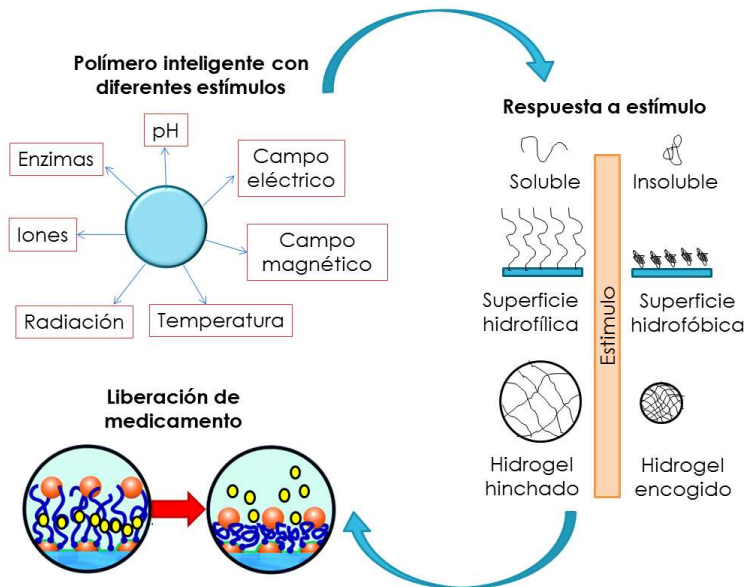
#### **2.2.4.3 Métodos basados en micro o nanoemulsiones**

Es uno de los métodos de síntesis más usados para nanomateriales. Las MNPs pueden ser preparadas mediante la dispersión de sales de hierro en una fase orgánica, conteniendo un iniciador órgano-soluble y/o monómeros la cual se mezcla con una solución acuosa conteniendo un surfactante. Esto genera nanogotas bien definidas y dispersas, lo cual es función de la proporción de surfactante presente en la solución acuosa, y de la relación de la fase orgánica entre la fase acuosa. Estas nanogotas proporcionan un medio de reacción restringido para controlar la forma y distribución de tamaños de las MNPs preparadas por la precipitación de las sales de hierro. La distribución de tamaños de las partículas poliméricas obtenidas por este proceso es generalmente amplia y requieren muchos procesos de lavado[59].

### **2.3 Polímeros estímulo-sensibles**

Los polímeros estímulo-sensibles o también conocidos como "polímeros inteligentes" proporcionan una potencial variedad de aplicaciones en el área biomédica para sistemas de liberación de fármaco (figura 4). Estos materiales son macromoléculas que son sensibles a ciertos estímulos del ambiente externo. Los polímeros inteligentes producen cambios

observables o detectables a micro o nano escala, como la morfología, el reordenamiento/escisión del enlace y el movimiento molecular, que pueden inducir cambios en sus propiedades macroscópicas como color, forma y funcionalidad. Debido a la selección versátil de la cadena y los grupos funcionales, los polímeros sensibles a estímulos externos pueden adaptarse para tener una variedad de propiedades específicas mecánicas, químicas, eléctricas, ópticas, biológicas u otras, y pueden diseñarse en diferentes formas, por ejemplo, en película delgada, micro/nanopartículas, y compósitos<sup>[60]</sup>.



**Figura 4.** Mecanismo de liberación de fármaco a partir de un polímero estímulo-sensible.

Los estímulos pueden clasificarse en tres categorías: físicos, químicos o biológicos. Los estímulos físicos generalmente modifican la dinámica de la cadena, es decir, el nivel de energía del sistema de polímero/disolvente y corresponden a factores como luz, temperatura, ultrasonido, campo magnético y/o eléctrico; los estímulos químicos modulan las interacciones moleculares, ya sea entre las moléculas de polímero y disolvente o entre las cadenas poliméricas y corresponden a factores como el disolvente, fuerza iónica, reacciones electroquímicas y pH; los estímulos biológicos se relacionan con el funcionamiento de las moléculas como reacciones enzimáticas y al reconocimiento de receptores por parte de las moléculas,

y suelen involucrar analitos y biomacromoléculas como la glucosa, el glutatión, las enzimas y metabolitos producidos en exceso en un evento inflamatorio. Además de estas categorías, existen polímeros estímulo responsivos duales que responden simultáneamente a más de un estímulo [61]. Los polímeros inteligentes más estudiados y utilizados son los siguientes:

**Polímeros termo-sensibles:** Los polímeros sensibles a la temperatura han atraído una gran atención en aplicaciones de bioingeniería y biotecnología, debido a que ciertas enfermedades manifiestan cambios de temperatura en el cuerpo humano. Normalmente, estos polímeros se caracterizan por una temperatura de solución crítica alrededor de la cual las interacciones hidrófobas e hidrófilas entre las cadenas poliméricas y los medios acuosos cambian bruscamente dentro de un pequeño rango de temperatura. Esto induce la interrupción de las interacciones electrostáticas e hidrófobas intra e intermoleculares, dando como resultado un colapso o expansión de la cadena. Normalmente, estas soluciones de polímeros poseen una temperatura de solución crítica superior (UCST), por encima de la cual existe una fase de polímero y por debajo aparece una separación de fase. Alternativamente, las soluciones poliméricas que aparecen como monofásicas por debajo de una temperatura específica y bifásicas por encima de ella, generalmente poseen una temperatura de solución crítica inferior LCST (Lower Critical Solution Temperature por sus siglas en inglés). Dependiendo del mecanismo y la química de los grupos, se han descrito varios polímeros sensibles a la temperatura, entre los cuales se destacan las poli(acrilamidas sustituidas con N-alquilo), particularmente poli(N-isopropilacrilamida) (PNiPAAm), poli(N-vinilalquilamidas), como la poli(N-vinilcaprolactama) (PVCL), y copolímeros tribloques como poli(ácido L-láctico)-poli(etilenglicol)-poli(L-ácido láctico) (PLLA-PEG-PLLA) y poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno)-poli(óxido de etileno) (PEO-PPO-PEO), entre otros[61].

**Polímeros electro-sensibles:** Los estímulos eléctricos y electroquímicos son ampliamente utilizados en el campo de la investigación y en diversas aplicaciones, debido a sus ventajas de control preciso a través de la magnitud de la corriente, la duración de un pulso eléctrico o el intervalo entre pulsos. Los polímeros eléctricamente sensibles típicos son polímeros

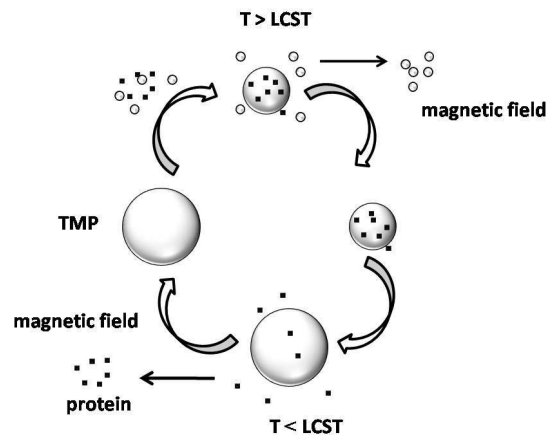
conductores, por ejemplo, politiofeno (PT) o poliestireno sulfonado (PSS), que pueden mostrar hinchamiento, encogimiento o flexión en respuesta a un campo externo. Existen diferentes efectos sobre la estimulación electroquímica: (a) Una afluencia de contraiones y moléculas de disolvente que provoca un aumento de la presión osmótica en el polímero, lo que resulta en una expansión volumétrica, (b) control de la carga/adsorción de polielectrolito sobre la carga opuesta de materiales porosos, (c) formación e hinchamiento de multicapas de polielectrolito activas redox<sup>[61]</sup>.

**Polímeros foto-sensibles:** Debido a que la luz se puede aplicar instantáneamente y bajo condiciones específicas con alta precisión, hace que los polímeros sensibles a la luz sean altamente ventajosos para ciertas aplicaciones. La luz se puede usar directamente en la superficie del polímero o se puede enviar a lugares distantes utilizando fibras ópticas. Lo ideal es que la longitud de onda del láser se ajuste a una ya muy conocida “ventana” biológicamente amigable. La parte infrarroja cercana del espectro, que es menos dañina y tiene una penetración más profunda en los tejidos que la luz visible. En este caso, la luz es absorbida mínimamente por las células/tejido y al mismo tiempo, por los polímeros. La mayoría de los polímeros fotosensibles contienen cromóforos sensibles a la luz, tales como grupos azobenceno, grupos espiropiranos o grupos nitrobencilo. Se ha informado sobre una variedad de polímeros fotosensibles, por ejemplo, ácido poliacrílico (PAA) y poli(hidroxipropilmetacrilamida) (PHPMAm)<sup>[61]</sup>.

**Polímeros pH-sensibles:** El pH es un parámetro ambiental importante para aplicaciones biomédicas, porque los cambios de pH se producen en muchos compartimentos específicos o patológicos. Por ejemplo, hay un cambio obvio en el pH a lo largo del tracto gastrointestinal desde el estómago (pH = 1–3) al intestino (pH = 5–8) mientras que las heridas crónicas tienen valores de pH entre 7.4 y 5.4, y el tejido tumoral es ácido extracelularmente. Por lo tanto, a diferencia de los cambios de temperatura, esta propiedad se puede explotar para una respuesta directa en un determinado tejido o en un compartimento celular. El elemento clave para los polímeros sensibles al pH es la presencia de restos ionizables, ácidos débiles o básicos que se adhieren a un esqueleto

hidrófobo, como los polielectrolitos. Tras la ionización, las repulsiones electrostáticas de las cargas generadas (aniones o cationes) causan una extensión dramática de las cadenas enrolladas. La ionización de los grupos ácidos o básicos colgantes en polielectrolitos puede ser parcial, debido al efecto electrostático de otros grupos ionizados adyacentes. Otro polímero pH-sensible típico exhibe eventos de protonación/desprotonación al distribuir la carga sobre los grupos ionizables de la molécula, como los grupos carboxilo o amino. El pH induce una transición de fase en polímeros sensibles al pH muy abruptamente. Generalmente, la fase cambia dentro de 0.2 a 0.3 unidades de pH. Entre los polímeros pH-responsivos más comunes se incluyen el quitosán, albúmina, poli(ácido acrílico)/quitosano IPN, poli(ácido metacrílico-g-etilenglicol) [P(MAA-g-EG)], poli(etileno imina) (PEI), poli(N, N-diaquilamino etilmetacrilatos) (PDAAEMA) y poli(lisina) (PL)<sup>[61]</sup>.

**Polímeros sensibles a la temperatura y al campo magnético:** Algunos hidrogeles y nanopartículas se han desarrollado para combinar la sensibilidad al campo magnético y la temperatura dentro de un solo polímero. Tal sistema ofrece la ventaja de lograr materiales de respuesta rápida. El campo magnético y los polímeros sensibles a la temperatura se han utilizado en algunas aplicaciones, como la concentración y purificación de proteínas (Figura 5), control de reacciones enzimáticas y la liberación de fármacos controlada activa<sup>[62]</sup>.

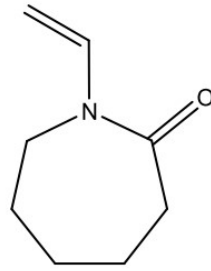


**Figura 5.** Separación de proteínas utilizando partículas magnéticas termoresponsivas.

En esta investigación se referirá de forma particular a polímeros sensibles a la temperatura, los cuales deben cambiar sus características microestructurales en respuesta a un cambio en la temperatura y retornar a su estado inicial cuando el estímulo es removido. Este tipo de comportamientos son adecuados para sistemas liberadores de fármacos, debido a que presentan ventajas como habilidad para administrar eficiente concentración de medicamento en momento y lugar adecuados, lo cual reduce reacciones adversas e incrementa la calidad de vida, reduciendo a su vez las dosis administradas y consecuentemente los costos<sup>[63]</sup>.

### **2.3.1 Poli(vinil-caprolactama)**

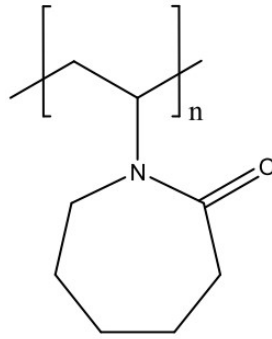
Los biomateriales poliméricos han sido aplicados a la medicina anteriormente como en sistemas de liberación controlada de fármacos, recubrimiento de tabletas, órganos artificiales, ingeniería de tejidos, implantes dentales y suturas; por lo que constantemente se busca el desarrollo de nuevos dispositivos terapéuticos poliméricos con propiedades específicas deseadas<sup>[64]</sup>. Algunos polímeros son solubles en medios acuosos cuando son calentados, pero algunos polímeros solubles en agua precipitan de la solución bajo calentamiento. Esta propiedad única es característica de polímeros que se disuelven cuando son enfriados y se separan de fase cuando son calentados sobre cierta temperatura, conocida como temperatura crítica de solución inferior LCST. La LCST es principalmente dependiente de los puentes de hidrógeno entre las moléculas de agua y la estructura de unidades monoméricas funcionales de los polímeros<sup>[65]</sup>. En la literatura se reporta que la N-vinil caprolactama (NVCL) posee propiedades notables para aplicaciones biomédicas, como solubilidad en agua y disolventes orgánicos, alta habilidad de absorción, y una temperatura de transición dentro de un rango de temperaturas terapéuticas (32-34 °C)<sup>[66]</sup>. La NVCL es un monómero con carácter anfifílico que posee un grupo carboxílico hidrofílico y un grupo amida (anillo de lactama) donde el grupo amida está conectado al grupo vinil hidrofóbico como se muestra en la figura 6<sup>[67]</sup>.



**Figura 6.** Estructura de NVCL

La polimerización de NVCL ocurre a través del grupo vinilo por polimerización radicalica en cadena<sup>[68]</sup>. La PNVCL es un polímero inteligente capaz de cambiar sus propiedades en respuesta a un cambio en la temperatura y por tanto es considerada efectiva en la liberación de medicamentos. Por otra parte, su solubilidad en agua es dependiente de la temperatura, es decir, el polímero puede formar puentes de hidrógeno con el agua o comportarse hidrofóticamente dependiendo de la temperatura (su LCST). Debido a que este tipo de materiales contienen tanto grupos hidrófilos como hidrófobos, cuando la temperatura incrementa ocurre una transición y el polímero pasa de hidrófilo a hidrófobo.

Dicho de otra forma, por debajo de LCST predominan los puentes de hidrógeno entre el polímero y las moléculas de agua, mientras que al aumentar la temperatura las interacciones entre las cadenas poliméricas comienzan a predominar. La mayoría de los polímeros termosensibles utilizados están basados en acrilamida (principalmente PNIPAM), pero su biocompatibilidad es un problema debido a que al hidrolizarse generan compuestos tóxicos<sup>[69]</sup>. Sin embargo, la PNVCL es un polímero no iónico, no tóxico y biocompatible. Este contiene un grupo amida en el anillo de lactama directamente conectado a la cadena polimérica (difícil de romper), por lo que si llegase a ocurrir la hidrólisis no producirá compuestos amida indeseados para aplicaciones biomédicas (figura 7)<sup>[70]</sup>.



**Figura 7.** Estructura de la poli (N-vinil-caprolactama).

Aunque la LCST de la PNVCL (31.5 °C) es cercana a la de PNIPAM (32.5 °C), existen diferencias significativas en los mecanismos termodinámicos y moleculares que ocurren durante la transición de fase. En contraste al PNIPAM, la transición de fase de la PVCL depende de su peso molecular y de la concentración de la solución, esta característica única permite controlar la sensibilidad a la temperatura del polímero variando sus pesos moleculares<sup>[71]</sup>. Cuando la longitud de cadena aumenta o concentración de polímero incrementa, la LCST de la PNVCL disminuye <sup>[72]</sup>.

La biocompatibilidad es la propiedad más importante en aplicaciones biomédicas. A pesar de que la PNVCL aún no ha sido aprobada por la FDA, se ha estudiado extensivamente sus propiedades citotóxicas. Henna y col. estudiaron la citotoxicidad de polímeros termoresponsivos como la poli(N-isopropilacrilamida) y la poli(N-vinilcaprolactama), encontrando que la PNVCL no es tóxica en contacto celular durante cortos tiempos de exposición y se logra una mejor adhesión celular con las partículas recubiertas de PNVCL que con las recubiertas con PNIPAM. Los resultados muestran que la PNVCL fue bien tolerada a todas las concentraciones de polímero utilizadas (0.1-10 mg/mL) después de 3 horas de incubación a temperatura ambiente y 37 °C. Sin embargo, cuando la temperatura aumentó a 37 °C (arriba de la LCST de la PNVCL), los efectos citotóxicos disminuyeron <sup>[73]</sup>. Así mismo otros estudios han demostrado que la PNVCL resulta ser no tóxica a células endoteliales humanas en el rango de concentraciones de 0 a 400 µg/mL <sup>[74]</sup>. Debido a estas características la



PNVCL es un candidato atractivo para aplicaciones en el campo biomédico, específicamente para hipertermia magnética controlada.

#### **2.4 Sistemas ferritas-polímero inteligente para liberación de fármacos**

Esta investigación se centra en el uso de un sistema híbrido a base de nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  dopadas y un polímero termosensible, para su aplicación en liberación controlada de fármacos, por lo que es importante mencionar algunos de los trabajos previos realizados con estas características:

- a) Zhang y col. sintetizaron un sistema de liberación de fármaco combinando un polímero termosensible (PNIPAM) con nanopartículas magnéticas desarrollando una estructura de forma núcleo-coraza para aplicación en hipertermia magnética. Las nanopartículas de magnetita fueron sintetizadas por descomposición térmica y posteriormente recubiertas con un copolímero de PNIPAM. Los resultados indicaron que el sistema presentaba una LCST de 38 °C aproximadamente y que las partículas de estructura núcleo-coraza mostraban una forma esférica con tamaños de diámetro de partícula de aproximadamente 8 nm. Mediante espectroscopía infrarroja (FTIR) determinaron la existencia de interacciones entre el polímero y las nanopartículas magnéticas hidrofílicas por medio de fuerzas de Van der Waals y puentes de hidrógeno. Los autores concluyeron que los sistemas de liberación de fármaco basados en polímeros inteligentes en combinación con nanopartículas magnéticas son un candidato atractivo para aplicaciones biomédicas como hipertermia magnética. Aunque una desventaja de estos sistemas es la ausencia de control del aumento de temperatura y la relativa citotoxicidad del PNIPAM<sup>[75]</sup>.
  
- b) Rahimi y col. reportaron la preparación de un nanocompuesto basado en poli(N-isopropilacrilamida-acrilamida-alilamina) y MNPs. Los sistemas híbridos polímero-NPs fueron sintetizados a partir de NPs modificadas superficialmente con silanos. Posteriormente, el material fue cargado con DOX como medicamento contra cáncer de próstata (línea celular JHU31). De acuerdo con los resultados se

obtuvo mayor liberación de fármaco a 41 °C que a 37 °C demostrando que la liberación está en función de la temperatura (debido al termo-sensibilidad del polímero). Una desventaja en este tipo de sistemas es que la N-isopropilacrilamida (NIPAM) tiene una baja LCST (32 °C) la cual se encuentra debajo de la temperatura corporal. Debido a lo anterior, es necesario incorporar monómeros como acrilamida (AAm) y alilamina (AH) con la finalidad de incrementar la LCST por encima de la temperatura corporal<sup>[76]</sup>.

- c) Yang y col., desarrollaron un sistema termosensible de estructura núcleo-coraza de nanopartículas de ferrita dopada con manganeso (Mn) y zinc (Zn) recubiertas con poli(N,N'-isopropilacrilamida-co-N-hidroximetilacrilamida) con el fin de ser potencialmente aplicado en sistemas de liberación controlada de fármacos. Las nanopartículas dopadas presentaron una temperatura de autocalentamiento lo suficientemente alta para eliminar células cancerígenas y además una facilidad de control de dicha temperatura variando la frecuencia y amplitud del campo magnético externo aplicado con el fin de proveer seguridad biológica y tolerancia fisiológica. La temperatura de estabilización alcanzada por este sistema fue de 41 °C en 4 minutos, volviendo a los sistemas de ferritas dopadas-polímero termosensible sistemas potenciales para aplicaciones biomédicas en liberación controlada de fármacos e hipertermia magnética controlada<sup>[77]</sup>.
- d) Se ha reportado la preparación de nanopartículas de cobalto-ferrita (CFNPs) recubiertas con polímeros hidrofílicos como la goma arábiga y el poli(ácido metacrílico) (PMAA), conjugadas con DOX para ser utilizadas como nanoacarreadores magnéticos de fármacos. Dicho sistema presenta una liberación de DOX de entre 5-10% aproximadamente cuando no existe un campo magnético externo, mientras que, en presencia de éste, la liberación se ve potencializada hasta a un 70-75%. El recubrimiento orgánico de las nanopartículas les otorgó un carácter hidrofílico además de aumentar la biocompatibilidad de las ferritas, siendo el recubrimiento de goma arábiga el de mayor citocompatibilidad con la línea

celular CHO (Ovario de Hámster Chino). En resumen, los sistemas de CFNPs funcionalizados con polímeros como el PMAA y la goma arábica, demuestran ser eficientes y candidatos prometedores de nanoacarreadores magnéticos para liberación controlada de DOX en tratamientos contra cáncer<sup>[78]</sup>.

- e) Además de los sistemas ya mencionados, otros sistemas de ferritas-polímero inteligente han sido investigados, tal es el caso de la investigación realizada por Karimi y col., quienes sintetizaron nanopartículas magnéticas dopadas con manganeso por medio de la técnica de coprecipitación química y posteriormente las recubrieron con quitosano modificado con polietilen glicol (PEG) y PEG palmitolado, como coraza. Dicho sistema fue utilizado para el encapsulamiento de un fármaco anticáncer común conocido como metotrexato (MTX). Los resultados mostraron que la eficiencia de encapsulamiento con este sistema fue de 92.8% con un valor de magnetización óptimo para aplicaciones biomédicas, además de un porcentaje de liberación del 6% en pH=7.4 y del 25% en pH=5.4 después de 72 horas. Los estudios de viabilidad celular mostraron que el MTX encapsulado presenta una mayor citotoxicidad en comparación al MTX libre, por lo que este tipo de sistemas son considerados candidatos potenciales para sistemas inteligentes de liberación de fármacos<sup>[79]</sup>.
- f) Recientemente, nanocompósitos de poli(N-vinilcaprolactama) injertada con nanopartículas de magnetita superparamagnética fueron sintetizados y caracterizados por Morfín-Gutiérrez y col., para su potencial aplicación en hipertermia magnética. Las nanopartículas sintetizadas por el método de coprecipitación química presentaron tamaños promedio de 10-16 nm, las cuales fueron funcionalizadas con viniltrimetoxisilano (VTMS) que contiene un grupo vinilo cuya principal función era la polimerización por vía radicales libres de la N-vinilcaprolactama. Según los resultados encontrados por el equipo de trabajo el sistema MNPs-PNVCL muestra bajos valores de coercitividad ( $H_c$ ) y remanencia ( $M_r$ ), además de que la presencia de VTMS y PNVCL en la superficie de las

MNPs disminuye los valores de magnetización de saturación ( $M_s$ ) causando una disminución de los momentos magnéticos de las MNPs. Sin embargo, estos valores se encuentran aún en el rango utilizado para aplicaciones biomédicas. Es importante recalcar que el polímero en el nanocompósito provee de estabilidad coloidal a las muestras y favorece el control del aumento de temperatura en hipertermia magnética. Por lo que se concluye que es posible obtener valores de calentamiento apropiados usando el nanocompósito MNPs-PNVCL a bajos tiempos de inducción magnética y bajas concentraciones en comparación con otros materiales magnéticos reportados en la literatura usados en tratamiento de hipertermia magnética para cáncer<sup>[80]</sup>.

En base a los antecedentes reportados y a las propiedades que exhiben estos sistemas del tipo ferrita-polímero inteligente, así como a los pocos trabajos de investigación existentes de ferritas magnéticas a base de hafnio; esta investigación pretende la síntesis, caracterización y evaluación de nanocompósitos basados en ferritas de hafnio y PVCL como sistemas inteligentes de liberación controlada de doxorubicina.

### 3. Objetivo general

---

Sintetizar y caracterizar un nanocompósito basado en nanopartículas de magnetita dopadas con hafnio ( $\text{Hf}_x\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ ) y poli(vinilcaprolactama) (PVCL) para su empleo como sistemas de liberación controlada de fármacos de interés biomédico.

#### 3.1 Objetivos específicos

- 1) Obtener nanopartículas de  $\text{Hf}_x\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$  con tamaños menores a los 20 nm por el método de coprecipitación química.
- 2) Establecer las condiciones necesarias para la funcionalización de las nanopartículas de  $\text{Hf}_x\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$  con viniltrimetoxisilano (VTMS).
- 3) Estudiar el impacto de la presencia de un agente entrecruzante, concentración de monómero y tiempo de reacción en la preparación de los nanocompósitos de PVCL- $\text{Hf}_x\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$  mediante polimerización radicalica.
- 4) Estudiar las propiedades estructurales, morfológicas, magnéticas y fisicoquímicas de las nanopartículas y nanocompósitos de PVCL- $\text{Hf}_x\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$  mediante las técnicas de difracción de rayos X (XRD), espectroscopia de infrarrojo (FT-IR), análisis termogravimétrico (TGA), magnetometría de muestra vibrante (VSM) y microscopia electrónica de transmisión (TEM).
- 5) Determinar la capacidad de carga de DOX de los nanocompósitos de PVCL- $\text{Hf}_x\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ , y estudiar su liberación a dos temperaturas (25 y 37 °C) para determinar el efecto de la PVCL sobre el porcentaje liberado de fármaco.
- 6) Estudiar el efecto de la incorporación de Hf en las nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  sobre su capacidad de calentamiento mediante pruebas de hipertermia magnética.

## 4. Justificación

---

Actualmente los seres vivos son mayormente afectados por condiciones ambientales y malos hábitos cotidianos. Además de un aumento en el consumo de productos sintéticos procesados, todo esto son factores que pueden contribuir con la aparición de diferentes padecimientos. Particularmente el cáncer, se espera que se convierta en la principal causa de muerte a nivel mundial y la barrera de mayor importancia para incrementar el promedio de vida en cualquier país en el siglo 21. Los tratamientos más empleados para el cáncer son la cirugía, radioterapia y quimioterapia, sin embargo, la eficiencia de cada uno de ellos depende de la etapa en que sea detectada la enfermedad. La principal desventaja de estos tratamientos es la ausencia de una selectividad específica en células, por lo que traen consigo efectos colaterales sobre las células y tejidos sanos. En base a lo anterior, surge la necesidad de elaborar nuevos materiales capaces de combatir la enfermedad y actuar de forma selectiva liberando fármacos en dosis controladas con la finalidad de proporcionar una mayor eficacia en los tratamientos, evitando así efectos secundarios en los pacientes, tales como náuseas, vómito, pérdida de cabello, decoloración de la piel, entre otros.

Se han desarrollado ya nuevos sistemas, que aún se encuentran en estudio, a base de micelas, liposomas, dendrímeros, nanomateriales, sistemas híbridos inteligentes, entre otros; con los que se busca generar nuevos tratamientos con los que se pueda disminuir el daño colateral a células sanas. Durante esta investigación se estudiará particularmente un tipo de sistema híbrido a base de PVCL-Hf<sub>x</sub>Fe<sub>3-x</sub>O<sub>4</sub>, como sistema de liberación de medicamentos, utilizando DOX como medicamento modelo aplicado a cáncer.

## 5. Hipótesis

El nanocompósito de  $Hf_xFe_{3-x}O_4$  y poli(vinilcaprolactama) (PVCL) será capaz de cargar y liberar DOX de una manera controlada gracias a la presencia de PVCL. Se espera que este nanocompósito actúe como reservorio de doxorubicina (fármaco anticáncer) y que este sea liberado bajo condiciones fisiológicas a una temperatura controlada.

## 6. Metodología

### 6.1 Materiales y reactivos

En la tabla 1 se enlistan los materiales y reactivos utilizados para la síntesis de magnetita dopada con Hafnio y del compuesto final.

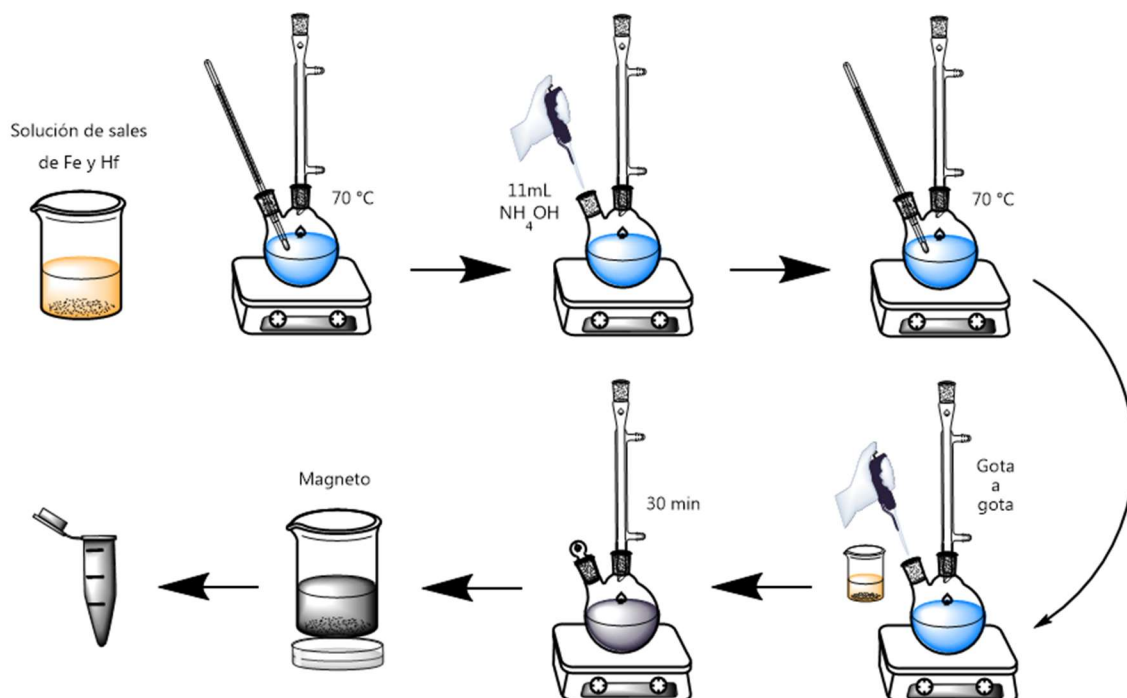
**Tabla 1.** Materiales y reactivos utilizados.

Materiales	Reactivos
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Parrilla de agitación</li> <li>• Baño de agua o aceite</li> <li>• Agitador magnético</li> <li>• Refrigerante</li> <li>• Baño refrigerante</li> <li>• Termopar</li> <li>• Potenciómetro</li> <li>• Sonificador</li> <li>• Termómetro</li> <li>• Magneto</li> <li>• Pipetas</li> <li>• Vasos de precipitado</li> <li>• Matraz bola de una y dos bocas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cloruro ferroso tetrahidratado (<math>FeCl_2 \cdot 4H_2O</math>, 99%)</li> <li>• Cloruro férrico hexahidratado (<math>FeCl_3 \cdot 6H_2O</math>, 97%)</li> <li>• Cloruro de Hafnio (<math>HfCl_4</math>, 98%)</li> <li>• Hidróxido de amonio (<math>NH_4OH</math>, 28-30%)</li> <li>• Viniltrimetoxisilano (VTMS, 98%)</li> <li>• Ácido Acético (<math>CH_3CO_2H</math>, 99%)</li> <li>• N-vinilcaprolactama (NVCL, 98%)</li> <li>• Persulfato de amonio (APS, 98%)</li> <li>• N-Metilen-bis-acrilamida (NMBA, 99%)</li> <li>• Doxorubicina (DOX, estándar farmacéutico)</li> </ul>

### 6.2 Síntesis de nanopartículas magnéticas de $Hf_xFe_{3-x}O_4$

Como partículas magnéticas se sintetizó  $Hf_xFe_{3-x}O_4$  (con  $x = 0.2, 0.4, 0.6, 0.8$  y 1) mediante la técnica de coprecipitación química inversa. La metodología fue la siguiente: se preparó una solución acuosa de cloruro

férrico ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), cloruro ferroso ( $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) y cloruro de hafnio ( $\text{HfCl}_4$ ) con agitación mecánica. La relación molar de  $\text{FeCl}_3:\text{FeCl}_2$  se mantuvo constante con un valor de 2:1. Por separado, se preparó en un matraz bola una solución acuosa de hidróxido de amonio (11 mL) en 89 mL de agua desionizada y se calentó hasta alcanzar una temperatura de  $70\text{ }^\circ\text{C}$ , alcanzada esta temperatura se añadió la solución de cationes gota a gota y se dejó en agitación magnética constante por 30 minutos. El precipitado formado se lavó 8 veces con 50 mL de agua destilada y se dejó secar a temperatura ambiente por 24 horas. En la figura 8 se muestra la metodología utilizada.



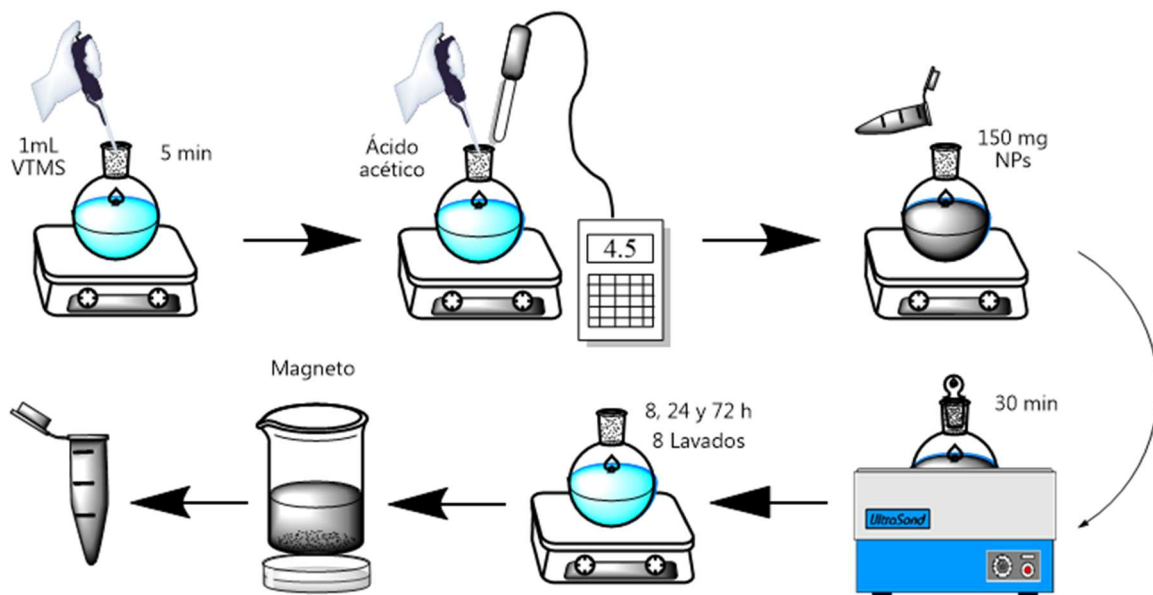
**Figura 8.** Metodología para la síntesis de magnetita sin dopar y dopada con  $\text{Hf}^{4+}$  en diferentes concentraciones.

### 6.2.1 Funcionalización de nanopartículas magnéticas de $\text{Hf}_x\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ con VTMS

Una vez obtenidas las nanopartículas magnéticas dopadas, se funcionalizaron con VTMS. La funcionalización de las partículas se llevó a cabo mediante la modificación a la metodología propuesta por



Akbarzadeh, A. y col <sup>[81]</sup>, que consiste en hidrolizar el VTMS para facilitar su enlace a la superficie de las nanopartículas. El procedimiento que se siguió fue el siguiente: en un matraz bola se adicionó una cantidad determinada de VTMS y se mezcló con 20 mL de etanol bajo agitación magnética durante 5 minutos y el pH de la solución fue ajustado a 4.5 usando ácido acético. Enseguida se agregaron 150 mg de nanopartículas y la solución se dispersó por sonicación por 30 minutos. Posteriormente, la solución fue agitada a temperatura ambiente a una velocidad de 1200 rpm durante 8, 24 y 72 h. Finalmente, con el fin de asegurar la eliminación del VTMS no injertado en las nanopartículas, cada muestra fue lavada en 8 ocasiones utilizando 50 mL de agua desionizada con agitación de 1200 rpm por 20 minutos. Las nanopartículas se recolectaron con un magneto y se secaron durante 24 h a 80 °C para su posterior caracterización. Esta metodología se representa en la figura 9.

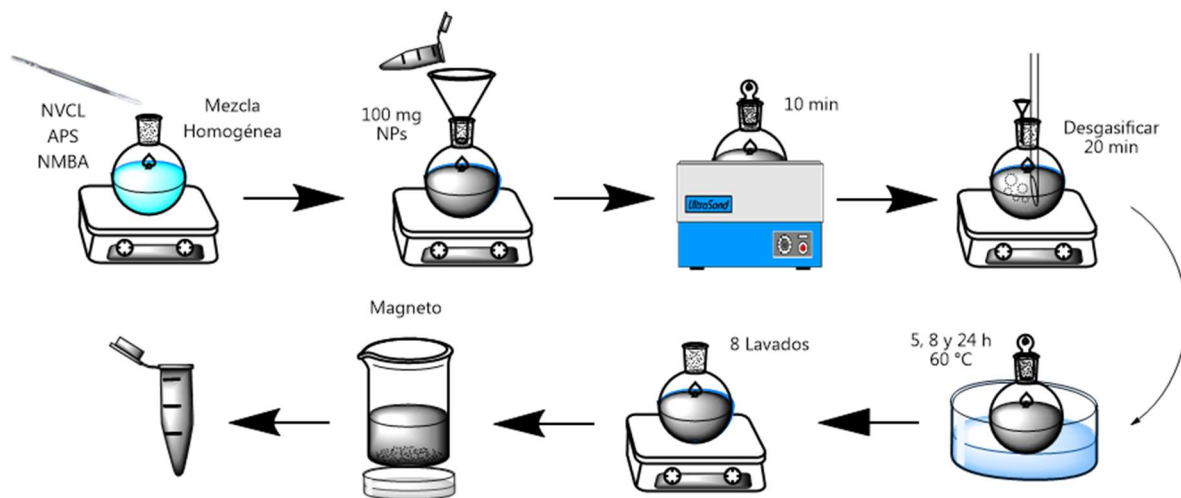


**Figura 9.** Metodología para la funcionalización de  $Hf_{0.6}Fe_{2.4}O_4$  con VTMS.

### 6.2.2 Preparación del nanocompuesto

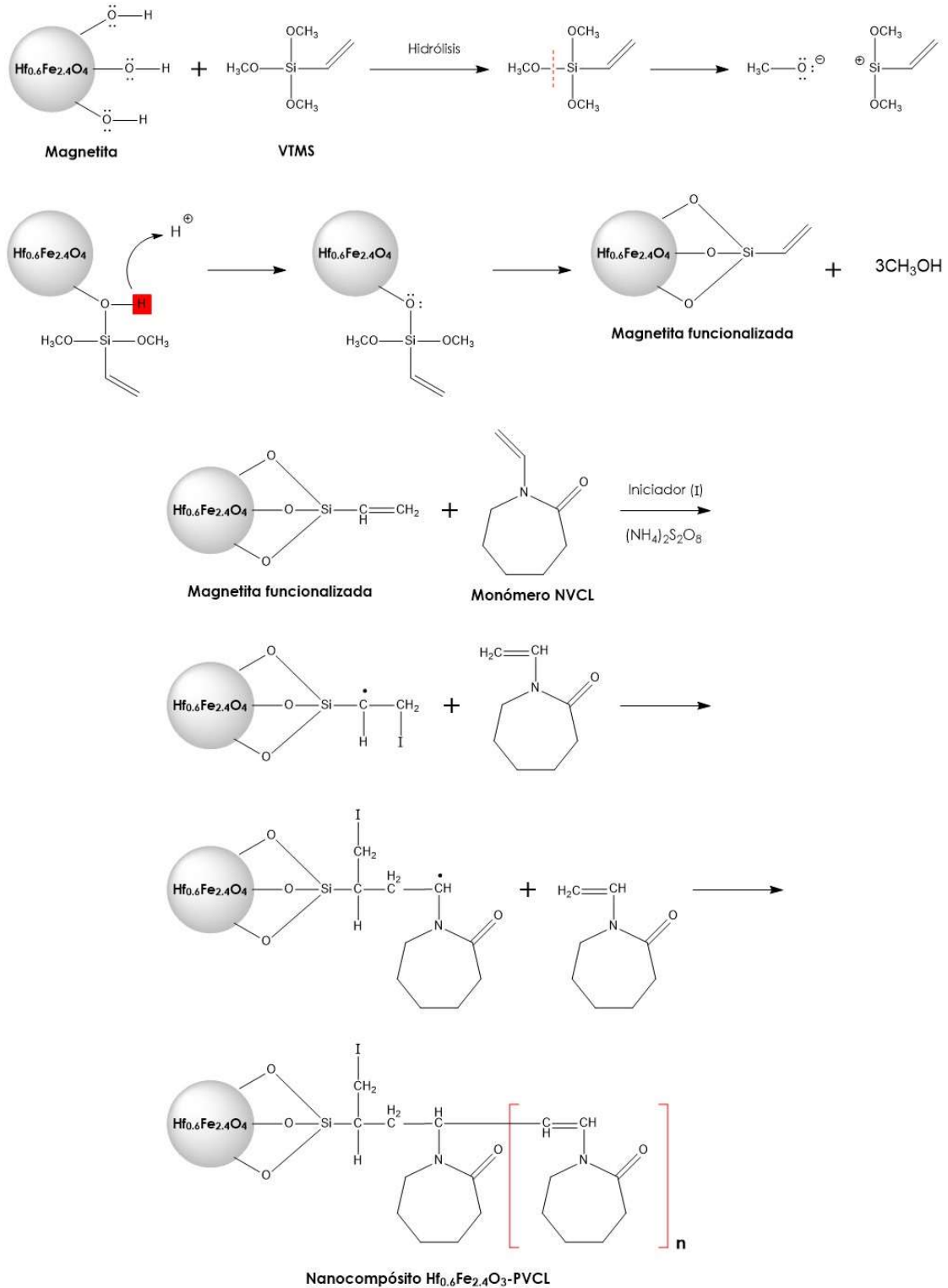
Las nanopartículas magnéticas funcionalizadas con VTMS fueron utilizadas para llevar a cabo la polimerización de NVCL en su superficie. La reacción de polimerización se realizó de la siguiente manera: en un matraz de bola de 50 mL se agregaron 10 mL de agua desionizada, el monómero de NVCL

previamente destilado (concentración de 500, 250 y 125 mg), APS, y NMBA (ambos al 10% en peso respecto al monómero), los cuales se agitaron hasta formar una mezcla homogénea. Después se agregaron 100 mg de nanopartículas magnéticas ya funcionalizadas y se sonicaron en un baño de ultrasonido durante 10 minutos. Posteriormente, se llevó a cabo la degasificación del matraz bola mediante el burbujeo constante de nitrógeno por 20 minutos, esto con la finalidad de remover el oxígeno, dado a que puede interferir con la polimerización. Después la solución fue colocada en un baño de agua a temperatura controlada de 60 °C, esto con la finalidad de descomponer el APS y generar los radicales libres necesarios para la reacción de polimerización, misma que se llevó a cabo a diferentes tiempos de reacción (4, 8, 16 y 24 horas). Después de la polimerización, los nanocompósitos obtenidos fueron lavados en 8 ocasiones utilizando 50 mL de agua desionizada bajo agitación de 1200 rpm por 20 minutos. Los nanocompósitos fueron recolectados por medio de un magneto y se secaron por 24 h a 80 °C para su posterior caracterización. La metodología para la preparación del nanocompósito se muestra en la figura 10.



**Figura 10.** Metodología para la preparación del nanocompósito a base de  $Hf_{0.6}Fe_{2.4}O_4$ -PVCL.

Un esquema de la funcionalización de las nanopartículas magnéticas con VTMS, así como el mecanismo de polimerización vía radicales libres de la NVCL en presencia de las nanopartículas se muestra en la figura 11.



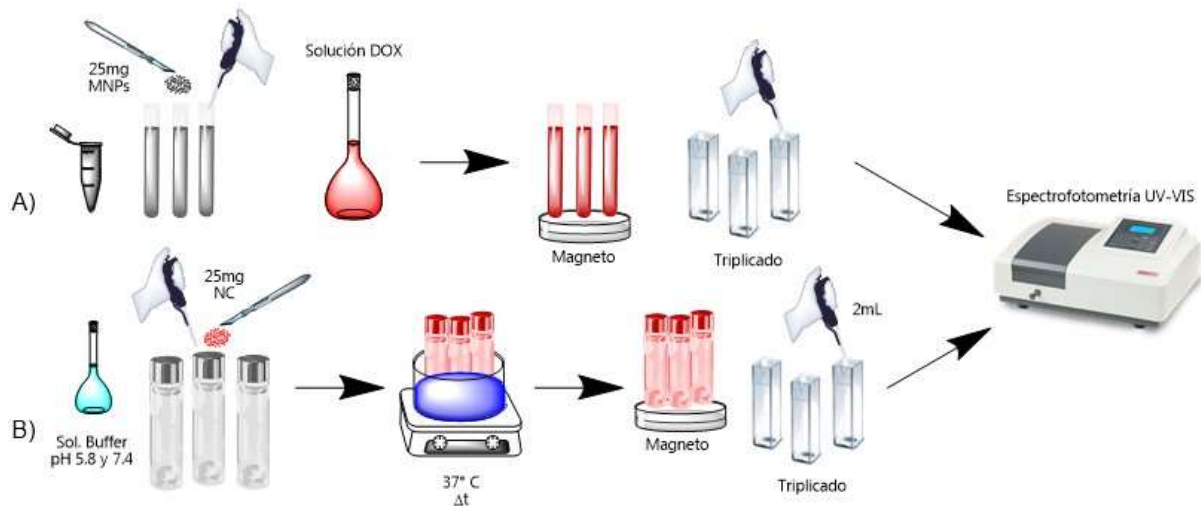
**Figura 11.** Mecanismo de funcionalización y polimerización de las MNPs.

### 6.3 Carga y liberación del fármaco

Para el estudio de carga, una cantidad predeterminada de los nanocompuestos se añadió a una solución de DOX de concentración conocida a temperatura ambiente hasta alcanzar el máximo de adsorción. El monitoreo de cantidad de fármaco adsorbido se llevó a cabo mediante espectrofotometría de UV-vis. Una vez cargado el fármaco, el material se lavó rápidamente con agua y se secó a temperatura ambiente. Los experimentos se realizaron por triplicado para cada muestra. Para llevar a cabo los estudios de liberación, los nanocompuestos se colocaron en una solución amortiguadora de pH 5.8 a 37 °C. Posteriormente, se tomaron 2 mL del medio de cesión a diferentes intervalos de tiempo y la liberación del fármaco fue monitoreada mediante espectrofotometría de UV-vis, dicha alícuota fue regresada inmediatamente al vial correspondiente. La DOX fue utilizada como modelo de fármaco para realizar los experimentos de carga y liberación a partir del sistema híbrido MNPs-PVCL. La eficiencia de carga del material se calculó usando la ecuación 1.

$$\% \text{ de eficiencia de carga} = \frac{\text{concentración inicial de DOX} - \text{concentración final de DOX}}{\text{concentración inicial de DOX}} \times 100 \quad (1)$$

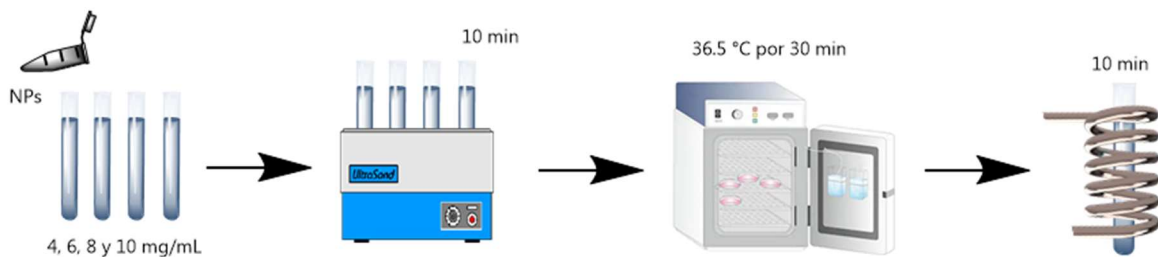
En la figura 12 se ilustra el procedimiento que se llevó a cabo para las pruebas de carga y liberación de fármaco.



**Figura 12.** Metodología para pruebas de carga (A) y liberación (B) de DOX.

## 6.4 Pruebas de hipertermia magnética

Las pruebas de hipertermia magnética se llevaron a cabo con la finalidad de conocer la capacidad de calentamiento de las nanopartículas no modificadas con VTMS, esto permitió determinar si estos materiales podrían ser apropiados para hipertermia magnética y no solo como sistemas liberadores de medicamento. Las mediciones se realizaron en un equipo de inducción magnética de marca AMBRELL modelo EasyHeat con una potencia de entrada de 200.2 A y un campo magnético de 10.2 kA/m con una frecuencia de 0.354 MHz. Para llevar a cabo las mediciones se prepararon suspensiones con diferentes concentraciones de nanopartículas (o nanocompuestos) (4, 6, 8 y 10 mg/ml de agua). Dichas suspensiones se colocaron en viales de vidrio y posteriormente fueron dispersadas utilizando un baño de ultrasonido, después se colocaron en una incubadora a 36.5 °C por 30 minutos con la finalidad de establecer una misma temperatura inicial para todas las suspensiones. Finalmente, cada una de las muestras fue sometida a inducción magnética durante 10 minutos para evaluar su calentamiento tal como muestra la figura 13.



**Figura 13.** Metodología para la evaluación de las pruebas de hipertermia magnética.

## 6.5 Técnicas de caracterización

### 6.5.1 Análisis termogravimétrico (TGA)

Con la técnica de TGA se determinó la cantidad de material orgánico injertado en las nanopartículas magnéticas, con el fin de calcular el porcentaje de injerto tanto de VTMS como de PVCL en su superficie. Para el análisis térmico fue utilizado el analizador termogravimétrico TGA Q 500

V6.7 con atmósfera inerte (N<sub>2</sub>) en un rango de temperatura ambiente hasta 780 °C.

### **6.5.2 Espectroscopia de Infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)**

La técnica de IR proporcionó información sobre los distintos enlaces químicos de la muestra, permitiendo identificar los grupos funcionales presentes en la superficie de las nanopartículas magnéticas modificadas, y así determinar la presencia de VTMS y de PVCL en estas. El estudio se realizó en un espectrofotómetro Nicolet iS50 en un rango de longitud de onda de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>.

### **6.5.3 Difracción de rayos X (XRD)**

Las nanopartículas sintetizadas fueron caracterizadas por difracción de rayos X con la finalidad de estudiar la estructura cristalina de las mismas y corroborar la obtención de la fase cristalina de la magnetita. Estas mediciones se llevaron a cabo en un difractómetro Ultima IV (Rigaku) con una fuente de radiación de Cu  $\alpha$  ( $\lambda=1.54183$  Å) en un rango de 10 a 80° en 2 $\theta$  con un paso de 0.02° y una velocidad de 4°/min. Los tamaños de cristalita fueron calculados haciendo uso del software MDI Jade 6.5.

### **6.5.4 Magnetometría de muestra vibrante (VSM)**

Esta técnica se utilizó para conocer las propiedades magnéticas de los sistemas en estudio para relacionarlos con la posible aplicación de liberación de medicamentos e hipertermia. Las mediciones se realizaron en un magnetómetro de muestra vibrante (VSM) SQUID – Quantum Design, PPMS modelo 6000 con un campo aplicado de  $\pm 20$  KOe a temperatura ambiente, utilizando de 10-20 mg de muestra para obtener la curva de magnetización y el ciclo de histéresis.

### **6.5.5 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)**

Esta técnica se usó para determinar la morfología y distribución de tamaño tanto de partículas magnéticas dopadas con hafnio, como del nanocompuesto de Hf<sub>0.6</sub>Fe<sub>2.4</sub>O<sub>4</sub>-PVCL. Las micrografías fueron tomadas en un microscopio FEI Titan 80-300. Las muestras fueron preparadas mediante la dispersión de una pequeña cantidad de polvo en acetona utilizando un baño de ultrasonido por 25 minutos con el fin de desaglomerar las

partículas. Enseguida, se tomó una pequeña alícuota y se depositó 1 gota sobre una rejilla de cobre, la cual se dejó secar unos minutos hasta la completa evaporación del solvente.

#### **6.5.6 Espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-vis)**

Se empleó para determinar la cantidad máxima de fármaco cargado y liberado por los nanocompuestos sintetizados. La técnica de UV-vis fue utilizada para determinar la concentración de DOX (mgDOX/mg de NPs) cargada en el nanocompuesto, así como la cantidad liberada (% DOX liberada) por el mismo, a partir del análisis de las soluciones acuosas de DOX. Esta técnica nos permitió determinar el porcentaje de eficiencia de carga, así como estimar la velocidad de liberación de fármaco.

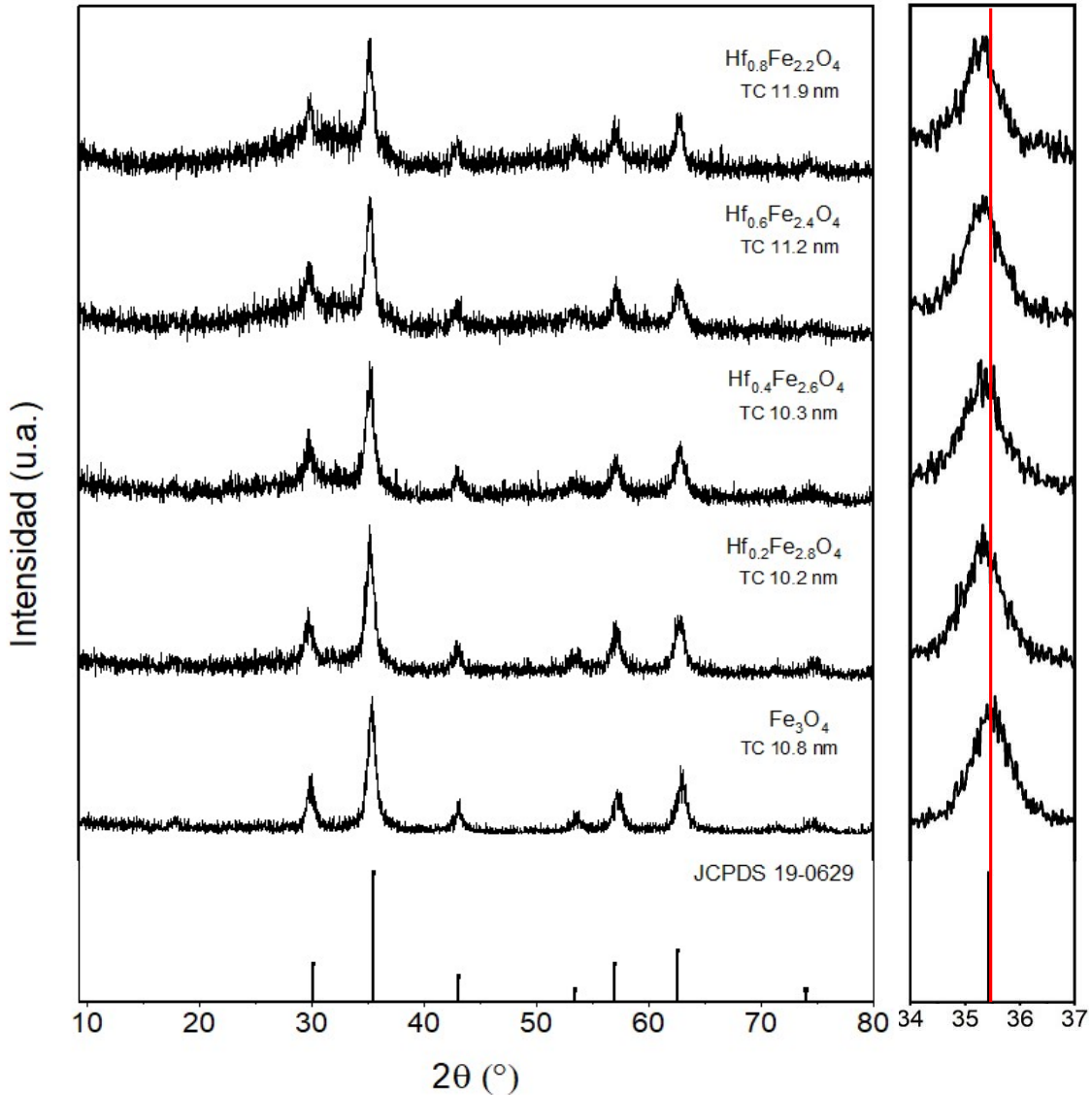
## 7. Resultados

---

### 7.1 Difracción de Rayos X (XRD)

Se sintetizaron nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  sin dopar como referencia para poder visualizar los posibles cambios estructurales y/o cristalinos resultantes del dopaje con  $\text{Hf}^{4+}$  a través de difracción de rayos X (XRD). En la figura 14 se muestra el patrón de difracción obtenido para las MNPs sin dopar y dopadas con Hf. Para la muestra sin dopar se observaron reflexiones localizadas en los ángulos  $30.3$ ,  $35.7$ ,  $43.4$ ,  $53.8$ ,  $57.4$ ,  $63$  y  $74.4^\circ$  correspondientes a los planos cristalinos (220), (311), (400), (422), (511), (440) y (533), respectivamente. Estas señales corresponden a las reflexiones características de la magnetita que presenta una estructura cúbica del tipo espinela inversa<sup>[82]</sup>, de acuerdo con el estándar (JCPDS 19-0629) mostrado en la figura 14. En los difractogramas obtenidos de cada muestra de magnetita dopada con Hf, se puede apreciar que las reflexiones características de esta fase se conservan aún después de su dopaje con Hf, no se observan otras señales adicionales a las del estándar JCPDS. Sin embargo, se aprecia la formación de una fase amorfa (reflejada en el crecimiento de la región amorfa de  $27^\circ$  a  $37^\circ$  en  $2\theta$ ) que aumenta de manera proporcional a la cantidad de catión dopante. De igual manera en cada patrón de difracción de las muestras dopadas, se observa un ligero desplazamiento hacia ángulos  $2\theta$  más pequeños de manera proporcional al incremento del dopaje con  $\text{Hf}^{4+}$  lo que indica una posible modificación de la celda unitaria (parámetro de red), esto se puede deber posiblemente por la introducción de cationes de Hafnio en la estructura cristalina. Los tamaños de cristalita de las muestras fueron calculados mediante el uso del software MDI Jade 6.5 y se presentan como TC en la figura 13. El rango de tamaños va desde  $10.2$  nm para la muestra  $\text{Hf}_{0.2}\text{Fe}_{2.8}\text{O}_4$  hasta  $11.9$  nm para el caso de  $\text{Hf}_{0.8}\text{Fe}_{2.2}\text{O}_4$ . Estos cambios en el tamaño de cristalita podrían estar asociados al desplazamiento de las reflexiones de Bragg hacia ángulos más pequeños debido al crecimiento en el tamaño del cristal, el cual aumenta conforme se incrementa el dopaje con  $\text{Hf}^{4+}$  [83].



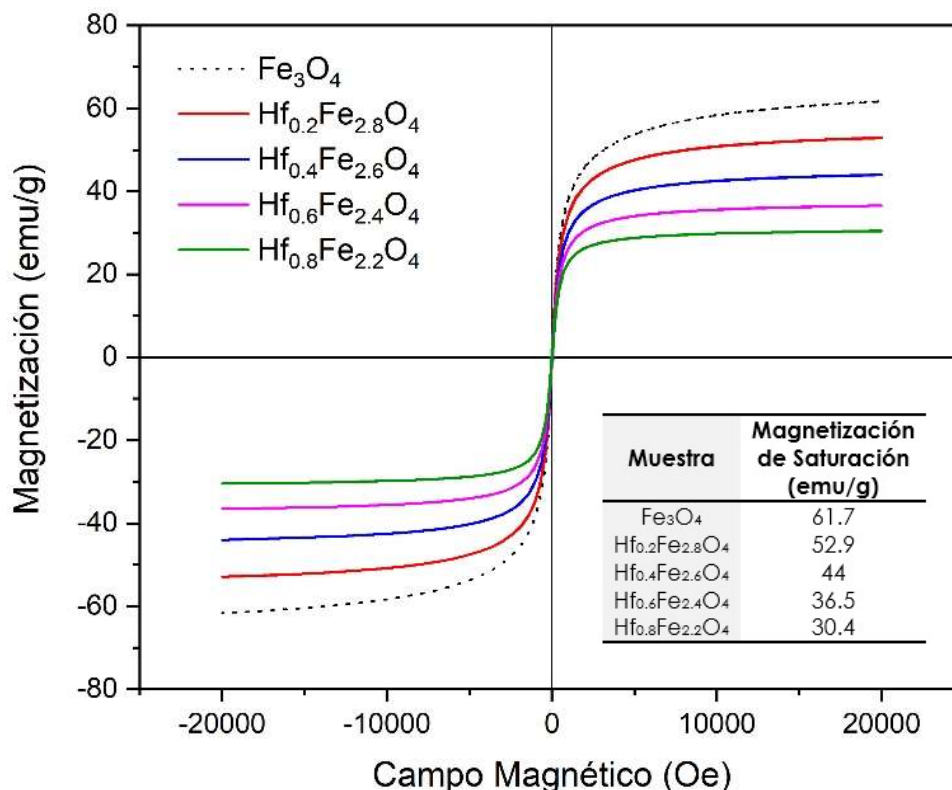


**Figura 14.** Patrones de difracción de la magnetita sin dopar, su estándar (JCPDS 19-0629) y dopada con diferente contenido de Hf<sup>4+</sup>. TC= tamaño de cristalita determinado por XRD.

## 7.2 Magnetometría de muestra vibrante (VMS)

Las propiedades magnéticas tanto de las nanopartículas magnéticas como de los nanocompuestos fueron evaluadas por magnetometría de muestra vibrante. Las curvas de histéresis de las MNPs sin dopar y dopadas se presentan en la figura 15. Se puede observar que las muestras de MNPs-Dop no presentan histéresis lo cual sugiere un comportamiento

superparamagnético, es decir, cuentan con características ferromagnéticas y paramagnéticas de acuerdo con el campo externo aplicado sobre ellas. Además, se observa un decaimiento en el valor de magnetización de saturación directamente proporcional a la cantidad de elemento dopante, que va desde 61.7 emu/g en el caso de la magnetita sin dopar hasta 30.4 emu/g para la muestra con 0.8 de Hf. El decaimiento de la magnetización de saturación con el aumento de catión dopante se puede deber principalmente a la sustitución de átomos de  $\text{Fe}^{3+}$  que contribuyen a la magnetización por átomos de un elemento diamagnético como lo es el Hf<sup>[84]</sup>. A pesar de este decaimiento en la magnetización de saturación de las partículas, dicho fenómeno no afectó la recolección de las muestras Hf 0.2, 0.4 y 0.6 con un magneto cuando están suspendidas en una solución acuosa, a excepción de la muestra con Hf 0.8 en la que era evidente la menor efectividad del magneto para lograr su recolección. Los valores de magnetización de saturación se muestran en la tabla insertada en la figura 15.

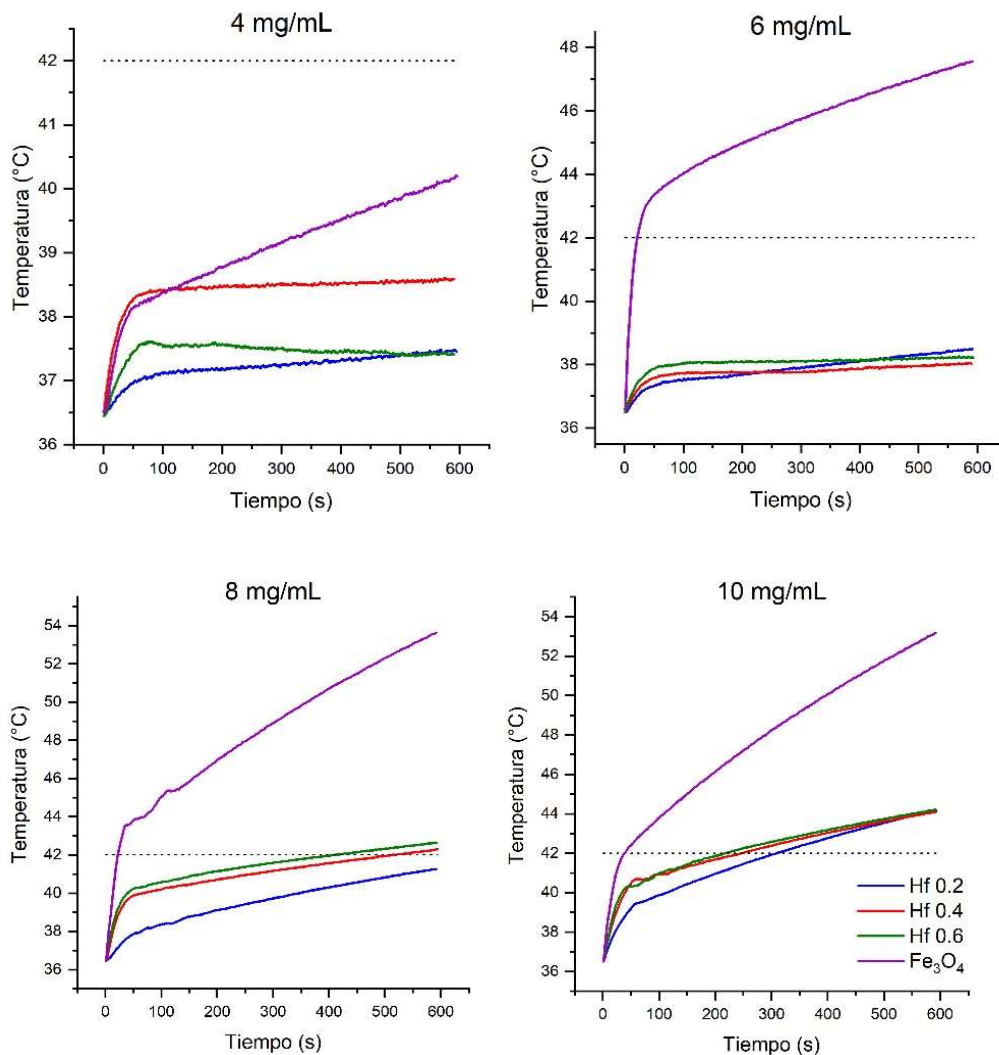


**Figura 15.** Curvas de histéresis de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  y dopada con  $\text{Hf}^{4+}$ .

Las propiedades magnéticas de los materiales sintetizados son críticas y de suma importancia en aplicaciones biomédicas, ya que indican su respuesta ante la aplicación o remoción de un campo magnético externo y, por ende, su comportamiento en tratamientos de hipertermia magnética, es decir, el rango de temperaturas alcanzado (crítico para no causar daño colateral a tejido sano) y la estabilidad de calentamiento generado.

### **7.3 Hipertermia magnética**

Las pruebas de hipertermia magnética se llevaron a cabo con la finalidad de conocer la capacidad de calentamiento de las MNPs-Dop y la magnetita pura, esto permitió determinar si los materiales sintetizados son apropiados para tratamientos de hipertermia magnética y no solo como sistemas liberadores de medicamento. La figura 16 presenta el calentamiento que mostraron los materiales bajo inducción magnética por 10 minutos. Para la realización de estas pruebas se decidió descartar la muestra de  $\text{Hf}_{0.8}\text{Fe}_{2.2}\text{O}_4$  debido a que fue la muestra que presentó mayor cantidad de fase amorfa y menores propiedades magnéticas; cabe mencionar que dichas pruebas se realizaron por triplicado para cada muestra. Se puede apreciar que, sin importar la cantidad de catión dopante, el calentamiento generado por las MNPs-Dop bajo inducción magnética es más estable y constante que con la magnetita pura (línea púrpura) la cual alcanza una temperatura máxima cercana a los  $55^\circ\text{C}$  después de 10 min. Además, las muestras a bajas concentraciones (4 y 6 mg/mL) no lograron calentar a la temperatura ideal para tratamiento de hipertermia magnética<sup>[85]</sup> ( $40\text{-}42^\circ\text{C}$ ) llegando hasta un máximo de temperatura de alrededor de  $38.5^\circ\text{C}$ ; sin embargo a concentraciones de 8 y 10 mg/mL todas las muestras llegaron a la temperatura ideal (a excepción de  $\text{Hf}_{0.2}$  a 8 mg/mL) llegando a una temperatura máxima de  $42.6^\circ\text{C}$  (8 mg/mL –  $\text{Hf}_{0.6}$ ) y  $44.2^\circ\text{C}$  (10 mg/mL –  $\text{Hf}_{0.6}$ ). Cabe mencionar que la muestra que presentó el calentamiento más estable ( $\Delta T$  pequeño) fue la de  $\text{Hf}_{0.6}$  a 8 mg/mL que llegó a  $40.2^\circ\text{C}$  a los 50 s y  $42.6^\circ\text{C}$  a los 600 s (10 min) es decir un  $\Delta T = 2.4^\circ\text{C}$ , por lo que esta muestra fue la seleccionada para proseguir con su funcionalización con VTMS y posterior modificación con PVCL.

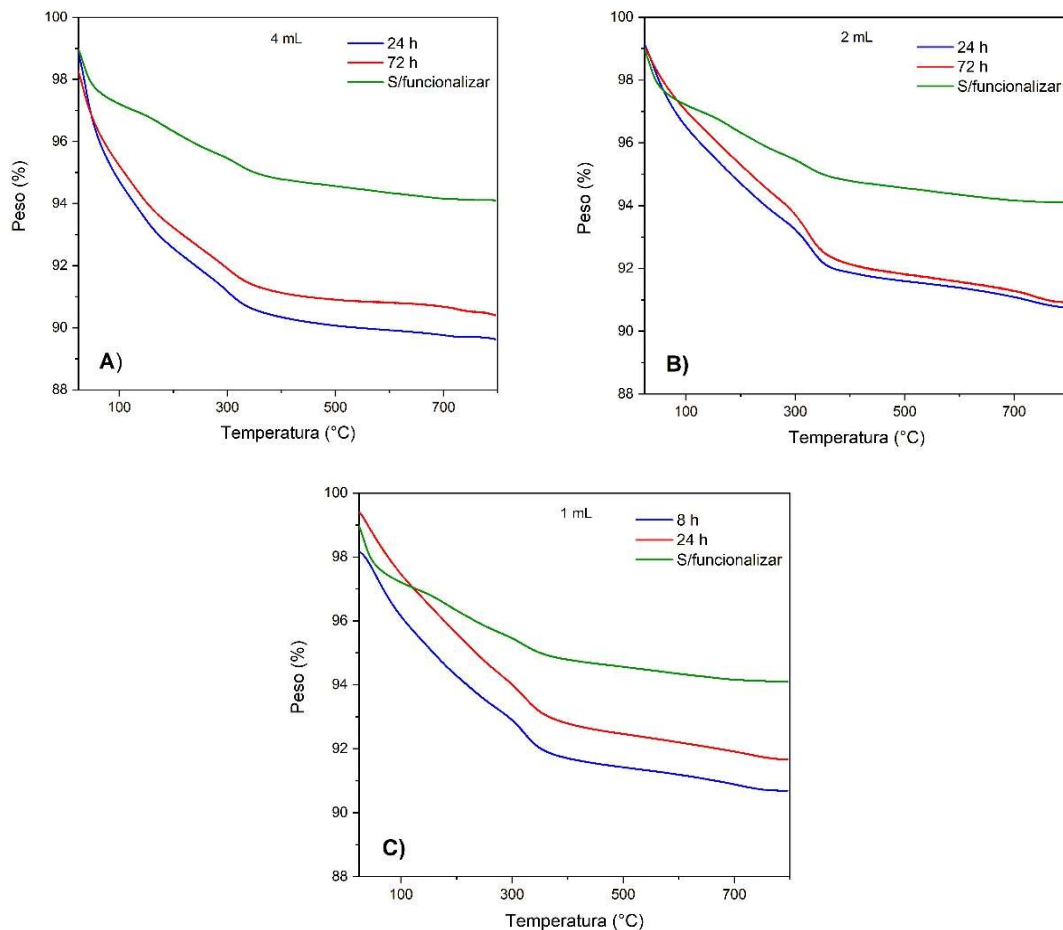


**Figura 16.** Pruebas de inducción magnética de las diferentes muestras de MNPs-Dop a diferentes concentraciones.

#### 7.4 Análisis Termogravimétrico (TGA) – MNPs-VTMS

En la figura 17 se presentan los termogramas de las diferentes muestras estudiadas. Las MNPs-Dop presentaron una pérdida de peso total de 6%, la cual es atribuida a la eliminación de humedad y agua molecular, así como la pérdida de los grupos hidroxilo en su superficie<sup>[86]</sup>. Los volúmenes de VTMS utilizados para la funcionalización fueron de 2 y 4 mL con tiempos de reacción de 24 y 72 h; en la figura 17A correspondiente a las muestras funcionalizadas con 4 mL se presentaron pérdidas en peso de 10.4 y 9.6%

obtenidas a 24 y 72 h respectivamente; mientras que en las muestras con 2 mL (figura 17B) se observan pérdidas en peso de 9.3 y 9% a 24 y 72 h respectivamente. La pérdida de peso por debajo de los 200 °C se atribuye a la eliminación de agua mientras que la pérdida entre 300 y 700 °C se deben a la eliminación del VTMS ya que su temperatura de degradación es aproximadamente 325 °C<sup>[87]</sup>. De los resultados obtenidos por TGA se cuantificó la cantidad de VTMS presente en las nanopartículas (Tabla 2). Debido a que no existió una gran diferencia en la cantidad injertada entre las muestras con 2 y 4 mL de VTMS a 24 y 72 h de reacción, se decidió disminuir tanto el volumen como el tiempo de reacción a 1 mL de VTMS a 8 y 24 h de reacción (figura 17C), obteniéndose pérdidas en peso de 9.3 y 8.3% respectivamente (tabla 2).



**Figura 17.** Termogramas de NPs sin funcionalizar y funcionalizadas con 4 mL (A), 2 mL (B) y 1 mL (C) de VTMS.

**Tabla 2.** Porcentaje de pérdida y cantidad de injerto de VTMS en la superficie de las NPs funcionalizadas a diferentes concentraciones y tiempo de reacción.

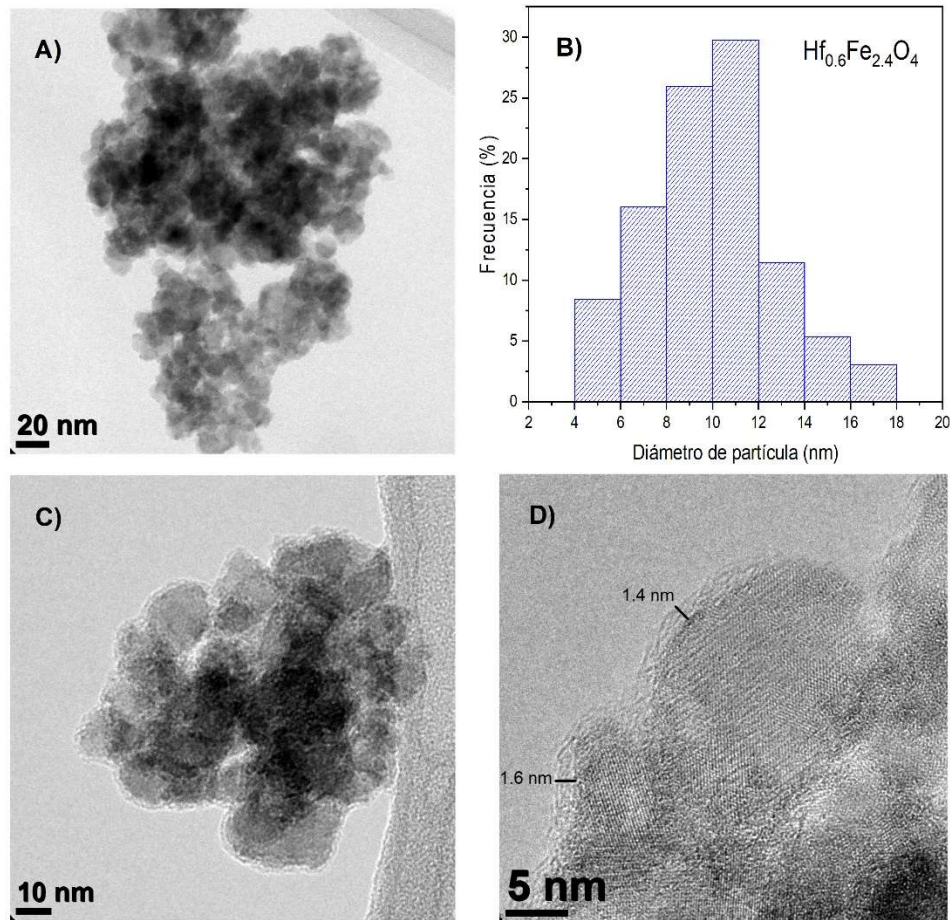
Volumen VTMS	Tiempo de reacción	% de pérdida en peso	MMOL VTMS/g NPs
4 mL	24h	10.4	0.7
	72h	9.6	0.6
2 mL	24h	9.3	0.6
	72h	9	0.6
1 mL	8h	9.3	0.5
	24h	8.3	0.5

Como ya se mencionó, no se observan grandes diferencias en la cantidad de VTMS injertado por gramo de NPs en las diferentes concentraciones y tiempos de reacción utilizados, por lo que se optó utilizar la formulación con el menor volumen de VTMS y menor tiempo de reacción, es decir 1 mL y 8 h.

### 7.5 Microscopía electrónica de transmisión (TEM) – MNPs-VTMS

Las MNPs fueron analizadas mediante TEM para observar la morfología y determinar su diámetro promedio. La figura 18A muestra la micrografía de TEM para las NPs de  $\text{Hf}_{0.6}\text{Fe}_{2.4}\text{O}_4$  sin funcionalizar, las cuales presentan una morfología irregular con tamaños menores a los 20 nm y se muestran aglomeradas debido a su naturaleza magnética. El histograma de distribución de tamaño de partícula (figura 18B) fue obtenido mediante el análisis de varias micrografías de TEM y un conteo total de nanopartículas de aproximadamente 300, utilizando el software Image J versión 1.51. El histograma mostró que las partículas se encuentran en un rango de tamaños entre 4-18 nm con un tamaño promedio de 10 nm ( $\pm 2.19$  nm), donde aproximadamente el 55% está en el rango de 8-12 nm, lo que coincide con el tamaño de cristalita de 11.2 nm calculado mediante XRD. Para el caso de las MNPs funcionalizadas con VTMS (figura 18C) también se observan tamaños de partícula similares con una morfología irregular, sin embargo, éstas presentan un recubrimiento amorfo (figura 18D) con un grosor promedio de aproximadamente 1.6 nm ( $\pm 0.32$  nm), el cual confirma la presencia del VTMS en la superficie de las NPs.



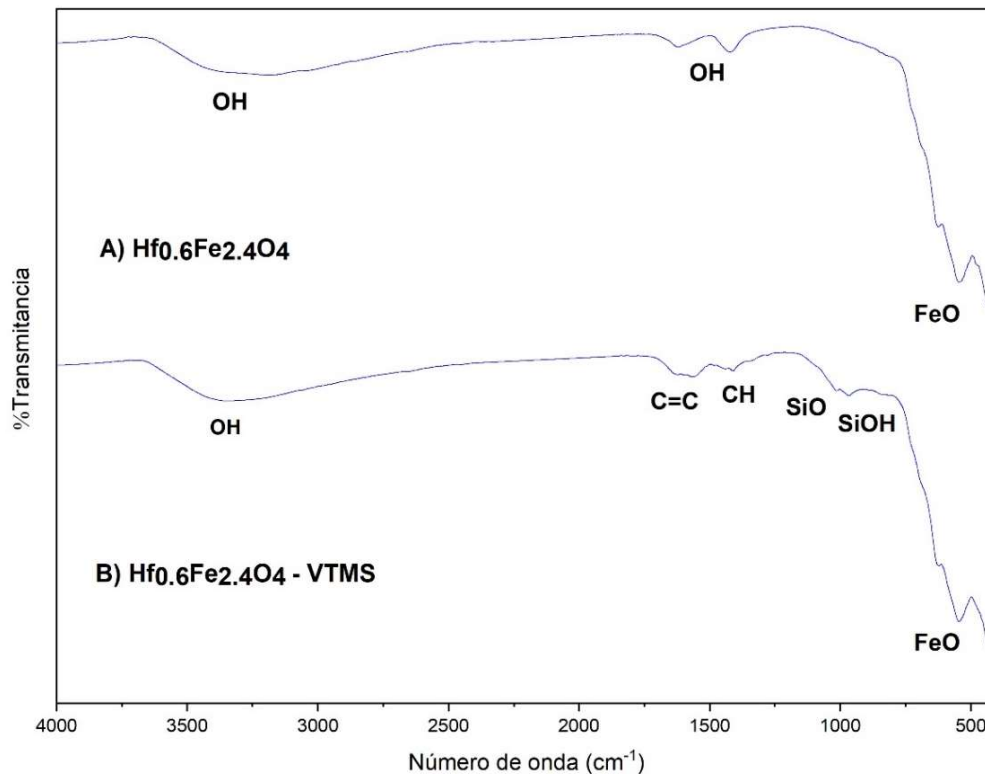


**Figura 18.** Micrografía de TEM de las partículas de  $Hf_{0.6}Fe_{2.4}O_4$  sin funcionalización (A), su histograma de la distribución de tamaños de partícula (B) y funcionalizadas con VTMS (C) en las que se observa un recubrimiento amorfo (D).

### 7.6 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) – MNPs-VTMS

Los espectros de FT-IR las NPs sin funcionalizar y funcionalizadas con VTMS, se muestran en la figura 6. En el caso de las NPs sin funcionalizar el espectro muestra bandas de absorción en aproximadamente  $543$  y  $620\text{ cm}^{-1}$  correspondientes al enlace Fe-O de la magnetita y bandas de absorción en  $3300$ ,  $1619$  y  $1424\text{ cm}^{-1}$  que se deben al estiramiento del enlace O-H presentes en la superficie de las NPs (figura 19A)<sup>[88]</sup>. Por su parte, el espectro de las NPs funcionalizadas con VTMS muestra las bandas ya mencionadas del enlace Fe-O (en  $541$  y  $622\text{ cm}^{-1}$ ) y la banda de absorción ancha en  $3350\text{ cm}^{-1}$  debido al estiramiento del grupo OH. Se observan

nuevas bandas debidas a la funcionalización, una en  $960\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a movimientos de flexión del enlace Si-O-H y en  $1019\text{ cm}^{-1}$  por el estiramiento Si-O. Así mismo se presenta una banda debida a la deformación ( $\delta$ ) asimétrica del grupo  $\text{CH}_3$  en  $1409\text{ cm}^{-1}$  y en  $1553\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al estiramiento C=C (figura 19B)<sup>[89]</sup>. La presencia de las bandas correspondientes al VTMS que se utilizó para llevar a cabo la funcionalización, corrobora que la superficie de las NPs está modificada y confirma los resultados de TEM y TGA discutidos anteriormente.



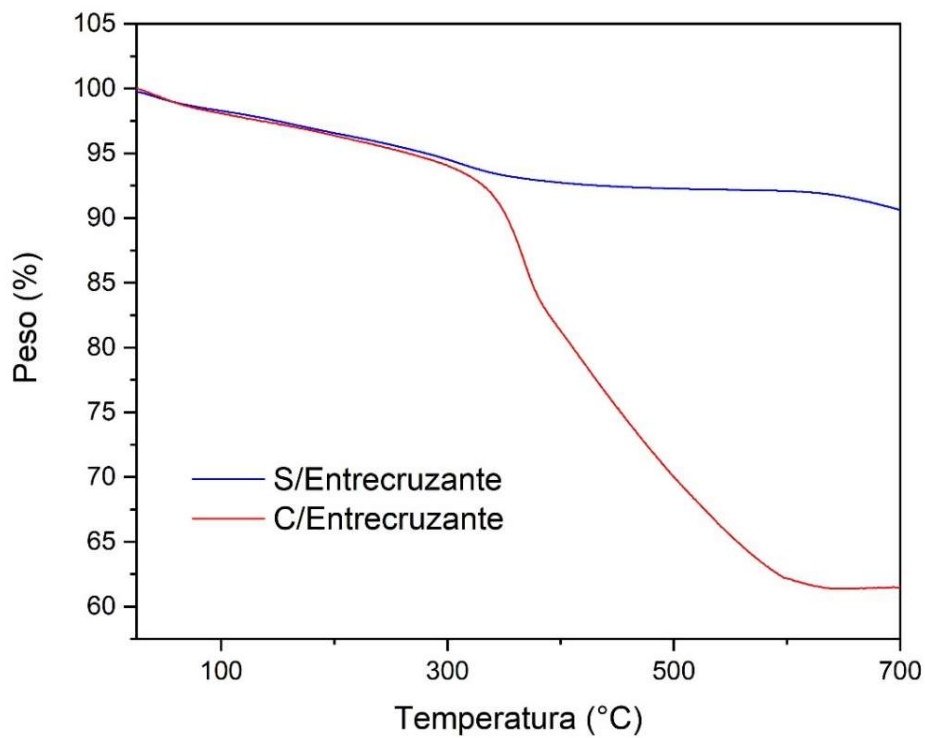
**Figura 19.** Espectros de FT-IR de MNPs-Dop sin funcionalizar (A) y funcionalizadas con VTMS (B).

### 7.7 Análisis Termogravimétrico (TGA) – MNPs-g-PVCL

Una vez confirmada la modificación superficial de las NPs con VTMS, se prosiguió a llevar a cabo la polimerización de NVCL en presencia de las NPs para la obtención de los NCs. La primera prueba de polimerización se llevó a cabo con 500 mg de monómero previamente destilado y sin utilizar un agente entrecruzante; para dicho caso se obtuvo una pérdida de 10.5



% en peso indicando que no existía un alto grado de injerto. Para el segundo análisis se utilizó un agente entrecruzante (10% en peso) con el fin de aumentar el grado de injerto y el peso molecular del polímero, obteniéndose así una pérdida de 38.5% en peso, más de 3.5 veces más injerto que sin usar agente entrecruzante, ambos casos se muestran en la figura 20. La mayor pérdida fue registrada aproximadamente en 370 °C, temperatura cercana a la temperatura de degradación de la PVCL (380°C) corroborando la presencia del polímero en el NC<sup>[90]</sup>.



**Figura 20.** Termogramas de los NCs obtenidos mediante la polimerización de la NVCL sin y con agente entrecruzante.

Una vez corroborado que el porcentaje de injerto polimérico se logró aumentar con el uso de un agente entrecruzante, se prosiguió a variar sólo la cantidad de monómero utilizado (500, 250 y 125 mg) a un tiempo de reacción de 24 h con el fin de determinar el impacto de esta variable en el porcentaje de injerto. La Tabla 4 muestra los porcentajes de pérdida de peso obtenidos para los nanocompuestos sintetizados a diferentes cantidades de monómero NVCL. En la primera prueba de polimerización (500 mg de NVCL) se utilizó un agente entrecruzante a una concentración

de 10% en peso, donde se obtuvo una pérdida de 38.5% en peso como se mencionó en la gráfica anterior. Para el caso de 250 mg de NVCL se obtuvo una pérdida total de 37% en peso, resultado muy similar a la muestra de 500 mg de NVCL existiendo una diferencia mínima entre las muestras de sólo 1.5%. A diferencia de estos dos resultados, el nanocompósito preparado con 125 mg de NVCL mostró una pérdida total de 20% en peso, es decir, casi la mitad de injerto que presentaron los dos casos anteriores y solamente el doble de injerto en comparación con la muestra sin agente entrecruzante. Cabe resaltar que todos los termogramas (Apéndice A, figura A1) presentan una pérdida de peso inicial debido a la liberación de humedad absorbida seguida por una caída en 370-380 °C aproximadamente, característica de la degradación de la PVCL. El aumento en el porcentaje de injerto en el nanocompósito de acuerdo con el incremento en la cantidad de monómero NVCL agregado es debido a que en una polimerización por radicales libres, la ley de velocidad en la etapa cinética de propagación es directamente proporcional a la concentración de monómero (Tabla 3)<sup>[91, 92]</sup>, por lo que al existir más disponibilidad de moléculas monoméricas la velocidad de polimerización incrementa y se alcanza un peso molecular mayor en el mismo tiempo de reacción.

**Tabla 3.** Modelo cinético clásico simplificado de la polimerización por radicales libres. Donde I= iniciador, R\*= radical libre, M= monómero y P\*= polímero vivo.

Etapa cinética	Reacción	Ley de velocidad
Iniciación	$I \xrightarrow{k_d} 2R^*$ $R^* + M \xrightarrow{k_i} P_1^*$	$R_t = 2fk_d[I]$
Propagación	$P_1^* + M \xrightarrow{k_p} P_2^*$ $P_2^* + M \xrightarrow{k_p} P_3^*$ $P_3^* + M \xrightarrow{k_p} P_4^*$ $P_n^* + M \xrightarrow{k_p} P_{n+1}^*$	$R_p = k_p[M][P_n^*]$
Terminación	*por combinación. $P_n^* + P_m^* \xrightarrow{k_{tc}} P_{n+m}$ *por desproporción $P_n^* + P_m^* \xrightarrow{k_{td}} P_n + P_m$	$R_T = k_{tc}[P_n^*][P_m^*]$ $R_T = k_{td}[P_n^*][P_m^*]$

**Tabla 4.** Porcentajes de pérdida en peso de los nanocompósitos obtenidos a diferente concentración de monómero NVCL.

Cantidad de NVCL (mg)	Tiempo de reacción (h)	Pérdida en peso (%)
500	24	38.5
250	24	37
125	24	20

Debido a que la diferencia en el porcentaje de injerto polimérico entre los nanocompósitos donde se utilizó 500 y 250 mg de NVCL fue mínima, se decidió determinar 250 mg de NVCL como cantidad de monómero seleccionada para continuar con las pruebas de polimerización en las que se estudiaría el impacto del tiempo de reacción (4, 8 y 16 h). Los porcentajes de pérdida en peso de los nanocompósitos sintetizados con 250 mg de NVCL a diferentes tiempos de reacción se muestran en la Tabla 5. Se puede observar a simple vista en todos los termogramas (Apéndice A, figura A2) que a diferentes tiempos de reacción todas las muestras presentan un comportamiento y pérdidas similares.

En los tiempos de reacción de 4, 8 y 16 h se obtuvo una pérdida total del 37.5%, 42% y 37% en peso respectivamente. No se observa una gran diferencia en el porcentaje de injerto en relación con el tiempo de reacción, muy probablemente debido a que es característico en polimerizaciones por radicales libres el alcanzar altos pesos moleculares en periodos de tiempo muy cortos, además de que la presencia de NMBA promueve que la NVCL sea más reactiva ya que es auxiliar en la unión de 2 cadenas en crecimiento. Se determinó que la diferencia en el grado de injerto a diferentes tiempos de reacción es mínima en comparación con el incremento del tiempo, por lo que se optó por seleccionar 4 horas como el tiempo de reacción apropiado para continuar con los estudios de carga y liberación de fármaco.

**Tabla 5.** Porcentajes de pérdida en peso de los nanocompósitos obtenidos con 250 mg de NVCL a diferentes tiempos de reacción.

Cantidad de NVCL (mg)	Tiempo de reacción (h)	Pérdida en peso (%)
250	4	37.5
250	8	42
250	16	37

Para resumir, todas las formulaciones realizadas para la preparación del nanocompósito y sus respectivos porcentajes de pérdidas en peso en estudios de TGA, se enlistan en la tabla 6. Las muestras seleccionadas para continuar con las pruebas de carga y liberación de fármaco son las resaltadas en color verde.

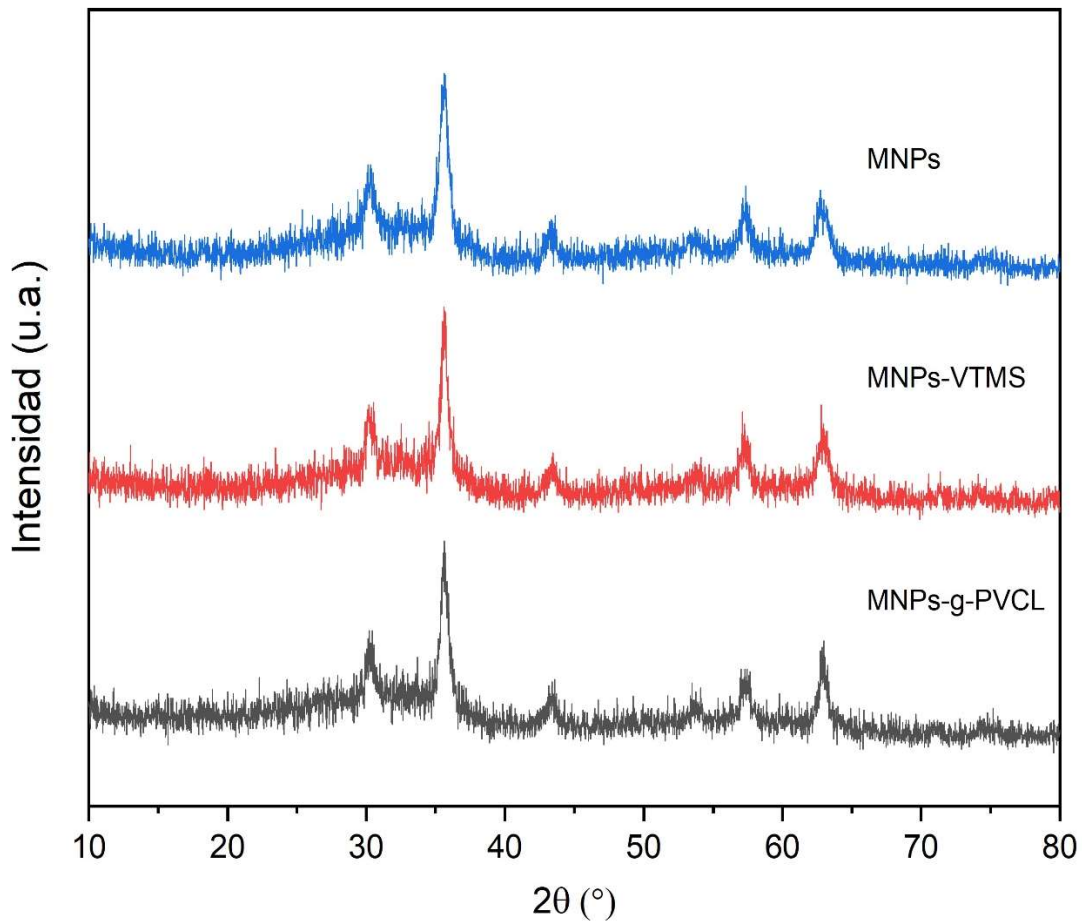
**Tabla 6.** Formulaciones utilizadas para la preparación del nanocompósito.

Muestra	Agua (mL)	NVCL (mg)	APS (%)	NPs (mg)	NMBA (%)	T. de reacción (h)	Peso obtenido (mg)	Injerto (%)
1HfPVCL	15	500	10	150	-	24	81	10.4
2HfPVCL	10	500	10	100	-	24	93	11.4
3HfPVCL	10	500	10	100	-	24	92	10.5
4HfPVCL	10	500	10	100	10	24	150	38.5
5HfPVCL	10	250	10	100	10	24	120	37
6HfPVCL	10	125	10	100	10	24	109	20
7HfPVCL	10	250	10	100	10	4	126	37.5
8HfPVCL	10	250	10	100	10	8	129	42
9HfPVCL	10	250	10	100	10	16	130	37

## 7.8 Difracción de Rayos X (XRD) – MNPs-g-PVCL

La figura 21 muestra los patrones de difracción de rayos X obtenidos para las MNPs, MNPs-VTMS y el nanocompósito MNPs-g-PVCL (37.5% de injerto). Es notorio que todos los sistemas presentan reflexiones que corresponden a los planos cristalinos característicos de la magnetita que se mencionaron en la figura 14. Los difractogramas de las MNPs-VTMS y MNPs-g-PVCL no muestran señales o fases adicionales a las presentadas por las MNPs dopadas con hafnio, por lo que se puede inferir que su modificación de la superficie con VTMS y PVCL no causa ningún cambio estructural ni altera la cristalinidad que estas ya presentaban, lo cual es crítico para conservar sus

propiedades magnéticas y posiblemente de hipertermia magnética en el nanocompósito.

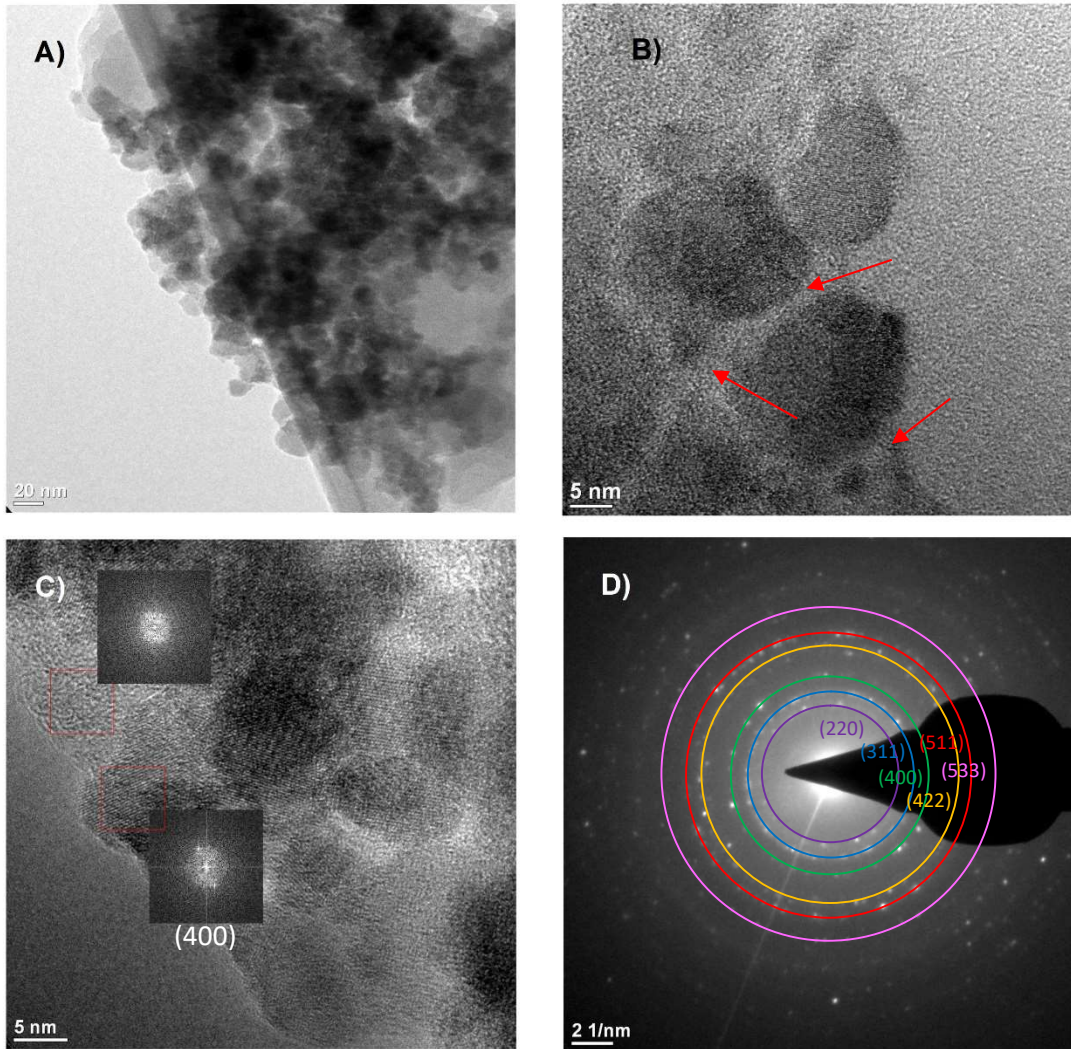


**Figura 21.** Patrones de difracción de rayos X de MNPs, MNPs-VTMS y el nanocompósito MNPs-g-PVCL.

### 7.9 Microscopía electrónica de transmisión (TEM) – MNPs-g-PVCL

La figura 22A muestra la micrografía de TEM para los NCs de  $\text{Hf}_{0.6}\text{Fe}_{2.4}\text{O}_4$ -g-PVCL, los cuales presentan una morfología irregular y en forma de aglomerados con una fase amorfa alrededor de las partículas. Esto fue atribuido principalmente a la presencia de PVCL, el cual se aprecia por el cambio de contraste en comparación al lacey carbon del portamuestras, dicha zona amorfa se señala mediante flechas rojas en la figura 22B. Esto es más notorio al realizar la difracción de electrones de área específica

(SAED) tanto en las partículas como en el halo amorfo que presentan; en la figura 22C se contrasta la ausencia de cristalinidad en el recubrimiento de las nanopartículas en comparación con la alta cristalinidad que estas presentan. Mientras que en el patrón de difracción de electrones (figura 22D) se observan anillos definidos, indicando una muestra policristalina, que corresponden a los planos cristalinos (220), (311), (400), (422), (511) y (533) característicos de la fase de la magnetita.

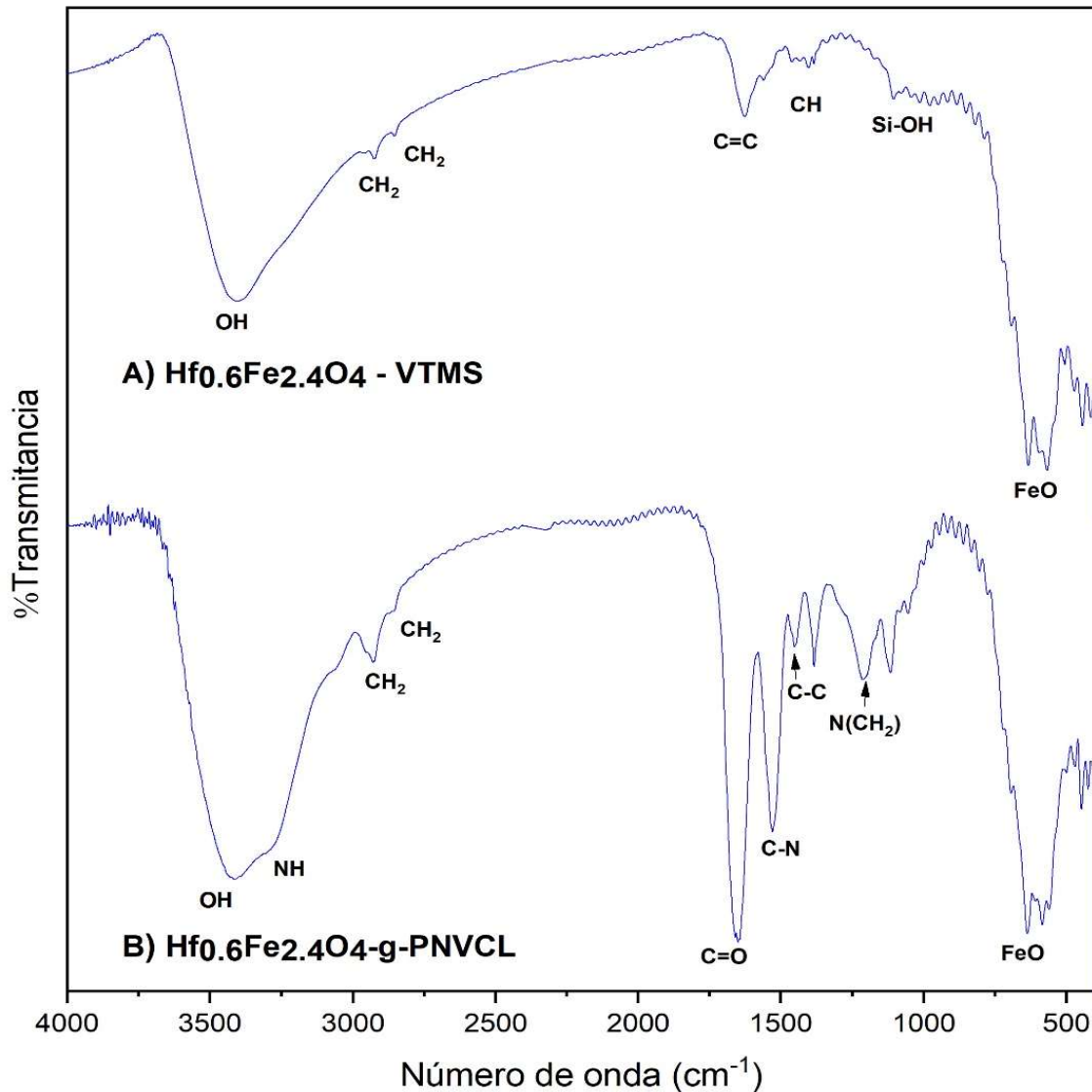


**Figura 22.** Micrografía de TEM de los NCs de  $Hf_{0.6}Fe_{2.4}O_4$ -g-PVCL (A), donde se aprecia una región amorfa correspondiente al polímero entre las partículas (B), lo que se evidencia de mejor manera en la micrografía de alta resolución HRTEM (C) y su patrón de difracción de electrones SAED (D).



## 7.10 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) – MNPs-g-PVCL

Se llevó a cabo un análisis de FT-IR para confirmar la presencia de PVCL en la superficie de las MNPs (figura 23). El espectro de las nanopartículas funcionalizadas con VTMS se muestra en la figura 23A como referencia para evidenciar la aparición de nuevas señales en el espectro del nanocompósito debido a la presencia de PVCL.



**Figura 23.** Espectro de FT-IR de las MNPs-Dop funcionalizadas con VTMS (A) y del nanocompósito a base de MNPs-Dop y PVCL.

El espectro del NC (figura 23B) muestra bandas de absorción en  $3416\text{ cm}^{-1}$  y  $3274\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a estiramientos de los enlaces O-H y N-H respectivamente. Además, se aprecian bandas en  $2927\text{ cm}^{-1}$  y  $2854\text{ cm}^{-1}$  que corresponden a estiramientos asimétricos y simétricos ( $\nu$ ) del grupo  $\text{CH}_2$  de la PVCL, así como una señal intensa en  $1649\text{ cm}^{-1}$  debida al estiramiento simétrico ( $\nu$ ) del enlace C=O del grupo amida ausente en el espectro de las nanopartículas funcionalizadas. Las bandas adicionales en  $1529$ ,  $1452$  y  $1213\text{ cm}^{-1}$  se deben a estiramientos simétricos ( $\nu$ ) de los enlaces C-N, C-C y C-N del  $\text{N}(\text{CH}_2)$  de la PVCL respectivamente. Todas estas bandas corresponden a las reportadas en la literatura para la PVCL confirmando así el injerto de este polímero en las MNPs [93].

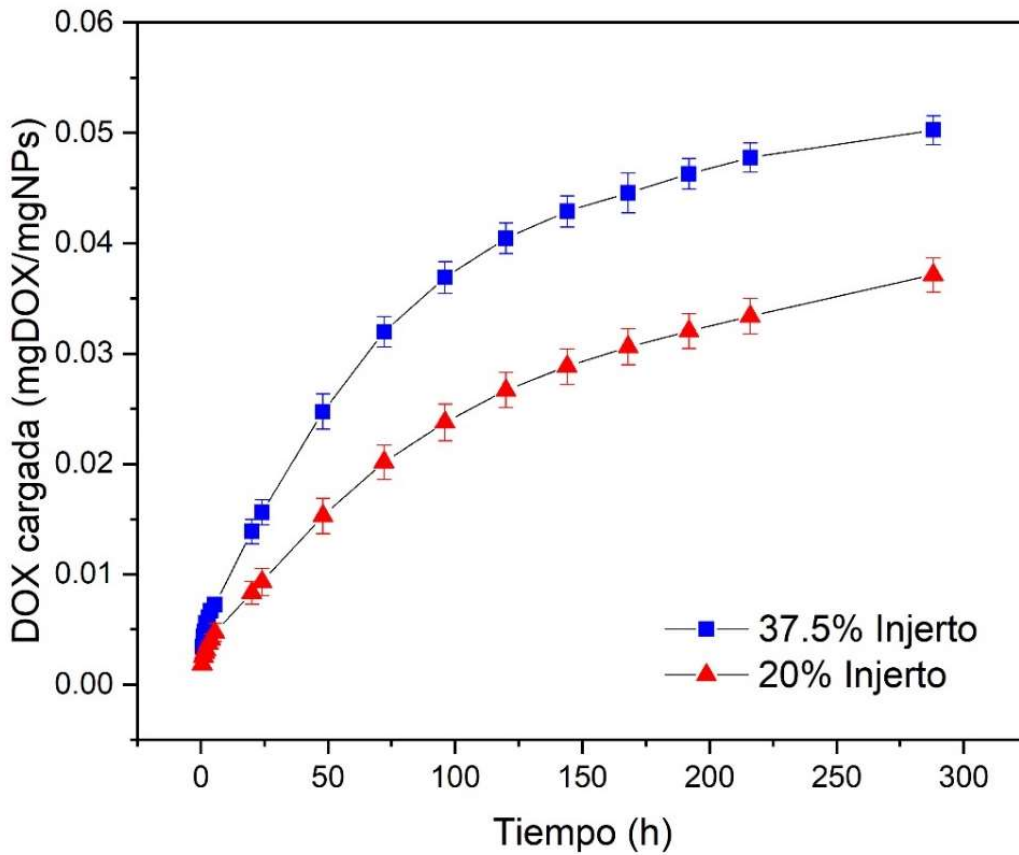
### 7.11 Estudios de carga y liberación de doxorubicina

De todas las formulaciones propuestas se seleccionaron los nanocompuestos conteniendo 37.5% y 20% de PNVCL para llevar a cabo los estudios de carga y liberación de DOX, con el fin de determinar el impacto de esta variable en el comportamiento del sistema. Las curvas de carga de DOX de ambos sistemas se muestran en la figura 24 en la que se puede observar que dichas muestras presentaron un comportamiento similar hasta llegar al máximo de adsorción de DOX el cuál se alcanzó transcurrido un tiempo de 288 h siendo de  $0.05 (\pm 1.3 \times 10^{-3})$  y  $0.037 (\pm 1.5 \times 10^{-3})$  mgDOX/mgNPs para la muestra de 37.5% y 20% de injerto respectivamente. Tomando en cuenta que la cantidad inicial de DOX (solución madre) fue de 1.52 mg, se calculó el porcentaje de encapsulación para ambos sistemas haciendo uso de la ecuación 1, siendo de 82.7% (1.26 mg de DOX) para la muestra de 37.5% de injerto y 61.1% (0.93 mg de DOX) para la de 20% de injerto. Se determinó que para la carga de fármaco se aprecia una diferencia significativa en el máximo de adsorción respecto al porcentaje de injerto polimérico, siendo el de mayor injerto el sistema de mayor carga de doxorubicina probablemente debido a mayor cantidad de interacciones electrostáticas entre las cadenas poliméricas y el fármaco. Ambos sistemas mostraron porcentajes de encapsulación mayores en comparación a otros sistemas similares reportados en la literatura, los cuales se reportan en la tabla 7 [94].



**Tabla 7.** Sistemas magnetita-polímero inteligente reportados en la literatura para liberación de fármaco controlada y los porcentajes de eficiencia de carga y DOX liberada (pH 5.8) obtenidos.

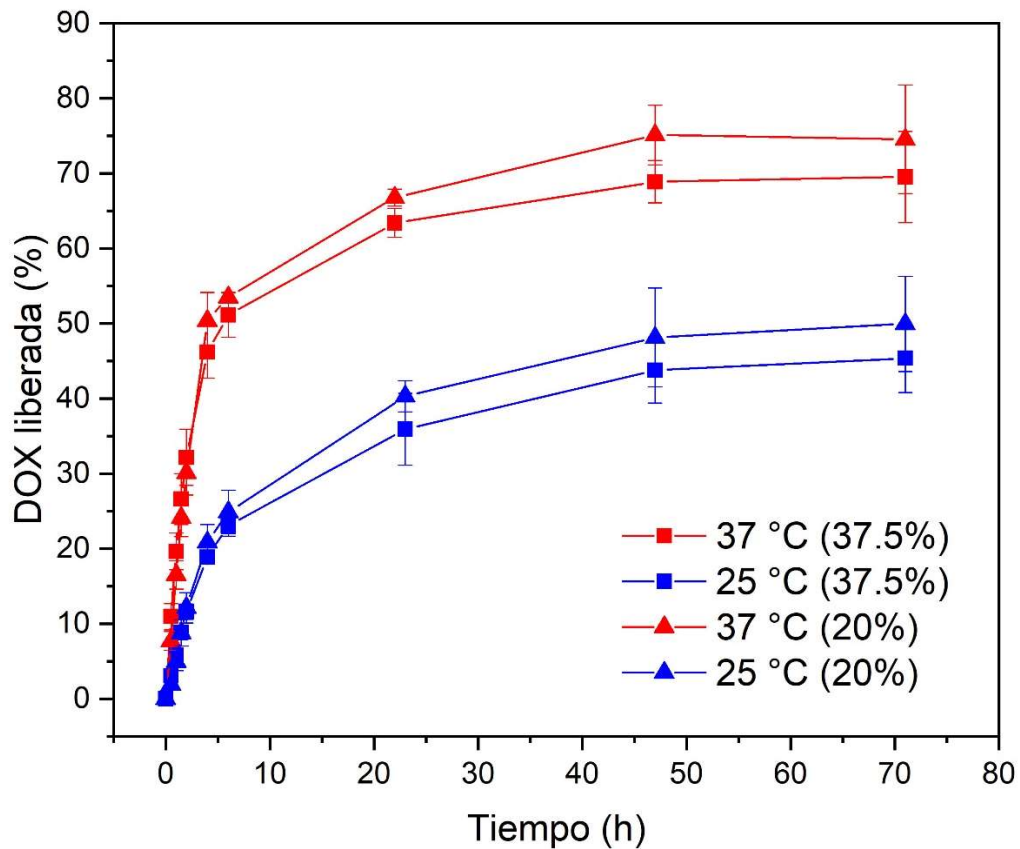
Autores	Sistema	% Eficiencia de carga	% DOX Liberada
Varshosaz y col. <sup>[94]</sup>	Micelas magnéticas a base de PVCL-PVA-PEG	70	68.9
Yuan y col. <sup>[95]</sup>	MNPS a base de quitosano-g-poli(NIPAAm-co-DMAAm)	55	60
Ferjaoui y col. <sup>[96]</sup>	MNPS a base de MEO <sub>2</sub> MA y OEGMA	57	80



**Figura 24.** Carga de DOX para los nanocompuestos de 37.5% y 20% de injerto polimérico.

Una vez alcanzada la máxima adsorción, los nanocompósitos fueron lavados y secados para ser colocados en bolsas de diálisis con solución amortiguadora de pH 5.8 en viales con el fin de observar su comportamiento de liberación de fármaco a dos diferentes temperaturas 25 y 37 °C . Los perfiles de liberación se presentan en la figura 25. A pesar de la gran diferencia presentada en la carga de DOX, ambos sistemas no mostraron una diferencia significativa en cuanto al porcentaje de liberación de fármaco. Para el tratamiento a 37 °C, se observa que en ambos sistemas la mayor liberación de DOX ocurrió dentro de las primeras 6 h dónde se llegó a liberar poco más del 50%, esta liberación rápida podría deberse a una cierta cantidad de DOX localizada cerca de la superficie externa del nanocompósito y sería útil para inhibir el crecimiento de las células cancerígenas al inicio del tratamiento<sup>[94]</sup>. En las siguientes horas se observa un cambio en la pendiente y la cantidad de DOX liberada comienza a incrementar de manera sostenible a través del tiempo, lo cual asegura que el sistema posee la habilidad de mantener el tratamiento si se aplicara a células cancerígenas. La DOX continúa liberándose hasta que finalmente para el caso de la muestra con 37.5% de injerto se alcanzó un 69.5% de DOX liberada transcurrido un tiempo de 71 horas mientras que para la de 20% de injerto se alcanzó un 74.5% de DOX liberada. Dicha diferencia puede deberse posiblemente a que al tener menor porcentaje de injerto existe menos densidad de cadenas poliméricas alrededor de la superficie de la nanopartícula por lo que el fármaco puede liberarse con mayor facilidad que en el de mayor porcentaje de injerto donde es probable que exista una mayor densidad de cadenas poliméricas e impida la fácil difusión del fármaco hacia el exterior debido a mayores interacciones electrostáticas entre la DOX y el polímero. Por otra parte, el comportamiento que presentan ambos sistemas a 25 °C es muy similar al de 37 °C, dentro de las primeras 6 h se llega a liberar poco menos del 25% de DOX. De la misma manera, en las siguientes horas ocurre un cambio de pendiente y la liberación se vuelve más sostenible a través del tiempo. Finalmente, para la muestra con 37.5% de injerto se alcanza una liberación del 45.7% de DOX y para la muestra con 20% de injerto una liberación del 50% transcurrido un tiempo total de 71 h. Cabe resaltar que existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos perfiles de liberación, siendo que la mayor liberación de fármaco

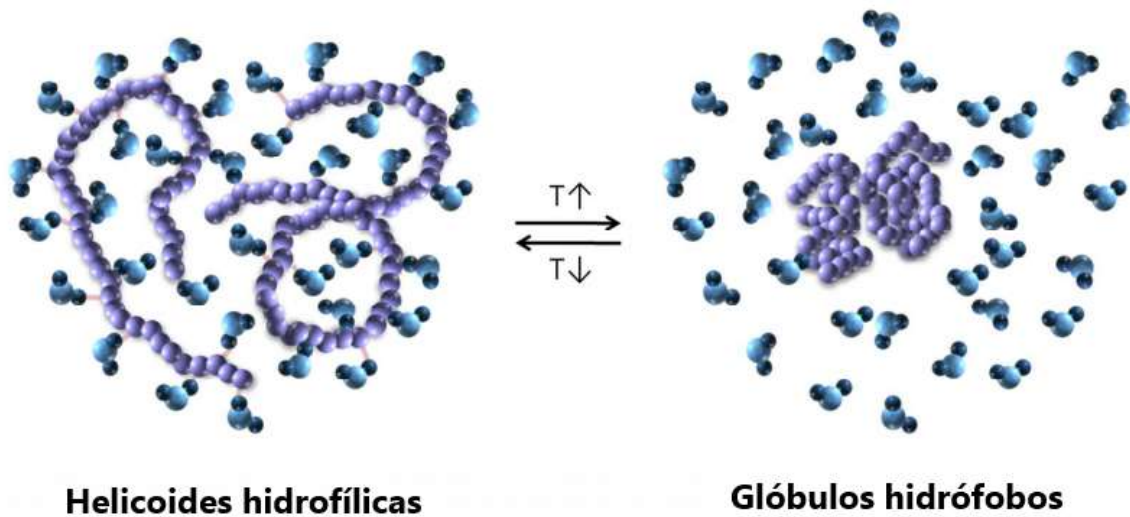
ocurrió a 37 °C con una diferencia promedio de aproximadamente 25% de DOX liberada en comparación con el perfil a 25 °C.



**Figura 25.** Liberación de DOX para los nanocompósitos de 37.5% y 20% de injerto polimérico a 37 y 25 °C.

Esta diferencia del porcentaje de liberación es debida principalmente al carácter termosensible de la PVCL la cual presenta su temperatura crítica inferior de solución (LCST) en el rango de 32-37 °C. A dicha temperatura la PVCL cambia de comportamiento hidrofílico a hidrófobo, este cambio está basado en enlaces de puentes de hidrógeno que están presentes entre el polímero y las moléculas de agua a su alrededor a baja temperatura por lo que las cadenas poliméricas son hidratadas y solubilizadas, resultando así en un sistema de una sola fase. A temperatura más alta, los enlaces de puentes de hidrógeno son debilitados, y las cadenas poliméricas están parcialmente deshidratadas por lo que no pueden solubilizarse más. Las cadenas poliméricas hidratadas exhiben una conformación helicoidal a

baja temperatura, pero minimizan su contacto con el agua circundante al cambiar hacia una conformación globular al aumentar la temperatura, esto implica que las cadenas poliméricas se contraigan y, por ende, que el fármaco cargado pueda ser liberado (figura 26) [97]. Los resultados de este estudio permiten concluir que el nanocompósito MNPs-g-PVCL presenta una sensibilidad a la temperatura, la cual afecta directamente a la efectividad de liberación del fármaco cargado para tratamientos contra cáncer.



**Figura 26.** Transición de helicoide a glóbulo de un polímero en solución acuosa al alcanzar su LCST.

## 8. Conclusiones

---

En base al trabajo desarrollado, se concluye que los resultados obtenidos han aportado de forma importante al desarrollo de la hipótesis planteada, al igual que al conocimiento científico en el desarrollo de nuevos sistemas capaces de contribuir en nuevos tratamientos contra cáncer. Dentro de los puntos más destacados del nanocompósito sintetizado y los estudios realizados, se concluyen los siguientes puntos:

1. Fue posible obtener de manera satisfactoria por el método de coprecipitación química inversa, nanopartículas de magnetita dopadas con  $\text{Hf}^{4+}$  de morfología irregular y tamaños menores a los 20 nm (11.2 nm en promedio), las cuales presentaron un comportamiento superparamagnético y cuya magnetización de saturación decrece en función del contenido del catión dopante.
2. Las nanopartículas magnéticas dopadas con  $\text{Hf}^{4+}$  presentan un calentamiento estable y constante en comparación con las nanopartículas de magnetita pura, lo cual es adecuado para realizar tratamientos de hipertermia magnética.
3. Se injertó VTMS en la superficie de las magnetitas dopadas que sirvió para la posterior modificación de estos materiales con PNVCL. Se prepararon nanocompuestos de  $\text{Hf}_{0.6}\text{Fe}_{2.4}\text{O}_4\text{-g-PVCL}$ , en los que se comprobó la presencia de PNVCL en la superficie de las nanopartículas mediante TGA, FT-IR y TEM.
4. Fue necesario el uso de un agente entrecruzante para aumentar el porcentaje de injerto en las nanopartículas aproximadamente 3.5 veces más (38.5%) que sin entrecruzante (10.5%). La cantidad de monómero agregado afecta de gran manera el porcentaje de injerto obtenido.
5. La carga de DOX fue dependiente de la cantidad de injerto de PVCL en el nanocompuesto, siendo la muestra de 37.5% de injerto la que mostró una mayor carga de fármaco (0.05 mgDOX/mgNPs).

6. Existe una diferencia significativa en el porcentaje de liberación de fármaco a 37 y 25 °C. El compósito con 20% de injerto de PVCL mostró el mayor porcentaje de liberación de DOX. Sin embargo, ambos nanocompósitos mostraron una liberación controlada de DOX dependiente de la temperatura, lo cual indica que pueden ser empleados como sistemas termosensibles para la liberación controlada del fármaco en tratamientos contra cáncer.

En resumen, se logró preparar un nanocompósito de  $\text{Hf}_{0.6}\text{Fe}_{2.4}\text{O}_4$ -g-PVCL capaz de cargar y liberar doxorubicina de manera controlada, sensible a la temperatura. Los resultados obtenidos en este estudio soportan el planteamiento de la hipótesis, y lucen prometedores en el campo de liberación de fármacos y su posible uso en tratamientos innovadores contra cáncer. Cabe mencionar que el estudio realizado cumplió satisfactoriamente con los objetivos planteados aportando nuevos conocimientos en el desarrollo de materiales avanzados para sistemas de liberación controlada de fármacos.

## Perspectivas futuras

---

Además de los resultados obtenidos en este proyecto de investigación, se proponen estudios adicionales que abran paso al planteamiento de proyectos futuros y mejoras en el sistema planteado de esta tesis:

1. Estudios de espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS) con el fin de obtener la energía de enlace de las especies químicas presentes en el sistema, así como sus estados de oxidación para determinar la posible ubicación del hafnio en las nanopartículas. Así como la presencia tanto de VTMS como de PVCL y la interacción de estos con la superficie del material magnético  $\text{Hf}_x\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ .
2. Estudios de VSM de los nanocompuestos para determinar cómo cambia el comportamiento magnético de las nanopartículas una vez que el polímero está presente en su superficie y si esto afectará en hipertermia magnética.
3. Estudios de hipertermia magnética de los nanocompuestos para determinar si el sistema final es capaz de alcanzar la temperatura ideal en tratamientos de hipertermia (42 °C) y a qué concentración lo logra.
4. Estudios para determinar la cinética de liberación a partir de los datos obtenidos, para conocer con mejor detalle el comportamiento del sistema en liberación controlada de fármaco.
5. Estudios de citotoxicidad del sistema planteado en conjunto con hipertermia magnética y liberación de fármaco, para determinar de manera completa, si existe daño colateral hacia las células sanas durante el tratamiento y si es significativo o no en comparación con otros sistemas o tratamientos contra cáncer.

## 9. Referencias

---

- [1]. Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *68(6)*, 394-424. doi:10.3322/caac.21492
- [2]. Institute, N. C. (2018). Types of Cancer Treatment. Retrieved from <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types>
- [3]. Shuming Nie, Y. X., Gloria J. Kim. (2007). Nanotechnology Applications in Cancer. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 9, 257-288. doi:10.1146/annurev.bioeng.9.060906.152025
- [4]. Khutoryanskiy, V. V., & Georgiou, T. K. (2018). *Temperature-Responsive Polymers: Chemistry, Properties, and Applications*: Wiley.
- [5]. Hanahan, D. (2000). The Hallmarks of Cancer. *Cell Press*, 100, 57-70.
- [6]. Weinberg, R. A. (1996). How Cancer Arises. *Scientific American*.
- [7]. Srinivasan, P. (2018). *Understanding Cancer Therapies*.
- [8]. Society, A. C. (2017). Tipos comunes de tratamiento para el cáncer. Retrieved from <https://www.cancer.org/es/tratamiento/como-comprender-su-diagnostico/despues-del-diagnostico/tratamientos-comunes-contra-el-cancer.html>
- [9]. America, C. T. C. o. (2019). Hormone Therapy. Retrieved from <https://www.cancercenter.com/treatmentoptions/chemotherapy/hormone-therapy>
- [10]. Dong, H., & Markovic, S. N. (2018). *The Basics of Cancer Immunotherapy*: Springer International Publishing.



- [11]. Zhang, C.-L., Huang, T., Wu, B.-L., He, W.-X., & Liu, D. (2017). Stem cells in cancer therapy: opportunities and challenges. *Oncotarget*, 8(43), 75756-75766. doi:10.18632/oncotarget.20798
- [12]. Jadia, R., Scandore, C., & Rai, P. (2016). Nanoparticles for Effective Combination Therapy of Cancer. *Int J Nanotechnol Nanomed*, 1(1).
- [13]. Sinha, R., Kim, G. J., Nie, S., & Shin, D. M. (2006). Nanotechnology in cancer therapeutics: bioconjugated nanoparticles for drug delivery. 5(8), 1909-1917. doi:10.1158/1535-7163.MCT-06-0141 %J Molecular Cancer Therapeutics
- [14]. Huang, X., & El-Sayed, M. A. (2011). Plasmonic photo-thermal therapy (PPTT). *Alexandria Journal of Medicine*, 47(1), 1-9. doi:10.1016/j.ajme.2011.01.001
- [15]. Rai, P., Mallidi, S., Zheng, X., Rahmanzadeh, R., Mir, Y., Elrington, S., . . . Hasan, T. (2010). Development and applications of photo-triggered theranostic agents. *Advanced drug delivery reviews*, 62(11), 1094-1124. doi:10.1016/j.addr.2010.09.002
- [16]. Reference, G. H. (2019). Gene Therapy. Retrieved from <https://ghr.nlm.nih.gov/>
- [17]. Gonsalves, K. E., Halberstadt, C. R., Laurencin, C. T. y Nair, L. S. (2007). *Development of Nanostructures for Drug Delivery Applications*, Chapter 7.
- [18]. Hu, C. M., Aryal, S., & Zhang, L. (2010). Nanoparticle-assisted combination therapies for effective cancer treatment. *Ther Deliv*, 1(2), 323-334.
- [19]. CenterWatch. (1999). Doxil New FDA Drug Approval. Retrieved from <https://www.centerwatch.com/drug-information/fda-approved-drugs/drug/541/doxil-doxorubicin-hcl-liposome-injection>

- [20]. Thiesen, B., & Jordan, A. (2008). Clinical applications of magnetic nanoparticles for hyperthermia. *Int J Hyperthermia*, 24(6), 467-474. doi:10.1080/02656730802104757
- [21]. Fan, W., Yung, B., Huang, P., & Chen, X. (2017). Nanotechnology for Multimodal Synergistic Cancer Therapy. *Chemical Reviews*, 117(22), 13566-13638. doi:10.1021/acs.chemrev.7b00258
- [22]. W. Andra, H. N. (1998). *Magnetism in Medicine: A Handbook (first ed.)*. Germany.
- [23]. Rivas, J., Bañobre-López, M., Piñeiro-Redondo, Y., Rivas, B., & López-Quintela, M. A. (2012). Magnetic nanoparticles for application in cancer therapy. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 324(21), 3499-3502. doi:https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2012.02.075
- [24]. Bañobre-López, M., Teijeiro, A., & Rivas, J. (2013). Magnetic nanoparticle-based hyperthermia for cancer treatment. *Reports of Practical Oncology & Radiotherapy*, 18(6), 397-400. doi:https://doi.org/10.1016/j.rpor.2013.09.011
- [25]. Dionigi, C., Piñeiro, Y., Riminucci, A., Bañobre, M., Rivas, J., & Dediu, V. J. A. P. A. (2014). Regulating the thermal response of PNIPAM hydrogels by controlling the adsorption of magnetite nanoparticles. *114(2)*, 585-590. doi:10.1007/s00339-013-7620-8
- [26]. Schrama, D., Reisfeld, R. A., & Becker, J. C. (2006). Antibody targeted drugs as cancer therapeutics. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5(2), 147-159. doi:10.1038/nrd1957
- [27]. Kufe DW, P. R., Weichselbaum RR. (2003). Alkylating Agents. In Hamilton (Ed.), *Holland-Frei Cancer Medicine 6th edition*.
- [28]. Hall, A. G., & Tilby, M. J. (1992). Mechanisms of action of, and modes of resistance to, alkylating agents used in the treatment of

- haematological malignancies. *Blood Rev*, 6(3), 163-173.
- [29]. Peters, G. J., van der Wilt, C. L., van Moorsel, C. J. A., Kroep, J. R., Bergman, A. M., & Ackland, S. P. (2000). Basis for effective combination cancer chemotherapy with antimetabolites. *Pharmacology & Therapeutics*, 87(2), 227-253. doi:[https://doi.org/10.1016/S0163-7258\(00\)00086-3](https://doi.org/10.1016/S0163-7258(00)00086-3)
- [30]. Society, A. C. (2018). ¿Cómo funcionan los medicamentos de quimioterapia? Retrieved from <https://www.cancer.org/es/tratamiento/tratamientos-y-efectos-secundarios/tipos-de-tratamiento/quimioterapia/como-funcionan-los-medicamentos-de-quimioterapia.html>
- [31]. Pediatría, C. d. M. d. I. A. E. d. (2015). Antraciclinas.
- [32]. Weiss, R. B. (1992). The anthracyclines: will we ever find a better doxorubicin? *Seminars in oncology*, 19(6), 670-686.
- [33]. Liljefors, T., Krogsgaard-Larsen, P., & Madsen, U. (2002). *Textbook of Drug Design and Discovery, Third Edition*: Taylor & Francis.
- [34]. Torres, C. A. E. (2011). *Identificación de los efectos tóxicos producidos por los fármacos antineoplásicos utilizados en el centro radiooncológico del caribe en la ciudad de Cartagena*. (Mestría), Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- [35]. C., R. (2011). *Antineoplásicos activos sobre el ADN (II): agentes intercalantes, inhibidores de las topoisomerasas y desnaturalizantes*. Madrid: Terapia farmacológica de los trastornos neoplásicos e inmunológicos.
- [36]. Injac, R., & Strukelj, B. (2008). Recent advances in protection against doxorubicin-induced toxicity. *Technol Cancer Res Treat*, 7(6), 497-516. doi:10.1177/153303460800700611

- 
- [37]. Blanco, J. S. P. (2016). *Farmacocinética clínica de doxorubicina en pacientes diagnosticados de linfoma no Hodgkin*. (Doctorado), Universidad de Salamanca, Salamanca.
- [38]. Majewski, P., & Thierry, B. (2007). Functionalized Magnetite Nanoparticles—Synthesis, Properties, and Bio-Applications. *Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences*, 32(3-4), 203-215. doi:10.1080/10408430701776680
- [39]. U. Schwertmann, R. M. C. (2000). *Iron Oxides in the Laboratory: Preparation and Characterization*. Germany.
- [40]. Acharya, G., Mitra, A. K., & Cholkar, K. (2017). Chapter 10 - Nanosystems for Diagnostic Imaging, Biodetectors, and Biosensors. In A. K. Mitra, K. Cholkar, & A. Mandal (Eds.), *Emerging Nanotechnologies for Diagnostics, Drug Delivery and Medical Devices* (pp. 217-248). Boston: Elsevier.
- [41]. Cordova, G., Attwood, S., Gaikwad, R., Gu, F., & Leonenko, Z. (2014). *Magnetic Force Microscopy Characterization of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles (SPIONs)* (Vol. 6).
- [42]. Schulz, M. J., Shanov, V. N., & Yun, Y. (2009). *Nanomedicine Design of Particles, Sensors, Motors, Implants, Robots, and Devices*: Artech House.
- [43]. Levy, D., Giustetto, R., & Hoser, A. (2012). *Structure of magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) above the Curie temperature: A cation ordering study* (Vol. 39).
- [44]. Taimoory, N., Trant, J., Rahdar, A., Aliahmad, M., Sadeghfar, F., & Hashemzaei, M. (2017). *Importance of the Inter-Electrode Distance for the Electrochemical Synthesis of Magnetite Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Computational Modelling, and Cytotoxicity* (Vol. accepted).

- [45]. Mitchell, E., De Souza, F., Gupta, R. K., Kahol, P. K., Kumar, D., Dong, L., & Gupta, B. K. (2015). Probing on the hydrothermally synthesized iron oxide nanoparticles for ultra-capacitor applications. *Powder Technology*, 272, 295-299. doi:<https://doi.org/10.1016/j.powtec.2014.12.021>
- [46]. Petcharoen, K., & Sirivat, A. (2012). Synthesis and characterization of magnetite nanoparticles via the chemical co-precipitation method. *Materials Science and Engineering: B*, 177(5), 421-427. doi:<https://doi.org/10.1016/j.mseb.2012.01.003>
- [47]. Rivera-Rodriguez, A., Chiu-Lam, A., Morozov, V. M., Ishov, A. M., & Rinaldi, C. (2018). Magnetic nanoparticle hyperthermia potentiates paclitaxel activity in sensitive and resistant breast cancer cells. *International journal of nanomedicine*, 13, 4771-4779. doi:10.2147/IJN.S171130
- [48]. Unsoy, G., Khodadust, R., Yalcin, S., Mutlu, P., & Gunduz, U. (2014). Synthesis of Doxorubicin loaded magnetic chitosan nanoparticles for pH responsive targeted drug delivery. *Eur J Pharm Sci*, 62, 243-250. doi:10.1016/j.ejps.2014.05.021
- [49]. Fortin, J.-P., Wilhelm, C., Servais, J., Ménager, C., Bacri, J.-C., & Gazeau, F. (2007). Size-Sorted Anionic Iron Oxide Nanomagnets as Colloidal Mediators for Magnetic Hyperthermia. *Journal of the American Chemical Society*, 129(9), 2628-2635. doi:10.1021/ja067457e
- [50]. Gangwar, A., Alla, S. K., Srivastava, M., Meena, S. S., Prasadrao, E. V., Mandal, R. K., . . . Prasad, N. K. (2016). Structural and magnetic characterization of Zr-substituted magnetite ( $Zr_xFe_{3-x}O_4$ ,  $0 \leq x \leq 1$ ). *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 401, 559-566. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2015.10.087>
- [51]. Shaw, S. K., Alla, S. K., Meena, S. S., Mandal, R. K., & Prasad, N. K. (2017). Stabilization of temperature during magnetic hyperthermia by Ce substituted magnetite nanoparticles. *Journal of Magnetism and*

- [52]. Prasad, N. K., Srivastava, M., Alla, S. K., Danda, J. R., Aditya, D., & Mandal, R. K. (2016). ZrxFe3-xO4 (0.01 ≤ x ≤ 1.0) nanoparticles: a possible magnetic in vivo switch. *RSC Advances*, 6(47), 41268-41274. doi:10.1039/C6RA04815C
- [53]. Srivastava, M., Meena, S. S., Mandal, R. K., Yusuf, S. M., & Prasad, N. K. (2016). AC magnetic field regulated in-vivo switch of Hf-substituted magnetite (HfxFe3-xO4, 0.01 ≤ x ≤ 0.8) nanoparticles. *Journal of Alloys and Compounds*, 688, 219-227. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2016.06.287>
- [54]. Badawy, W. A., & Al-Kharafi, F. M. J. J. o. M. S. (1999). The electrochemical behaviour of naturally passivated hafnium in aqueous solutions of different pH. 34(10), 2483-2491. doi:10.1023/a:1004539421982
- [55]. Matsuno, H., Yokoyama, A., Watari, F., Uo, M., & Kawasaki, T. (2001). Biocompatibility and osteogenesis of refractory metal implants, titanium, hafnium, niobium, tantalum and rhenium. *Biomaterials*, 22(11), 1253-1262.
- [56]. Valdés, A. C. M. (2018). *Nanopartículas de Magnetita Dopadas con Hf, La, Y y Zr: Síntesis y Caracterización*. (Maestría), Universidad Autónoma de Coahuila (UAdeC), Saltillo, Coahuila.
- [57]. Hariani, P., Faizal, M., Ridwan, R., Marsi, M., & Setiabudidaya, D. (2013). *Synthesis and Properties of Fe3O4 Nanoparticles by Co-precipitation Method to Removal Procion Dye* (Vol. 4).
- [58]. Qiao, S. Z., Liu, J., & Max Lu, G. Q. (2017). Chapter 21 - Synthetic Chemistry of Nanomaterials. In R. Xu & Y. Xu (Eds.), *Modern Inorganic Synthetic Chemistry (Second Edition)* (pp. 613-640). Amsterdam:

Elsevier.

- [59]. Ishikawa, T., Kataoka, S., & Kandori, K. J. J. o. M. S. (1993). The influence of carboxylate ions on the growth of  $\beta$ -FeOOH particles. 28(10), 2693-2698. doi:10.1007/bf00356205
- [60]. Wang, D., Green, M. D., Chen, K., Daengngam, C., & Kotsuchibashi, Y. (2016). Stimuli-Responsive Polymers: Design, Synthesis, Characterization, and Applications %J International Journal of Polymer Science. 2016, 2. doi:10.1155/2016/6480259
- [61]. Cabane, E., Zhang, X., Langowska, K., Palivan, C. G., & Meier, W. (2012). Stimuli-responsive polymers and their applications in nanomedicine. *Biointerphases*, 7(1-4), 9. doi:10.1007/s13758-011-0009-3
- [62]. Bucio, E., Contreras-García, A., Meléndez-Ortiz, H. I., Muñoz-Muñoz, F., alvarez-lorenzo, C., & Concheiro, A. (2011). *Smart polymers for biomedical applications and graft synthesis by  $\gamma$ -rays*.
- [63]. Almeida Hugo Ribeiro, A. M. E. (2012). Temperature and pH stimuli-responsive polymers and their applications in controlled and self-regulated drug delivery. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 02. doi:10.7324/JAPS.2012.2609
- [64]. Langer, R., & A. Peppas, N. (2003). *Advances in Biomaterials, Drug Delivery, and Bionanotechnology* (Vol. 49).
- [65]. Gibson, M. I., & O'Reilly, R. K. (2013). To aggregate, or not to aggregate? considerations in the design and application of polymeric thermally-responsive nanoparticles. *Chem Soc Rev*, 42(17), 7204-7213. doi:10.1039/c3cs60035a
- [66]. F MEEUSSEN, E. N., H BERGHMANS, Sam Verbrugge (UGent) , Eric Goethals (UGent) and Filip Du Prez (UGent). (2000). Phase behaviour

- of poly(N-vinyl caprolactam) in water. *Polymer*, 41(24), 8597-8602.
- [67]. Kozanoğlu, S. (2008). *Polymerization and characterization of N-vinyl caprolactam*. (Master of science), Middle East Technical University, Turquía.
- [68]. Kozanoğlu, S., Özdemir, T., & Usanmaz, A. (2011). Polymerization of N-Vinylcaprolactam and Characterization of Poly(N-Vinylcaprolactam). *Journal of Macromolecular Science, Part A*, 48(6), 467-477. doi:10.1080/10601325.2011.573350
- [69]. Schild, H. G., & Tirrell, D. A. (1990). Microcalorimetric detection of lower critical solution temperatures in aqueous polymer solutions. *The Journal of Physical Chemistry*, 94(10), 4352-4356. doi:10.1021/j100373a088
- [70]. Lau, A. C. W., & Wu, C. (1999). Thermally Sensitive and Biocompatible Poly(N-vinylcaprolactam): Synthesis and Characterization of High Molar Mass Linear Chains. *Macromolecules*, 32(3), 581-584. doi:10.1021/ma980850n
- [71]. Sun, S., & Wu, P. (2011). Infrared Spectroscopic Insight into Hydration Behavior of Poly(N-vinylcaprolactam) in Water. *The Journal of Physical Chemistry B*, 115(40), 11609-11618. doi:10.1021/jp2071056
- [72]. Kirsh, Y. E. (1998). *Water Soluble Poly-N-Vinylamides: Synthesis and Physicochemical Properties*: Wiley.
- [73]. Vihola, H., Laukkanen, A., Valtola, L., Tenhu, H., & Hirvonen, J. (2005). Cytotoxicity of thermosensitive polymers poly(N-isopropylacrylamide), poly(N-vinylcaprolactam) and amphiphilically modified poly(N-vinylcaprolactam). *Biomaterials*, 26(16), 3055-3064. doi:10.1016/j.biomaterials.2004.09.008
- [74]. Prabakaran, M., Grailer, J. J., Steeber, D. A., & Gong, S. (2009). Thermosensitive micelles based on folate-conjugated poly(N-



- vinylcaprolactam)-block-poly(ethylene glycol) for tumor-targeted drug delivery. *Macromol Biosci*, 9(8), 744-753. doi:10.1002/mabi.200800366
- [75]. Zhang, J. L., Srivastava, R. S., & Misra, R. D. (2007). Core-shell magnetite nanoparticles surface encapsulated with smart stimuli-responsive polymer: synthesis, characterization, and LCST of viable drug-targeting delivery system. *Langmuir*, 23(11), 6342-6351. doi:10.1021/la0636199
- [76]. Rahimi, M., Wadajkar, A., Subramanian, K., Yousef, M., Cui, W., Hsieh, J. T., & Nguyen, K. T. (2010). In vitro evaluation of novel polymer-coated magnetic nanoparticles for controlled drug delivery. *Nanomedicine*, 6(5), 672-680. doi:10.1016/j.nano.2010.01.012
- [77]. Yang, C., Jie, R., Jianbo, L., & Yan, L. (2011). Thermo-responsive Mn-Zn ferrite/poly(N,N'-isopropyl acrylamide-co-N-hydroxymethylacrylamide) core/shell nanocomposites for drug-delivery systems. *J Biomater Sci Polym Ed*, 22(11), 1473-1486. doi:10.1163/092050610x512117
- [78]. Mushtaq, M. W., Kanwal, F., Batool, A., Jamil, T., Zia-ul-Haq, M., Ijaz, B., . . . Ullah, Z. J. J. o. M. S. (2017). Polymer-coated CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoassemblies as biocompatible magnetic nanocarriers for anticancer drug delivery. 52(16), 9282-9293. doi:10.1007/s10853-017-1141-3
- [79]. Karimi, Z., Abbasi, S., Shokrollahi, H., Yousefi, G., Fahham, M., Karimi, L., & Firuzi, O. (2017). Pegylated and amphiphilic Chitosan coated manganese ferrite nanoparticles for pH-sensitive delivery of methotrexate: Synthesis and characterization. *Materials Science and Engineering: C*, 71, 504-511. doi:https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.10.008
- [80]. Morfin-Gutiérrez, A., Meléndez-Ortiz, H. I., García-Cerda, L. A. (2018). Synthesis of Poly(N-vinylcaprolactam)-Grafted Magnetite

- Nanocomposites for Magnetic Hyperthermia %J Journal of Nanomaterials. 2018, 6. doi:10.1155/2018/9562020
- [81]. Akbarzadeh, A., Zarghami, N., Mikaeili, H., Asgari, D., Goganian, A. M., Khiabani, H. K., . . . Davaran, S. (2012). Synthesis, characterization, and in vitro evaluation of novel polymer-coated magnetic nanoparticles for controlled delivery of doxorubicin. *Nanotechnol Sci Appl*, 5, 13-25. doi:10.2147/nsa.S24328
- [82]. Levy, D., Giustetto, R., & Hoser, A. (2012). Structure of magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) above the Curie temperature: A cation ordering study. *Physics and Chemistry of Minerals*, 39, 169-176. doi:10.1007/s00269-011-0472-x
- [83]. Gielen, P. J. E. P. J. A. (1998). Diffraction peak shift in MgO small crystallites. *The European Physical Journal Applied Physics*, 3(2), 183-186. doi:https://doi.org/10.1051/epjap:1998219
- [84]. E., R. R. (2001). *Encyclopedia of Materials: Science and Technology* (E. S. Ltd. Ed. 2nd Ed. ed.).
- [85]. Muzquiz-Ramos, E., Guerrero-Chávez, V., Macías-Martínez, B. I., Lopez-Badillo, C., & García-Cerda, L. (2015). Synthesis and characterization of maghemite nanoparticles for hyperthermia applications. *Ceramics International*, 41, 397-402. doi:10.1016/j.ceramint.2014.08.083
- [86]. Pan, C., Hu, B., Li, W., Sun, Y., Ye, H., & Zeng, X. (2009). Novel and efficient method for immobilization and stabilization of  $\beta$ -D-galactosidase by covalent attachment onto magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-chitosan nanoparticles. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 61(3), 208-215. doi:https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2009.07.003
- [87]. Can, K., Ozmen, M., & Ersoz, M. (2009). Immobilization of albumin on aminosilane modified superparamagnetic magnetite nanoparticles and its characterization. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 71(1), 154-159. doi:10.1016/j.colsurfb.2009.01.021

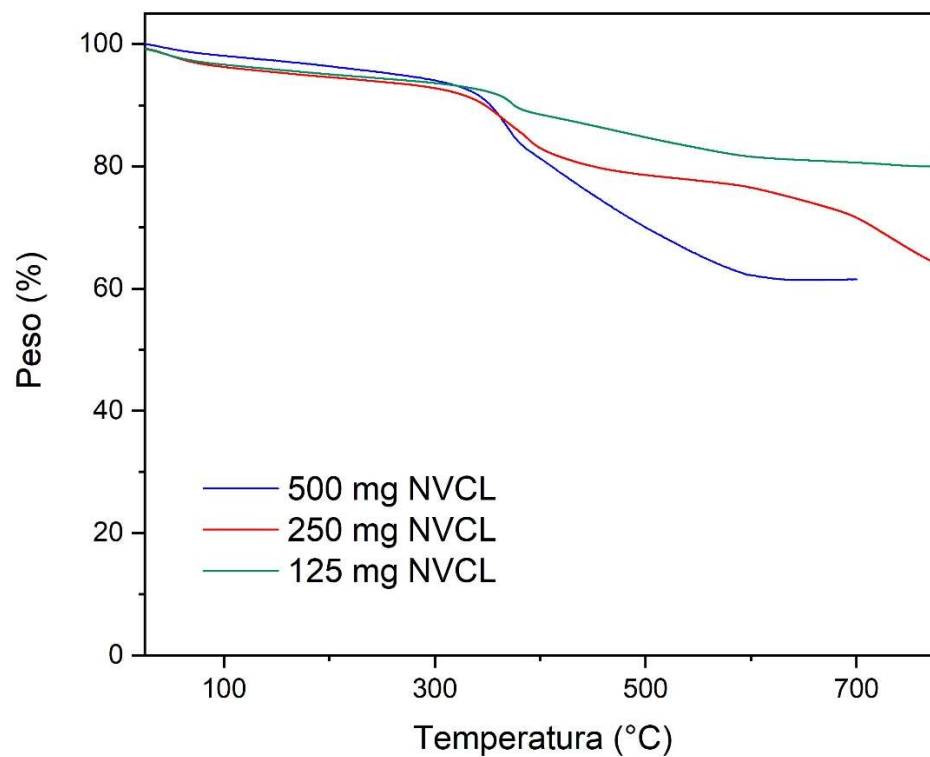
- [88]. Khalil, M. I. (2015). Co-precipitation in aqueous solution synthesis of magnetite nanoparticles using iron(III) salts as precursors. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(2), 279-284. doi:<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.02.008>
- [89]. Bini, R. A., Marques, R. F. C., Santos, F. J., Chaker, J. A., & Jafelicci, M. (2012). Synthesis and functionalization of magnetite nanoparticles with different amino-functional alkoxy silanes. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 324(4), 534-539. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2011.08.035>
- [90]. Kozanoğlu, S., Özdemir, T., & Usanmaz, A. (2011). Polymerization of N-Vinylcaprolactam and Characterization of Poly(N-Vinylcaprolactam). *Journal of Macromolecular Science, Part A*, 48(6), 467-477. doi:10.1080/10601325.2011.573350
- [91]. O'Driscoll, K. F. (1981). Free radical polymerization kinetics - revisited, *Pure and Applied Chemistry*, 53(3), 617-626. doi:<https://doi.org/10.1351/pac198153030617>
- [92]. Odian, G. G. (2004). Principles of polymerization. *Radical Chain Polymerization*, 198-349. Hoboken, N.J: Wiley-Interscience. <https://doi.org/10.1002/047147875X.ch3>
- [93]. Kavitha, T., Kang, I. K., & Park, S. Y. (2014). Poly(N-vinyl caprolactam) grown on nanographene oxide as an effective nanocargo for drug delivery. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 115, 37-45. doi:10.1016/j.colsurfb.2013.11.022
- [94]. Varshosaz J, Dehkordi AJ, Setayesh S. Magnetic polyvinyl caprolactam-polyvinyl acetate-polyethylene glycol micelles for docetaxel delivery in breast cancer: an in vitro study on two cell lines of breast cancer. *Pharm Dev Technol*. 2017;22(5):659-668. doi:10.1080/10837450.2016.1189562.

- [95]. Yuan, Q., Venkatasubramanian, R., Hein, S., & Misra, R. D. K. (2008). A stimulus-responsive magnetic nanoparticle drug carrier: Magnetite encapsulated by chitosan-grafted-copolymer. *Acta Biomaterialia*, 4(4), 1024–1037. doi:10.1016/j.actbio.2008.02.002
- [96]. Ferjaoui, Z., Jamal Al Dine, E., Jandayeva, A., Bezdethnaya, L., Soon Chang, C., Schneider, R., ... Alem, H. (2019). Doxorubicin Loaded Thermo-responsive Superparamagnetic Nanocarriers for Controlled Drug Delivery and Magnetic Hyperthermia Applications. *ACS Applied Materials & Interfaces*. doi:10.1021/acsami.9b10444
- [97]. Zhang, Q., Weber, C., Schubert, U. S., & Hoogenboom, R. (2017). Thermoresponsive polymers with lower critical solution temperature: from fundamental aspects and measuring techniques to recommended turbidimetry conditions. *Materials Horizons*, 4(2), 109–116. doi:10.1039/c7mh00016b

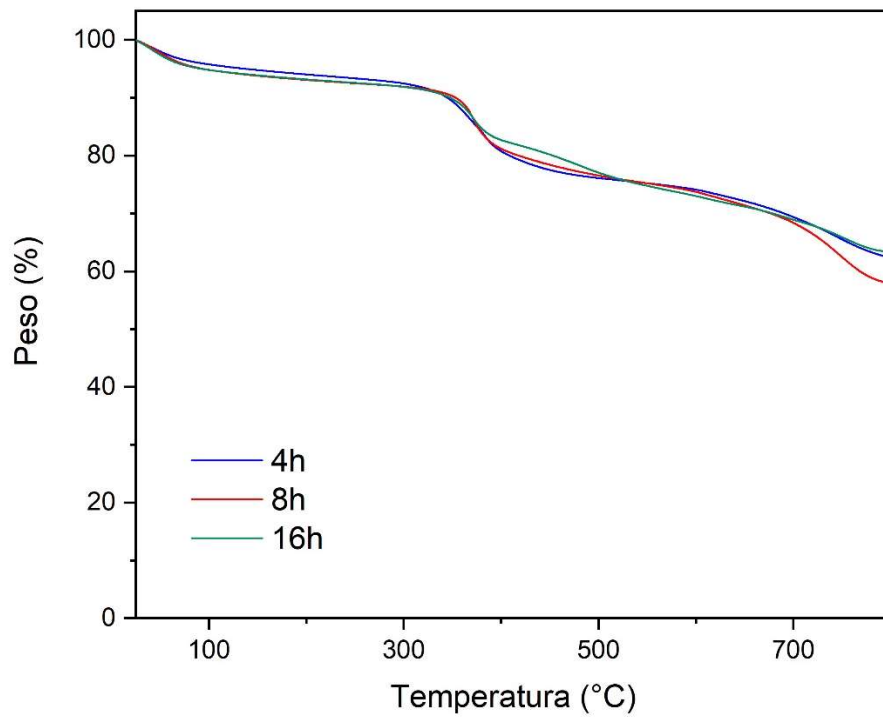
# Apéndice A

## 10. Apéndices

### 10.1 Apéndice A: Análisis Termogravimétrico de MNPs-g-PVCL



**Figura A1.** Termogramas de los NCs obtenidos mediante la polimerización de la NVCL variando la cantidad de monómero.



**Figura A2.** Termogramas de los NCs obtenidos mediante la polimerización de la NVCL (usando 250 mg) variando el tiempo de reacción.