



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS E INGENIERÍA DE MATERIALES  
CENTRO DE FÍSICA APLICADA Y TECNOLOGÍA AVANZADA

Síntesis y caracterización de un hidrogel base N,N-dimetilacrilamida  
y N-Vinilcaprolactama para evaluar su aplicación en liberación  
controlada de fármacos

## TESIS

Que para optar por el grado de:  
MAESTRA EN CIENCIA E INGENIERA DE MATERIALES

PRESENTA:  
TATIANA IVANOVA ROMÁN VALENZUELA

TUTOR PRINCIPAL  
Dr. Ángel Luis Rodríguez Morales  
CFATA-UNAM

MIESMBROS DEL COMITÉ TUTOR  
Dra. Miriam Rocío Estévez González  
CFATA-UNAM

Dra. Martha Elena Cruz Soto  
UVM Querétaro

Querétaro, Qro., junio de 2019



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **DEDICATORIA**

*A mis padres M. Cecilia Valenzuela Lagarda y  
J. Francisco Román Zamorano por todo su amor  
incondicional del cual me he apoyado siempre  
para salir adelante.*

*Y en memoria de mi fiel compañero kuko.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo de grado se realizó gracias a la colaboración del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) campus Querétaro, bajo la dirección del Dr. Ángel Luis Rodríguez Morales y los demás miembros del comité tutor, la Dra. Miriam Rocío Estévez González y la Dra. Martha Elena Cruz Soto.

Gracias al Dr. Angel Ramón Hernández Martínez y al Dr. Rodrigo Alonso Esparza Muñoz por sus colaboraciones en la realización de las distintas etapas que tuvo este trabajo, y por brindarme la facilidad de acceso a los equipos que se requirieron para poder llevar a cabo algunas de las caracterizaciones de los materiales sintetizados.

En especial, gracias a mi novio Mauricio S. S. que me apoyó pertinentemente con la estructura, redacción y estilo de este trabajo. A mis compañeros y amigos del CFATA que estuvieron presentes durante todo este proceso.

Finalmente, muchas gracias al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por su beca de postgrado durante la realización de la maestría.

# CONTENIDO

<b>CONTENIDO</b> .....	<b>4</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>9</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>11</b>
<b>2. OBJETIVO</b> .....	<b>13</b>
2.1. Objetivo general.....	13
2.2. Objetivos específicos .....	13
<b>3. ANTECEDENTES</b> .....	<b>15</b>
3.1. Carcinogénesis.....	15
3.1.1. <i>Progresión tumoral y metástasis</i> .....	16
3.1.2. <i>Metástasis hepática</i> .....	17
3.2. Mecanismos de administración de fármacos desde materiales poliméricos .....	19
3.2.1. <i>Difusión de agentes bioactivos a través de polímeros</i> .....	20
3.2.2. <i>Trabajos de modelos matemáticos de liberación</i> .....	24
3.3. Modelo matemático de liberación de fármaco.....	25
3.3.1 <i>Desarrollo del modelo matemático para posible liberación de DOXO</i> .....	25
<b>4. MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>29</b>
4.1 Materiales inteligentes .....	29
4.2 Polímeros .....	29
4.2.1. <i>Polimerización</i> .....	31
4.2.2. <i>Polimerización por condensación</i> .....	31
4.2.3. <i>Polimerización por adición</i> .....	31
4.2.4. <i>Polimerización por adición radicalar</i> .....	31
4.2.5. <i>Copolimerización</i> .....	32
4.3. Polímeros inteligentes.....	33
4.3.1. <i>Polímeros reticulados (geles)</i> .....	33
4.3.2. <i>Hidrogeles</i> .....	34
4.3.3. <i>Hidrogeles como sistemas de liberación de fármacos</i> .....	35
4.3.4. <i>Hidrogeles base DMA-VCL</i> .....	36
4.4. Técnicas de caracterización de polímeros.....	38
4.4.1. <i>Calorimetría diferencial de barrido (DSC)</i> .....	38
4.4.2. <i>Análisis térmico gravimétrico (TGA)</i> .....	40
4.4.3. <i>Espectroscopia infrarroja (IR)</i> .....	41
4.5. Fármaco antracíclico.....	43
4.5.1. <i>Propiedades</i> .....	43
4.5.2. <i>Mecanismo de acción.</i> .....	45
4.5.3. <i>Administración</i> .....	45
4.5.4. <i>Efectos adversos.</i> .....	46
4.6. Técnicas de caracterización de la DOXO. ....	46
4.6.1. <i>Espectroscopia ultravioleta-visible (UV-Vis)</i> .....	47
4.6.2. <i>Espectroscopia Raman</i> .....	48
4.7. Nanopartículas de magnetita.....	53
4.7.1. <i>Propiedades y estructura</i> .....	54

4.7.2. <i>Métodos de síntesis</i> .....	55
4.7.3. <i>Toxicidad</i> .....	57
4.8. Técnicas de caracterización de las NPs de óxido de Fe .....	58
4.8.1. <i>Microscopía electrónica de barrido (SEM)</i> .....	58
4.8.2. <i>Difracción de rayos X (DRX)</i> .....	59
4.9. Ondas de choque .....	65
4.9.1. <i>Tipos de ondas de choque</i> .....	67
4.9.2. <i>Generación de ondas de choque</i> .....	67
4.9.3. <i>Objetivos terapéuticos</i> .....	68
4.9.4. <i>Aplicación de tratamientos con ondas de choque</i> .....	69
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS DE SÍNTESIS</b> .....	<b>70</b>
5.1. Síntesis del Hidrogel .....	71
5.1.1. <i>Metodología de síntesis de los hidrogeles DMA-VCL</i> .....	71
5.1.2. <i>Cálculos de densidad y viscosidad</i> .....	74
5.2. Preparación de hidrogeles para liberación de fármacos .....	77
5.2.1. <i>Cuantificación de la DOXO</i> .....	78
5.2.2. <i>Pruebas de liberación de DOXO</i> .....	80
5.3. Síntesis de NPs de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> .....	82
5.4. Evaluación del compuesto Hidrogel + DOXO + NPs mediante ondas de choque .....	83
5.5. Evaluación de radiopacidad de las NPs inmersas en el hidrogel .....	84
<b>6. RESULTADOS Y DISCUSIONES</b> .....	<b>85</b>
6.1. Caracterización del hidrogel .....	85
6.1.1. <i>Resultados de las mediciones de densidad y viscosidad</i> .....	85
6.1.2. <i>Resultados IR</i> .....	88
6.1.3. <i>Resultados TGA-DSC</i> .....	94
6.1.4. <i>Resultados de las pruebas de liberación de DOXO</i> .....	95
6.2. Caracterización de las NPs de óxido de Fe .....	100
6.2.1. <i>Resultados de las mediciones en SEM</i> .....	101
6.2.2. <i>Resultados de las mediciones en DRX</i> .....	102
6.3. Análisis del material compuesto mediante espectroscopia Raman .....	104
6.3.1. <i>Resultados del análisis de la DOXO</i> .....	104
6.3.2. <i>Resultados del análisis del material compuesto</i> .....	106
6.3.3. <i>Resultados del análisis del material compuesto sometido a ondas de choque</i> .....	108
<b>7. CONCLUSIONES</b> .....	<b>115</b>
<b>8. TRABAJO FUTURO</b> .....	<b>116</b>
<b>10. REFERENCIAS</b> .....	<b>117</b>

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. TEJIDOS PRINCIPALES CAPACES DE DISEMINAR CÉLULAS CANCERÍGENAS AL HÍGADO. ....	18
FIGURA 2. FLUJO DIFUSIVO. ....	21
FIGURA 3. PROLIFERACIÓN DE CÉLULAS CANCERÍGENAS [20]. ....	27
FIGURA 4. ESTRUCTURAS DE CADENAS POLIMÉRICAS, (A) POLIMERIZACIÓN LINEAL, (B) POLIMERIZACIÓN RAMIFICADA, (C) POLIMERIZACIÓN ENTRECruzADA [24]. ....	30
FIGURA 5. TIPOS DE COPOLÍMEROS [25]. ....	33
FIGURA 6. ESTRUCTURA QUÍMICA DEL MONÓMERO N,N-DIMETILACRILAMIDA (DMA) [32]. ....	36
FIGURA 7. ESTRUCTURA QUÍMICA DEL MONÓMERO N-VINILCAPROLACTAMA (VCL) [32]. ....	37
FIGURA 8. MECANISMO DE REACCIÓN DEL AIBN [26]. ....	37
FIGURA 9. ESTRUCTURA QUÍMICA DEL INICIADOR EGDMA [32]. ....	38
FIGURA 10. ESQUEMA DE LAS CÉLULAS DE UN EQUIPO DE DSC [38]. ....	39
FIGURA 11. ESQUEMA DEL EQUIPO DE ANÁLISIS TÉRMOGRAVIMÉTRICO (TGA) [38]. ....	40
FIGURA 12. ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO CON EL ESPECTRO VISIBLE DESGLOSADO [41]. ....	42
FIGURA 13. ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA DOXORRUBICINA (DOXO) [46]. ....	44
FIGURA 14. EJEMPLO DE UN ESPECTRO QUE INDICA LA INTENSIDAD DE LUZ ABSORBIDA PARA CADA ENERGÍA. ....	48
FIGURA 15. REPRESENTACIÓN ENERGÉTICA DE LAS DIFERENTES POSIBILIDADES DE DISPERSIÓN AL INCIDIR UN FOTÓN SOBRE LA MUESTRA. EL GROSOR DE LA LÍNEA ES PROPORCIONAL A LA FUERZA DE LA SEÑAL DE LAS DIFERENTES TRANSICIONES [54]. ....	50
FIGURA 16. ESQUEMA DEL FUNCIONAMIENTO DEL EQUIPO RAMAN [54]. ....	51
FIGURA 17. ESPECTRO OBTENIDO DE LA TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA RAMAN GRAFICANDO LA INTENSIDAD CONTRA NÚMEROS DE ONDA [56]. ....	52
FIGURA 18. ESTRUCTURA DE ESPINELA INVERSA DE Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> [60]. ....	54
FIGURA 19. GENERACIÓN DE RAYOS X [69]. ....	59
FIGURA 20. LAS 14 REDES DE BRAVIAS. ....	60
FIGURA 21. RED BIDIMENSIONAL MOSTRANDO DISTINTAS FAMILIAS DE PLANOS RETICULARES [70]. ....	61
FIGURA 22. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA LEY DE BRAGG [69]. ....	62
FIGURA 23. ESQUEMA DE LA CONFIGURACIÓN BRAGG-BRENTANO $\theta-2\theta$ [69]. ....	63
FIGURA 24. DIFRACTOGRAMA CARACTERÍSTICO DE LA MAGNETITA UTILIZANDO DRX, MOSTRANDO LOS ÍNDICES DE MILLER PARA LOS PICOS DE MAYOR INTENSIDAD [72]. ....	64
FIGURA 25. GRÁFICA REPRESENTATIVA DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LAS ONDAS DE CHOQUE [6]. ....	66
FIGURA 26. REPRESENTACIÓN DE LA ACCIÓN DE UNA ONDA DE CHOQUE EN CONTACTO CON TEJIDO [6]. ....	66
FIGURA 27. ONDA DE CHOQUE DE TIPO FOCAL [6]. ....	67
FIGURA 28. ONDA DE CHOQUE DE TIPO RADIAL [6]. ....	67
FIGURA 29. DIAGRAMAS DE GENERACIÓN DE ONDAS DE CHOQUE [75]. ....	68
FIGURA 30. DIAGRAMA DE PROCEDIMIENTO. ....	70
FIGURA 31. PROCESO DE SÍNTESIS DE LOS HIDROGELES. ....	73
FIGURA 32. COLUMNA DE VIDRIO QUE SE UTILIZÓ PARA MEDIR LOS TIEMPOS QUE TARDAN LOS POLÍMEROS EN ATRAVESARLA. LA COLUMNA TIENE UNA DE LONGITUD $L = 28.5$ CM Y RADIO $R = 0.2$ CM, A LA CUAL SE LE MARCÓ DOS LÍNEAS INDICANDO UNA ALTURA $H = 15$ CM ....	76
FIGURA 33. ESQUEMA DE LA OBTENCIÓN DE UN HIDROGEL PARA LA LIBERACIÓN DE FÁRMACOS [8]. ....	77
FIGURA 34. CURVA DE CALIBRACIÓN DE LA DOXO. ....	79
FIGURA 35. MUESTRAS DE LOS HIDROGELES EN SECO; A) M1, B) M2, C) M3, D) M4. ....	80
FIGURA 36. CARGA DE DOXO EN LOS HIDROGELES; A) M1, B) M2, C) M3, D) M4. ....	81
FIGURA 37. DIAGRAMA DEL PROCESO DE LIBERACIÓN DE DOXO. ....	81
FIGURA 38. ESQUEMA DEL PROCESO DE LA SÍNTESIS DE LAS NPs DE ÓXIDO DE HIERRO. ....	83
FIGURA 39. MUESTRAS DE TEJIDO BLANDO Y HUESO DE POLLO UTILIZANDO UN ALAMBRE DE ESTAÑO PARA DISTINGUIR LA ZONA CON NPs DE ÓXIDO DE Fe; (A) TEJIDO BLANDO Y HUESO, (B) TEJIDO BLANDO Y HUESO CON NPs DE ÓXIDO DE Fe INMERSAS EN HIDROGEL. ....	84
FIGURA 40. POLÍMEROS EN SECO (M05, M08, M09, M10, M11), ....	85
FIGURA 41. DENSIDAD Y VISCOSIDAD DEL COPOLÍMERO BASE DMA-VCL A DIFERENTES CONCENTRACIONES. ....	86

FIGURA 42. MOLÉCULA DE DMA Y SU MECANISMO DE REACCIÓN .....	88
FIGURA 43. COMPARACIÓN DEL ESPECTROGRAMA IR DEL MONÓMERO DMA CON EL POLÍMERO PDMA. ....	89
FIGURA 44. MOLÉCULA DE VCL Y SU MECANISMO DE REACCIÓN .....	90
FIGURA 45. COMPARACIÓN DEL ESPECTROGRAMA IR DEL MONÓMERO VCL CON EL POLÍMERO PVCL. ....	91
FIGURA 46. ESPECTROGRAMA IR DE LOS POLÍMEROS PDMA Y PVCL, Y COPOLÍMEROS P(DMA-VCL). ....	93
FIGURA 47. ESPECTROGRAMA IR DE LOS POLÍMEROS PDMA Y PVCL, Y COPOLÍMEROS P(DMA-VCL) SIN ENTRECRUZANTE. ....	94
FIGURA 48. TERMOGRAMAS OBTENIDOS DE LOS HIDROGELES DMA-VCL. EL COLOR ROJO CORRESPONDE AL FLUJO CALORÍFICO (DSC). EL COLOR AZUL CORRESPONDE AL PORCENTAJE DE CAMBIO DE MASA (TGA). ....	95
FIGURA 49. MODELO CINÉTICO (LAGERREN DE PSEUDO PRIMER ORDEN) DE ADSORCIÓN DE DOXO EN HIDROGEL. ....	96
FIGURA 50. MODELO CINÉTICO (LAGERREN DE PSEUDO SEGUNDO ORDEN) DE ADSORCIÓN DE DOXO EN HIDROGEL. ....	97
FIGURA 51. CURVAS DE LIBERACIÓN DE DOXO MEDIANTE LOS.....	98
FIGURA 52. CURVAS DE LIBERACIÓN DE DOXO MEDIANTE LOS.....	99
FIGURA 53. SÍNTESIS DE NPs DE ÓXIDO DE HIERRO INMERSAS EN AGUA DESTILADA. EN LAS IMÁGENES SE PUEDE OBSERVAR EL EFECTO DE UN CAMPO MAGNÉTICO EXTERNO. ....	100
FIGURA 54. NPs DE MAGNETITA EN POLVO; (A) POLVO DE MAGNETITA. (B) POLVO DE MAGNETITA SOMETIDO A UN CAMPO MAGNÉTICO. ....	100
FIGURA 55. ESPECTRO EDS OBTENIDO DE LAS NPs DE ÓXIDO DE HIERRO. REALIZADO CON UNA ENERGÍA PRIMARIA DE 15 keV Y UN ÁNGULO DE INCLINACIÓN DE 30°. ....	101
FIGURA 56. MICROGRAFÍA SEM DE LAS NPs DE ÓXIDO DE Fe OBTENIDAS MEDIANTE EL MÉTODO DE CO-PRECIPITACIÓN QUÍMICA CON UNA AMPLIACIÓN: A) 3.4 MM X500K Y B) 3.4 MM X400K MÁS UNA ENERGÍA DE 3 kV.....	101
FIGURA 57. IMAGEN DE MAPEO PARA LOS ELEMENTOS QUE COMPONEN A LA MUESTRA.....	102
FIGURA 58. DR-X OBTENIDO DE LAS NPs DE ÓXIDO DE HIERRO, USANDO PVP COMO SURFACTANTE. ....	102
FIGURA 59. DIFRACTOGRAMA DE LAS NPs USANDO EL POLÍMERO M05 COMO SURFACTANTE. ....	103
FIGURA 60. DIFRACTOGRAMA DE LAS NPs USANDO EL POLÍMERO M11 COMO SURFACTANTE. ....	103
FIGURA 61. ESPECTROGRAMA OBTENIDO POR RAMAN DE LA DOXO. ....	104
FIGURA 62. MOLÉCULA DE LA DOXO CON EL NÚMERO DE BANDA CORRESPONDIENTE AL GRUPO FUNCIONAL SEÑALADO EN LA TABLA 17. ....	105
FIGURA 63. ESPECTROGRAMA OBTENIDO DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN DEL MATERIAL COMPUESTO. ....	106
FIGURA 64. ESPECTROGRAMA OBTENIDO DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN DEL MATERIAL COMPUESTO SOMETIDO A 100 ONDAS DE CHOQUE (MUESTRA A1) CON POTENCIA 14.....	108
FIGURA 65. ESPECTROGRAMA OBTENIDO DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN DEL MATERIAL COMPUESTO SOMETIDO A 150 ONDAS DE CHOQUE (MUESTRA B1) CON POTENCIA 14.....	109
FIGURA 66. ESPECTROGRAMA OBTENIDO DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN DEL MATERIAL COMPUESTO SOMETIDO A 200 ONDAS DE CHOQUE (MUESTRA C1) CON POTENCIA 14.....	110
FIGURA 67. ESPECTROGRAMA OBTENIDO DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN DEL MATERIAL COMPUESTO SOMETIDO A 250 ONDAS DE CHOQUE (MUESTRA D1) CON POTENCIA 14.....	111
FIGURA 68. COMPARACIÓN DE LOS 16 ESPECTROS OBTENIDOS DEL MATERIAL.....	113
FIGURA 69. RADIOGRAFÍA DEL HIDROGEL CON NPs DE Fe EN TEJIDO BLANDO Y HUESO DE POLLO; (A) ZONA SIN HIDROGEL, (B) ZONA CON HIDROGEL CON NPs INMERSAS. ....	114

## LISTA DE TABLAS

TABLA 1. ECUACIONES DEL COEFICIENTE DE DIFUSIÓN DE UN FÁRMACO DESDE DIFERENTES TIPOS DE POLÍMEROS [16].....	22
TABLA 2. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE LA DOXO. ....	44
TABLA 3. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE ALGUNOS DE LOS MÉTODOS DE SÍNTESIS DE NPS DE ÓXIDO DE HIERRO. ....	56
TABLA 4. VALORES OBTENIDOS POR ZHU ET AL. AL CAMBIAR LA RAZÓN MOLAR DE LOS IONES DE HIERRO DURANTE LA SÍNTESIS DE COPRECIPITACIÓN QUÍMICA [58].....	57
TABLA 5. CLASIFICACIÓN DE LA DENSIDAD DE FLUJO ENERGÉTICO [75]. ....	68
TABLA 6. VARIACIONES DE CONCENTRACIÓN CON RESPECTO A LA RELACIÓN MOLAR DE CADA MONÓMERO DE QUE SE UTILIZARON PARA LAS SÍNTESIS DE LOS HIDROGELES CON ENTRECruzANTE. ....	71
TABLA 7. VARIACIONES DE CONCENTRACIÓN CON RESPECTO A LA RELACIÓN MOLAR DE CADA MONÓMERO Y VARIACIONES DE LA CONCENTRACIÓN DE INICIADOR PARA LA SÍNTESIS DE LOS HIDROGELES SIN ENTRECruzANTE.....	72
TABLA 8. DATOS DE PESO Y VOLUMEN DE LOS HIDROGELES DMA-VCL. ....	75
TABLA 9. CÁLCULOS DE DENSIDAD (ECUACIÓN 34) Y VISCOSIDAD (ECUACIÓN 31) DE LOS HIDROGELES DMA-VCL. ....	76
TABLA 10. CADA VOLUMEN DE LA SOLUCIÓN MADRE SE AFORA A 10 mL CON AGUA DESTILADA, PARA OBTENER LA SOLUCIÓN CORRESPONDIENTE CON LA CONCENTRACIÓN DESEADA. ....	78
TABLA 11. ESPECIFICACIONES DE LAS CONDICIONES PARA LAS MUESTRAS INDIVIDUALMENTE, REFIRIENDO A POTENCIA Y NÚMERO DE ONDAS DE CHOQUE. ....	84
TABLA 12. RESULTADOS DE LA DENSIDAD Y VISCOSIDAD DE LOS HIDROGELES BASE DMA-VCL. ....	86
TABLA 13. VISCOSIDADES DE PRODUCTOS COMUNES, REFERENCIA TOMADA DE ATPPPLLEAL. ....	87
TABLA 14. LAS ASIGNACIONES DE LAS BANDAS DE ABSORCIÓN PARA EL ESPECTRO IR DEL DMA Y PDMA. ....	90
TABLA 15. LAS ASIGNACIONES DE LAS BANDAS DE ABSORCIÓN PARA EL ESPECTRO IR DEL VCL Y PVCL. ....	92
TABLA 16. PARÁMETROS QUE SE UTILIZARON PARA CALCULAR EL FACTOR DE CORRELACIÓN ( $R^2$ ) Y LA VARIACIÓN DE CONCERTACIÓN POR UNIDAD DE TIEMPO ( $K_1$ ). ....	96
TABLA 17. ANÁLISIS AL FÁRMACO DOXO, MOSTRANDO NÚMERO DE BANDA DE ABSORCIÓN, LONGITUD DE ONDA Y EL GRUPO FUNCIONAL DETERMINADO. ....	105
TABLA 18. ANÁLISIS AL MATERIAL COMPUESTO, MOSTRANDO NÚMERO DE BANDA, LONGITUD DE ONDA Y EL GRUPO FUNCIONAL DETERMINADO. ....	107
TABLA 19. ANÁLISIS DEL MATERIAL COMPUESTO SOMETIDO A 100 ONDAS DE CHOQUE (MUESTRA A1) CON POTENCIA 14, MOSTRANDO NÚMERO DE PICO, LONGITUD DE ONDA Y EL GRUPO FUNCIONAL DETERMINADO. ....	109
TABLA 20. ANÁLISIS DEL MATERIAL COMPUESTO SOMETIDO A 150 ONDAS DE CHOQUE (MUESTRA B1) CON POTENCIA 14, MOSTRANDO NÚMERO DE PICO, LONGITUD DE ONDA Y EL GRUPO FUNCIONAL DETERMINADO. ....	110
TABLA 21. ANÁLISIS DEL MATERIAL COMPUESTO SOMETIDO A 200 ONDAS DE CHOQUE (MUESTRA C1) CON POTENCIA 14, MOSTRANDO NÚMERO DE PICO, LONGITUD DE ONDA Y EL GRUPO FUNCIONAL DETERMINADO. ....	111
TABLA 22. ANÁLISIS DEL MATERIAL COMPUESTO SOMETIDO A 250 ONDAS DE CHOQUE (MUESTRA D1) CON POTENCIA 14, MOSTRANDO NÚMERO DE PICO, LONGITUD DE ONDA Y EL GRUPO FUNCIONAL DETERMINADO. ....	112

## RESUMEN

En la actualidad, el cáncer se ha convertido en una de las principales causas de muerte a nivel mundial. En particular bajo circunstancias de metástasis hepática, la esperanza de vida es muy baja. La radioterapia, quimioterapia y la cirugía son los tratamientos más utilizados para luchar contra esta enfermedad. Sin embargo, en el caso del tratamiento quimioterapéutico, existe una baja expectativa estadística asociada al empleo de administración de las antraciclinas. Debido a que estos fármacos llegan prácticamente a todos los tejidos del organismo, sin diferenciar las células malignas de las sanas terminan provocando en los pacientes una serie de efectos secundarios que dada la situación del paciente pueden desencadenar el deceso. En consecuencia, para los tratamientos basados en la quimioterapia se ha vuelto un reto lograr que la concentración adecuada llegue al sitio de acción con el mínimo de efectos colaterales. Esto mismo ha llevado a proponer métodos alternativos de administración de fármacos, como el uso de agentes de transporte de liberación sostenida. En este trabajo se realizó un estudio sobre un hidrogel base *N,N*-dimetilacrilamida (DMA) y *N*-Vinilcaprolactama (VCL), con el propósito de evaluar su aplicación controlada para posible tratamiento de tumores hepáticos metastásicos, basándose en las pruebas de liberación de un fármaco que brinda citotoxicidad, como la *doxorubicina* (DOXO), a lo largo del trabajo sólo se usan las abreviaciones. Además, en el material compuesto (hidrogel base DMA-VCL + DOXO) se embebieron *nanopartículas* (NPs) metálicas y se verificó su radiopacidad en tejidos blandos de animal (pollo domestico), aunado al uso de ondas de choque, se mostró parcialmente la integridad molecular del fármaco.

## ABSTRACT

The cancer has become one of the major causes of worldwide death and particularly the liver metastasis has very low life expectations. There are several treatments against cancer, like radiotherapy, surgery and chemotherapy. In the last case, there is a short expectation due that the drugs like anthracyclines reach the whole body, making no differentiation between the healthy and cancerous cells, thus causing several secondary effects and even death. The current challenge for chemotherapy is to get the adequate anticancer drug concentration to the action site, hence, minimize the collateral damage. This is the reason why the use of alternative methods of dosage of drugs are needed, like the use of sustained release transport agents. The aim of this study was to evaluate the controlled application of an *N,N*-Dimethylacrylamide (DMA) y *N*-Vinylcaprolactam (VCL) based hydrogel for possible treatments of metastatic liver tumors. For release tests, it is used a cytotoxic anticancer drug like the doxorubicin (DOXO), throughout the work only abbreviations are used. Besides, to demonstrate its radiopacity on soft animal tissues (chicken), metallic *nanoparticles* (NPs) were imbibed in the DMA-VCL based hydrogel containing doxorubicin, and in combination with the use of shock waves, showed partially the molecular integrity of the drug.

# 1. INTRODUCCIÓN

El cáncer se ha convertido en una de las principales causas de muerte a nivel mundial, siendo el hígado el sitio más común de metástasis con una esperanza de vida muy baja, de 1 a 5 años [1][2]. La quimioterapia es uno de los métodos más utilizados de tratamiento. Sin embargo, han surgido inconvenientes respecto al control de la dosificación una vez que el fármaco se encuentra en el torrente sanguíneo, ya que estos fármacos actúan de forma sistémica en varios tejidos del organismo sin diferenciar entre las células sanas de las malignas, provocando una serie de efectos secundarios a los pacientes [3]. Otro inconveniente de las quimioterapias es debido a que las características de superficie de los liposomas tradicionales que se usan para administrar el medicamento, *“son vistos como cuerpos extraños por el sistema inmune, siendo reconocidos y eliminados mediante la fagocitosis antes de llegar al sitio de ataque tumoral”* [4]. El resultado de este proceso es la pérdida en la capacidad del fármaco para poder alcanzar concentraciones suficientes en el sitio de acción [4].

Por lo que, en la actualidad se han propuesto diversos métodos para mejorar el control de la dosificación de fármacos, entre los cuales destaca la utilización de agentes de transporte que permiten realizar dosificaciones de liberación sostenida. Algunos de estos agentes de transporte son las *nanopartículas* (NPs) metálicas y/o poliméricas, los hidrogeles, entre otros. [5].

*“La dosificación de liberación sostenida es un método que libera uno o más fármacos de manera continua durante periodos de tiempo fijos, ya sea sistemáticamente o a un órgano específico. Las formas de dosificación de liberación sostenida proporcionan un mejor control de los niveles de fármaco en plasma, menor frecuencia de dosificación, menos efectos secundarios y mayor eficacia”* [5].

En el presente trabajo se realizaron las síntesis y caracterizaciones de materiales para la evaluación de una aplicación controlada de *doxorubicina* (DOXO) para posible tratamiento de tumores hepáticos metastásicos. Proponiendo que esta liberación se realice

de manera local, es decir, directamente en el tumor hepático. Utilizando una matriz polimérica hidrofílica (hidrogel) biocompatible en la que se encuentren embebidas NPs de magnetita que aporten radiopacidad, y un fármaco de tipo antracíclico como la DOXO.

Adicionalmente, se espera que la aplicación de frecuencias bajas por medio de ondas de choque acelere la transfección a la lesión tumoral sin dañar el tejido sano del organismo receptor [6]. Sin embargo, es importante determinar que no exista modificación en la estructura molecular de la DOXO causado por el uso de ondas de choque. Por lo que es necesario realizar una evaluación de integridad molecular de la DOXO mediante espectroscopia Raman, después de aplicarle ondas de choque al fármaco y al binomio fármaco-polímero, para establecer un rango de aplicación de las ondas en el que se asegure que no existe un cambio en los grupos funcionales principales que afecte a la capacidad citotóxica.

Tanto el hidrogel como las NPs utilizadas en el trabajo cuentan con las características específicas para uso terapéutico, ya que existen publicaciones donde han demostrado ser materiales biocompatibles [7] [8]. Y con respecto al fármaco propuesto, se sabe que la DOXO es bien conocida como agente quimioterapéutico para tratamiento de tumores malignos, debido a que daña el material genético de las células al igual que presenta propiedad antiproliferativas [4].

## 2. OBJETIVO

### 2.1. Objetivo general

Sintetizar y caracterizar un hidrogel base DMA-VCL acoplado con DOXO que muestre un efecto citotóxico por liberación local controlada del fármaco para tratamiento de tumores hepáticos metastásicos.

Es necesario que el material generado (hidrogel base DMA-VCL + DOXO) tenga embebidas NPs metálicas que aporten radiopacidad, y que el uso de ondas de choque (que proponen una aceleración de la transfección) no afecte la integridad molecular del fármaco.

### 2.2. Objetivos específicos

1. Sintetizar los hidrogeles base DMA-VCL por el método de polimerización mediante radicales libres, variando los pesos moleculares de los monómeros. Realizar estudios que ayuden a determinar si se llevó a cabo la polimerización y copolimerización, por las técnicas:
  - a) Espectroscopia de infrarrojo (**IR**).
  - b) Análisis termogravimétrico (**TGA**) y calorimétrico (**DSC**).
2. Conocer la densidad y viscosidad de los hidrogeles, esto para conocer de qué manera se puede distribuir y si puede ser inyectable.
3. Realizar pruebas de liberación de la DOXO inmersa en los hidrogeles base DMA-VCL, llevando a cabo los siguientes pasos:
  - a) Construir la curva de calibración utilizando la ley de *Lambert-Beer*, mediante el pico característico de absorción de la DOXO, el cual se obtiene con ayuda del equipo de espectroscopia UV visible (**UV-Vis**).

- b) Cargar los hidrogeles de DOXO y con ayuda de la curva de calibración, obtener los cambios de su concentración con respecto al tiempo.
  - c) Realizar la liberación de la DOXO inmersa en los hidrogeles, y con ayuda de la curva de calibración, obtener la concentración liberada con respecto al tiempo.
4. Sintetizar NPs de óxido de Fe por el método de co-precipitación química, para obtener nuestro material hidrogel + NPs de óxido de Fe. Permitiendo que, durante pruebas futuras, ya sean “*in vitro*” o “*in vivo*” se pueda realizar una localización del hidrogel y dirigir la liberación del fármaco. Antes, es importante caracterizar las NPs para:
- a) Determinar tamaño y forma de las NPs mediante microscopía electrónica de barrido (**SEM**).
  - b) Determinar en qué fase se encuentran las NPs mediante difracción de rayos X (**DRX**).
5. Comparar la radiopacidad de las NPs inmersas en el hidrogel con hueso y tejido blando, esto, a través de imágenes de **rayos X**.
6. Realizar una evaluación de integridad molecular de la DOXO, para esto es necesario:
- a) Obtener los materiales compuestos de *hidrogel + NPs de óxido de Fe + DOXO*.
  - b) Aplicar *ondas de choque* al material compuesto.
  - c) Evaluar el material compuesto mediante **Raman** antes y después de las ondas de choque.

### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1. Carcinogénesis.

El desarrollo del cáncer o carcinogénesis es un proceso multifactorial y con diversas etapas, con lo cual ocurre una transformación de células normales que pueden proliferar y crecer de manera controlada a células malignas o cancerosas, en las cuales esta regularización no existe [9].

Para que una célula normal cambie su fenotipo y se convierta en una célula neoplásica se requieren varias mutaciones en varios genes y eso ocurre a través de mucho tiempo, a veces de años, de estar expuesto a un agente carcinogénico [10].

El cáncer comienza en una célula, es decir que es de origen monoclonal. Esa célula alterada escapa y se vuelve “anárquica”, iniciando una generación de más “células anárquicas” que a su vez pueden inducir a cambios similares en las células vecinas. Pero no sólo afectan a la célula las mutaciones inducidas por los carcinógenos, sino que a lo largo de cada división celular (que pueden llegar a 50 divisiones) se producen errores espontáneos en cada duplicación y los mismos se van acumulando constituyendo un factor intrínseco de riesgo [10].

Existen dos mecanismos por los cuales los genes pueden alterarse:

- a) *Genético (hereditarios)*, es cuando se producen alteraciones estructurales del genoma por cambios de los propios genes. Estos cambios, denominados cambios de la estirpe germinal, se encuentran en cada una de las células de la descendencia. Y se heredan a través de las células germinativas, que son las células reproductivas del cuerpo (óvulos y espermatozoides) [10].
- b) *Epigenético (no heredables)* en acciones moleculares por alteraciones de las enzimas o de los sustratos de las mismas, tal el caso de la metilación de las bases nitrogenadas. Este mecanismo generalmente compromete simultáneamente los dos alelos y la

hipometilación, La pérdida de metilación (hipometilación) puede activar oncogenes y secuencias repetitivas, incrementando la inestabilidad cromosómica [10].

El crecimiento descontrolado de las células cancerosas es el resultado neto de la acumulación de alteraciones en múltiples sistemas reguladores de la célula, y se refleja en varios aspectos del comportamiento celular que hace diferenciar a las células cancerosas de las sanas [9].

En la patología del cáncer es importante distinguir si se trata de tumores benignos o malignos. Un tumor benigno permanece confinado en su localización original, sin invadir tejido sano adyacente ni propagarse a lugares distintos de su localización original. Sin embargo, un tumor maligno es capaz de invadir tejido sano adyacente y de propagarse por el cuerpo mediante los sistemas circulatorio o linfático. Por lo que solo a los tumores malignos se les denomina como cánceres, y en su capacidad de invadir y propagarse por el cuerpo da lugar a la metástasis [9].

### *3.1.1. Progresión tumoral y metástasis*

Las células tumorales producen factores angiogénicos que tienen la capacidad de inducir nuevos vasos sanguíneos, en la cual su pronóstico depende del tamaño del tumor primario, ya que se ha visto que con un diámetro inferior a 0.76 mm son avasculares y no metastáticos, mientras un diámetro superior a 0.9 mm ya presenta neo-vascularización y la posibilidad de estar asociado a la metástasis es muy alta [11].

La diseminación metastásica es un evento clave en la historia natural del cáncer, ya que ella transforma una enfermedad circunscrita y potencialmente curable por un tratamiento local, en una enfermedad generalizada cuyo tratamiento es sistémico [11].

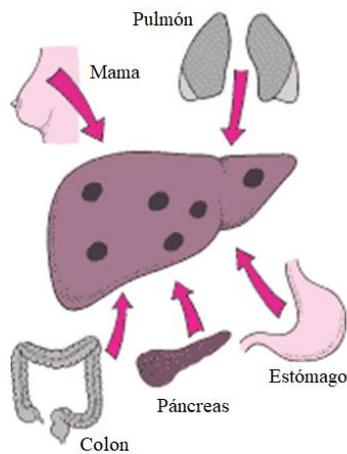
En la historia de un cáncer se pueden describir tres fases:

- a) La primera fase es el crecimiento local, caracterizada por la transformación de una o varias células de un tejido a partir de la selección de un clon que origina el tumor primario [11].
- b) La segunda fase es la migración de células tumorales aisladas o en pequeños grupos, originadas del tumor primario, que pueden permanecer latentes o proliferar y dar lugar a la metástasis de inmediato, a mediano o corto plazo. La característica de esta fase es la de presentar la dificultad para descubrir las células tumorales aisladas o en micro grupos en órganos que no son siempre los blancos de metástasis [11].
- c) La tercera fase, caracterizada por la proliferación de células tumorales en órganos distantes del tumor primario. Las células tumorales de un foco metastásico pueden migrar y formar nuevos tumores cancerígenos, constituyendo una cascada metastásica; estos focos secundarios son formados a partir de células tumorales que hacen suponer que son particulares, ya que han sufrido una fuerte selección, en la que su velocidad de proliferación puede ser diferente a la del tumor primario. Así la proliferación puede ser lenta, ya que los nuevos focos aparecen después de un determinado tiempo de latencia que permite una evolución genética diferente a la del tumor primario; el crecimiento puede ser rápido y la velocidad de proliferación puede ser tal que lleve a la muerte del paciente en poco tiempo, sin dar la oportunidad de que el tumor primario alcance un tamaño que se pueda detectar o incluso que pueda haber desaparecido, lo que puede llamarse metástasis sin punto de partida conocido [11].

### *3.1.2. Metástasis hepática*

La metástasis hepática (MH) es una fase avanzada del cáncer, donde solamente en algunos casos el tratamiento logra un beneficio en la supervivencia, y es proveniente de algunos

de los cánceres más frecuentes, como pulmonar, mama, pancreático, gástrico, colorrectal, entre otros (Figura 1) [12].



*Figura 1. Tejidos principales capaces de diseminar células cancerígenas al hígado.*

Hay que tener en cuenta que la MH no es lo mismo que el cáncer hepático, ya que este comienza en el hígado y se le llama carcinoma hepatocelular, donde generalmente afecta a las personas con enfermedades hepáticas como la hepatitis crónica B o C [12]. En cambio, la MH es cáncer diseminado en el hígado, y se puede presentar en el momento que se diagnostica el cáncer primario o puede presentarse meses, o incluso años después de que se extirpa el tumor primario [12].

La MH se presenta en 40% al 50% de los pacientes adultos con neoplasias primarias, esto debido a que el hígado es uno de los blancos más frecuentes para la diseminación metastásica de los tumores. Una las razones se debe a la doble circulación sanguínea del hígado y la presencia de fenestraciones en el endotelio sinusoidal que facilitan la penetración de las células malignas en el parénquima hepático [12].

Entre los pacientes que se diagnostican con tumores primarios en las zonas mencionadas (mama, pulmón, páncreas, colon, etc.) suelen tener o desarrollar MH en un 20% a un 70%. Donde en enfermos no tratados con MH, la media de supervivencia no supera los 21 meses

y en general no existen sobrevivientes a los 5 años. El pronóstico y la supervivencia dependen del volumen tumoral metastásico, de la presencia de extensión extrahepática y del grado de diferenciación del tumor [12].

### 3.2. Mecanismos de administración de fármacos desde materiales poliméricos

En la mayoría de los sistemas de liberación controlada, el fármaco se introduce en el interior de un transportador, siendo éste normalmente un material polimérico. Donde la velocidad de liberación de la sustancia activa está prácticamente controlada por las propiedades del polímero [13]. Sin embargo, deben tenerse en cuenta algunos aspectos fisiológicos y anatómicos, como el pH, el volumen de fluido, presencia de enzimas, propiedades adhesivas y la velocidad del flujo sanguíneo en la zona de administración [14].

El uso de estos materiales supone un gran avance en la administración de fármacos, ya que los sistemas poliméricos presentan la ventaja de que son capaces de mantener la concentración de fármaco por debajo del nivel de toxicidad o por encima del nivel mínimo efectivo a partir de una única dosis, así como de liberarla de forma continua en un tiempo determinado [13]. Sin embargo, es importante evaluar cuidadosamente las propiedades físico-químicas del fármaco candidato para su empleo en sistemas de liberación controlada. Esta evaluación se basa en las características del sistema de liberación y en la fisiología y/o anatomía de la zona de aplicación en el organismo [14].

Para que la sustancia que se va a liberar alcance el lugar deseado, en primer lugar, se tiene que producir la difusión de la misma desde la superficie de su transportador hasta el medio que lo rodea y a partir de ahí, mediante un marcador alcanzará el lugar sobre el que deberá ejercer su efecto [13].

A partir de numerosos estudios realizados sobre estos sistemas de liberación controlada, se puede concluir que existen cuatro mecanismos generales mediante los cuales es posible clasificar los sistemas de liberación controlada: 1) sistemas controlados por difusión, 2) sistemas controlados químicamente, 3) sistemas activados por un disolvente y 4) sistemas controlados magnéticamente [13].

Debido a que, en general, la difusión está presente en todos los sistemas de liberación y a que es el mecanismo predominantemente utilizado, a continuación, se presenta una introducción sobre la difusión a través de polímeros.

### *3.2.1. Difusión de agentes bioactivos a través de polímeros*

El comportamiento de liberación de agentes bioactivos es el resultado del fenómeno de difusión en el polímero y de restricciones de transferencia de masa en la interface polímero/líquido. Así, la modificación o el diseño de un sistema de liberación controlada exige el conocimiento previo del mecanismo de difusión del soluto a través del material polimérico [13].

Independientemente del sistema de liberación, el coeficiente de difusión del agente bioactivo a través del polímero depende de los parámetros estructurales y morfológicos del mismo, así como de la concentración de soluto presente[13].

Teniendo en cuenta este razonamiento, la difusión del soluto a partir de un material polimérico puede seguir la primera ley de Fick (1). Esta ley dice que el flujo difusivo (Figura 2) que atraviesa una superficie ( $J$ , en  $\text{mol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) es directamente proporcional al gradiente de concentración. El coeficiente de proporcionalidad se llama coeficiente de difusión ( $D$ , en  $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ ) [15]. Para un sistema discontinuo (membrana que separa dos cámaras) donde las partículas se difunden de una región de alta concentración a una de baja concentración (por eso el signo negativo), esta ley se escribe:

$$J = -D \cdot \frac{\Delta c}{\Delta x} \quad (1)$$

donde  $\Delta c$  es la diferencia de concentraciones molares y  $\Delta x$  el espesor de la membrana.

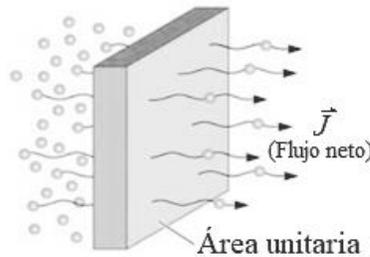


Figura 2. Flujo difusivo.

En caso general de una sustancia difundiéndose en todas las direcciones, la primera ley de Fick se expresa como:

$$\vec{J} = -D \cdot \vec{\nabla} c \quad (2)$$

Después, Adolf Fick intuyó que la difusión de una sustancia era un fenómeno análogo a la transferencia de calor por conducción, por lo que se basó en la ecuación propuesta por el Físico Joseph Fourier para describir la conducción de calor para plantear una ecuación diferencial que describe la difusión de una sustancia en el tiempo y en el espacio [15], obteniendo la segunda ley de Fick (3) para el caso de la difusión en una dirección:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \cdot \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad (3)$$

y para el caso general de una sustancia difundiéndose en todas las direcciones:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \cdot \vec{\nabla}^2 c \quad (4)$$

Sin embargo, las ecuaciones (3) y (4) son sólo válidas para el caso de medios isotrópicos, en los que la estructura y las propiedades de difusión son las mismas en cualquier punto del sistema relativo a una posición de referencia. En un medio no isotrópico, las propiedades de difusión dependen de la dirección en que se miden y, por lo tanto, el coeficiente de difusión no se puede considerar constante [13].

Tomando el caso más favorable, considerando que el sistema se encuentra en un medio isotrópico, es decir, el coeficiente de difusión es constante y la velocidad de transferencia a través de la unidad de área es en una única dirección. Y con el fin de mejorar la predicción realizada por la teoría de Fick, es posible considerar un coeficiente de difusión dependiente de la concentración [13], transformándose la ecuación (3) en:

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial z} \left( D_{ip}(c_i) \cdot \frac{\partial C_i}{\partial x} \right) \quad (5)$$

donde  $D_{ip}(c_i)$  es el coeficiente de difusión dependiente de la concentración; la forma en la que depende de la concentración está relacionada con las características estructurales del polímero que transporta el fármaco [13]. La Tabla 1 muestra algunas formas típicamente usadas del coeficiente de difusión [16].

*Tabla 1. Ecuaciones del coeficiente de difusión de un fármaco desde diferentes tipos de polímeros [16].*

<b>Tipo de transporte</b>	<b>Forma de <math>D_{ip}</math></b>	
Poroso	$D_{ip} = \frac{\lambda^2 v}{6}$	(6)
Poroso	$D_{eff} = D_{iw} K_p K_r \frac{\varepsilon}{\tau}$	(7)
Microporoso	$\frac{D_{ip}}{D_b} = (1 - \lambda)^2 (1 + \alpha\lambda + \beta\lambda^3 + \gamma\lambda^5)$	(8)
No poroso	$D_{ip} = D_0 \exp\left(-\frac{k}{v_f}\right)$	(9)

$$\text{No poroso} \quad \frac{D_{2,13}}{D_{2,1}} = \varphi(q_s) \exp \left[ -B \left( \frac{q_s}{V_{f,1}} \right) \left( \frac{1}{H} - 1 \right) \right] \quad (10)$$

$$\text{No poroso (Muy hinchado)} \quad \frac{D_{2,13}}{D_{2,1}} = K_1 \left( \frac{\bar{M}_c - \bar{M}_c^*}{M_n - M_c^*} \right) \exp \left( -\frac{k_2 r_s^2}{Q - 1} \right) \quad (11)$$


---

La ecuación (6) estima el coeficiente de difusión a través de un polímero, en el que la difusión se produce a través de una serie de saltos discontinuos en lugar de forma continua, donde  $\lambda$  es el salto difusional de la droga y  $v$  es la frecuencia de salto [16].

Los coeficientes de difusión del fármaco también se han estimado trazando analogías con el transporte en rocas porosas, resinas y catalizadores. En estos enfoques, la difusión se produce a través de poros llenos de agua. En tales casos, se puede usar un coeficiente de difusión efectivo,  $D_{\text{eff}}$ , ec. (7). En esta ecuación,  $\varepsilon$  es la porosidad del polímero y  $\tau$  es la tortuosidad, que describe la geometría de los poros. El término  $K_p$  es un coeficiente de partición de equilibrio entre las concentraciones del fármaco dentro y fuera del poro. El término  $K_r$  es la reducción fraccional en la difusividad dentro del poro [16].

La ecuación (8) describe la difusión de esferas a través de medios porosos. Aquí,  $\lambda$  es la relación entre el radio del fármaco y el radio promedio de los poros.  $D_{ip}$  y  $D_b$  son los coeficientes de difusión de la esfera a través del poro y el volumen, respectivamente;  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  son constantes [16].

Después, se propuso un modelo, ecuación (9), basado en la idea del volumen libre en polímeros para estimar el coeficiente de difusión de un fármaco, y llegaron a una dependencia exponencial entre ambos parámetros [13] [16].

La ecuación (10) reafirma la teoría del volumen libre y predice el coeficiente de difusión de un fármaco a través de una matriz polimérica de una forma bastante precisa. En su tratamiento, el coeficiente de difusión normalizado, es decir, el cociente entre el coeficiente de difusión del soluto en el polímero,  $D_{2,13}$ , y el coeficiente de difusión del

soluto en el disolvente puro,  $D_{2,1}$ , está relacionado con el grado de hidratación,  $H$ , y el volumen libre,  $V_{f,1}$ , ocupado por el medio de hinchamiento [13] [16].

Para la ecuación (11), también se utilizó un modelo teórico basado en el volumen libre de la matriz polimérica, esto, para predecir el coeficiente de difusión del fármaco y describir el transporte de estos en hidrogeles no porosos muy hinchados [13] [16].

### *3.2.2. Trabajos de modelos matemáticos de liberación*

Para el tratamiento de tumores irresecables se pueden utilizar intervenciones poco invasivas gracias a técnicas que implican el uso de láseres, microondas y radiofrecuencia (RF) de ablación. La técnica por RF de ablación se apoya del uso de implantes radioactivos para matar células tumorales residuales. Dichos implantes radioactivos se han probado en tejidos hepáticos con y sin ablación. Dentro del tratamiento quimioterapéutico que proporciona dicho implante se considera la estructura contenedora y la sustancia quimioterapéutica, siendo de interés el uso de polímeros como estructura contenedora y de doxorubicina como sustancia quimioterapéutica [17].

En el 2007 Weninberg et al, hicieron un estudio de modelado para simular el transporte de doxorubicina dentro de un copolímero (D,L-láctido y glicólido) de una dimensión con simetría cilíndrica, en tumores hepáticos no-ablativos (no extirpados) y ablativos (extirpados). El transporte de doxorubicina al tejido tumoral desde un dispositivo de implante se analizó mediante un modelo dinámico de transporte de balance de masa que incorpora difusión y eliminación. Los resultados obtenidos del trabajo de Weninberg muestran las ventajas de usar modelos computacionales para estimar parámetros óptimos en donde se pueda predecir la farmacocinética local de medicamentos a partir de implantes intratumorales después de la ablación [17].

### 3.3. Modelo matemático de liberación de fármaco.

Para decretar los objetivos terapéuticos en quimioterapia se requiere anticipadamente realizar varios ensayos clínicos, que además de ser costosos tienen un largo tiempo de espera para ser evaluados. Es por ello la necesidad de implementar modelos matemáticos basados en ecuaciones de diferencias ordinarias y parciales que simulen la realidad biológica. Con el objetivo de explicar y comprender el fenómeno, simplificando e idealizando la realidad, pero sin perder la correspondencia con la misma, permitiendo acortar plazos, reducir costos y comprender mejor el proceso de carcinogénesis [18] [19].

Sin embargo, implica un problema complejo desarrollar modelos matemáticos que describan el comportamiento de los tumores y puedan ser aplicados a la vida real. Para ello, es importante seleccionar las variables más adecuadas que reflejen lo máximo posible la realidad [19].

Cabe resaltar que un modelo nunca debe sustituir la parte experimental, ya que los datos experimentales son la fuente de riqueza del modelo y, además, permiten su validación. La investigación necesita de ambos para comprender y tratar procesos tan complejos como los biológicos [19].

#### *3.3.1 Desarrollo del modelo matemático para posible liberación de DOXO*

Este modelo supone una población heterogénea de células cancerígenas con igual potencial de crecimiento, pero sensibles a fármacos citotóxicos.

El tratamiento consiste en una aplicación directa de DOXO al tumor hepático, suministrándolo mediante un hidrogel, en el cual se encuentre inmerso el fármaco para su liberación prolongada, y considerando que el 100% del material activo liberado hace efecto en las células cancerígenas, descartando el proceso de difusión.

El modelo matemático es un sistema de tres funciones dependientes del tiempo, una referente al crecimiento tumoral, considerando la tasa metabólica de las células cancerígenas y su perfusión (transporte de oxígeno); otra referente a la degradación del hidrogel en el que se encuentra inmerso el fármaco, por lo que es necesario considerar la concentración de la DOXO, así como su acción citotóxica y el retardo en respuesta de su efecto farmacológico, también considerando que las ondas de choque ayudan a acelerar la transfección; y finalmente, otra referente a la liberación en concentración, esta función debe tener el comportamiento de una tangente hiperbólica, ya que al inicio hay mayor concentración liberada y conforme pasa el tiempo esta disminuye, por lo que la función debe depender de la concentración del fármaco.

- $C_t(t, P, T_m, a_c)$  representa la función de crecimiento tumoral, donde;  $P$  es la perfusión,  $T_m$  es la tasa metabólica y  $a_c$  es la acción citotóxica.
- $D(t, C_{dox}, a_c, d, f_p)$  representa la función de degradación del hidrogel, donde;  $C_{dox}$  es la concentración de DOXO,  $f_p$  es el número de ciclos de presión y  $d$  es el retardo en respuesta farmacológica.
- $L_f(t, C_{dox})$  representa la función de liberación de fármaco, donde  $C_{dox}$  es la concentración de DOXO.

El crecimiento de los tumores ocurre desde la transformación de la primera célula hasta la existencia de billones de células cancerosas. Después de treinta multiplicaciones (1 billón de células) el tumor es detectable como una masa (1 cm), ver Figura 3 [20].

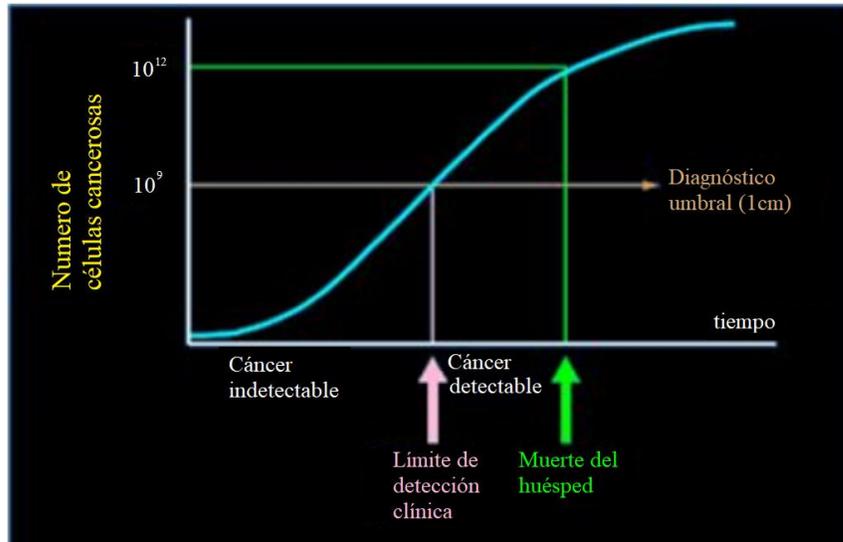


Figura 3. Proliferación de células cancerígenas [20].

Por lo que la función que describe el crecimiento tumoral se puede expresar de la siguiente manera:

$$C_t = V_d * e^{(P*T_m)t} - a_c, \quad (12)$$

donde:

$V_d$  es el volumen diagnóstico,

$e^{(P*T_m)t}$  denota un crecimiento exponencial dependiente de la perfusión y de la tasa metabólica en el tiempo.

$a_c$  es la acción citotóxica del fármaco.

La degradación de los hidrogeles, se expresa con una exponencial negativa, ya que la degradación tiene este comportamiento. Donde al inicio se tiene una velocidad de degradación rápida y conforme pasa el tiempo esta va disminuyendo.

$$D = V_H * e^{-\frac{1}{t} * C_{dox} * a_c} * \sin(P + T_m) + d, \quad (13)$$

donde:

$V_H$  es el volumen del hidrogel,

La liberación de fármaco se denota por un comportamiento de una función de tangente hiperbólica, la cual depende la concentración del fármaco y la densidad del hidrogel.

$$L_f = \rho_H * \tanh\left(\frac{C_{dox}}{t}\right) + \alpha, \quad (14)$$

donde:

$\rho_H$  es la densidad del hidrogel,

$\alpha$  es el factor de corrección.

Suponiendo la coexistencia de células cancerígenas en un volumen determinado, donde el sistema evoluciona y el volumen tumoral varía con el tiempo. Conjeturando idealmente que la quimioterapia hace su efecto, entonces existe una reducción del volumen,  $V_{rt}$ , el cual está definiendo por la siguiente ecuación:

$$V_{rt} = D(t, C_{dox}, a_c, f_p) - C_t(t, P, T_m) + L_f(d, C_{dox}, t) \quad (15)$$

## 4. MARCO TEÓRICO

### 4.1 Materiales inteligentes

Los materiales inteligentes son aquellos que responden a estímulos exteriores, permitiendo que se modifiquen sus propiedades e incluso hasta su forma [21].

Existen diferentes tipos de materiales inteligentes, estos se pueden clasificar según su respuesta frente al estímulo que reciben, se observa un cambio en su forma, o en alguna de sus propiedades como la conductividad eléctrica o la viscosidad, permitiendo que estos materiales puedan ser utilizados como sensores o como actuadores [21].

Las aplicaciones que se le pueden dar a estas estructuras inteligentes se pueden encontrar en casi todos los campos tecnológicos, como en la industria aeroespacial, automoción, biomedicina etc. [22].

### 4.2 Polímeros

Etimológicamente, la palabra polímero proviene del término griego *Polymerés* que se divide en los términos *Poly* (muchas) y *Meros* (partes), que significan conjuntamente constituido o formado por muchas partes. Químicamente, un polímero es una red de macromoléculas constituidas por una gran cantidad de enlaces carbono-carbono con la presencia de diferentes grupos funcionales [23].

Estas moléculas de gran tamaño, constituidas por eslabones orgánicos denominados monómeros se encuentran unidos por enlaces covalentes, son las que forman lo que se conoce como materiales plásticos y también los tejidos de los seres vivos [23].

Existen diferentes maneras de clasificar los polímeros, según su origen o su estructura de cadena (ver Figura 4) [23]. Estas estructuras se pueden dar de las siguientes maneras:

- *Lineal*, están formados por la repetición del mismo tipo de unión.
- *Ramificado*, cuando existen cadenas laterales unidas a la principal.
- *Entrecruzado*, cuando existen enlaces entre cadenas vecinas.

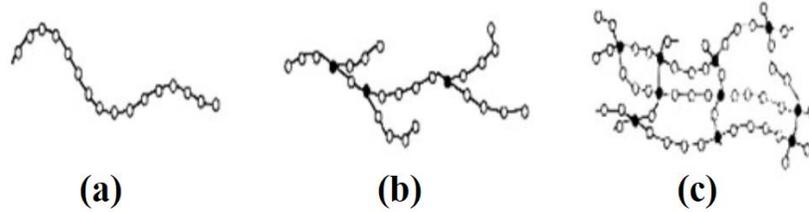


Figura 4. Estructuras de cadenas poliméricas, (a) polimerización lineal, (b) Polimerización ramificada, (c) polimerización entrecruzada [24].

Hay dos clases de polímeros según su origen, los que produce la naturaleza denominados biopolímeros que provienen directamente del reino animal o vegetal como pueden ser las proteínas, el caucho natural, etc. Y los que son producidos de manera artificial denominados sintéticos o industriales, los cuales se obtienen por síntesis, ya sea en una industria o un laboratorio, que, a su vez, se pueden clasificar como termoplásticos o termorrígidos, según su comportamiento al ser calentados [23].

- *Termoplásticos*, son aquellos que al calentarse se ablandan o funden, y son solubles en disolventes. Están formados por moléculas de cadena larga sin ramificaciones, y sus enlaces no se modifican radicalmente cuando la temperatura aumenta, razón por la que al ser sometidos a altas temperaturas, enfriados y después recalentados, el comportamiento del polímero no se ve afectado [23].
- *Termorrígidos*, son aquellos que al calentarse se descomponen y no pueden fundirse ni solubilizarse. Están formados por estructuras tridimensionales con reticulación, este reticulado no permite que estos polímeros sean reprocesados una vez que han sido conformados [23].

#### *4.2.1. Polimerización*

Se denomina polimerización al proceso de llevar a cabo una reacción química para obtener polímeros. En este proceso se produce la reacción de miles de monómeros que pasan a formar parte de una larga cadena macromolecular. Existen dos maneras de llevar a cabo estas reacciones; polimerización por adición o crecimiento de cadena y polimerización por condensación o crecimiento por pasos [25].

#### *4.2.2. Polimerización por condensación*

La polimerización por pasos (condensado) se produce entre monómeros que además poseen grupos funcionales y se agrupan individualmente o conjuntamente, los grupos funcionales extras son compuestos intermediarios que pueden terminar aislados al final del proceso como subproductos, y debido a que hay menos masa en el polímero resultante que en los monómeros originales, se dice que el polímero está condensado [25].

#### *4.2.3. Polimerización por adición*

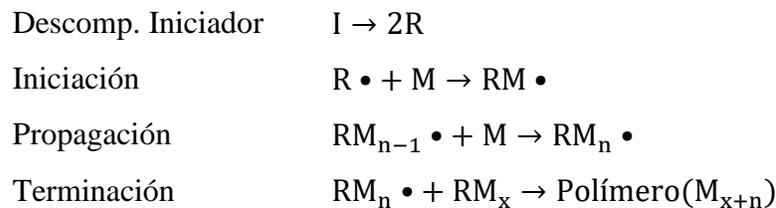
La polimerización por adición ocurre si la molécula completa del monómero base forma parte del polímero final, esto, sin haber formado subproductos y los polímeros resultantes se denominan policondensados [26]. En este proceso se genera una especie reactiva a partir del monómero base, la cual participa en una reacción que la autoconsume generando otra especie reactiva similar, de modo que cada reacción es recursiva. Las especies reactivas pueden ser radicales, cationes o aniones [26].

#### *4.2.4. Polimerización por adición radicalar*

Consiste en la descomposición de un iniciador para la formación de los radicales libres. Estos pueden producirse por efecto térmico o agentes químicos. Así, la acción de los

radicales libres sobre los monómeros, es la formación de monómeros activados para la formación de las cadenas poliméricas [27]. Se suceden las siguientes etapas:

1. Descomposición del iniciador (I), formando dos radicales libres (R).
2. Etapa de propagación, nuevos monómeros se van uniendo a la cadena principal.
3. Etapa de terminación, dos cadenas largas radicálicas se unen.



#### 4.2.5. Copolimerización

Es el proceso de polimerización en el cual se utilizan dos o más monómeros, por lo que fabricar copolimeros suelen ser más complejos debido a que están formados por más de un monómero, lo que hace que estos puedan variar en su composición y en su longitud de secuencia [25].

Los copolimeros son estructuras poliméricas formadas a partir de distintas clases de monómeros. Usualmente están constituidos por mínimo dos clases diferentes de monómeros y máximo por tres. Estos, se clasifican según su secuencia de ordenamiento como copolimeros de bloque, de injerto o al azar. Dicha clasificación se encuentra representada en la Figura 5 [25].

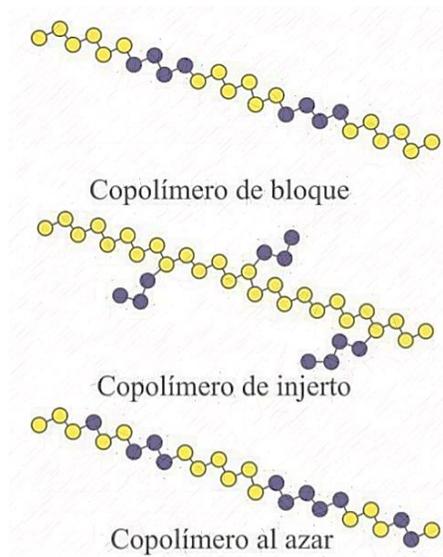


Figura 5. Tipos de copolímeros [25].

### 4.3. Polímeros inteligentes

Los polímeros inteligentes son aquellos que experimentan cambios predecibles en sus propiedades físico-químicas en respuesta a estímulos como la temperatura, el pH, la luz, el campo eléctrico, el campo magnético, etc. Este comportamiento de estímulo-respuesta ha impulsado el desarrollo de nuevas aplicaciones en distintos campos como la biotecnología, la biomedicina, las tecnologías electrónicas, etc. Por lo que en las últimas dos décadas los polímeros inteligentes han tomado un papel importante en la investigación científica debido a los resultados prometedores que se han demostrado [21].

#### 4.3.1. Polímeros reticulados (geles)

Son polímeros que poseen todas las características normales de los sólidos tales como estabilidad de forma, resistencia a cortadura, etc. pero con la propiedad de absorber

disolventes e hincharse hasta dimensiones mucho mayores que su tamaño en seco. El hecho de que estos geles sean sólidos permeables al disolvente se debe a la combinación de un sólido y un líquido en equilibrio, debido a la interacción entre los dos componentes y por la estructura tridimensional de las cadenas poliméricas. Los geles se clasifican entre los geles físicos y geles químicos, los primeros se forman por crecimiento de agregados conectados físicamente, y los químicos se forman mediante enlaces covalentes [21].

Los geles inteligentes se clasifican en dos grupos en función de la naturaleza de sus polímeros. El primer grupo consiste en polímeros no cargados, estos forman enlaces de hidrógeno (hidrogeles) con las moléculas de agua. Un incremento de temperatura o por el cambio de fuerza iónica, ocasiona perturbaciones de los enlaces de hidrógeno causando separaciones de fase o contracciones en el gel. Ejemplos de este grupo son: poli(Nisopropilacrilamida), poli(N-vinilpiperidina), poli(N-vinilcaprolactama) etc. El segundo grupo consiste en polímeros cargados, por lo que en medios acuosos suelen ser solubles o se encuentran en su forma de gel hinchado. En estos geles, cuando ocurre un cambio de pH de medio o cuando se adicionan iones de bajo peso molecular, la repulsión entre los segmentos poliméricos se reduce y esto conduce a separaciones de fase [21].

#### *4.3.2. Hidrogeles*

Los hidrogeles son redes poliméricas hidrófilas tridimensionales de cadenas flexibles, y pueden ser de origen natural o sintético. Su propiedad de hidrofilia se debe a grupos como hidroxilo (-OH), carboxilo (-COOH), amida (-CONH<sub>2</sub>) y sulfónico (SO<sub>3</sub>H), a lo largo de las cadenas poliméricas. Están caracterizados por su extraordinaria capacidad de absorber agua y otros líquidos. Su rango de absorción puede abarcar miles de veces su peso en seco. La flexibilidad de las cadenas de un hidrogel hace posible que se deformen para permitir la entrada de moléculas de disolvente dentro de su estructura. Por lo que, los hidrogeles han recibido atención considerable a una amplia gama de aplicaciones, sobre todo en los

medicamentos como sistemas de liberación controlada y/o sostenida de principios activos, sistemas terapéuticos biodegradables, lentes de contacto e implantes, entre otros [28], [29].

Estos materiales se obtienen mediante polimerización y entrecruzamiento simultáneo de uno o varios monómeros. Las características de estos monómeros (tipo de grupos que lo forman) y el grado de entrecruzamiento determinan las propiedades de hinchamiento del hidrogel, y por tanto su aplicabilidad. En la mayoría de los casos, un solo monómero no proporciona al mismo tiempo buenas propiedades mecánicas y gran retención de agua, por ello es necesario recurrir a la copolimerización [29]. Para la síntesis de los hidrogeles, además de requerir de los elementos habituales para cualquier reacción de polimerización, tales como el disolvente, monómero o monómeros y el iniciador, también se necesita de un agente entrecruzante, que va a ser el responsable de la estructura reticulada del gel [29].

#### *4.3.3. Hidrogeles como sistemas de liberación de fármacos*

Desde el punto de vista de los materiales, la tendencia es obtener materiales poliméricos de estructura reticulada que sean capaces de cargar el principio activo y a la vez de responder a estímulos del ambiente para conseguir que puedan liberar de manera controlada su carga. Con el objetivo de mejorar la administración de los fármacos, conseguir una disminución de la solubilidad, la degradación, el tiempo de circulación en el torrente sanguíneo, así como reducir la toxicidad o controlar la penetración de los fármacos a través de las barreras biológicas [28], [8].

Entre los polímeros, los hidrogeles cuentan con las propiedades para ser cargados con medicamentos como principio activo. Por ser biocompatibles y presentar propiedades de hinchamiento en medio acuoso, entre otras características de interés, es lo que los perfila como una buena opción para ser usados en la liberación controlada de medicamentos [8].

#### 4.3.4. Hidrogeles base DMA-VCL

Los hidrogeles a base de los monómeros DMA y VCL son fuertes candidatos para la fabricación de materiales inteligentes, debido a las propiedades responsivas que estos pueden proporcionar.

La *N,N*-dimetilacrilamida (DMA) es uno de los monómeros más utilizados para la síntesis de los hidrogeles sensibles a la temperatura, donde se ha demostrado que la adición de este, en combinación con otros, incrementa la capacidad de absorber agua de los hidrogeles a temperaturas mayores de 20 °C, y al desplazar la temperatura de transición hacia valores mayores de 32 °C disminuye la velocidad de liberación de agua [30]. Para su síntesis, la DMA se utiliza como agente reticulante, ya que la molécula contiene grupos reactivos que permiten injertar diferentes grupos laterales a la cadena principal [31]. La estructura química de la molécula *N,N*-dimetilacrilamida se observa en la Figura 6.

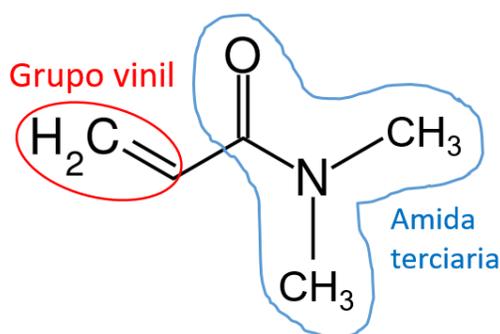


Figura 6. Estructura química del monómero *N,N*-dimetilacrilamida (DMA) [32].

El *N*-vinilcaprolactama (VCL) es otro monómero prometedor que se utiliza para el diseño de hidrogeles termoresponsivos debido a su biocompatibilidad y su temperatura de solución crítica de 32–38 °C, cerca de la temperatura fisiológica. Al igual que la DMA, la VCL es un agente reticulante, ya que también su molécula contiene grupos reactivos que le permite producir una reacción en cadena [33]. Su estructura química se muestra en la Figura 7.

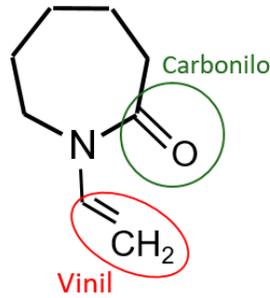


Figura 7. Estructura química del monómero *N*-vinilcaprolactama (VCL) [32].

- *Iniciación de la polimerización mediante radicales libres:*

Para llevar a cabo la síntesis de hidrogeles a base de los monómeros DMA y VCL mediante radicales libres, se requiere de un compuesto iniciador como el *azobisisobutironitrilo* (AIBN). Los azocompuestos de la molécula del AIBN se descomponen mediante el incremento de temperatura, pues a unos 70° C el nitrógeno es liberado y se forman dos radicales 2-cianoprop-2-il, el esquema de la reacción se puede observar en la Figura 8 [26]. Esta descomposición de la molécula ocurre a los 65°C en tolueno y a partir de los 50°C en benceno [34].

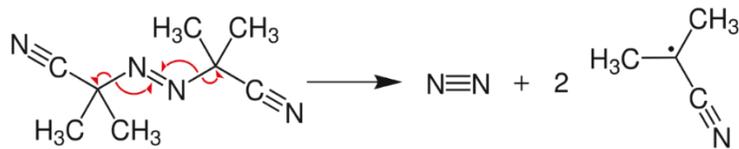


Figura 8. Mecanismo de reacción del AIBN [26].

- *Entrecruzamiento:*

El monómero *dimetacrilato de etilenglicol* (EGDMA) es un metacrílico difuncional insoluble en agua que se utiliza como agente de entrecruzamiento de copolímeros, sobre todo en algunos hidrogeles que se usan como lentes de contacto y materiales absorbentes. Tan solo 2 ppm de material activo aumenta el módulo de dureza, así como mejora la

resistencia al conjunto de compresiones (esencialmente aumentando la unidad de reticulación). Niveles más altos de EGDMA continuarían aumentando la dureza y el módulo al mismo tiempo que plastifican la goma. Por lo que se pueden fabricar compuesto de alto durómetro con excelentes propiedades elastoméricas [35]. Su estructura química se muestra en la Figura 9.

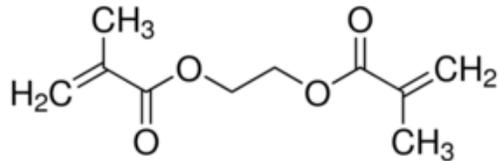


Figura 9. Estructura química del iniciador EGDMA [32].

#### 4.4. Técnicas de caracterización de polímeros.

##### 4.4.1. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La DSC permite conocer las transiciones de fase que sufre una muestra cuando es sometida a calentamiento, esto permite la identificación cualitativa y cuantitativa de las fases del material estudiado. También, se puede conocer información como el tiempo de degradación y hacer un estudio de los procesos térmicos acumulados por el material [36]. La técnica se basa en someter dos crisoles, usualmente de alúmina, a una rampa de temperatura específica mediante la cual se va suministrando energía calorífica al sistema, el cual consta de un crisol vacío y otro que contiene la muestra. Los crisoles se conectan en serie y por tal razón es posible utilizar el crisol vacío como referencia para ir detectando las variaciones de temperatura en el crisol con la muestra, como se observa en la Figura 10. Cuando la muestra experimenta algún tipo transición de fase o transición vítrea el calor agregado o cedido por la muestra se puede registrar como consecuencia de las reacciones

endotérmicas o exotérmicas que tienen lugar en la muestra al momento de la transición. El control del horno y análisis de datos se realiza a través de una computadora [37].

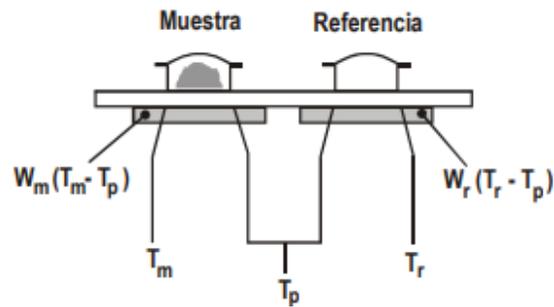


Figura 10. Esquema de las células de un equipo de DSC [38].

Cada célula del sistema está equipada con un termopar de alta sensibilidad para la medida de la temperatura, y con una resistencia que se encarga de mantener la célula a la temperatura programada  $T_p$ . Las temperaturas instantáneas  $T_r$  y  $T_m$  se miden para luego compararlas con el valor de  $T_p$  [38]. Por lo que, la energía suministrada por el sistema a cada una de las células es una función lineal de la diferencia entre la temperatura instantánea de cada célula y la temperatura programada:

$$E_m = W_m (T_m - T_p) \quad (16)$$

$$E_r = W_r (T_r - T_p) \quad (17)$$

Siendo  $E_m$  y  $E_r$  las energías suministradas al sistema,  $W_m$  y  $W_r$  constantes del sistema que dependen de las características del material, de su masa y de su capacidad calorífica [38].

La aplicación de la técnica DSC es ampliamente utilizada para caracterizar materiales poliméricos [38]. Algunas de estas aplicaciones son:

- Determinación de la entalpía de un proceso en función de la temperatura.
- Determinación de pureza de los compuestos.
- Estudio de la estabilidad a la oxidación.

- Determinación del porcentaje de cristalinidad de polímeros parcialmente cristalinos.
- Cálculo de la temperatura de transición vítrea.
- Estudio de cinéticas de reacción: cálculo de la energía de activación aparente, orden de reacción, constantes de velocidad.
- Determinación del calor específico.
- Estudio de procesos de envejecimiento.
- Rangos de temperaturas características.
- Estudios de compatibilidad entre polímeros.

#### 4.4.2. Análisis térmico gravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico consiste en medir el peso de una muestra durante un proceso de calentamiento. El equipo consta de un horno, una balanza, un soporte para crisol, un crisol y un termopar. El material del crisol es normalmente de alúmina haciéndolo resistente y estable a altas temperaturas [38].

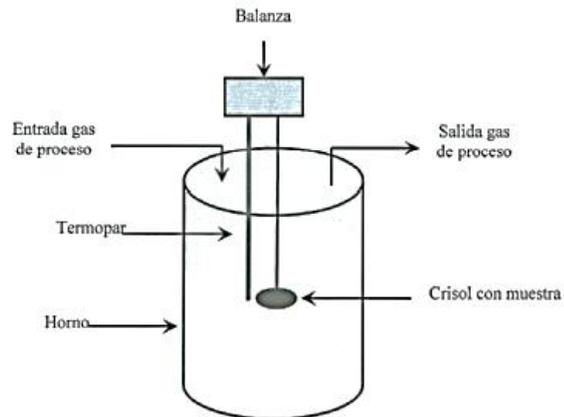


Figura 11. Esquema del equipo de análisis termogravimétrico (TGA) [38].

El horno es llenado con un flujo constante del gas oxidante y se calienta con un perfil de temperaturas predeterminado. La información que se obtiene es la ganancia o pérdida de

peso causado por los cambios químicos y físicos de la muestra analizada, como una función del tiempo o temperatura [38].

La técnica de TGA se puede trabajar en tres distintas configuraciones dependiendo del perfil térmico aplicado que puede ser isotérmico, cuasi-isotérmico y dinámico [39].

Las curvas termogravimétricas obtenidas al medir los cambios de masa dada una temperatura específica del perfil térmico proporcionan información respecto a la estabilidad térmica, la composición de la muestra, de compuestos intermedios y del producto final de muestra residual. Por otro lado, en estudios sobre degradación térmica, el TGA puede servir para conocer la estructura molecular y la disposición de las unidades repetidas o la existencia de dobles enlaces [39].

Ahora, por comparación es posible hacer una identificación cualitativa, ya que cada tipo de polímero presenta una diferente estabilidad térmica. Así, es posible la diferenciación entre polímeros de acuerdo a sus características de descomposición, rango de temperaturas, velocidad o energía de activación. Por otro lado, existen polímeros que no muestran diferencias tan marcadas haciendo más difícil su identificación. Además, la estabilidad térmica de un compuesto puede verse afectada por la presencia de otros compuestos y por ello estos procedimientos no son muy utilizados [38].

Finalmente, por curvas específicas es posible la identificación de compuestos dentro de una misma familia, debido a que se pueden utilizar los datos suministrados por las curvas termogravimétricas para este propósito. Así, la información utilizada puede ser la forma de la curva TGA, la temperatura a la cual hay máxima velocidad de pérdida de peso, el porcentaje de pérdida de peso y la relación entre las alturas de los saltos [38].

#### *4.4.3. Espectroscopia infrarroja (IR)*

En 1800, la radiación infrarroja fue descubierta por Sir William Herschel. Dicho descubrimiento surgió del estudio que Herschel hizo de un haz de luz que pasaba a lo largo

de un prisma y era dispersado en las componentes típicas del arcoíris que corresponden con el espectro del visible, ver Figura 12. Herschel observó que al medir la temperatura en cada color desde el azul hasta el rojo había un incremento de esta, luego al seguir midiendo la temperatura más allá del rojo encontró que seguía habiendo un incremento, el cual asoció a la existencia de lo que llamó *rayos no caloríficos*, ya que el ojo humano no es capaz de percibir este tipo de radiación debido a que típicamente sólo responde dentro del rango de las longitudes de onda que van desde los 350 nm a los 750 nm. Dichos rayos después se conocerían como rayos infrarrojos (rayos IR) [40].

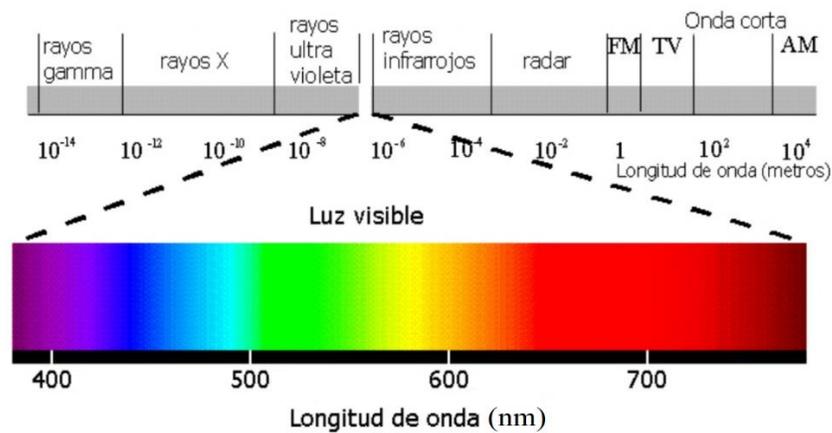


Figura 12. Espectro electromagnético con el espectro visible desglosado [41].

El espectro IR se divide en tres regiones: infrarrojo cercano (NIRS) que permite el estudio de vibraciones armónicas o combinadas, infrarrojo medio (MIRS) que se usa para el estudio de vibraciones fundamentales y de rotaciones vibracionales de pequeñas moléculas e infrarrojo lejano (FIRS) que es para el estudio de átomos pesados (vibraciones de la red). Estas regiones en términos de sus longitudes de onda tienen los siguientes rangos: para el NIRS va de los  $0.7 \mu\text{m}$  a los  $2.5 \mu\text{m}$ , para el MIRS va de los  $2.5 \mu\text{m}$  a los  $25 \mu\text{m}$  y finalmente para el FIRS va de los  $25 \mu\text{m}$  a los  $300 \mu\text{m}$  [40].

La espectroscopia se ocupa del estudio de la interacción radiación materia, para el caso de los rayos IR dicha interacción se da por la existencia de polaridad en los enlaces químicos

de una molécula, es decir, si no hay polaridad (momento dipolar) en las moléculas a estudiar la interacción de los rayos IR y la muestra permanece inactiva, no se puede generar ningún espectro IR proveniente del material en estudio. [40].

## 4.5. Fármaco antracíclico

La doxorubicina (DOXO) se obtuvo inicialmente de los cultivos de la variedad *caesius* de *Streptomyces paucetius*, esta cepa fue creada por Arcamone et al. en 1969 mediante mutación de una cepa productora de daunorrubicina, precursor inmediato en la ruta de biosíntesis de DOXO [42]. La DOXO es un antibiótico citostático de la familia de las antraciclina, y es la más utilizada para tratamiento quimioterapéutico en pacientes que se encuentran en fase de cáncer avanzado, como podría ser la metástasis hepática. Sin embargo, se encuentra limitada por su toxicidad que puede impedir la dosificación adecuada o incluso conducir a la resistencia a otros medicamentos antracíclicos [43].

### 4.5.1. Propiedades

La DOXO es un glucósido con carácter anfótero, ya que por un lado posee grupos fenólicos del anillo que le aportan carácter ácido y por otro lado presenta una función básica en el anillo de amino-azúcar. El sistema de anillo tetracíclico le aporta a la molécula carácter lipofílico, pero el extremo saturado del sistema de anillos contiene varios grupos hidroxilo adyacentes a la amino-azúcar, los cuales forman un centro hidrofílico [44].

La DOXO y muchas antraciclina comparten restos aglicónico y azúcar. La aglicona consiste en un anillo tetracíclico (responsable del color rojo típico de las antraciclina) con grupos quinona-hidroquinona adyacentes en los anillos C-B, un sustituyente metoxi en C-4 en el anillo D, y una cadena lateral corta en C-9 con un carbonilo en C-13. El azúcar,

llamado daunosamina, se une mediante un enlace glucosídico al C-7 del anillo A y se compone de un resto de 3-amino-2, 3, 6- tridesoxi-L-fucosiltransferasa (Figura 13) [45].

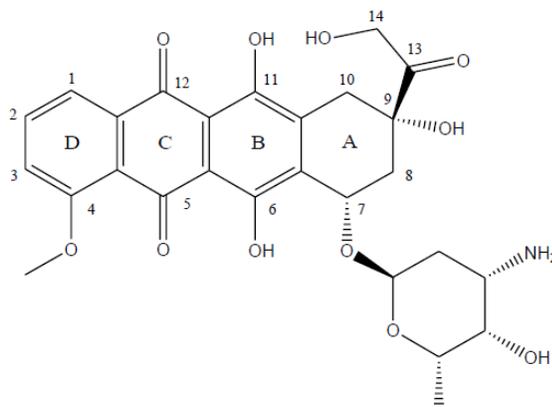


Figura 13. Estructura química de la doxorubicina (DOXO) [46].

La aglicona policíclica es esencial para la intercalación de la DOXO entre las hebras del ADN, estabilizada por la amino-azúcar por interacciones electrostáticas con los grupos fosfatos cargados negativamente [44].

Algunas de las propiedades físicas y químicas que tiene la DOXO se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 2. Propiedades físicas y químicas de la DOXO.

Fórmula condensada	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> NO <sub>11</sub>
Peso molecular	543.52 g/mol.
Estructura física	Sólido cristalino
Color	Rojo
Punto de fusión	230°C
Coefficiente de partición octanol/agua	logK <sub>ow</sub> =1.27
Alta Solubilidad	Agua (2600mgL <sup>-1</sup> ) a 25°C Etanol NaOH 0.1 M
Moderada Solubilidad	Metanol Anhidro
Insolubilidad	Solventes orgánicos no polares

#### *4.5.2. Mecanismo de acción.*

El fármaco actúa enlazándose a los ácidos nucleicos, mediante el intercalado específico del núcleo de la antraciclina planar con la doble hélice del ADN. Inhibe así la biosíntesis de ácidos nucleicos, dificultando el avance de la enzima topoisomerasa II (enzima encargada de desenrollar el ADN en la transcripción), alterando la estructura del ADN e impidiendo que se replique, en consecuencia, esto termina provocando el bloqueo de la síntesis de nuevo material genético y su reparación [47], [48].

Otros mecanismos de acción son los implicados en la formación de radicales libres hidroxilos, que propician la fragmentación del ADN, el efecto alquilante y la peroxidación de lípidos celulares. Así mismo, también parece responsable de la unión a proteínas de la membrana celular originando sobreexpresión del receptor del factor epidérmico de crecimiento e inhibición de la transferrina (proteína encargada de transportar el hierro en el plasma) [48]. El metabolismo de esta molécula también genera radicales libres de oxígeno que causan daño al ADN que puede dar lugar a mutaciones si no se repara adecuadamente [45].

#### *4.5.3. Administración.*

La DOXO se administra por vía intravenosa (IV) e intravesical, la cual puede ser por inyección durante unos minutos, por perfusión corta de hasta una hora o continua de hasta 96 horas. La solución se administra mediante un sistema de tubo de flujo uniforme para perfusión intravenosa con una solución inyectable de cloruro de sodio a 9 mg/ml (0.9%) o con una solución inyectable de dextrosa a 50 mg/ml (5%) durante 2-15 minutos. No debe administrarse vía oral ya que se inactiva en el aparato digestivo, así como la vía subcutánea, intramuscular o intratecal no son adecuadas por la necrosis tisular producida por extravasación [48].

La posología depende del tipo de tumor, de la función hepática y de la quimioterapia. La eficacia es equiparable en dichos esquemas, aunque la pauta semanal está asociada con una menor toxicidad cardíaca. Las pautas posológicas empleadas en combinación con otros fármacos oscilan entre los 40 y los 60 mg/m<sup>2</sup> de superficie corporal cada tres o cuatro semanas en perfusión continua de 30 a 60 minutos. En pacientes que no pueden recibir la dosis completa, por ejemplo, en caso de inmunosupresión o edad avanzada, las dosis recomendadas son de 15-20 mg/m<sup>2</sup> de superficie corporal por semana [48], [45].

#### 4.5.4. *Efectos adversos.*

Los efectos crónicos de la DOXO son irreversibles y devastadores para el paciente, inicialmente se presentan náuseas y vómitos en el 80% de los pacientes durante las primeras 24 horas, pudiendo llegar a ser muy severos; la administración de dosis bajas semanales o infusión continua disminuyen significativamente las náuseas y vómitos respecto al bolus intermitente. Diarrea, mucositis (estomatitis y esofagitis) 5-10 días después de la administración, con posible aparición de ulceraciones [49], miocardiopatía tóxica (aguda o crónica) e insuficiencia cardíaca congestiva en última instancia [45].

#### 4.6. Técnicas de caracterización de la DOXO.

La DOXO tiene propiedades espectroscópicas que permite determinar su concentración en disolución, esto puede ser posible mediante un equipo de absorción de radiación *ultravioleta-visible (UV-Vis)*. El espectro UV-Vis reportado para la DOXO presenta dos picos máximos de absorción, 232 nm y 490nm, siendo el último el característico para la absorción de la DOXO [50]. De igual manera, la espectroscopia *Raman* tiene un gran valor en el área de investigación de la farmacología, ya que mediante el uso de esta técnica es posible determinar su composición química [51].

#### 4.6.1. Espectroscopia ultravioleta-visible (UV-Vis).

La espectroscopia UV-Vis se basa en el análisis de la cantidad de radiación electromagnética (en el rango de longitudes de onda del ultravioleta y visible) que puede absorber o transmitir una muestra en función de la cantidad de sustancia presente [52]. Todas las técnicas de absorción suponen que cuando una radiación incide sobre una muestra se produce una absorción parcial de esta radiación, el resto de radiación es transmitida. Así analizando una u otra se puede relacionar la cantidad de especie activa presente en la muestra [52]. De la relación de Planck-Einstein (18):

$$\Delta E = E_f - E_0 = h\nu \quad (18)$$

$\Delta E$  es característico de cada sustancia, lo que proporciona un análisis cualitativo de un analito en una muestra [52].

La proporcionalidad entre intensidad de luz absorbida o transmitida y la concentración de analito viene definida por la ley de Lambert-Beer [52].

La ley de Lambert-Beer (19) permite relacionar la intensidad de luz entrante en un medio con intensidad saliente después de que en dicho medio se produzca absorción. Se cumple para cualquier proceso de absorción en cualquier zona del espectro y se basa en que cada unidad de longitud a través de la cual pasa la radiación absorbe la misma fracción de radiación [52]. Donde dicha relación entre ambas intensidades se puede expresar de la siguiente manera:

$$\frac{I_1}{I_0} = 10^{-A} \quad (19)$$

donde  $I_1$ ,  $I_0$ , son las intensidades saliente y entrante respectivamente, y  $A$  es la absorbancia [52].

Tomando logaritmos y reorganizando se obtiene la siguiente ecuación:

$$A = -\log_{10} \frac{I_1}{I_0} \quad (20)$$

Si tenemos una sustancia cualquiera, que absorbe en el rango ultravioleta-visible, debido a su configuración electrónica no lo hará a una única energía, sino que podrá absorber en un rango de energías con distinta eficiencia en cada una de ellas, esto da lugar al espectro de absorción de esta sustancia que indica la intensidad de luz absorbida de cada longitud de onda o energía, como se muestra en la Figura 14 [52].

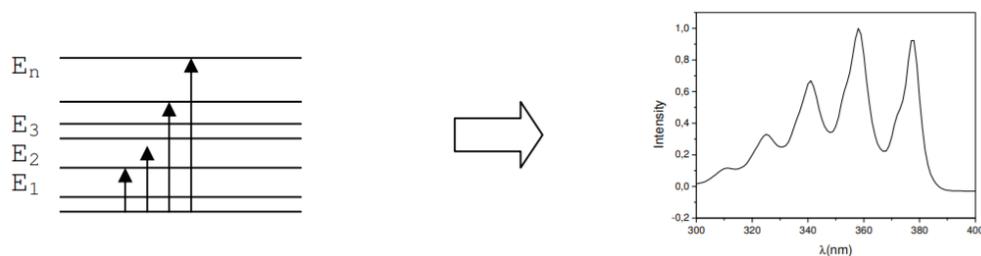


Figura 14. Ejemplo de un espectro que indica la intensidad de luz absorbida para cada energía.

Así, cada sustancia tiene un espectro de absorción característico que dependerá de la configuración electrónica de la molécula, átomo o ion [52].

#### 4.6.2. Espectroscopia Raman

La espectrometría Raman es una técnica con aplicación en diversas áreas investigación tales como la farmacología, química de materiales, procesamiento de alimentos, pero sobre todo ha tenido un gran impacto en el área de aplicaciones biomédicas ya que ayuda a estudiar la composición química *in vivo* e *in vitro* de algunos tejidos [51]. Debido a la gran cantidad de información química que brinda, y al ser una técnica de análisis no destructiva, permite analizar compuestos orgánicos e inorgánicos, ya sean de especies volátiles o no volátiles, así como examinarlos a menudo *in situ*, ya sea utilizando recipientes de vidrio, plásticos transparentes o bolsas de prueba [51].

El fundamento físico de la técnica consiste en la dispersión inelástica de una fracción de luz incidente de la muestra, la cual sufre un cambio de frecuencia debido al intercambio de energía con la materia de dicha colisión, según la ecuación de Planck (21) [53].

$$\Delta E = h\Delta\nu \quad (21)$$

donde  $h$  es la constante de Planck y  $\nu$  la frecuencia del haz de luz incidente.

Un haz de luz monocromático de frecuencia  $\nu_0$  es incidente sobre la muestra. La mayor parte de la luz dispersada presenta la misma frecuencia de la luz incidente (dispersión Rayleigh), la cual no aporta información alguna sobre la composición de la muestra; pero una fracción muy pequeña presenta un cambio de frecuencia, esta radiación proporciona información sobre la composición molecular de la muestra y se le conoce como dispersión Raman [54]. Estos cambios de frecuencia son característicos de la naturaleza química y el estado físico de la muestra por lo que permite identificar distintos compuestos y características moleculares [55].

El efecto de la técnica se puede describir como una excitación de la molécula a un estado de excitación virtual emitiendo un fotón con el fin de regresar a un estado fundamental; si el choque ha sido inelásticamente entonces podemos decir que en proceso ha ganado o perdido energía, es decir, no volverá exactamente al mismo estado si no que se encontrará en un estado vibración o rotacional distinto a la inicial [54]. El esquema de las representaciones energéticas se puede apreciar en la Figura 15.

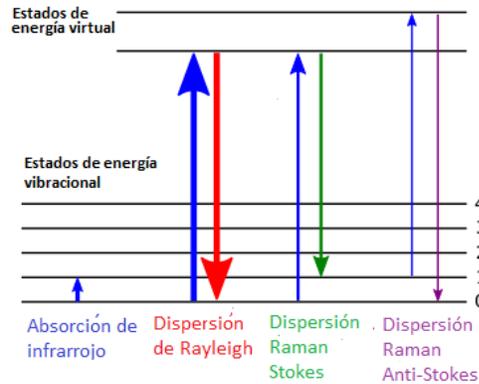


Figura 15. Representación energética de las diferentes posibilidades de dispersión al incidir un fotón sobre la muestra. El grosor de la línea es proporcional a la fuerza de la señal de las diferentes transiciones [54].

Según la frecuencia de los fotones dispersados se pueden distinguir los siguientes casos representados:

- **Dispersión Rayleigh:** el choque es elástico, la frecuencia del fotón incidente y emitido es la misma, por lo tanto, no existe ninguna variación energética. Este proceso no demuestra alguna información espectroscópica de la muestra [55].
- **Dispersión Raman-Stokes:** cuando el choque es inelástico la frecuencia del fotón es menor pues ha transferido energía a la molécula, la cual se encuentra en un estado vibracional o rotacional superior a la inicial [55].
- **Dispersión Anti-Stokes:** ocurre cuando existen choques inelásticos, pero con frecuencias mayores a las del fotón, en este caso la molécula no se encuentra en un estado fundamental ya que, al proporcionar energía al fotón, decae al estado de mínima energía [55].

El equipo consta de generalmente 4 componentes diferentes:

- 1) Fuente de excitación.
- 2) Sistema de iluminación de la muestra.
- 3) Sistema de selección de longitud de onda.
- 4) Detector.

El equipo dispone de tres fuentes de excitación monocromáticas intercambiables, con distinta longitud de onda, de manera que sea posible obtener distintos espectros dependiendo de la longitud de onda incidente. La radiación se guía mediante una fibra óptica de excitación y se focaliza en la zona de la muestra que se desea analizar [54]. Se recoge la luz dispersada señal Raman y se guía de nuevo mediante fibra óptica hasta el detector multicanal, el cual emplea un espectrógrafo con el objetivo de separar las distintas longitudes de onda y que sean detectadas simultáneamente mediante el detector CCD. El esquema del funcionamiento del equipo se aprecia en la Figura 16.

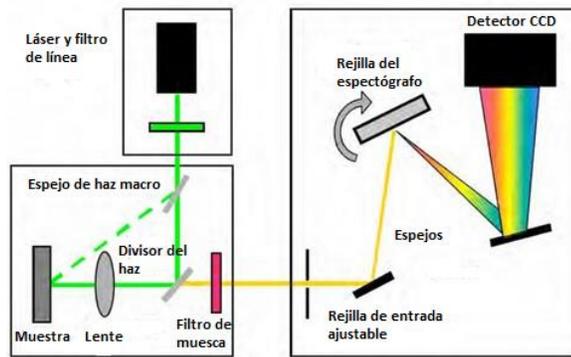


Figura 16. Esquema del funcionamiento del equipo Raman [54].

Para obtener información molecular de la muestra, son analizados los niveles de energía vibraciones pues son característicos de los átomos del enlace, de su entorno y conformación; estos niveles tienen frecuencias de resonancias características, las cuales son función de la masa de las moléculas y la fortaleza de sus enlaces. En la espectroscopia Raman no es necesario un cambio en la polarizabilidad de las moléculas de la muestra; lo que permite obtener información espectral complementaria sobre moléculas homonucleares [56].

Un espectro Raman es una interpretación de la intensidad de la luz dispersada vs el número de onda, obsérvese la Figura 17, la banda central corresponde a la dispersión Rayleigh, a la misma frecuencia que el fotón incide y de gran intensidad, a cada lado de ella se sitúan de manera simétrica las bandas Raman-Stoke y Raman Anti-Stoke.

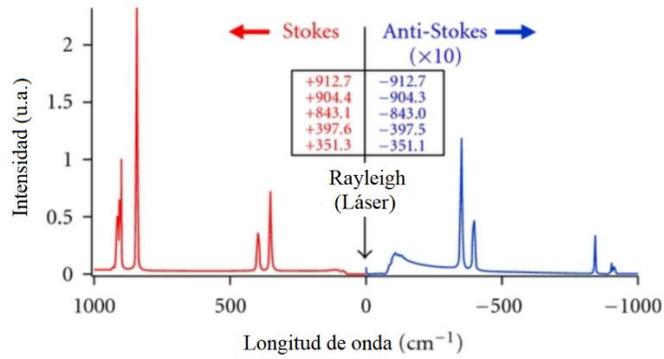


Figura 17. Espectro obtenido de la técnica de espectroscopía Raman graficando la intensidad contra números de onda [56].

El número de onda se relaciona con la longitud de onda a través de la siguiente expresión (22):

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \frac{\nu}{c} \quad (22)$$

donde  $\lambda$  es el número de onda de la luz incidente, esta magnitud por lo general es representada en  $\text{cm}^{-1}$ .

En lugar del número de ondas de la luz incidente es común representar en su lugar la diferencia del número de ondas entre la luz incidente y emitida, situándose la banda Rayleigh en el cero. Esto es posible ya que la frecuencia de la luz incidente no modifica la posición de los picos en el espectro, aunque la intensidad de la luz dispersada depende tanto de la intensidad como de la frecuencia de la luz incidente, además del tamaño de partícula, densidad de empaquetamiento (en sólidos) y posición de observación [54], [55], [57]. Todo ello hace posible expresar la ecuación (23) como:

$$\tilde{\nu} = \frac{(\nu - \nu_0)}{c} \quad (23)$$

Donde  $c$  es la velocidad de la luz,  $\nu_0$  es la frecuencia de la luz incidente y  $\nu$  la frecuencia de la luz dispersada por efecto Raman. Cabe destacar que, en general, la intensidad de las

bandas Raman Stokes es mucho mayor que las bandas Raman Anti-Stokes, debido simplemente a que según la distribución de Maxwell-Boltzmann, la mayoría de las moléculas se encontrarán en el estado de mínima energía, y no en uno excitado, por lo tanto, serán más probables obtener frecuencias menores que el incidente [54], [55], [57]. Cuantitativamente, se puede expresar como la siguiente ecuación (24):

$$\frac{N_i}{N_0} = e^{\frac{-\Delta E}{kBT}} \quad (24)$$

donde  $N_i$  es el número de moléculas en el estado  $i$ ,  $\Delta E$  la diferencia de energía entre los estados  $i$  y  $0$ ,  $kB$  la constante de Boltzmann y  $T$  la temperatura. Por todo lo comentado anteriormente, con el objetivo de facilitar la lectura del espectro, se suele representar únicamente la banda Raman Stokes en la parte positiva del eje, eliminando además la banda de Rayleigh [54], [55], [57].

#### 4.7. Nanopartículas de magnetita

En mineralogía, la magnetita es una mena corriente de hierro, se halla diseminada como mineral accesorio en muchas rocas ígneas, en ocasiones formando grandes masas de mineral y se encuentra clasificada como un material ferromagnético. Los materiales magnéticos poseen magnetización de saturación, es decir, el magnetismo máximo al someterse a un campo magnético externo [58], que para el caso de la magnetita es la mayor para los óxido de hierro, reportándose valores, en estado micrométrico, de 92 a 100 emu/g [59]. Aunque la magnetita es un material que ha sido ampliamente estudiado debido a sus múltiples aplicaciones, actualmente sigue siendo investigada, particularmente debido a que este óxido a tamaño nanométrico presenta propiedades ópticas, eléctricas y magnéticas diferentes a las encontradas en escala micrométrica o superior, siendo susceptible a nuevos estudios y usos [58].

#### 4.7.1. Propiedades y estructura

Químicamente la magnetita,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  es un óxido mixto de hierro; su composición corresponde a 27.6% de oxígeno y 72.4% de hierro. Cristaliza en un sistema cúbico centrado en las caras (FFC de oxígenos,  $a=8.40 \text{ \AA}$ ) con estructura de espinela inversa, como se ilustra en la Figura 18. Su relación estequiométrica de cationes puede expresarse en la forma  $\text{Fe}^{3+}(\text{Fe}^{2+}\text{Fe}^{3+})\text{O}_4$  con un grupo espacial  $\text{Fd}\bar{3}\text{m}$ . En su celda unitaria de 56 átomos, 32 de oxígeno y 24 cationes de hierro, de los cuales 16 están en forma férrica ( $\text{Fe}^{3+}$ ) y 8 en forma ferrosa ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Los átomos de oxígeno forman una celda unitaria cúbica centrada en las caras y los cationes de hierro están alojados en los espacios intersticiales; las posiciones tetraédricas corresponden específicamente a cationes  $\text{Fe}^{3+}$  y en las posiciones octaédricas se alojan cationes  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Fe}^{2+}$  por igual [60].

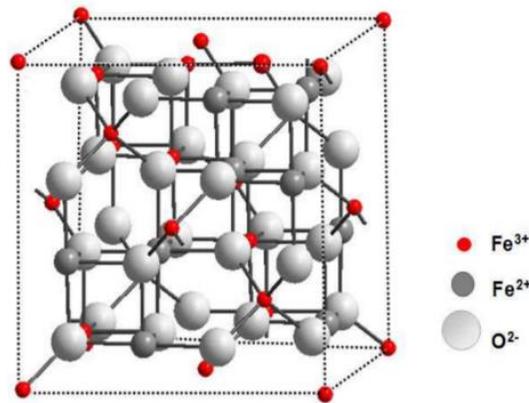


Figura 18. Estructura de espinela inversa de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  [60].

Otra característica es que las propiedades magnéticas de este tipo de ferrita dependen fuertemente del tamaño de partícula. Cuando las partículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  se reducen a escala nanométrica, sus propiedades magnéticas decaen: la magnetización de saturación, la remanencia magnética y la fuerza coercitiva disminuyen drásticamente y, en consecuencia, las NPs exhiben un comportamiento denominado superparamagnético. Las partículas superparamagnéticas adquieren cierta magnetización cuando se aplica un

campo magnético externo pero dicha magnetización se pierde cuando éste último es retirado [60].

#### *4.7.2. Métodos de síntesis*

Estos métodos consisten en la obtención de NPs magnéticas coloidales dispersas y estabilizadas en un líquido portador y que presentan propiedades de fluido y magnéticas, siendo actualmente de gran importancia tecnológica por sus diversas aplicaciones [61].

Debido a la fácil oxidación de la magnetita, se requiere de un recubrimiento para lograr una estabilización de las NPs, el cual puede ser mediante moléculas de un surfactante de cadena larga, como el ácido láurico, ácido oleico, polivinilamina y surfactantes de doble capa [61]. La tarea del surfactante es producir la repulsión entrópica necesaria para vencer la intensa atracción de Vander-Waals de corto alcance que de otra forma resulta en una agregación de partículas y la consecuente inestabilidad coloidal que da lugar a la precipitación [61].

Numerosos trabajos han descrito aproximaciones sintéticas eficaces con sus ventajas y desventajas (Tabla 3) para la producción de muestras monodispersas y de alta cristalinidad. Entre todos ellos, los más empleados se encuentran: coprecipitación química, descomposición térmica, óxido-reducción e hidrotérmal. Otros métodos interesantes son el pirólisis láser, la síntesis hidrotérmal, la microemulsión y la síntesis sonoquímica [62].

Tabla 3. Ventajas y desventajas de algunos de los métodos de síntesis de NPs de óxido de hierro.

Método de síntesis	Descripción	Ventajas	Desventajas
<i>Co-precipitación química</i>	Este método consiste en mezclar una disolución acuosa de sales de Fe <sup>2+</sup> y Fe <sup>3+</sup> , preferentemente a pH básico, en una atmósfera inerte a temperatura elevada, y la implementación de surfactantes para producir soluciones coloidales de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> con alta dispersión [58].	Las muestras obtenidas son directamente hidrofílicas y, por lo tanto, estables en medios acuosos.  Cuenta con métodos que le ayudan a tener mayor control [58].	El número de grupos funcionales presentes en la superficie para una posterior biofuncionalización es reducido, complicando la obtención de muestras biológicamente activas. Se puede contaminar el material fácilmente [58].
<i>Descomposición térmica.</i>	Este tipo de reacción está basado en procesos de descomposición de compuestos organometálicos de hierro como Fe(cup) <sub>3</sub> , Fe(acac) <sub>3</sub> o Fe(CO) <sub>5</sub> en disolventes orgánicos a altas temperaturas y en presencia de dodecanodiol, oleilamina y ácido oleico [63].	La presencia de ese ácido oleico permite la funcionalización de las NPs de forma covalente y selectiva [63].	La presencia del ácido oleico en la superficie confiere un carácter hidrófobo a las partículas, haciendo necesario una segunda etapa de transferencia a medio acuoso [63].
<i>Óxido-reducción</i>	En este método de síntesis se pueden obtener NPs mediante la pérdida de los electrones de un átomo y su ganancia por otro átomo. Así, se puede tener el agua como disolvente, la cual puede actuar como agente oxidante reduciendo el H <sub>2</sub> y como agente reductor oxidando a O <sub>2</sub> [64].	Método de síntesis rápido [64].	Desperdicio parcial del material cuando se hacen más de dos reacciones [64].
<i>Síntesis hidrotermal.</i>	Este método consiste en colocar un líquido (generalmente agua) en un recipiente cerrado (autoclave) calentado por encima de su punto de ebullición, lo cual genera una presión superior a la atmosférica. De esta manera se logra disolver o hacer reaccionar especies muy poco solubles en condiciones habituales. En la autoclave el extremo más caliente disuelve los nutrientes y el extremo más frío sirve para formar los cristales [65].	Permite obtener NPs de diversas morfologías inusuales como nanocubos, partículas elípticas, etc. Crea fases cristalinas que no son estables en el punto de fusión. Es adecuado para el crecimiento de grandes cristales de buena calidad, manteniendo un buen control sobre su composición [65].	Necesidad de autoclaves de elevado costo y la imposibilidad de observar el cristal a medida que crece [65].

En 1999 Zhu y col. obtuvieron NPs de magnetita de 6nm por el método de co-precipitación mezclando  $\text{FeCl}_3$  y  $\text{FeCl}_2$  en relación molar 2:1, en una disolución acuosa de hidróxido de amonio con agitación vigorosa a 80°C por una hora. Estas partículas fueron recubiertas con poliestireno, aumentando la estabilidad de la dispersión debido a la modificación superficial de las NPs, ya que se incrementa la probabilidad hidrofóbica de la superficie. De esta manera se reduce la agregación de las NPs, lo cual es deseado para la mayoría de las aplicaciones [58]. Así, encontraron que al aumentar la razón de esos iones, el tamaño de partícula se incrementa, y al medir la magnetización de saturación se encontró que ésta aumentó con el tamaño de partícula (Tabla 4), indicando que puede deberse al superparamagnetismo [58].

*Tabla 4. Valores obtenidos por Zhu et al. al cambiar la razón molar de los iones de hierro durante la síntesis de coprecipitación química [58].*

<b>Razón molar de <math>[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}]</math></b>	<b>Magnetización de saturación (emu/g)</b>	<b>Tamaño de partícula con DRX (nm)</b>	<b>Tamaño de partícula con TEM (nm)</b>
0.5	37.50	5.9	5.5
1.0	60.57	12.8	12.5

Es importante agregar que las NPs de óxido de hierro que muestran capacidades de aplicación biomédica necesitan poseer un tamaño de núcleo adecuado y monodispersidad, un diámetro hidrodinámico aceptable, magnetización de alta saturación, alta estabilidad en medios fluidos biológicos, ser biocompatibles y degradables con toxicidad reducida en una escala de largo tiempo [7].

#### *4.7.3. Toxicidad*

La toxicidad de las NPs de magnetita ha sido ampliamente explorada, y los resultados han mostrado poca o ninguna toxicidad. Por otro lado, Karlsson et al. (2008) estudiaron la toxicidad de las NPs (20 y 40  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) en líneas celulares de cáncer de pulmón humano,

y no se observaron daños en el ADN, ni efectos tóxicos debido a la producción de ROS intracelular; sin embargo, se detectaron pequeñas lesiones de ADN de tipo oxidativo [66].

En otro estudio realizado por Mahmoudi et al. (2011) informó que, en el cultivo celular, las concentraciones de NPs de 40, nm de 500 a 1000 microgramos por mililitro perjudicaron la proliferación celular en células de glioma C6 y células neurales primarias, y en un estudio farmacocinético preclínico y de seguridad, informaron que las NPs mostraron localización endosomal-lisosomal que indica la vía de desintoxicación celular normal [67]. Sin embargo, se han realizado estudios de toxicidad a diferentes dosis y en diferentes especies: ratas, perros, monos y conejos, lo que demuestra que la toxicidad por hierro ocurrió a niveles muy altos (arriba de los 1000 microgramos por mililitro) de exposición [67].

#### 4.8. Técnicas de caracterización de las NPs de óxido de Fe

La caracterización de las NPs se puede llevar a cabo mediante diversas técnicas, dentro de las cuales destacan: TEM (Microscopio Electrónico de Transmisión), HRTEM (Microscopio Electrónico de Alta Resolución), XRD (Difracción de Rayos X), AFM (Microscopía de Fuerza Atómica), SEM (Microscopio Electrónico de Barrido), entre otros. Estas técnicas permiten conocer el tamaño de las NPs, la dispersión o estructura de los átomos que se aglomeran formando dichas NPs [65].

##### *4.8.1. Microscopía electrónica de barrido (SEM)*

Este método permite la observación y caracterización superficial de materiales inorgánicos y orgánicos, ya que es posible examinar muchas de las características de la muestra y la construcción de una imagen morfológica, esto, a partir de un detector de electrones secundarios y retrodifundidos como producto de la interacción de los electrones incidentes con la muestra [68].

Recordando que los electrones de las capas atómicas que estén próximos a la superficie podrán abandonar más fácilmente la materia porque están débilmente ligados con respecto a los electrones de capas más internas. Así, los electrones incidentes que interactúan con las capas atómicas externas producirán los electrones secundarios, resultado de aquellos electrones que son expulsados de las capas más externas del átomo, y los electrones retrodifundidos, resultado de aquellos electrones que son desviados de su trayectoria por la influencia de los núcleos atómicos.

#### 4.8.2. Difracción de rayos X (DRX)

El fundamento teórico de esta técnica consiste en producir rayos X acelerando electrones desde un cátodo, por medio de alto voltaje y hacerlos incidir sobre un blanco metálico (ánodo). Los electrones acelerados que poseen suficiente energía chocan con los átomos del metal utilizado como blanco removiendo electrones de los niveles internos, ocasionando que los electrones de los niveles superiores cubran los lugares vacantes, emitiendo fotones de rayos X como se muestra en la Figura 19. Debido a que los rayos X tienen una frecuencia correspondiente a la diferencia de energía entre los dos niveles, también son llamados radiación característica. Los rayos X generados se utilizan para bombardear una muestra para obtener su patrón de difracción de rayos X [69].

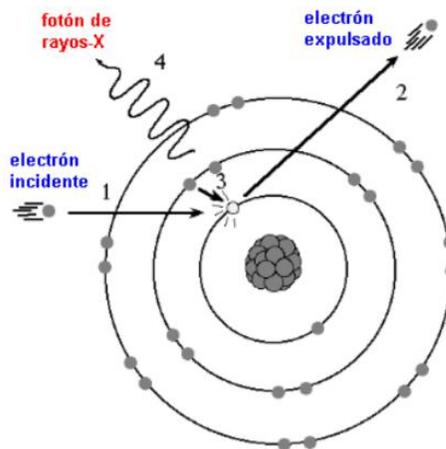


Figura 19. Generación de rayos X [69].

#### 4.8.2.1. Sistemas cristalinos

En la mayoría de los sólidos, las grandes fuerzas de atracción o cohesión que existen entre las partículas que lo componen, hacen que éstas se distribuyan regular y simétricamente en el espacio. Estos sólidos reciben el nombre de sólidos cristalinos o cristales [70].

Sólo existen siete posibilidades en cuanto a combinaciones entre los valores de los parámetros de red para un cristal. Cada uno de estos sistemas se le denomina sistema cristalino, los cuales son: triclínico, monoclinico, ortorrómbico, trigonal, tetragonal hexagonal y cúbico [70].

#### 4.8.2.2. Redes de Bravais

En 1848, El científico francés A. Bravais demostró que sólo son posibles 14 redes de traslación tridimensionales y homogéneas, compatibles con las características de simetría de cada sistema cristalino; es decir, sólo hay 14 posibilidades diferentes (Figura 20) de asociar átomos, iones o moléculas para formar un cristal [70].

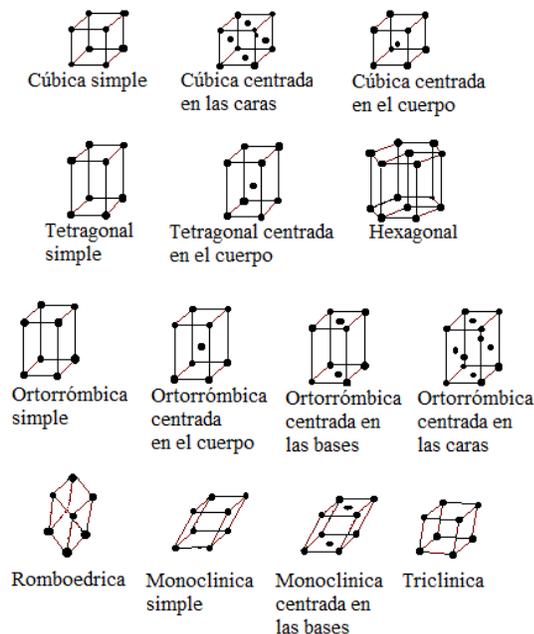


Figura 20. Las 14 redes de Bravais.

#### 4.8.2.3. Índices de Miller.

En una red cristalina pueden trazarse series de infinitos planos paralelos y equidistantes entre sí, conteniendo cada uno de ellos sucesiones lineales de puntos reticulares (Figura 21). La distancia  $d$  entre dos planos consecutivos de una misma familia se denomina distancia interplanar [70].

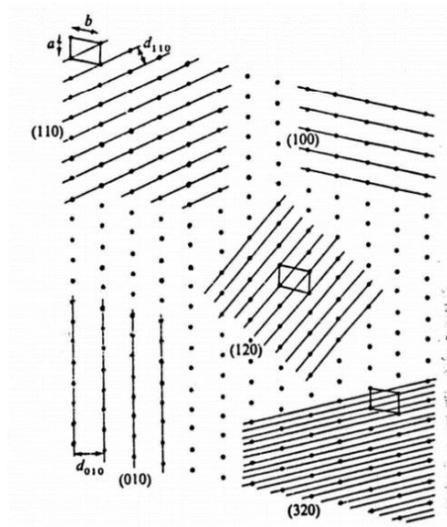


Figura 21. Red bidimensional mostrando distintas familias de planos reticulares [70].

La posición y orientación de cada familia de planos respecto a los ejes cristalográficos vienen dadas por los índices  $h$ ,  $k$  y  $l$  denominados índices de Miller, y se escriben entre paréntesis  $(hkl)$ . Cada familia de planos paralelos divide a los ejes cristalográficos en un número entero de partes iguales [70].

Así, los índices de Miller se utilizan para identificar la posición de los puntos de la red, donde generalmente se encuentran átomos, y las direcciones dentro y fuera de las celdas, como para definir los planos formados por los átomos de una estructura dada.

Es interesante destacar que no existen en la naturaleza dos cristales con distinta composición que posean los mismos valores de los parámetros cristalográficos. Como las

distancias entre planos dependen de dichos parámetros, puede decirse también que no existen dos cristales que tengan todos sus espaciados iguales [70].

#### 4.8.2.4. Ley de Bragg.

Debido al orden periódico de los átomos en los materiales cristalinos, puede ocurrir que las ondas dispersadas se encuentren en fase y se refuercen mutuamente dando origen al fenómeno de difracción. Esto se cumple cuando los rayos X difractados por planos paralelos separados por una distancia “d”, presentan una diferencia de camino recorrido igual a un entero de la longitud de onda del haz incidente como se presenta en la Figura 22. Esto se traduce matemáticamente como la ley de Bragg (25) [69].

$$2d\sin\theta = n\lambda \quad (25)$$

Donde  $d$  es la distancia interplanar,  $\theta$  es el ángulo entre los rayos incidentes y los planos de dispersión,  $n$  es un número entero, y  $\lambda$  es la longitud de onda de los rayos X.

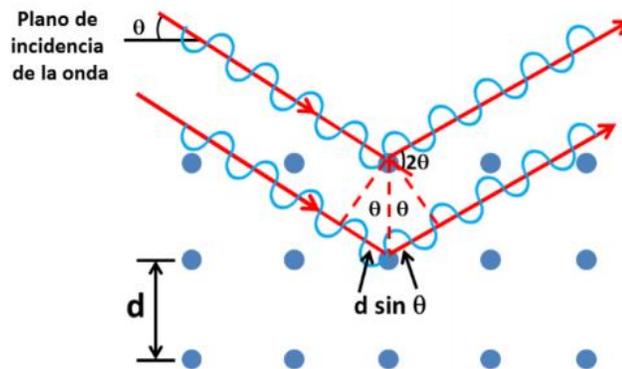


Figura 22. Representación gráfica de la ley de Bragg [69].

El difractómetro de rayos X tiene un arreglo entre la fuente de rayos X, la muestra y el detector que se conoce como geometría Bragg-Brentano que se muestra en la Figura 23, la cual está construida en torno a un goniómetro de radio fijo. El haz de rayos X procedente del foco lineal del tubo incide sobre la muestra plana, situada en el eje del goniómetro y

una rendija situada sobre el círculo del goniómetro re-enfoca el haz de rayos X difractado por la muestra dirigiéndolo hacia el detector, registrando la intensidad de los rayos X recibida frente al doble del ángulo de Bragg ( $2\theta$ ) [69].

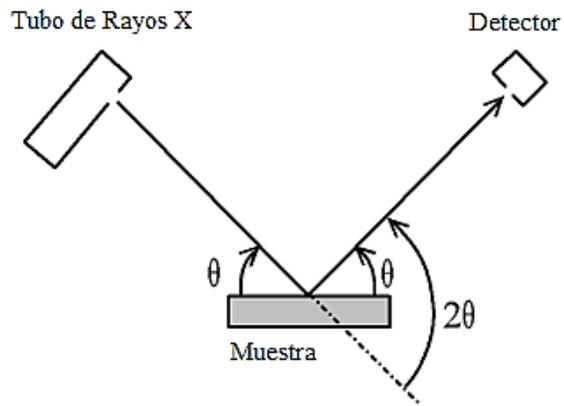


Figura 23. Esquema de la configuración Bragg-Brentano  $\theta$ - $2\theta$  [69].

Cada vez que se satisface la ley de Bragg, el haz primario se difracta desde la muestra hacia el detector, el cual, junto con los elementos electrónicos mide la intensidad de dicha radiación y la posición angular de la reflexión se despliega en el controlador [69].

#### 4.8.2.5. Cálculo de los índices de Miller.

Para clasificar los cristales característicos de la magnetita, es importante conocer los índices de Miller correspondientes a la estructura de la celda unitaria de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . El equipo de DRX proporciona las posiciones angulares de los picos difractados, donde cada haz difractado proviene de una familia de planos  $hkl$ . En el patrón de difracción se grafican las posiciones angulares de los haces difractados, en realidad dos veces el ángulo de difracción,  $2\theta$ , contra la intensidad. En el difractograma de la Figura 24. Se observan los picos característicos a la magnetita [71].

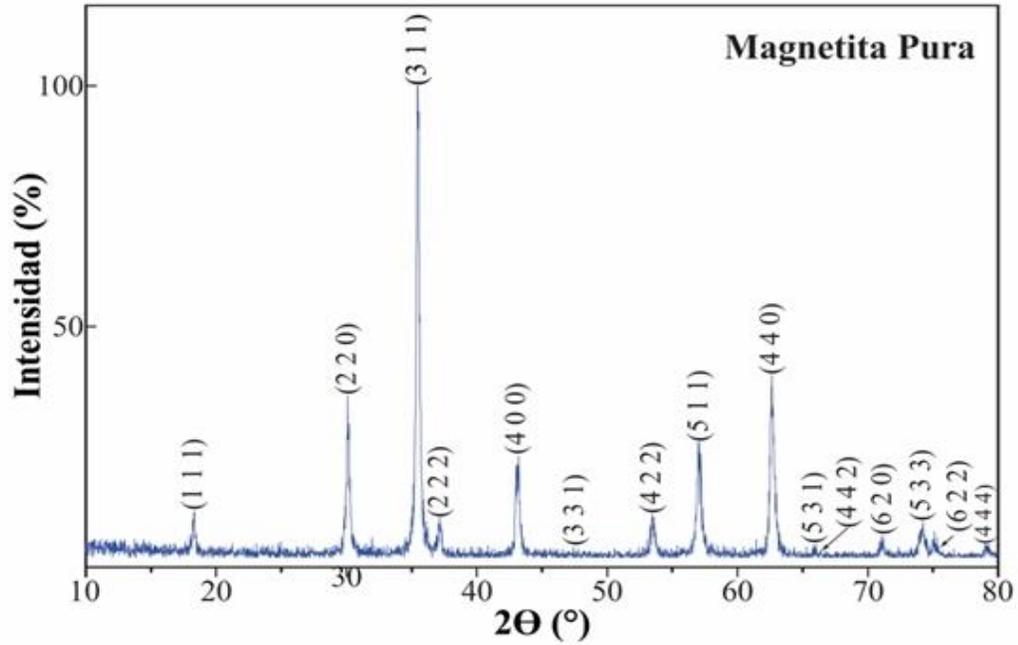


Figura 24. Difractograma característico de la magnetita utilizando DRX, mostrando los índices de Miller para los picos de mayor intensidad [72].

Comenzando por la ley de Bragg:

$$2d_{hkl}\text{sen}\theta = \lambda \quad (26)$$

se puede observar que al obtener el ángulo y conociendo la longitud de onda de los rayos X incidentes, podemos conocer la distancia interplanar de la familia de planos que dio lugar a ese haz difractado, así, utilizando la relación entre la distancia interplanar, los índices de Miller y el parámetro de red de la celda unida del sistema cúbico [71].

$$\frac{1}{d_{hkl}^2} = \frac{h^2 + k^2 + l^2}{a^2} \quad (27)$$

Despejando de la Ley de Bragg la distancia interplanar podemos reescribir la ecuación como:

$$\frac{1}{d_{hkl}^2} = \frac{h^2 + k^2 + l^2}{a^2} = \frac{4 \operatorname{sen}^2 \theta}{\lambda^2} \quad (28)$$

Reacomodando:

$$\operatorname{sen}^2 \theta = \left( \frac{\lambda^2}{4a^2} \right) h^2 + k^2 + l^2 \quad (29)$$

Dado que, para todo patrón de difracción el término entre paréntesis es constante y cada uno de los índices de Miller son números enteros, la suma de sus cuadrados también lo será, por lo tanto, el valor de  $\operatorname{sen}^2 \theta$  es proporcional a  $(h^2 + k^2 + l^2)$  [71].

#### 4.9. Ondas de choque

Las ondas de choque se caracterizan por ser ondas acústicas de muy alta energía (viajando a una velocidad mayor que la del sonido), estas pueden llegar a alcanzar una presión de 100 MPa a la que se le denomina “explosión”, decreciendo posteriormente hasta la presión atmosférica para luego disminuir hasta -10MPa [6]. En la Figura 25 se muestra una gráfica representativa de las características de las ondas de choque.

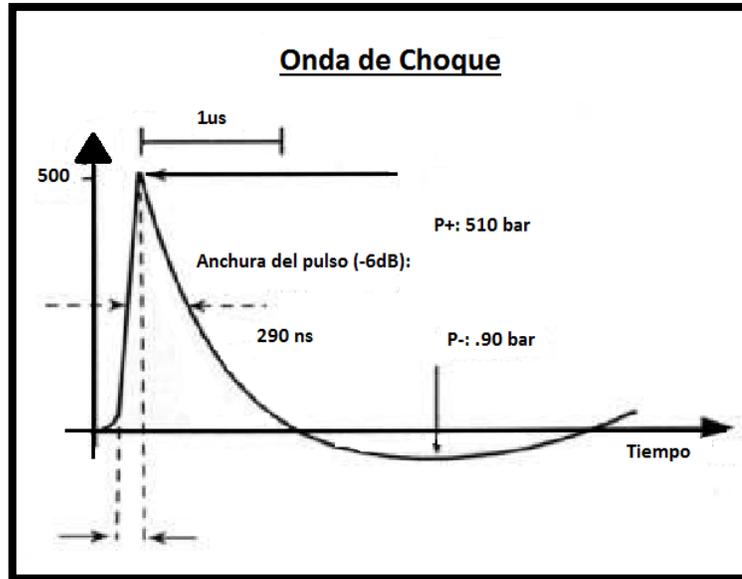


Figura 25. Gráfica representativa de las características de las ondas de choque [6].

Por lo que se propaga al tejido a través de onda bifásica creando dos efectos:

- Directo (primario P+): Sobre zonas con cambio de densidad.
- Indirecto (secundario P-): Fuerzas de cavitación, causan efecto biológico.



Figura 26. Representación de la acción de una onda de choque en contacto con tejido [6].

#### 4.9.1. Tipos de ondas de choque

Focal: son más utilizadas en medicina. Generan energía alta, media y baja y se expanden de manera convergente en un área focal con diámetro 2-8 mm (optimizando el efecto terapéutico y minimizando el efecto en tejidos circundantes) [6].

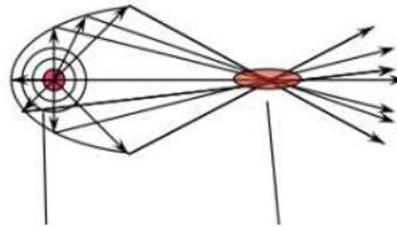


Figura 27. Onda de choque de tipo focal [6].

Radial: desarrolladas a partir de 1999, estas ondas son generadas neumáticamente y aplicadas sobre tejidos blandos superficiales. Generan energía media-baja y se expanden de forma divergente perdiendo energía tras su propagación [6].

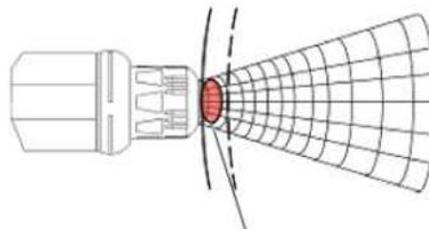


Figura 28. Onda de choque de tipo radial [6].

#### 4.9.2. Generación de ondas de choque.

Existen diferentes estrategias para la generación de ondas de choque, como se representa en la Figura 29 [6], [73]–[75]:

- Electrohidráulicos: Se trata de una bujía eléctrica contenida en un medio acuoso, por la cual se hace pasar una corriente eléctrica de alto voltaje (14-30 kV),

generando una burbuja de plasma que se expande de manera esférica. Posterior a esa expansión se genera la onda de choque.

- Piezoeléctricos: Funciona impulsando simultáneamente varios cientos de piezoelementos montados en una bandeja esférica, generando así ondas esféricas autoenfocantes.
- Electromagnéticos: Utiliza una bobina eléctrica para generar dos campos magnéticos de distinta polaridad, la bobina puede ser plana o cilíndrica. En el caso de ser plana, se hace pasar por ella una fuerte corriente eléctrica que genera un campo magnético, encima de la bobina se encuentra una membrana de metal que es empujada por dicho campo magnético contra un volumen de agua adyacente generando así una onda de choque.

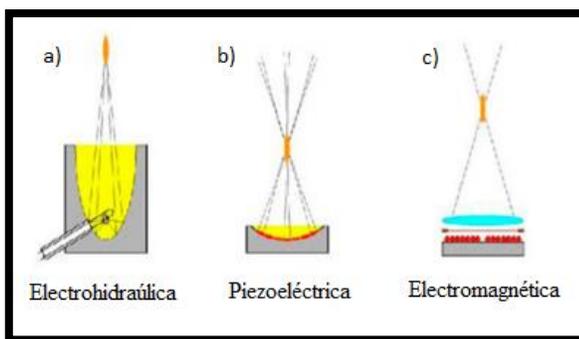


Figura 29. Diagramas de generación de ondas de choque [75].

### 4.9.3. Objetivos terapéuticos

La densidad de flujo energético se refiere a la cantidad de energía transmitida por un impulso en una superficie de  $1\text{mm}^2$  ( $\text{mJ}/\text{mm}^2$ ) [6], [73]–[75]

Tabla 5. Clasificación de la densidad de flujo energético [75].

Energía	Dosis
Baja	$< 0.20 \text{ mJ}/\text{mm}^2$
Media	$0.20\text{-}0.40 \text{ mJ}/\text{mm}^2$
Alta	$> 0.40 \text{ mJ}/\text{mm}^2$

#### *4.9.4. Aplicación de tratamientos con ondas de choque.*

Clásicamente en función de la energía y el foco [6], [73]–[75]:

- Ondas focalizadas
  - Energía baja y media: tendinosis superficiales y síndromes musculares.
  - Energía alta: tendinosis superficiales, tendinosis calcificadas, pseudoartrosis, osteonecrosis, osteocondritis disecante.
- Ondas desfocalizadas
  - Energía baja y media: heridas, úlceras, quemaduras y espasticidad.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS DE SÍNTESIS

El proyecto consiste en la síntesis de un hidrogel para posible aplicación en liberación controlada de fármacos. En el cual se encuentre embebidas nanopartículas metálicas que le aporten radiopacidad, y su vez, un fármaco que aporte citotoxicidad. Llevando a cabo la procedimiento que se muestra en la Figura 30.

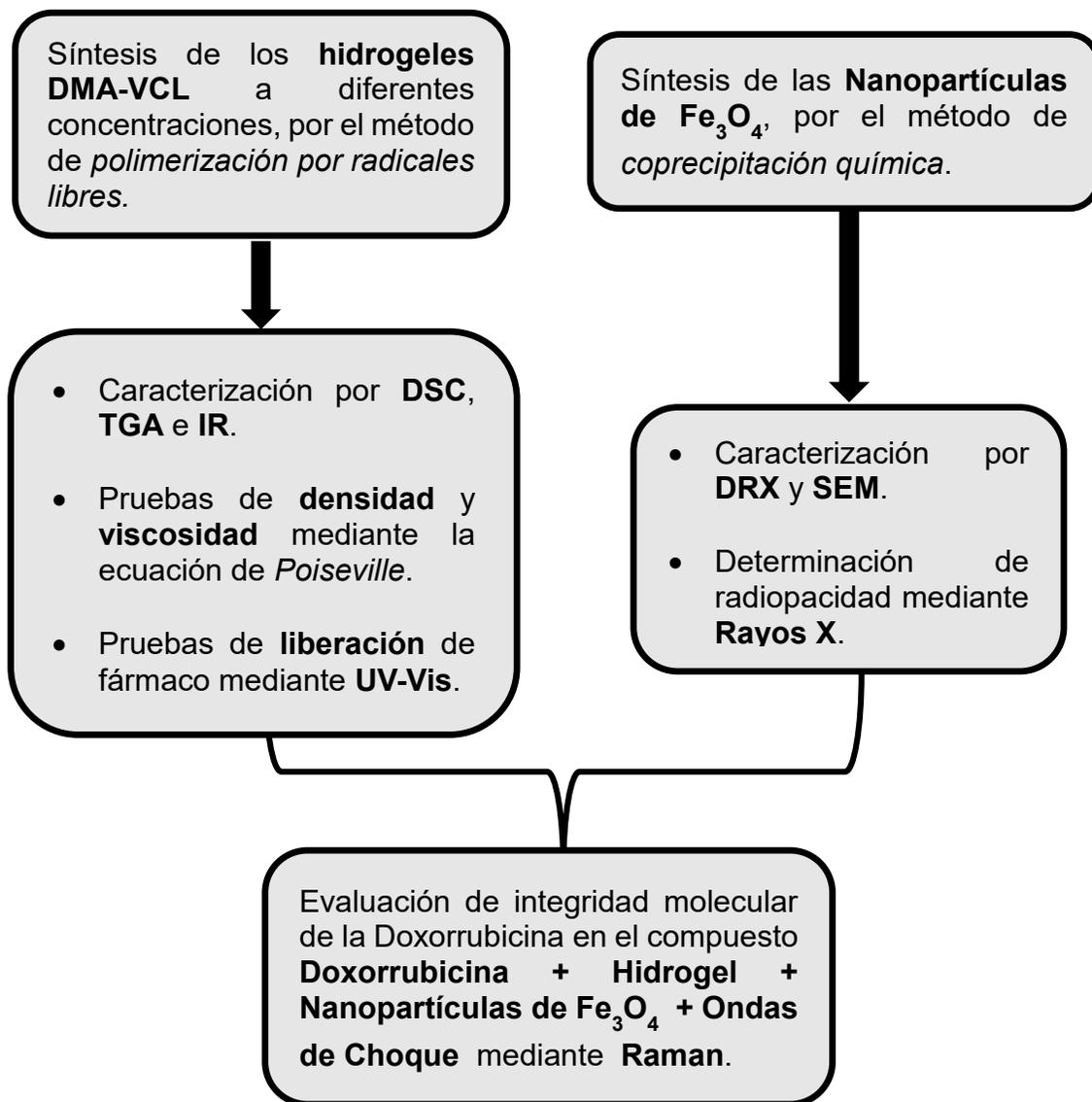


Figura 30. Diagrama de procedimiento.

## 5.1. Síntesis del Hidrogel.

### 5.1.1. Metodología de síntesis de los hidrogeles DMA-VCL.

Para la síntesis de los hidrogeles se requirió de los monómeros *N,N*-Dimetilacrilamida (DMA) y *N*-vinilcaprolactama (VCL) como intermediarios de síntesis para la preparación de los polímeros. Para llevar a cabo la polimerización mediante radicales libres, se utilizó como iniciador el 2,2'-Azobis(2-metilpropionitrilo) o azobisisobutironitrilo (AIBN). Y como entrecruzante se utilizó el monómero *imetacrilato de etilenglicol* (EGDMA). Todos los reactivos fueron marca Sigma-Aldrich®.

Se realizaron diferentes formulaciones variando la relación de los monómeros DMA y VCL, y a su vez variando la concentración del iniciador AIBN. Primero se llevó a cabo la síntesis de los hidrogeles sin entrecruzante, véase Tabla 7, para obtener polímeros con una consistencia viscosa, y después se realizaron añadiendo el entrecruzante EGDMA, véase Tabla 6.

Tabla 6. Variaciones de concentración con respecto a la relación molar de cada monómero de que se utilizaron para las síntesis de los hidrogeles con entrecruzante.

Muestra	Relación Molar [VCL(%)/DMA(%)]	VCL (Moles)	DMA (Moles)	AIBN(mL) a $\rho=0.03\text{g/mL}$	EGDMA (Moles)
M1	100 / 000	0.0136	0	0.16	0.0008
M2	000 / 100	0	0.0135	0.10	0.0005
M3	075 / 025	0.0100	0.0039	0.10	0.0005
M4	025 / 075	0.0036	0.0160	0.20	0.0010

Conociendo el peso molecular del DMA que es de 99.13 g/mol y su densidad es de 0.962 g/ml, y el peso molecular del VCL que es de 139.19 g/mol y su densidad es de 0.3 g/ml, se realizaron los cálculos necesarios para obtener las concentraciones correspondientes para obtener los diferentes hidrogeles con su respectiva relación molar.

El procedimiento que se llevó a cabo para la síntesis de los hidrogeles se encuentra descrito en la Figura 31, y las relaciones molares que se utilizó para cada hidrogel se encuentran la Tabla 7.

*Tabla 7. Variaciones de concentración con respecto a la relación molar de cada monómero y variaciones de la concentración de iniciador para la síntesis de los hidrogeles sin entrecruzante.*

<b>Muestra</b>	<b>Relación Molar [DMA(%)/VCL(%)]</b>	<b>DMA (Moles)</b>	<b>VCL (Moles)</b>	<b>AIBN (mL) a <math>\rho=0.03\text{g/ml}</math></b>
<b>M05</b>	<b>100 / 000</b>	0.068	0	0.4
<b>M08</b>	<b>050 / 050</b>	0.034	0.034	0.4
<b>M09</b>	<b>075 / 025</b>	0.051	0.017	0.4
<b>M10</b>	<b>025 / 075</b>	0.017	0.051	0.4
<b>M11</b>	<b>000 / 100</b>	0	0.068	0.4
<b>M12</b>	<b>100 / 000</b>	0.068	0	0.2
<b>M13</b>	<b>050 / 050</b>	0.034	0.034	0.2
<b>M14</b>	<b>075 / 025</b>	0.051	0.017	0.2
<b>M15</b>	<b>025 / 075</b>	0.017	0.051	0.2
<b>M17</b>	<b>000 / 100</b>	0	0.068	0.2
<b>M18</b>	<b>100 / 000</b>	0.068	0	0.8
<b>M19</b>	<b>050 / 050</b>	0.034	0.034	0.8
<b>M20</b>	<b>075 / 025</b>	0.051	0.017	0.8
<b>M21</b>	<b>025 / 075</b>	0.017	0.051	0.8
<b>M22</b>	<b>000 / 100</b>	0	0.068	0.8

Para la obtención de los hidrogeles con entrecruzante también se siguió el procedimiento de la Figura 31, solo que esta vez añadiendo junto con los monómeros el entrecruzante EGDMA, y de igual manera variando las concentraciones de los monómeros, en la Tabla 6 se observan las relaciones molares que se utilizaron para cada síntesis.

La finalidad de los hidrogeles con entrecruzante es realizar pruebas de liberación de DOXO, para esto fue necesario que antes tuvieran que lavarse en metanol y dejarse secar a temperatura ambiente (25°C) durante una semana aproximadamente.

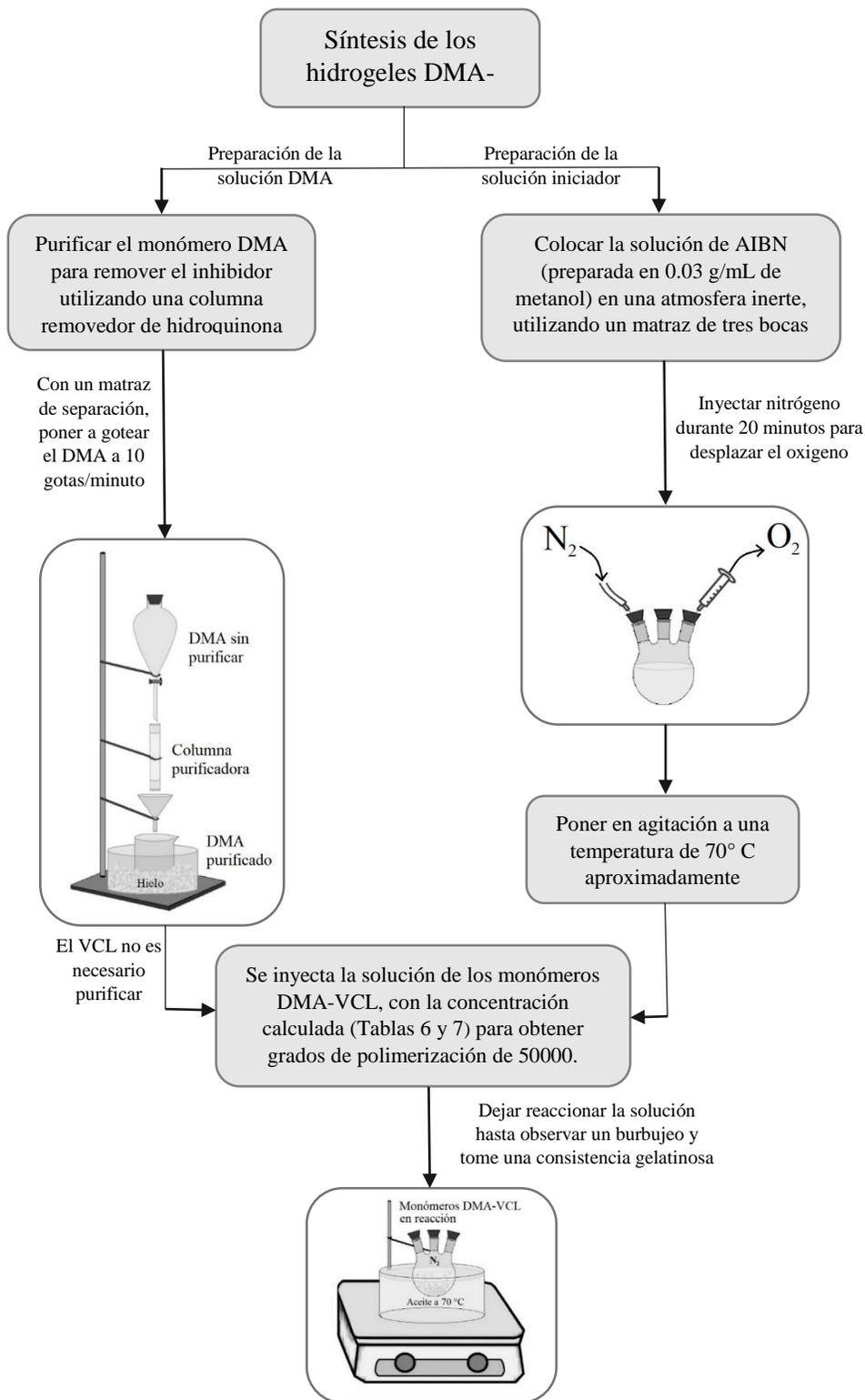


Figura 31. Proceso de síntesis de los hidrogeles.

### 5.1.2. Cálculos de densidad y viscosidad.

Dentro de las propiedades que se requiere comparar entre los diferentes polímeros son la densidad y la viscosidad. Para esto, se utilizaron los polímeros sin entrecruzante llevando a cabo los siguientes pasos.

1. El primer paso fue diluir los polímeros en agua, para obtenerlos en un estado de viscosidad suficiente para que puedan atravesar por una columna de vidrio, y de aquí calcular su densidad que parte de la ecuación de Poiseuille:

$$Q = \frac{V}{t} = \frac{\pi \Delta p R^4}{8 \eta l} \quad (30)$$

donde el caudal  $Q$  determina el volumen de fluido por unidad de tiempo que atraviesa un capilar de radio  $R$  y longitud  $l$  entre cuyos extremos se ha aplicado una diferencia de presiones ( $\Delta p$ ), y  $\eta$  es la viscosidad del fluido [76].

Realizando despejes y equivalencias, se obtiene la siguiente ecuación:

$$\eta = \eta_{H_2O} \frac{\rho t'}{\rho_{H_2O} t} \quad (31)$$

con la cual es posible calcular la densidad de cada polímeros, y como la densidad y viscosidad del agua ya son conocidas, entonces solo se requiere calcular las densidades de los polímeros y los tiempos, este tiempo es el que tarda en atravesar el polímero viscosos por una columna de altura  $h$  [76].

2. Para obtener los valores de densidad ( $\rho = \frac{m}{V}$ ), se tomaron 2 g de cada polímero en seco y cada uno se disolvió en 10 mL de agua destilada, obteniendo el peso y volumen total de cada polímero en estado viscoso,

$$\frac{m_{total}}{V_{total}} = \frac{m_{agua}}{V_{agua}} + \frac{m_{polímero}}{V_{polímero}} \quad (32)$$

para obtener el volumen de cada polímero (ver Tabla 8).

$$V_{polímero} = \frac{m_{polímero}}{\frac{m_{total}}{V_{total}} - \frac{m_{agua}}{V_{agua}}} \quad (33)$$

Tabla 8. Datos de peso y volumen de los hidrogeles DMA-VCL.

Muestra	Relación Molar [DMA(%)/VCL(%)]	V <sub>agua</sub> (ml)	m <sub>agua</sub> (g)	m <sub>polímero</sub> (g)	m <sub>total</sub> (g)	V <sub>total</sub> (ml)	V <sub>polímero</sub> (ml)
M05	100 / 000	10	9.75	2	10.62	11	224.93
M08	050 / 050	10	9.75	2	11.12	16	7.16
M09	075 / 025	10	9.75	2	11.00	12	34.7
M10	025 / 075	10	9.75	2	10.11	12	15.16
M11	000 / 100	10	9.75	2	10.86	15	7.99
M12	100 / 000	10	9.75	2	11.03	16	7.01
M13	050 / 050	10	9.75	2	10.61	13	12.63
M14	075 / 025	10	9.75	2	11.01	15	8.32
M15	025 / 075	10	9.75	2	10.70	14	9.5
M18	100 / 000	10	9.75	2	11.12	12	41.78
M19	050 / 050	10	9.75	2	11.04	15	8.38
M20	075 / 025	10	9.75	2	10.08	11	34.12
M21	025 / 075	10	9.75	2	11.49	14	12.99
M22	000 / 100	10	9.75	2	10.47	15	7.23

Una vez que se tienen la masa y el volumen de cada polímero, es posible calcular sus densidades.

$$\rho_{polímero} = \frac{m_{polímero}}{V_{polímero}} \quad (34)$$

3. Para obtener los tiempos en que los polímeros disueltos en agua tardan en atravesar por una columna de vidrio, como se muestra en la Figura 32. Colocando la

columna de manera vertical, se le hizo pasar 1/2 mL de cada uno de los polímeros viscosos, tomando el tiempo que tarda en pasar por una distancia de 15 cm (ver Tabla 9).



Figura 32. Columna de vidrio que se utilizó para medir los tiempos que tardan los polímeros en atravesarla. La columna tiene una longitud  $l = 28.5$  cm y radio  $R = 0.2$  cm, a la cual se le marcó dos líneas indicando una altura  $h = 15$  cm

Tabla 9. Cálculos de densidad (ecuación 34) y viscosidad (ecuación 31) de los hidrogeles DMA-VCL.

Muestra	Relación Molar [DMA(%)/VCL(%)]	Densidad (g/ml)	Tiempo (s)	Viscosidad (cP)
M05	100 / 000	0.01	34	0.20
M08	050 / 050	0.27	66	12.62
M09	075 / 025	0.05	27	1.06
M10	025 / 075	0.13	81	7.32
M11	000 / 100	0.25	9	1.54
M12	100 / 000	0.28	29	5.66
M13	050 / 050	0.15	125	13.55
M14	075 / 025	0.24	29	4.77
M15	025 / 075	0.21	27	3.88
M18	100 / 000	0.04	28	0.91
M19	050 / 050	0.23	36	5.87
M20	075 / 025	0.05	185	7.41
M21	025 / 075	0.15	68	7.16
M22	000 / 100	0.27	5	0.94

## 5.2. Preparación de hidrogeles para liberación de fármacos.

El proceso para obtener un sistema fármaco-hidrogel por medio de la unión física de ambos permitiendo que el hidrogel actúe como soporte de almacenamiento y dosificación, se muestra en la Figura 33. De igual manera se puede obtener un sistema fármaco-hidrogel donde el principio activo del fármaco está unido químicamente a la matriz polimérica [8]. Así, independientemente del sistema, este debe ser capaz de liberar la sustancia de manera continua y a los niveles de concentración necesarios, es decir, alcanzar y mantener un nivel óptimo de eficacia durante el tiempo que se requiera su acción terapéutica. El nivel óptimo es una cantidad de fármaco en el organismo que debe estar por debajo del nivel tóxico o por encima del mínimo de eficacia [8].

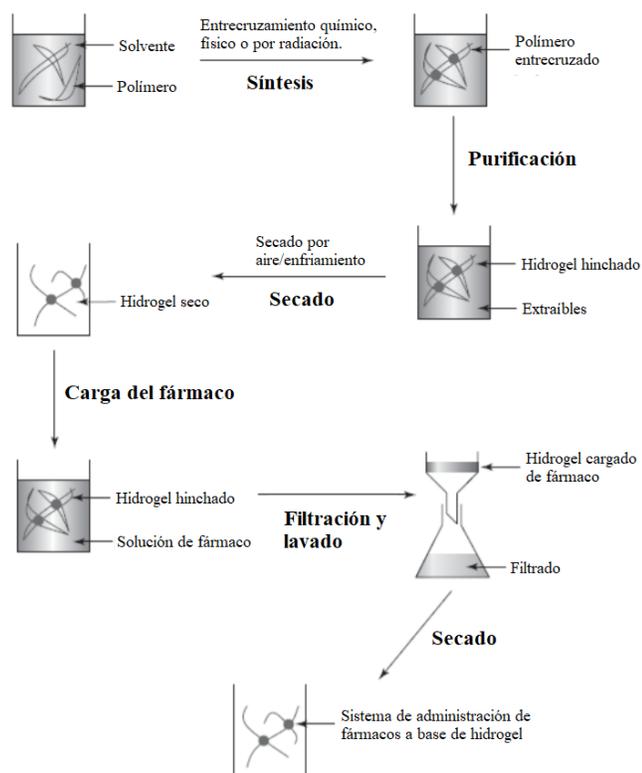


Figura 33. Esquema de la obtención de un hidrogel para la liberación de fármacos [8].

### 5.2.1. Cuantificación de la DOXO.

Para realizar el análisis del clorhidrato de doxorubicina (Zuclodox<sup>MR</sup> de Zurich Pharma) por medio de espectroscopia ultravioleta visible (UV-Vis), es importante conocer los picos máximos de absorción. La DOXO tiene dos picos máximos en 232 nm y 490 nm, siendo el segundo el pico característico y el que se utiliza para realizar la curva de calibración. La concentración reportada para la medición de la DOXO es de 1.5 mg/mL, con una absorbancia aproximada de 0.3 u.a. en los 490 nm [50]. Lo que significa que es posible trabajar con una concentración mayor y seguir cumpliendo la ley de Lambert Beer. Sin embargo la concentración máxima para una solución inyectable es de 2 mg/mL [77], razón por lo que se utiliza esta concentración para trabajar con la curva de calibración.

Lo siguiente es encontrar el límite de cuantificación de la DOXO por espectroscopia UV-Vis, con una absorbancia máxima de 1.0 u.a. en los 490 nm. Así, La curva de calibración se construye a partir de varias concentraciones, comenzando por 0.2 mg/mL hasta llegar a la concentración máxima permitida. Para esto, se prepararon 25 mL de solución madre a una concentración de 2 mg/mL de DOXO. Y de aquí se realizaron 10 disoluciones correspondientes a diferentes concentraciones (Tabla 10) a un volumen de 10 mL, utilizando la ecuación (35).

$$c_i v_i = c_f v_f \quad (35)$$

Tabla 10. Cada volumen de la solución madre se afora a 10 mL con agua destilada, para obtener la solución correspondiente con la concentración deseada.

Concentración (mg/mL)	Volumen de la solución madre (mL)
0.2	1
0.4	2
0.6	3
0.8	4
1.0	5
1.2	6
1.4	7
1.6	8
1.8	9
2.0	10

Cada disolución fue analizada por UV-Vis para obtener los valores de absorción en los 482 nm. En la Figura 34 se muestra el valor de absorción para cada concentración. Y finalmente se hizo un ajuste lineal para obtener el valor de la pendiente y la intercepción de la recta. Una vez teniendo estos valores, es posible construir la ecuación de la recta:

$$y = a + bx \quad (36)$$

donde  $y$  sería la absorción,  $x$  la concentración,  $b$  es la pendiente ( $b = 0.43856$ ) y  $a$  es la intercepción ( $a = -0.02016$ ).

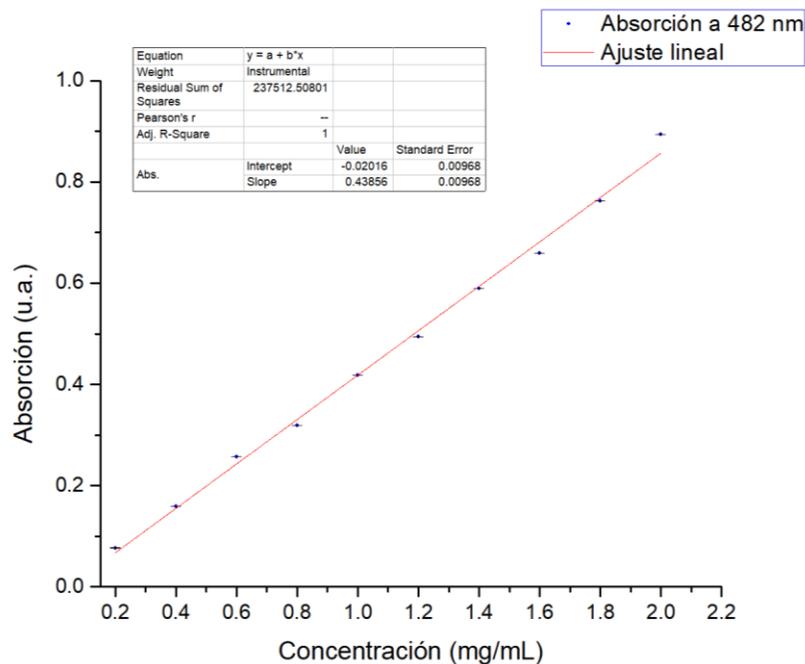


Figura 34. Curva de calibración de la DOXO.

Por lo que, despejando  $x$  de la ecuación (36), podremos conocer la concentración de DOXO en la solución madre a partir de la medida de su porcentaje de absorción en el UV-Vis, según la ecuación (37). La concentración de DOXO en la solución madre disminuye debido a que, al momento de introducir el hidrogel en la solución, este empieza a absorber la DOXO hasta un punto de saturación, y después sea posible liberarlo.

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Absorción} - (-0.02016)}{0.43856} \quad (37)$$

### 5.2.2. Pruebas de liberación de DOXO

Para realizar las pruebas de liberación, se preparó la solución madre a la concentración máxima permitida de DOXO, es decir, de 2.0 mg/mL. Esta solución se repartió en 4 vasos de precipitado de 50 mL (con 30 mL de solución en cada uno), y a cada vaso se le añadió 250 mg de una de las muestras de hidrogel en seco (Figura 35).



Figura 35. Muestras de los hidrogeles en seco; a) M1, b) M2, c) M3, d) M4.

A cada solución de DOXO con el hidrogel (Figura 36) se le realizó mediciones de espectroscopia UV-Vis para ir obteniendo el porcentaje de absorción de cada disolución en una longitud de onda de 482 nm (usando agua destilada como blanco), hasta observar que los hidrogeles dejan de absorber el fármaco. Estas mediciones se realizaron primero a intervalos de 15 minutos durante la primera hora, después cada hora durante el primer día, y debido a que la absorción de DOXO se fue volviendo cada vez más lenta, el resto de las mediciones se realizaron cada 24 horas durante una semana.

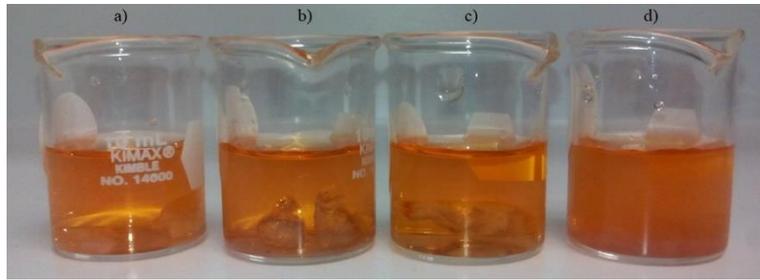


Figura 36. Carga de DOXO en los hidrogeles; a) M1, b) M2, c) M3, d) M4.

Ya que los hidrogeles absorbieron la cantidad máxima posible de DOXO, estos se introdujeron en 30 mL de agua destilada, cada uno por separado. Y de igual forma se realizaron mediciones de espectroscopia UV-Vis para obtener el porcentaje de absorción de cada muestra, y con esto poder calcular la concentración de DOXO que el hidrogel va liberando. En la Figura 37 se puede observar el diagrama del proceso de liberación.

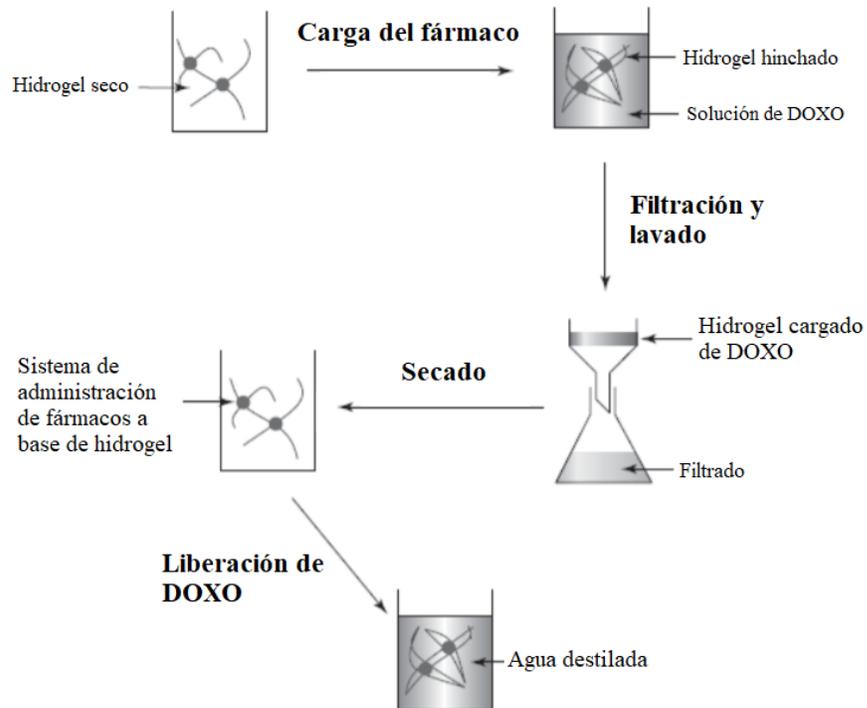


Figura 37. Diagrama del proceso de liberación de DOXO.

### 5.3. Síntesis de NPs de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

Se realizaron varias síntesis NPs de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, todas por el método de *co-precipitación química*, probando con diferentes surfactantes, primero se usó polivinilpirrolidona (PVP) por ser uno de los más reportado en publicaciones recientes, y después se propuso utilizar los mismos hidrogeles, esto para probar la estabilidad de las nanopartículas.

a) Usando PVP como surfactante.

Para la síntesis de las NPs de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> por medio de co-precipitación química se utilizaron los precursores metálicos *cloruro férrico hexahidratado* (FeCl<sub>3</sub>) y *cloruro ferroso tetrahidratado* (FeCl<sub>2</sub>). Y para la preparación de la solución reductora, como agente precipitante, se utilizaron *hidróxido de sodio* (NaOH) y *borohidruro de sodio* (NaBH<sub>4</sub>). Como solvente se utilizó agua destilada y como surfactante *polivinilpirrolidona* (PVP) o también conocido como povidona (todos los reactivos fueron marca *Sigma-Aldrich*®).

El método de co-precipitación comienza en la preparación de la solución precursora, para eso se utilizó cloruro de Fe (II) [1M] y cloruro de Fe (III) [1M], ambas disueltas en agua destilada mezclándolas a una relación de [1:2] como solución precursora. Del mismo modo se preparó el agente precipitante, mezclando a una relación de [1:1] las soluciones de hidróxido de sodio (NaOH) [1M] y borohidruro de sodio (NaBH<sub>4</sub>) [1M], igualmente preparadas en agua destilada. Lo siguiente fue llevar la solución precursora a una temperatura de entre 70-80°C, y manteniendo esta temperatura, se añadió 1 mL de la solución reductora, o agente precipitante, cada 2 minutos hasta la obtención de una solución de color negro. Una vez que la solución se mantuvo completamente negra, dejamos de añadir el agente precipitante y se le añadió 3 mL de povidona (PVP) (Figura 38).

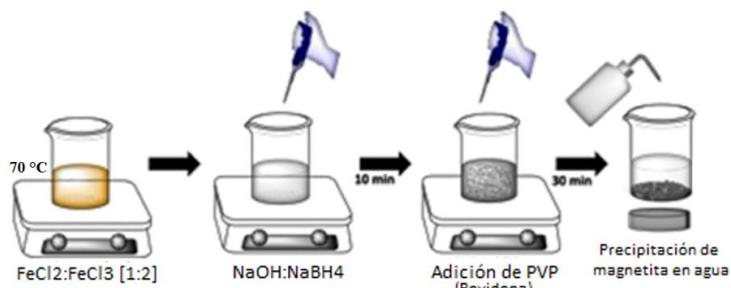


Figura 38. Esquema del proceso de la síntesis de las NPs de óxido de hierro.

Como último paso se lavaron con agua destilada para eliminar el exceso de PVP y se sonicaron durante 8 minutos para evitar que las NPs se aglomeren, repitiendo 5 veces este proceso.

#### b) Polímeros DMA-VCL como surfactante.

Para esto, se requirió disolver los polímeros en agua destilada (2 g de polímero seco en 10 mL de agua destilada). Solamente se consideró utilizar los polímeros de los extremos, es decir, el polímero M05 (100% DMA) y el polímero M11 (100% VCL), añadiendo 3 ml del polímero en estado viscoso a las nanopartículas.

### 5.4. Evaluación del compuesto Hidrogel + DOXO + NPs mediante ondas de choque

Para el desarrollo del tratamiento se realizó una mezcla de Hidrogel con la solución de DOXO en una relación [1:1] v/v. La solución mantuvo la viscosidad característica del hidrogel, tiñéndose de rojo por la DOXO. De la solución de NPs dispersas se agregó el 0.5% v/v en relación con la mezcla del hidrogel y el fármaco antineoplásico.

De la mezcla obtenida se prepararon 16 muestras en viales de 1 mL, para posteriormente realizar caracterización de estas mediante Raman y así determinar la integridad molecular de la DOXO. En la Tabla 11 se especifica la potencia y el número de ondas de choque a la que se sometió cada muestra.

Tabla 11. Especificaciones de las condiciones para las muestras individualmente, refiriendo a Potencia y número de ondas de choque.

Potencia	Número de ondas de choque			
	100	150	200	250
14	A1	B1	C1	D1
16	A2	B2	C2	D2
18	A3	B3	C3	D3
20	A4	B4	C4	D4

### 5.5. Evaluación de radiopacidad de las NPs inmersas en el hidrogel

La propiedad de radiopacidad en los hidrogeles sugiere un uso estereotáctico de estos. Para determinar esta propiedad, se añadió una concentración de 160 mg de NPs de óxido de Fe en polvo a los hidrogeles en estado viscoso (10 mL). Se obtuvieron imágenes de rayos X para determinar la radiopacidad. Se colocó en una caja de Petri el compuesto hidrogel + NPs de óxido de Fe con el hueso y tejido blando de un muslo de pollo, utilizando un alambre de estaño para determinar el área exacta del hidrogel, ver Figura 39.

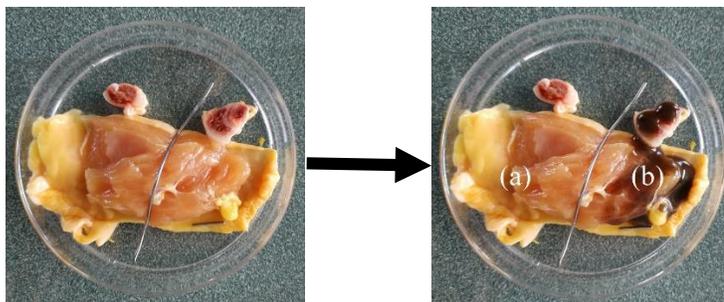


Figura 39. Muestras de tejido blando y hueso de pollo utilizando un alambre de estaño para distinguir la zona con NPs de óxido de Fe; (a) tejido blando y hueso, (b) tejido blando y hueso con NPs de óxido de Fe inmersas en hidrogel.

La radiopacidad en las imágenes radiográficas se determina en una escala de grises de 8 bits, donde el valor más bajo (negro — 0) se considera radiopaco y el valor más alto (blanco— 255) es considerado radiotransparente [67].

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 6.1. Caracterización del hidrogel.

Para realizar las pruebas de liberación de DOXO se seleccionaron 4 hidrogeles con diferente concentración de monómeros, a los que se le añadió entrecruzante. En la Tabla 6 se muestran los porcentajes de monómeros utilizados en cada hidrogel con entrecruzante, a los cuales se les realizó pruebas de espectroscopia IR y de calorimetría mediante TGA y DSC. En la Tabla 7 se muestran los porcentajes de monómeros utilizados en cada hidrogel sin entrecruzante, a los cuales se le realizaron mediciones de densidad y viscosidad.

#### 6.1.1. Resultados de las mediciones de densidad y viscosidad.

De los hidrogeles que se sintetizaron sin entrecruzante (Figura 40), se disolvieron en agua para obtenerlos en una consistencia viscosa, tomando siempre el mismo peso del hidrogel y el mismo volumen de agua, para obtener los datos necesarios que se requieren para calcular la densidad y viscosidad de cada uno de los polímeros, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 12.

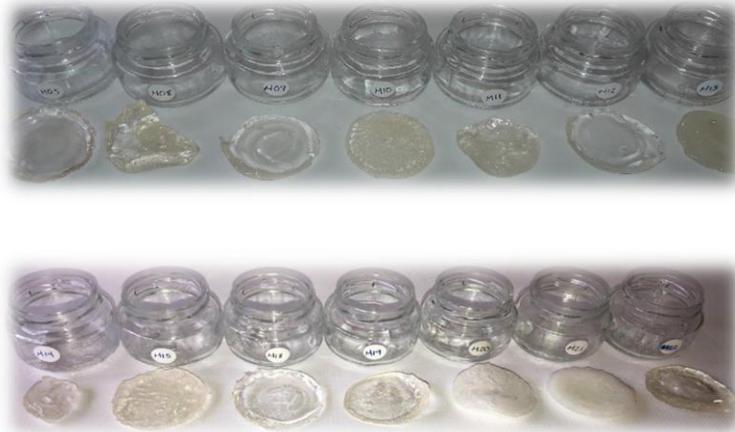


Figura 40. Polímeros en seco (M05, M08, M09, M10, M11, M12, M13, M14, M015, M18, M19, M10, M21 y M22).

Tabla 12. Resultados de la densidad y viscosidad de los hidrogeles base DMA-VCL.

Muestra	Relación Molar [DMA(%)/VCL(%)]	AIBN (mL)	Densidad (g/ml)	Viscosidad (cP)
M05	100 / 000	0.4	1	200
M08	050 / 050	0.4	27	1262
M09	075 / 025	0.4	5	106
M10	025 / 075	0.4	13	732
M11	000 / 100	0.4	25	154
M12	100 / 000	0.2	28	566
M13	050 / 050	0.2	15	1355
M14	075 / 025	0.2	24	477
M15	025 / 075	0.2	21	388
M18	100 / 000	0.8	4	91
M19	050 / 050	0.8	23	587
M20	075 / 025	0.8	5	741
M21	025 / 075	0.8	15	716
M22	000 / 100	0.8	27	94

Promediando la densidad y viscosidad de los hidrogeles, considerando solamente las variaciones de la concentración de sus monómeros, se obtienen las siguientes gráficas.

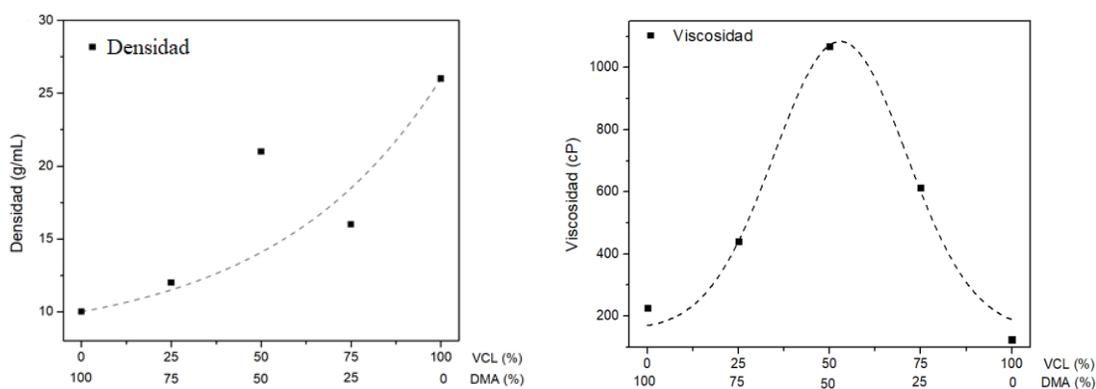


Figura 41. Densidad y Viscosidad del copolímero base DMA-VCL a diferentes concentraciones.

Como se observa en la Figura 41, el hidrogel DMA tiene mayor viscosidad que el hidrogel VCL y ambos tienen menor viscosidad respecto a las combinaciones de concentraciones entre DMA y VCL. Estas viscosidades son comparables entre lo que sería la viscosidad de un aceite de motor y de la miel, con respecto a los resultados obtenidos con la viscosidad de algunos productos comunes (Tabla 13).

*Tabla 13. Viscosidades de productos comunes, referencia tomada de ATPPPLLEAL.*

<b>Viscosidades aproximadas de los productos comunes a temperatura ambiente de 21 °C</b>	
<b>Material</b>	<b>Viscosidad en centipoise</b>
SEA 10 Aceite de motor	85 a 140 cps
SAE 20 Aceite de motor	140 a 420 cps
SAE 20 Aceite de motor	420 a 650 cps
SAE 20 Aceite de motor	650 a 900 cps
Aceite Castrol	1000 cps
Miel Karo	5000 cps
Miel	10000 cps

Con respecto a la densidad, en la Figura 41 se observa que el hidrogel DMA es menos denso que el hidrogel VCL y adicionalmente se ve que con respecto a las combinaciones de concentraciones entre DMA y VCL se tiene una densidad intermedia entre estos dos valores. La densidad superior del hidrogel VCL respecto al hidrogel DMA se puede entender basado en el hecho de que los monómeros correspondientes al VCL y el DMA tienen un peso molecular de 139.19 u y 99.13 u respectivamente, y que además el hecho de que el monómero VCL tenga un anillo y el monómero de DMA sea lineal, hace que su geometría de enlace sugiera que el VCL tiene menor volumen que el DMA [32].

Conocer la densidad y viscosidad de los hidrogeles es importante para este proyecto, ya que se propone introducir el hidrogel con el fármaco inmerso, directamente a tumores hepáticos, esto, inyectando el hidrogel. Para eso, es necesario que el hidrogel fluya a través de una jeringa y también es necesario conocer de qué manera se distribuye una vez que se encuentra dentro del sistema.

### 6.1.2. Resultados IR.

Los espectrogramas se obtuvieron de un equipo de espectroscopia IR modelo FRONTIER MIR/NIR +SPD10 STD de Perkin Elmer, ubicado en el centro de física aplicada y tecnología avanzada (CFATA), UNAM Juriquilla. En los resultados se pueden observar las bandas de absorción correspondientes a los grupos funcionales de cada monómero que se utilizó para la síntesis de los hidrogeles, así como de su polimerización y copolimerización.

En la Figura 42 se muestra el mecanismo de reacción que se lleva a cabo en la molécula del DMA después de su la polimerización. Para formar las cadenas poliméricas, debe haber un rompimiento en el doble enlace C=C del grupo vinil, permitiendo que las moléculas (monómeros) se unan por medio de enlaces C-C.

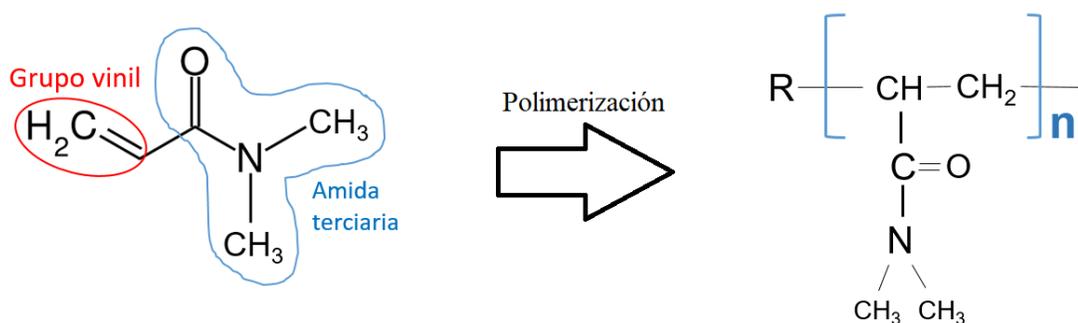


Figura 42. Molécula de DMA y su mecanismo de reacción después de la polimerización por radicales libres, para formar el polímero PDMA.

Los espectros del monómero DMA y polímero PDMA se muestran en la Figura 43, y las asignaciones de la bandas de absorción se tabulan en la Tabla 14. Para el monómero se tiene la banda de absorción característica para el carbonilo (C=O), que se encuentra en los  $1650\text{ cm}^{-1}$ . La banda de absorción para el C=C se observa en los  $1608\text{ cm}^{-1}$ . La banda que se encuentra en los  $2930\text{ cm}^{-1}$  corresponde a estiramientos alifáticos C-H. La banda de  $1144\text{ cm}^{-1}$  corresponde a la amida terciaria. Las bandas de absorción características al vinil ( $=\text{CH}$  y  $=\text{CH}_2$ ) se encuentran en los  $3028\text{ cm}^{-1}$  y  $794\text{ cm}^{-1}$ . La banda  $1480\text{ cm}^{-1}$

corresponde a vibraciones de estiramiento C-N. Y la banda 1050  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a vibraciones N-CH<sub>3</sub> [78][79][80].

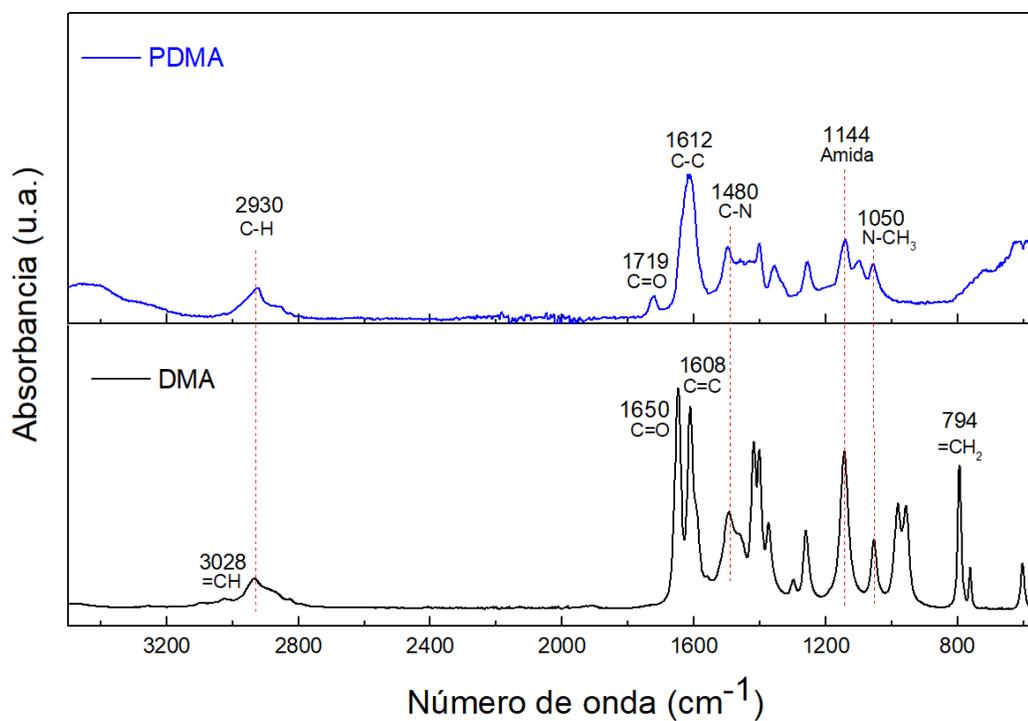


Figura 43. Comparación del espectrograma IR del monómero DMA con el polímero PDMA.

En el espectro del polímero PDMA (Figura 43) se observa una disminución de intensidad en las bandas de absorción correspondientes al grupo vinil (=CH y =CH<sub>2</sub>), que se encuentran en los 3028  $\text{cm}^{-1}$  y 794  $\text{cm}^{-1}$ , en relación al espectro del monómero DMA. Esta disminución puede indicar que se llevó a cabo la polimerización.

Otra observación a considerar es la señal de 1612  $\text{cm}^{-1}$  del PDMA, que se encuentra muy cercana a la banda que corresponde al enlace C=C (1608  $\text{cm}^{-1}$ ) del monómero DMA, diferenciándolas por un desdoblamiento que se tiene en el DMA del C=C con el carbonilo, y que en el PDMA ya no se observa. Esta separación del desdoblamiento en el PDMA, puede indicar que la banda de 1612  $\text{cm}^{-1}$  del DMA es distinta a la banda de 1608  $\text{cm}^{-1}$  del PDMA, correspondiendo enlaces C=C para el DMA y C-C para el PDMA. Este puede ser

otro indicativo de que se llevó a cabo la polimerización. Sin embargo, es importante considerar que las bandas de absorción que se observan en la Figura 43 corresponden a las bandas de confirmación, por lo que estos resultados son solo una estimación.

Tabla 14. Las asignaciones de las bandas de absorción para el espectro IR del DMA y PDMA.

Grupo funcional	Longitud de onda (cm <sup>-1</sup> )	
	DMA	PDMA
Alifático C-H	2930	2930
Carbonilo (C=O)	1650	1719
C-N	1480	1480
<b>Amida terciaria</b>	<b>1144</b>	<b>1144</b>
<b>N-CH<sub>3</sub></b>	<b>1050</b>	<b>1050</b>
C-C	-	1612
C=C	1608	-
=CH, =CH <sub>2</sub>	3028, 794	-

En la Figura 44 se observa el mecanismo de reacción para el monómero VCL, y al igual que en el monómero DMA, al momento de que se lleva a cabo su polimerización, hay un rompimiento en el doble enlace C=C del grupo vinil, permitiendo que las moléculas (monómeros) se unan por medio de enlaces C-C para formar las cadenas poliméricas.

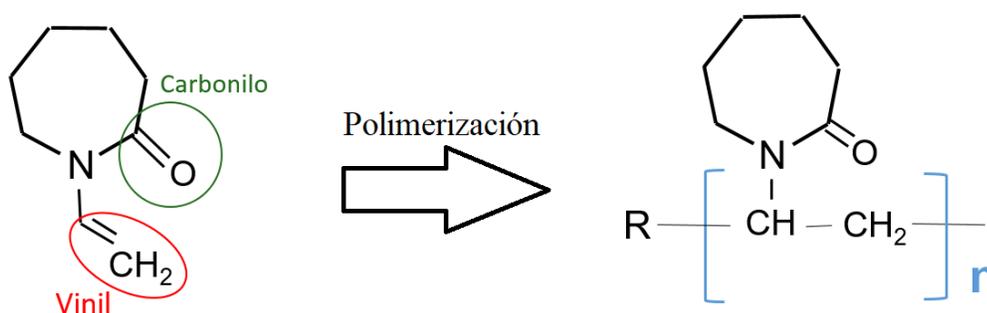


Figura 44. Molécula de VCL y su mecanismo de reacción después de la polimerización por radicales libres, para formar el polímero PVCL.

Los espectros del monómero VCL y polímero PVCL se muestran en la Figura 45, y las asignaciones de la bandas de absorción se tabulan en la Tabla 15. Para el monómero se tiene la banda de absorción característica para el carbonilo (C=O), que se encuentra en los  $1650\text{ cm}^{-1}$ . La banda de absorción para los enlaces C=C se observa en los  $1608\text{ cm}^{-1}$ . Las bandas que se encuentran en los  $2930\text{ cm}^{-1}$  y  $2833$  corresponden a estiramientos alifáticos C-H. La banda de  $1438\text{ cm}^{-1}$  corresponde a los enlaces  $-\text{CH}_2$ . Las bandas de absorción características al vinil ( $=\text{CH}$  y  $=\text{CH}_2$ ) se encuentran en los  $3990\text{ cm}^{-1}$  y  $1022\text{ cm}^{-1}$ . La banda de  $1476\text{ cm}^{-1}$  corresponde a vibraciones de estiramiento C-N [81].

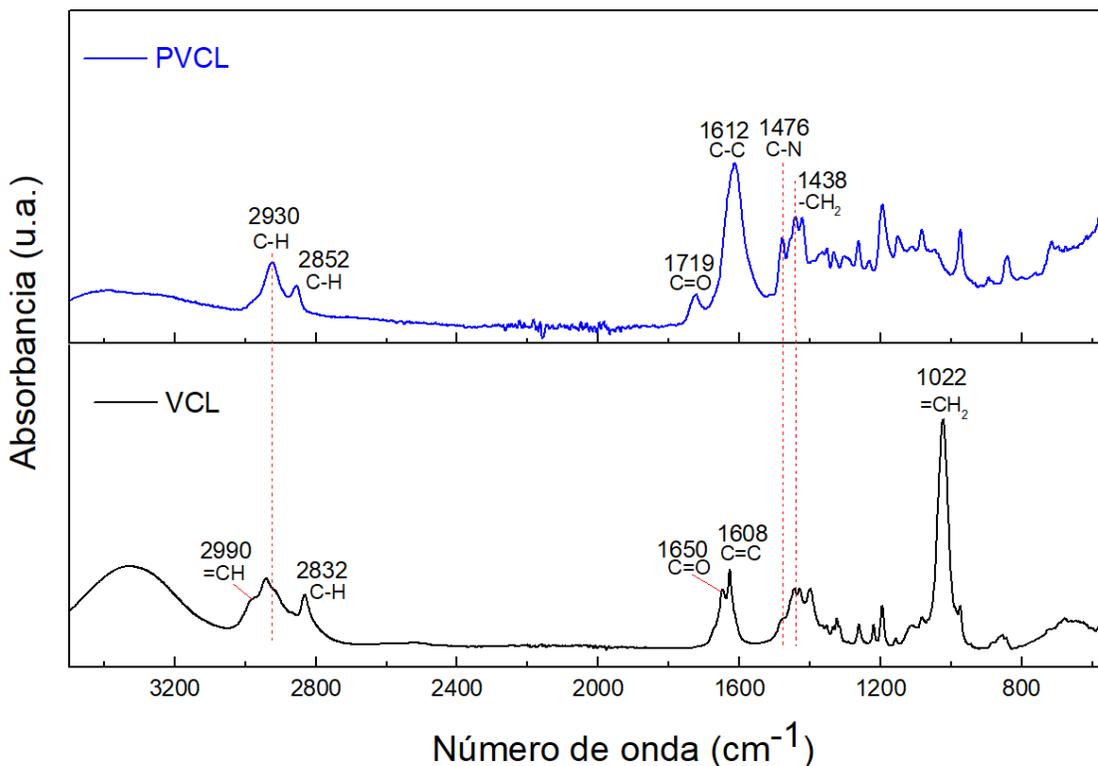


Figura 45. Comparación del espectrograma IR del monómero VCL con el polímero PVCL.

En el espectro del polímero PVCL (Figura 43) se observa una disminución de intensidad en las bandas de absorción correspondientes al grupo vinil ( $=\text{CH}$  y  $=\text{CH}_2$ ), que se encuentran en los  $2990\text{ cm}^{-1}$  y  $1022\text{ cm}^{-1}$ , en relación al espectro del monómero DMA. Esta disminución puede indicar que se llevó a cabo la polimerización.

De igual manera que en el polímero PDMA, en el polímero PVCL se observa una señal en  $1612\text{ cm}^{-1}$ , que se encuentra muy cercana a la banda que corresponde al enlace C=C ( $1608\text{ cm}^{-1}$ ) del monómero VCL, diferenciándolas por un desdoblamiento que se tiene en el monómero, que corresponden a enlaces de C=C y de carbonilo (C=O), y que en el PDMA se separan. Esta separación del desdoblamiento en el PDMA, puede indicar que la banda de  $1612\text{ cm}^{-1}$  del DMA es distinta a la banda de  $1608\text{ cm}^{-1}$  del PDMA, correspondiendo enlaces C=C para el DMA y C-C para el PDMA. Este puede ser otro indicativo de que se llevó a cabo la polimerización. Sin embargo, es importante considerar que las bandas de absorción que se observan en la Figura 43 corresponden a las bandas de confirmación, por lo que estos resultados son solo una estimación.

*Tabla 15. Las asignaciones de las bandas de absorción para el espectro IR del VCL y PVCL.*

Grupo funcional	Longitud de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )	
	VCL	PVCL
Alifático C-H	2930, 2832	2930, 2852
Carbonilo (C=O)	1650	1719
C-N	1476	1476
<b>-CH<sub>2</sub></b>	<b>1438</b>	<b>1438</b>
C-C	-	1612
C=C	1608	-
=CH, =CH <sub>2</sub>	3990, 1022	-

En la Figura 46 se muestran los espectrogramas de los polímeros PDMA y PVCL, junto con los copolímeros P(VCL-co-DMA) 25-75 y P(VCL-co-DMA) 75-25. Se observa que las bandas de absorción características de cada polímero se siguen observando en los copolímeros. Una de las bandas de absorción característica del polímero PDMA, como la amida terciaria ( $1144\text{ cm}^{-1}$ ) y los enlaces N-CH<sub>3</sub> ( $1050\text{ cm}^{-1}$ ), se observa con más intensidad en el copolímero que tiene mayor porcentaje de DMA, y en el copolímero con mayor porcentaje de VCL se atenúa. Lo mismo ocurre en el VCL, donde se observa que unas de las bandas de absorción características del polímero PVCL, como los enlaces –

$\text{CH}_2$  ( $1256 \text{ cm}^{-1}$ ), se observa con mayor intensidad en el copolímero que tiene mayor porcentaje de VCL, y en el copolímero con mayor porcentaje de DMA se atenúa. Esto puede ser otro indicativo de que se llevó a cabo la copolimerización.

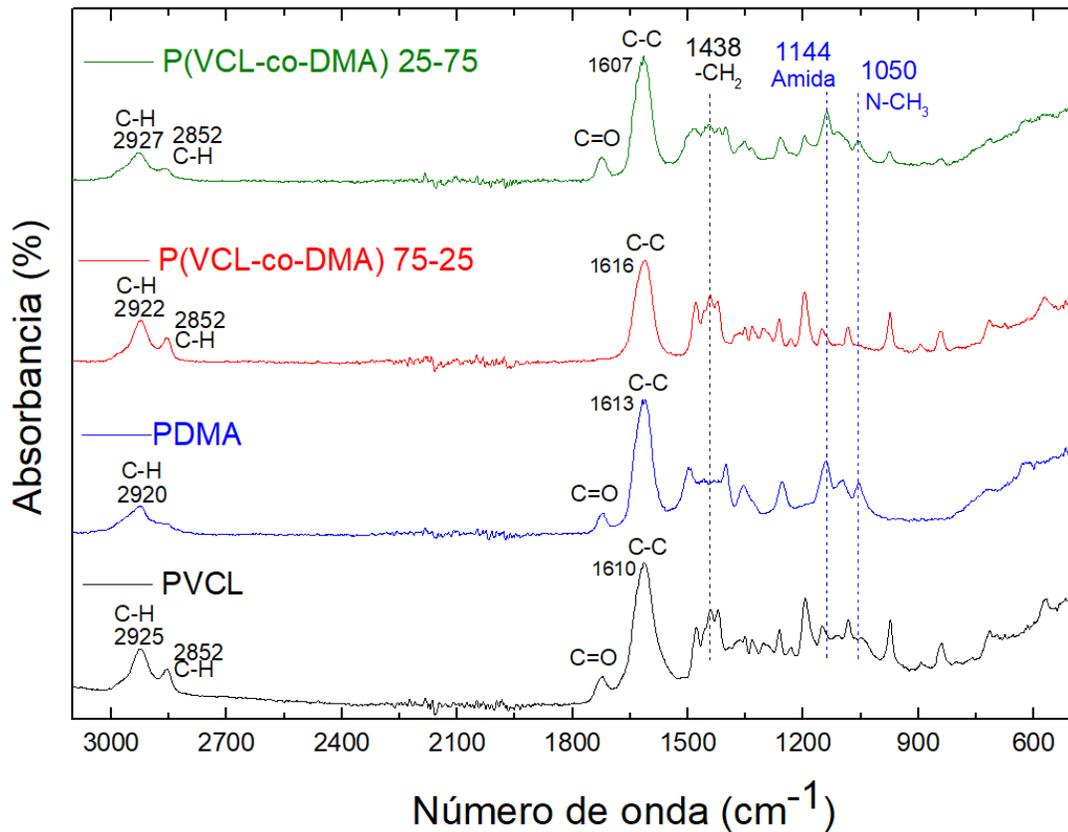


Figura 46. Espectrograma IR de los polímeros PDMA y PVCL, y copolímeros P(DMA-VCL).

De la Figura 47, que corresponde a los espectrogramas IR de los hidrogeles sin entrecruzante, de igual manera se observan las bandas de absorción características de cada polímero. La banda de absorción que se encuentra en  $1196 \text{ cm}^{-1}$  se observa con más intensidad en el polímero PVCL, y en los copolímeros P(DMA-co-VCL) va disminuyendo, terminando por atenuarse en el polímero PDMA. Lo mismo para la banda de absorción que se encuentra en  $1253 \text{ cm}^{-1}$ , se observa con más intensidad en el polímero PDMA, y en el polímero PVCL se atenúa. Esto puede ser un indicativo de que se llevó a cabo la copolimerización en los hidrogeles sin entrecruzante.

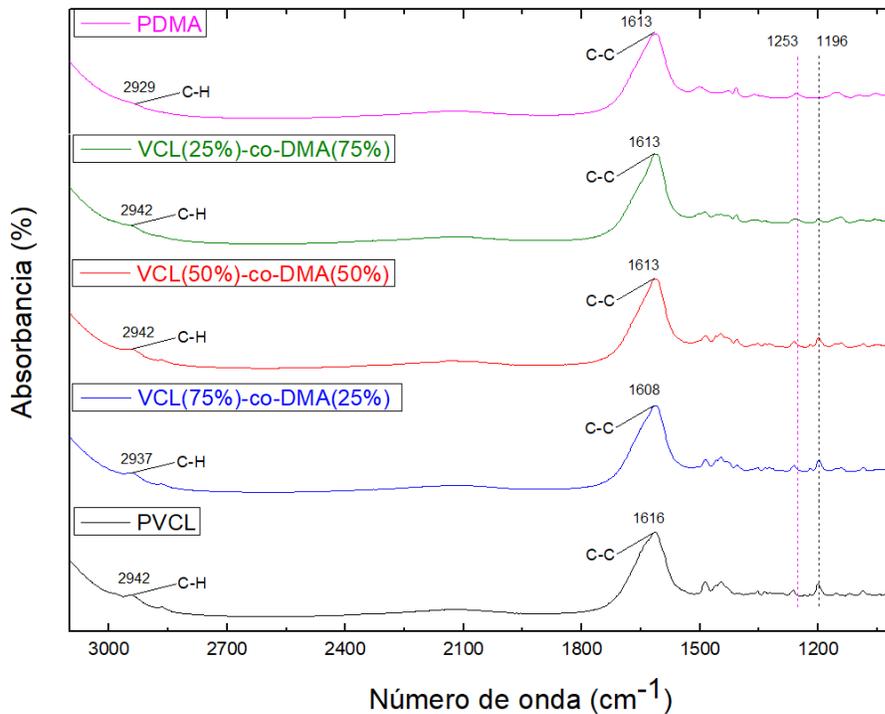


Figura 47. Espectrograma IR de los polímeros PDMA y PVCL, y copolímeros P(DMA-VCL) sin entrecruzante.

### 6.1.3. Resultados TGA-DSC.

Se obtuvieron los termogramas del porcentaje de masa (TGA) y del flujo calorífico (DSC) para los hidrogeles con entrecruzante DMA-VCL, por medio del equipo TGA/DSC 2 – METTLER TOLEDO que se encuentra en CFATA. De acuerdo con los termogramas de la Figura 48, los polímeros presentan un porcentaje de entre 5 a 10% de humedad, ya que se puede observar esta pérdida de peso a temperaturas entre 120 y 170 °C, por encima de la temperatura de evaporación del agua. También se puede observar una pérdida total de masa a temperaturas entre 420 y 440 °C, lo que significa que es la temperatura a la que el material se degrada. Además, se observa que en los hidrogeles DMA-co-VCL (polímeros M3 y M4) presentan una sola curva de pérdida de masa, lo que puede indicar que se tiene un solo tipo de hidrogel copolimerizado.

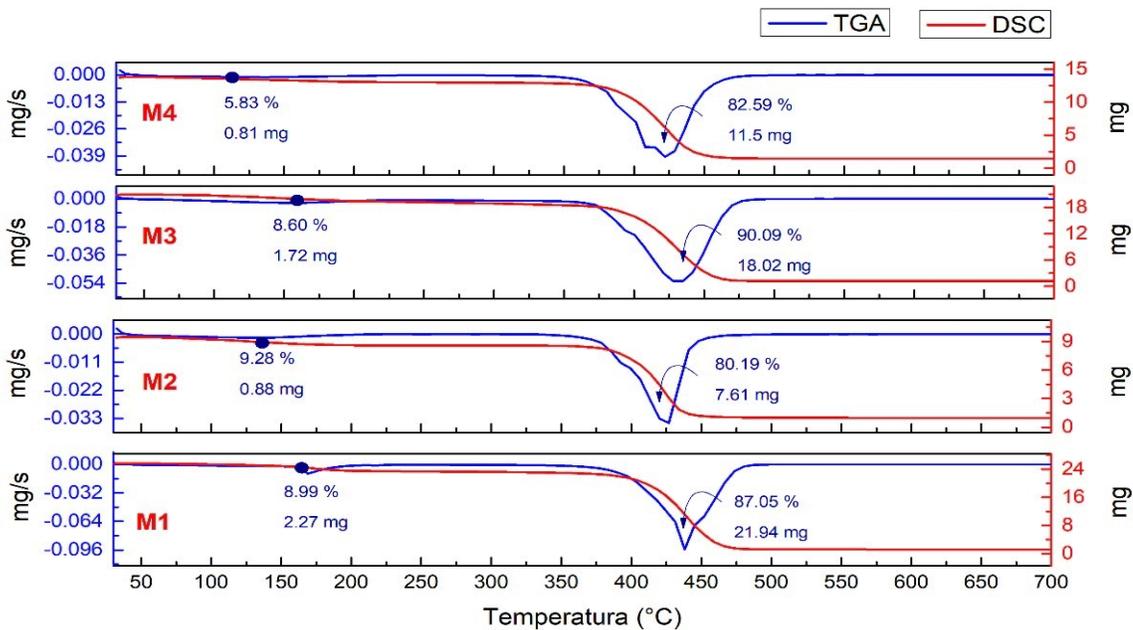


Figura 48. Termogramas obtenidos de los hidrogeles DMA-VCL. El color rojo corresponde al flujo calorífico (DSC). El color azul corresponde al porcentaje de cambio de masa (TGA).

#### 6.1.4. Resultados de las pruebas de liberación de DOXO.

Se observó que en los hidrogeles con entrecruzante tomaron una consistencia gelatinosa, y que presentan la capacidad de hincharse en presencia de agua, aumentando su volumen considerablemente, concluyendo que tienen la capacidad de absorber fármacos, incluyendo la DOXO. En la Tabla 6 se muestran los porcentajes de monómeros utilizados en cada hidrogel con entrecruzante.

En las siguientes gráficas se describe el comportamiento cinético de adsorción de DOXO en primer y segundo orden, siguiendo la ecuación de Lagergren de pseudo primer y segundo orden, ver Tabla 16.

Tabla 16. Parámetros que se utilizaron para calcular el factor de correlación ( $R^2$ ) y la variación de concertación por unidad de tiempo ( $K_1$ ).

Modelo	Parámetros cinéticos				
Lagergren de primer orden $K_1$ ( $\text{min}^{-1}$ )	M1	M2	M3	M4	
	$K_1$	3.63	5.27	5.10	4.39
	$R^2$	0.90	0.83	0.71	-0.67

Modelo cinético de adsorción

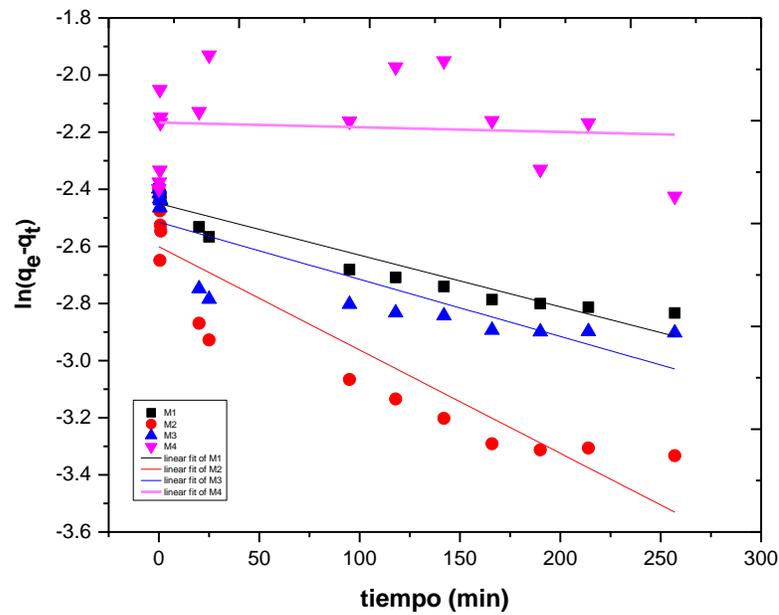


Figura 49. Modelo cinético (Lagergren de Pseudo primer orden) de adsorción de DOXO en hidrogel.

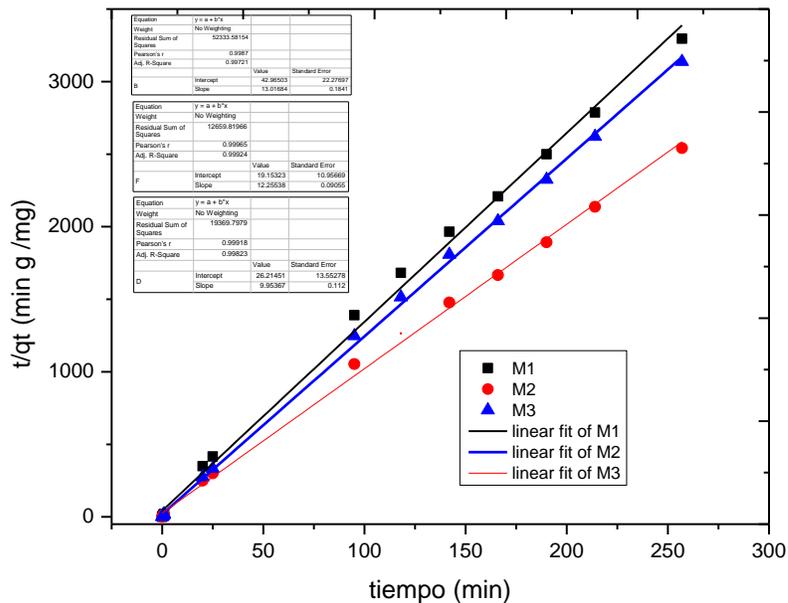


Figura 50. Modelo cinético (Lagergren de Pseudo segundo orden) de adsorción de DOXO en hidrogel.

Se observa en las gráficas de las Figura 49 y Figura 50 que el hidrogel a base de puro VCL (M1) tiene mejor cinética de adsorción que el hidrogel de DMA (M2), e incluso en combinación, el hidrogel con mayor porcentaje de DMA (M4) no mostró un comportamiento coherente por lo que sería necesario repetir las pruebas con esta muestra.

### Curvas de liberación de DOXO

Después de mantener los hidrogeles en solución de DOXO (de 3 a 4 días), se colocaron en agua destilada y se realizaron mediciones mediante el equipo de espectroscopia UV-Vis, ubicado en CFATA, para obtener los datos de absorbancia. Usando la ecuación (37) se calculó la concentración de DOXO que hay en determinado tiempo de cada muestra. En la Figura 51 se tiene la gráfica de liberación de DOXO a temperatura ambiente (25 °C), y en la Figura 52 se observan la gráfica de liberación a 37°C.

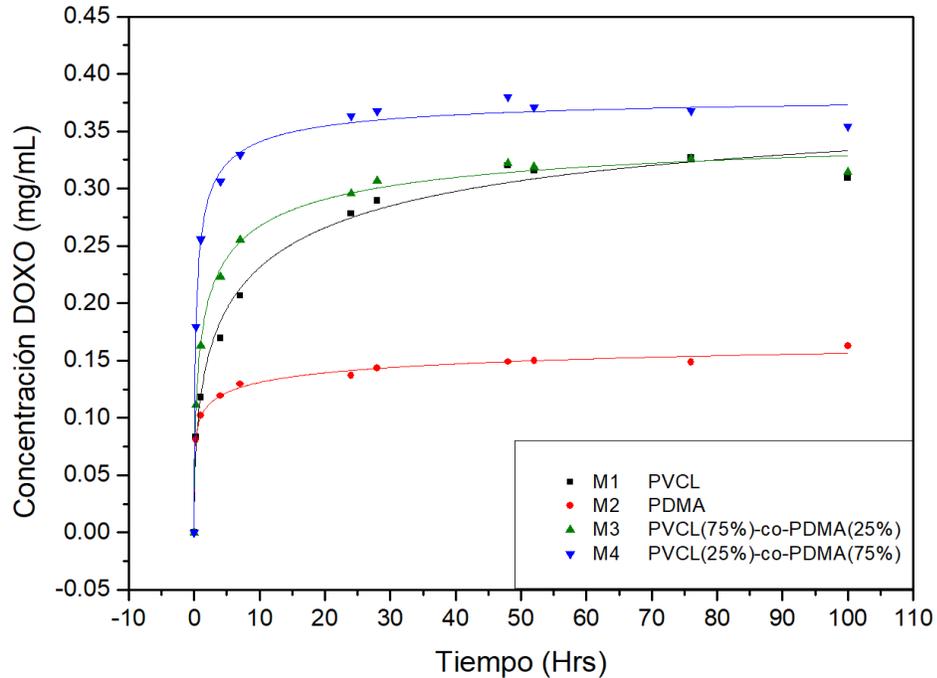


Figura 51. Curvas de liberación de DOXO mediante los hidrogeles DMA-VCL a temperatura ambiente.

Se puede observar que, en los resultados de liberación a temperatura ambiente de 25 °C, los hidrogeles liberaron la mayor concentración de DOXO en aproximadamente 10 horas. El polímero PDMA fue el que menos concentración de DOXO liberó, siendo esta de 0.15 mg/mL aproximadamente después de 80 horas. En los copolímeros se obtuvo una mejor respuesta de liberación, siendo el copolímero P(VCL-DMA) 25-75 que mayor concentración de DOXO liberó, de 0.35 mg/mL después de las 40 horas.

En las curvas de liberación de DOXO a temperatura de 37 °C, se observó un ligero cambio, la mayoría de concentración de DOXO se liberó en aproximadamente 5 horas, es decir, en la mitad del tiempo que se liberó a temperatura ambiente. El polímero PVCL fue el que dio mejor respuesta, liberando 0.13 mg/mL. Y para este caso, el copolímero P(VCL-DMA) 25-75 fue el que menor concentración de DOXO liberó, siendo de 0.10 mg/mL.

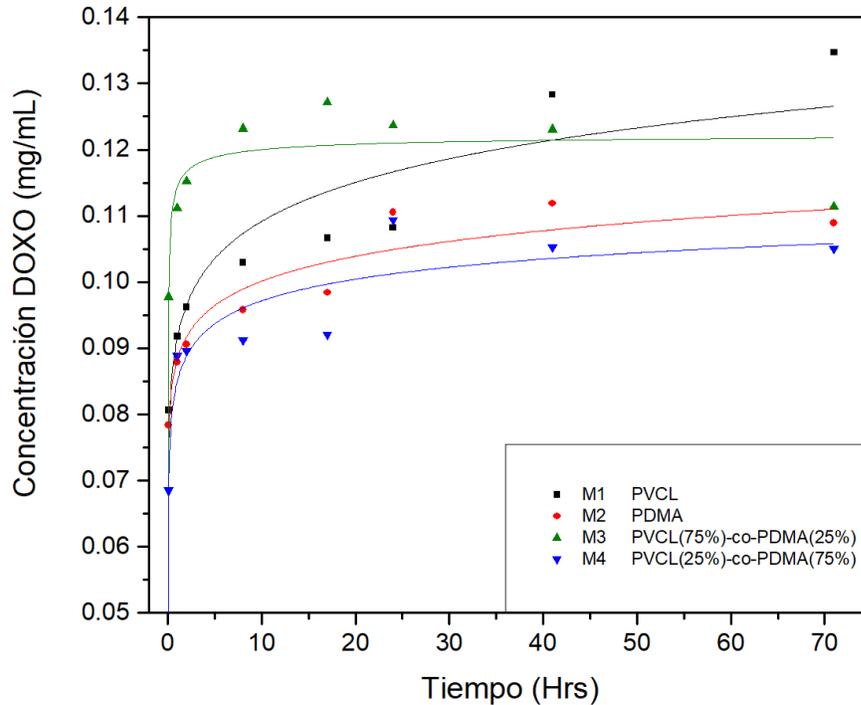


Figura 52. Curvas de liberación de DOXO mediante los hidrogeles DMA-VCL a temperatura de 37 °C.

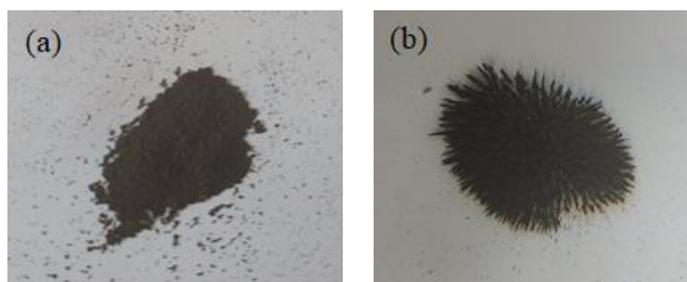
Donde estudios muestran que la concentración máxima de DOXO que utilizan para administrar en ratones son de  $0.23 \pm 0.038$  mg/mL vía intravenosa, y la concentración máxima que utilizan para administrar vía intratumoral es la misma para administrar vía subcutánea, siendo esta de  $0.13 \pm 0.024$  mg/mL [82]. Por lo que los resultados de liberación que mostraron algunos de los hidrogeles DMA-VCL se encuentran dentro de las concentraciones que se ha administrado DOXO en ratones para realizar pruebas “*in vivo*”. Sin embargo, es necesario conseguir una liberación a temperatura corporal (37 °C) más prolongada, de 3 a 4 semanas. Donde los ciclos de quimioterapia por lo general duran alrededor de 2 a 4 semanas.

## 6.2. Caracterización de las NPs de óxido de Fe.

Las NPs de óxido de Fe fueron analizadas mediante el equipo de microscopía electrónica de barrido (SEM Hitachi SU8230), que se encuentra en CFATA. En la Figura 53 se puede observar que las NPs presentan estabilidad, ya que después de dejarlas inmersas en agua destilada después de los lavados, siguen siendo superparamagnéticas. Finalmente, se pusieron a secar obteniendo polvo de magnetita (Figura 54).



*Figura 53. Síntesis de NPs de óxido de hierro inmersas en agua destilada. En las imágenes se puede observar el efecto de un campo magnético externo.*



*Figura 54. NPs de magnetita en polvo; (a) Polvo de magnetita. (b) Polvo de magnetita sometido a un campo magnético.*

Como se observa en las Figura 54, las nanopartículas muestran un cambio antes y después de acercarlas a un campo magnético (imán), demostrando que son estables a la oxidación y superparamagnéticas aún después de lavarse y secarse.

### 6.2.1. Resultados de las mediciones en SEM.

Se realizó un análisis elemental (EDS) a la síntesis de las NPs de óxido de hierro, en la Figura 55 se observan los picos representativos que indican la presencia de los elementos de oxígeno y hierro.

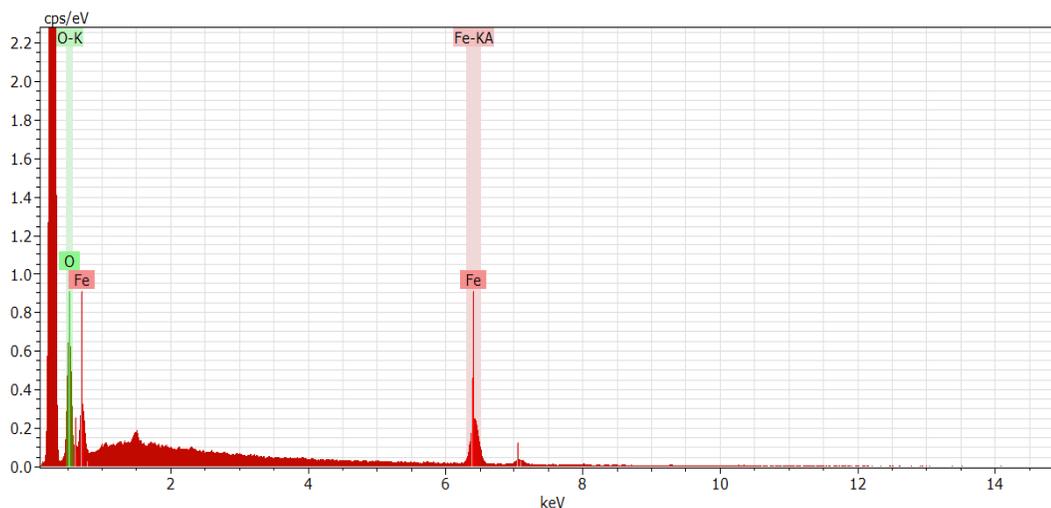


Figura 55. Espectro EDS obtenido de las NPs de óxido de hierro. Realizado con una energía primaria de 15 keV y un ángulo de inclinación de 30°.

Para conocer el tamaño y forma de las nanopartículas se tomaron micrografías SEM. En la Figura 56 se observa que las NPs tienen una morfología esférica con un tamaño promedio de 30 nm, y que se encuentran aglomeradas. En la Figura 57 se muestra una imagen del mapeo conjunto mostrando los elementos de oxígeno y hierro, siendo estos lo que componen la magnetita.

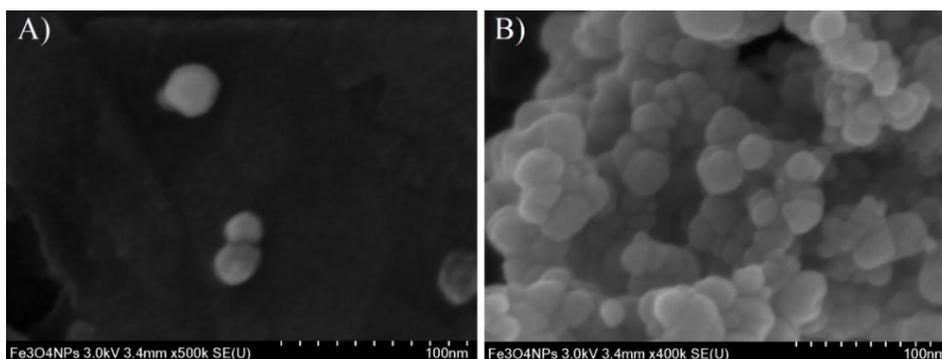


Figura 56. Micrografía SEM de las NPs de óxido de Fe obtenidas mediante el método de co-precipitación química con una ampliación: A) 3.4 mm x500k y B) 3.4 mm x400k más una energía de 3 kV.

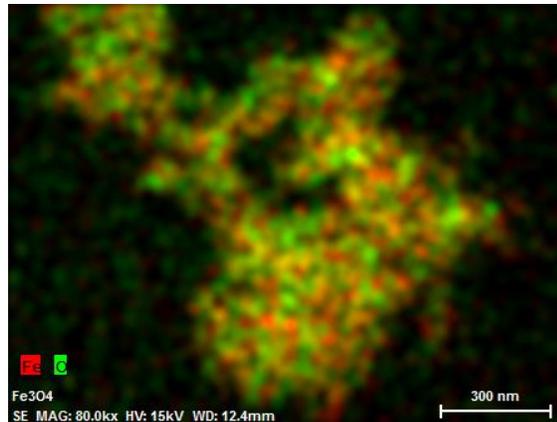


Figura 57. Imagen de mapeo para los elementos que componen a la muestra.

### 6.2.2. Resultados de las mediciones en DRX.

En la Figura 58 se muestra el difractograma obtenido de las nanopartículas, la indexación de los picos de difracción indican la presencia de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ).

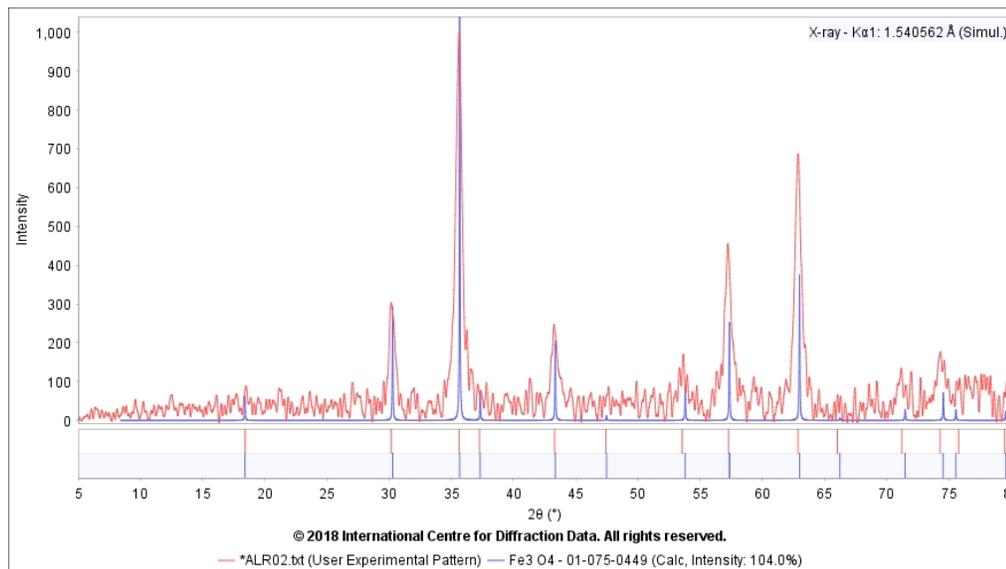


Figura 58. DR-X obtenido de las NPs de óxido de hierro, usando PVP como surfactante.

En la Figura 59 se observa el difractograma obtenido de la síntesis de las NPs de óxido de Fe usando el polímero M05 (DMA) como surfactante, este análisis presenta los picos característicos que indican la presencia de magnetita.

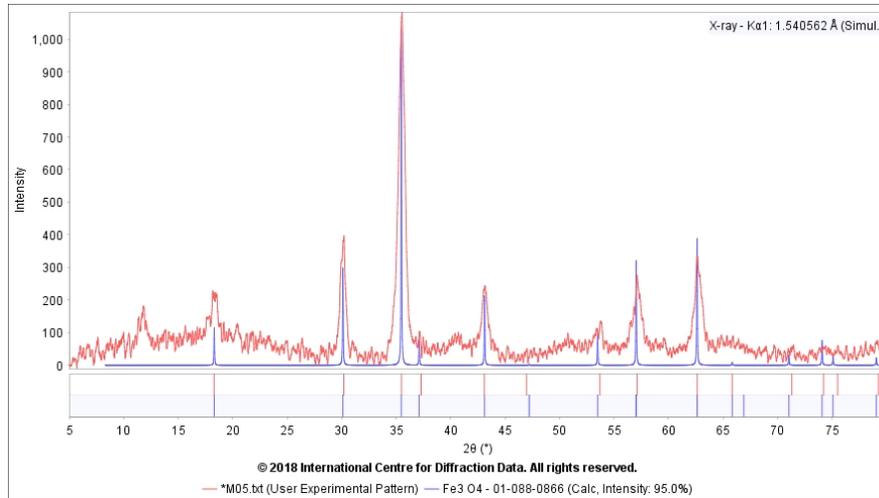


Figura 59. Difractograma de las NPs usando el polímero M05 como surfactante.

En la Figura 60 se observa el difractograma obtenido de la síntesis de las NPs de óxido de Fe usando el polímero M11 (VCL) como surfactante. En este análisis se puede observar que el difractograma presenta bastante ruido, sin embargo, se logran observar los picos característicos que indican la presencia de magnetita.

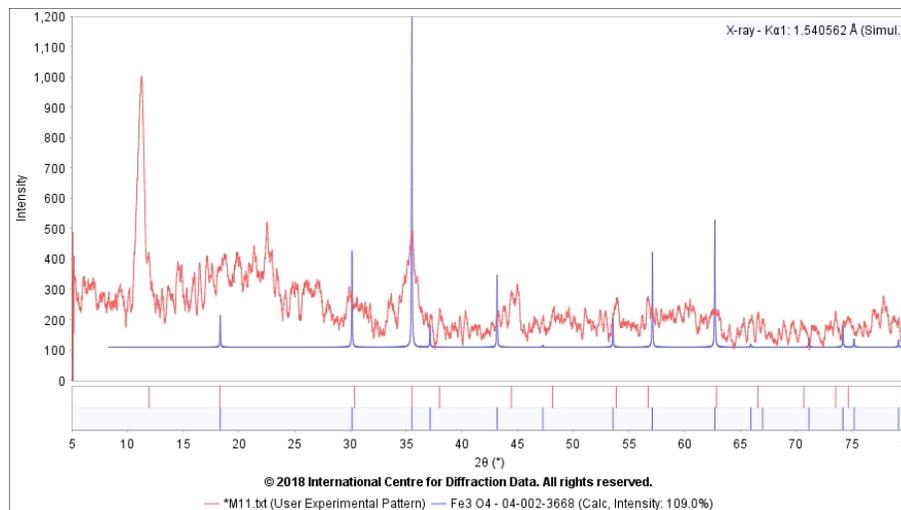


Figura 60. Difractograma de las NPs usando el polímero M11 como surfactante.

### 6.3. Análisis del material compuesto mediante espectroscopia Raman

#### 6.3.1. Resultados del análisis de la DOXO

La muestra del fármaco DOXO se analizó mediante el equipo de espectroscopia Raman del CFATA. Estos resultados se obtuvieron en colaboración del trabajo realizado por estudiantes de la Universidad Tecnológica de Tulancingo.

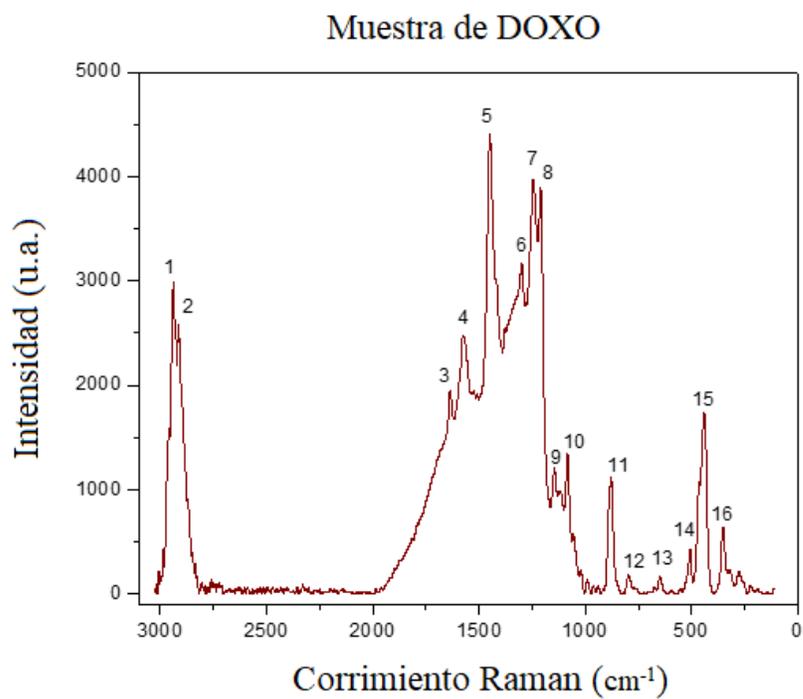


Figura 61. Espectrograma obtenido por Raman de la DOXO.

En la Tabla 17 se muestra el número de banda de absorción, longitud de onda y el grupo funcional determinados a partir del espectrograma de la Figura 61, y que se pueden relacionar con la molécula de la DOXO (ver Figura 62).

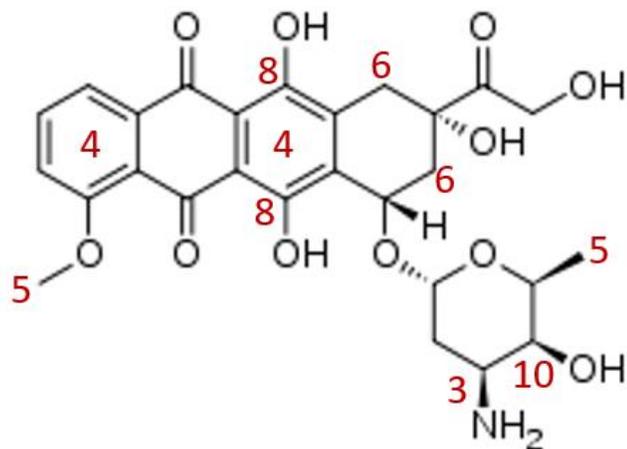


Figura 62. Molécula de la DOXO con el número de banda correspondiente al grupo funcional señalado en la tabla 17.

Tabla 17. Análisis al fármaco DOXO, mostrando número de banda de absorción, longitud de onda y el grupo funcional determinado.

No. banda	Longitud de onda (cm <sup>-1</sup> )	Grupo funcional
1	2938	(CH <sub>2</sub> )
2	2914	(CH <sub>2</sub> )
3	1639	Amina primaria (C <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub> )
4	1576	Aromático (Ar)
5	1449	(R-CH <sub>3</sub> )
6	1300	Vibración de C-C en cíclicos
7	1245	(Cl-CH <sub>2</sub> )
8	1211	(Ar-OH)
9	1139	Enlace Carbono-Oxígeno-Carbono (C-O-C)
10	1084	(CH <sub>2</sub> OH)
11	878	Enlace Carbono-Oxígeno-Carbono C-O-C
12	793	Enlace Carbono-Cloro (C-Cl)
13	649	Amina primaria (C <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub> )
14	506	Enlace Silicio-Oxígeno-Silicio (Si-O-Si)
15	437	Enlace Silicio-Oxígeno-Silicio (Si-O-Si)
16	350	Enlace Carbono-Cloro (C-Cl)

El espectro de la Figura 61 presenta bandas de absorción características de la DOXO, como son los grupos (C<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>) y (Ar) ubicados en las bandas 1639 cm<sup>-1</sup> y 1576 cm<sup>-1</sup>; también se obtuvieron grupos (CH<sub>2</sub>) en las bandas ubicadas en 2938 cm<sup>-1</sup> y 2914 cm<sup>-1</sup>, así como grupos (R-CH<sub>3</sub>) en 1449 cm<sup>-1</sup>. Las bandas más pronunciadas, como son el número 11 y 15, ubicados en los 878 cm<sup>-1</sup> y 437 cm<sup>-1</sup>, son atribuidos a los enlaces (C-O-C) y (Si-O-Si) respectivamente de la presentación hidrolizada del fármaco. Los enlaces del cloro, como los ubicados en las bandas 7, 12 y 16, pueden atribuirse al excipiente del fármaco.

### 6.3.2. Resultados del análisis del material compuesto

El material compuesto DOXO + hidrogel + Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> se analizó bajo la espectroscopia Raman, en la Figura 63 se muestra el espectrograma obtenido donde se grafica la intensidad contra el número de onda.

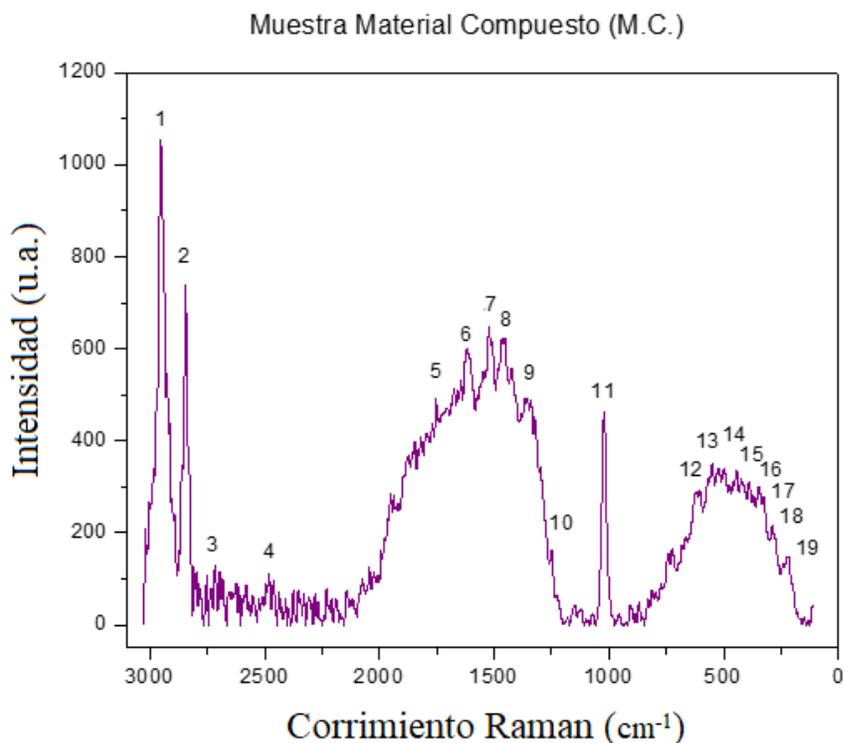


Figura 63. Espectrograma obtenido de la espectroscopia Raman del material compuesto.

Donde la Tabla 18 se muestra el número de banda de absorción, la longitud de onda y el grupo funcional determinado obtenidos a partir del espectrograma de la Figura 63.

*Tabla 18. Análisis al material compuesto, mostrando número de banda, longitud de onda y el grupo funcional determinado.*

No. banda	Longitud de onda (cm <sup>-1</sup> )	Grupo funcional
1	2952	(CH <sub>2</sub> )
2	2842	Enlace Oxígeno-Metilo (O-CH <sub>3</sub> )
3	2716	(R-CH <sub>3</sub> )
4	2479	(Cl-CH <sub>2</sub> )
5	1755	Doble enlace Carbono-Oxígeno (C=O)
6	1619	Ácido Carboxílico (RC=OOH)
7	1525	Doble enlace carbono (C=C)
8	<b>1457</b>	<b>Anillo Aromático (Ar)</b>
9	1329	Sal orgánica
10	<b>1250</b>	<b>(Ar-OH)</b>
11	1020	(Ar-OH)
12	604	Enlace Carbono-Cloro (C-Cl)
13	550	Boro
14	444	Enlace Halogenuro-Metal-Oxígeno (X-Me-O)
15	389	Enlace Halogenuro-Metal-Oxígeno (X-Me-O)
16	346	Enlace Halogenuro-Metal-Oxígeno (X-Me-O)
17	325	Enlace Halogenuro-Metal-Oxígeno (X-Me-O)
18	287	Enlace Halogenuro-Metal-Oxígeno (X-Me-O)
19	220	Cadena alicíclica

Este resultado no permite realizar un análisis que ayude determinar la integridad molecular de la DOXO, ya que el hidrogel enmascara en el espectro la zona importante que permite observar las bandas de absorción características de la DOXO. Por lo que sería difícil poder determinar a través de esta muestra, después de aplicarle ondas de choque, que no existen cambios estructurales en la molécula. Sin embargo, se logran ver algunas bandas que

pueden corresponder a grupos funcionales de la DOXO, como las bandas  $1457\text{ cm}^{-1}$  y  $1250\text{ cm}^{-1}$ .

### 6.3.3. Resultados del análisis del material compuesto sometido a ondas de choque

En las Figuras 64, 65, 66 y 67 se muestran los resultados obtenidos mediante espectroscopia Raman del material compuesto sometido a diferentes números de ondas de choque, y el análisis de estos en las Tablas 19, 20, 21 y 22.

- Muestra sometida a 100 ondas de choque con potencia 14:

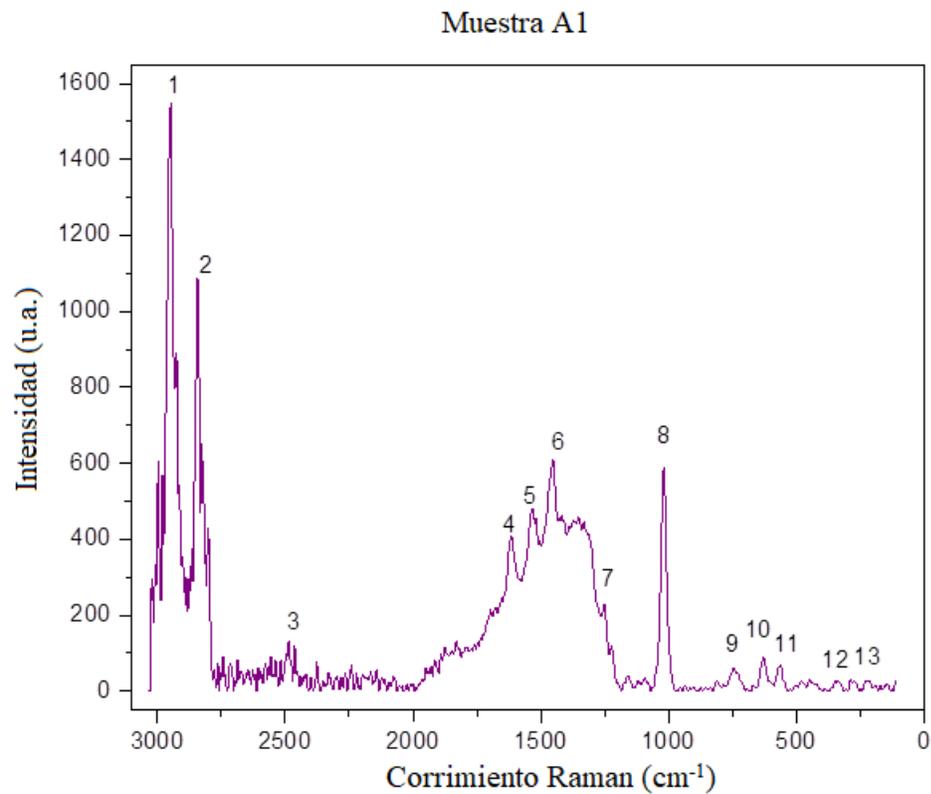


Figura 64. Espectrograma obtenido de la espectroscopia Raman del material compuesto sometido a 100 ondas de choque (muestra A1) con potencia 14.

Tabla 19. Análisis del material compuesto sometido a 100 ondas de choque (muestra A1) con potencia 14, mostrando número de pico, longitud de onda y el grupo funcional determinado.

No. pico	Longitud de onda (cm <sup>-1</sup> )	Grupo funcional
1	2947	CH <sub>2</sub>
2	2843	Enlace Oxígeno-Metilo (O-CH <sub>3</sub> )
3	2484	(Cl-CH <sub>2</sub> )-
4	1613	Ácido Carboxílico (RC=OOH)
5	1527	Doble enlace Carbono-Carbono (C=C)
6	1452	Anillo aromático (Ar)
7	1253	(Ar-OH)
8	1016	(Ar-OH)
9	742	Enlace Carbono-Cloro (C-Cl)
10	630	Boro
11	560	Enlace Carbono-Cloro (C-Cl)
12	346	Enlace Halogenuro-Metal-Oxígeno (X-Me-O)
13	288	Enlace Halogenuro-Metal-Oxígeno (X-Me-O)

- Muestra sometida a 150 ondas de choque con potencia 14:

#### Muestra B1

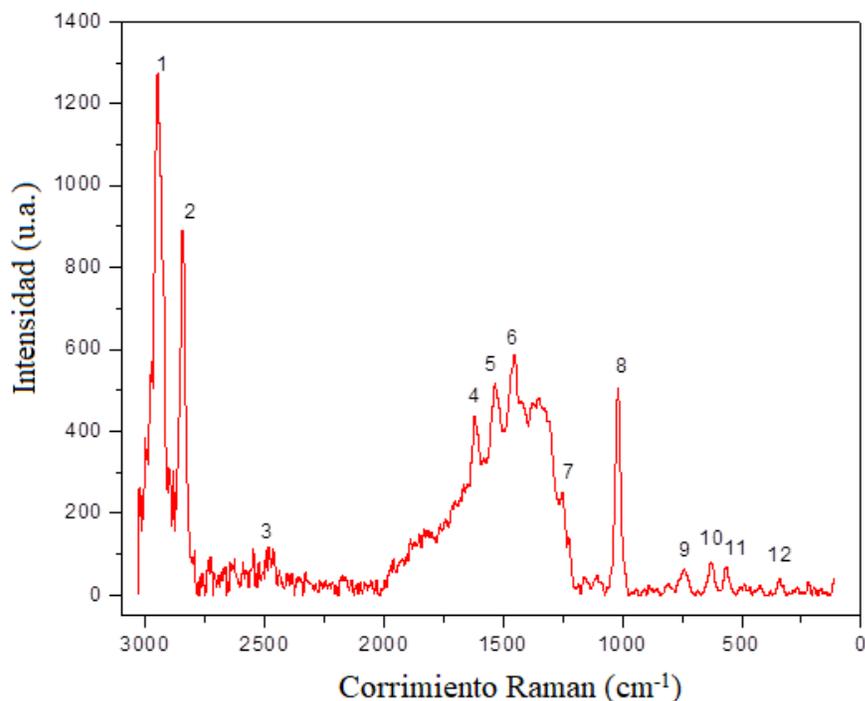


Figura 65. Espectrograma obtenido de la espectroscopia Raman del material compuesto sometido a 150 ondas de choque (muestra B1) con potencia 14.

Tabla 20. Análisis del material compuesto sometido a 150 ondas de choque (muestra B1) con potencia 14, mostrando número de pico, longitud de onda y el grupo funcional determinado.

No. Pico	Longitud de onda (cm <sup>-1</sup> )	Grupo funcional
1	2947	CH <sub>2</sub>
2	2843	Enlace Oxígeno-Metilo (O-CH <sub>3</sub> )
3	2484	(Cl-CH <sub>2</sub> )-
4	1622	Cetona (RC=OR)
5	1527	Doble enlace Carbono-Carbono (C=C)
6	1452	Anillo aromático (Ar)
7	1253	(Ar-OH)
8	1016	(Ar-OH)
9	740	Enlace Carbono-Cloro (C-Cl)
10	630	Boro
11	564	Enlace Carbono-Cloro (C-Cl)
12	341	Enlace Halogenuro-Metal-Oxígeno (X-Me-O)

- Muestra sometida a 200 ondas de choque con potencia 14:

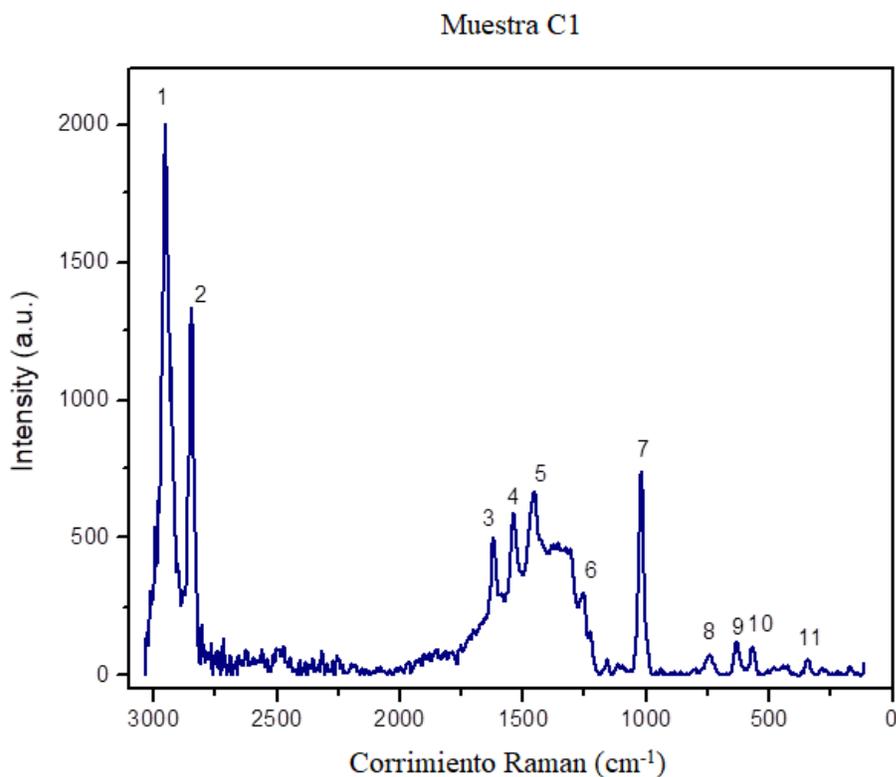


Figura 66. Espectrograma obtenido de la espectroscopia Raman del material compuesto sometido a 200 ondas de choque (muestra C1) con potencia 14.

Tabla 21. Análisis del material compuesto sometido a 200 ondas de choque (muestra C1) con potencia 14, mostrando número de pico, longitud de onda y el grupo funcional determinado.

No. pico	Longitud de onda (cm <sup>-1</sup> )	Grupo funcional
1	2945	CH <sub>2</sub>
2	2843	Enlace Oxígeno-Metilo (O-CH <sub>3</sub> )
3	1622	Cetona (RC=OR)
4	1537	Doble enlace Carbono-Carbono (C=C)
5	1452	<b>Anillo aromático (Ar)</b>
6	1253	<b>(Ar-OH)</b>
7	1016	(Ar-OH)
8	742	Enlace Carbono-Cloro (C-Cl)
9	630	Boro
10	570	Enlace Carbono-Cloro (C-Cl)
11	340	Enlace Halogenuro-Metal-Oxígeno (X-Me-O)

- Muestra sometida a 250 ondas de choque con potencia 14:

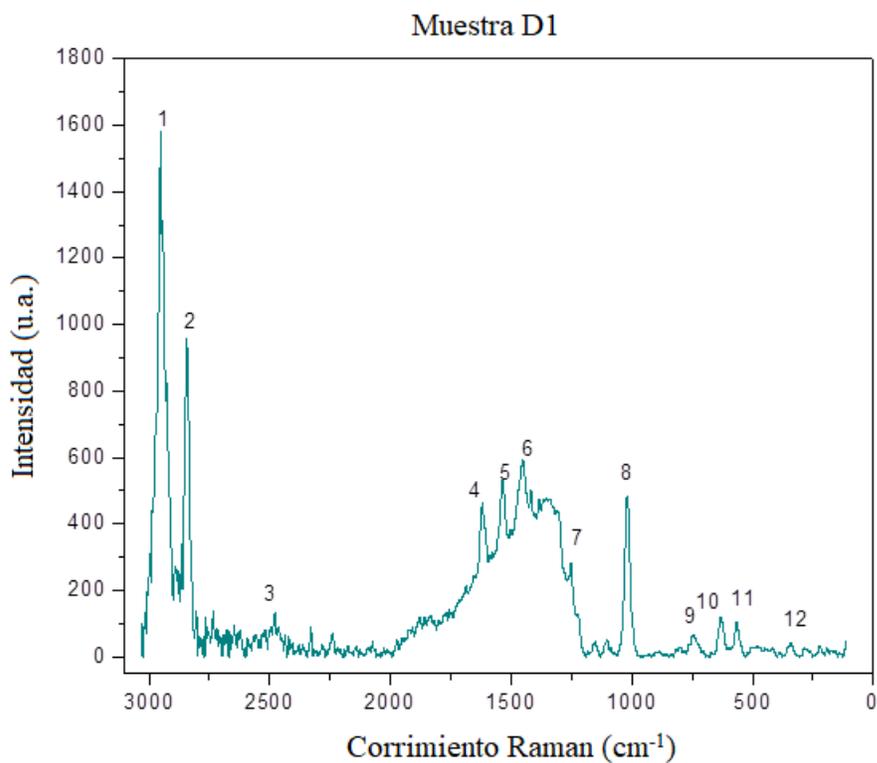


Figura 67. Espectrograma obtenido de la espectroscopia Raman del material compuesto sometido a 250 ondas de choque (muestra D1) con potencia 14.

Tabla 22. Análisis del material compuesto sometido a 250 ondas de choque (muestra D1) con potencia 14, mostrando número de pico, longitud de onda y el grupo funcional determinado.

No. Pico	Longitud de onda (cm <sup>-1</sup> )	Grupo funcional
1	2945	CH <sub>2</sub>
2	2843	Enlace Oxígeno-Metilo (O-CH <sub>3</sub> )
3	2484	(Cl-CH <sub>2</sub> )
4	1622	Cetona (RC=OR)
5	1537	Doble enlace Carbono-Carbono (C=C)
6	<b>1452</b>	<b>Anillo aromático (Ar)</b>
7	<b>1253</b>	<b>(Ar-OH)</b>
8	1016	(Ar-OH)
9	740	Enlace Carbono-Cloro (C-Cl)
10	630	Boro
11	560	Enlace Carbono-Cloro (C-Cl)
12	342	Enlace Halogenuro-Metal-Oxígeno (X-Me-O)

Se puede observar en los espectrogramas de las muestras A1, B1, C1 y D1 se siguen observando las bandas de absorción correspondientes a los grupos funcionales, anillo aromático (Ar) en 1452 cm<sup>-1</sup> y Ar-OH en 1253 cm<sup>-1</sup>. Esto puede indicar que después de aplicarle ondas de choque al material compuesto, no produce cambios estructurales.

En la Figura 68 se presentan los espectrogramas obtenidos mediante espectroscopia Raman de las muestras con el material compuesto DOXO + hidrogel + Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> sometidas a ondas de choque con diferentes potencias, agrupados según la potencia aplicada.

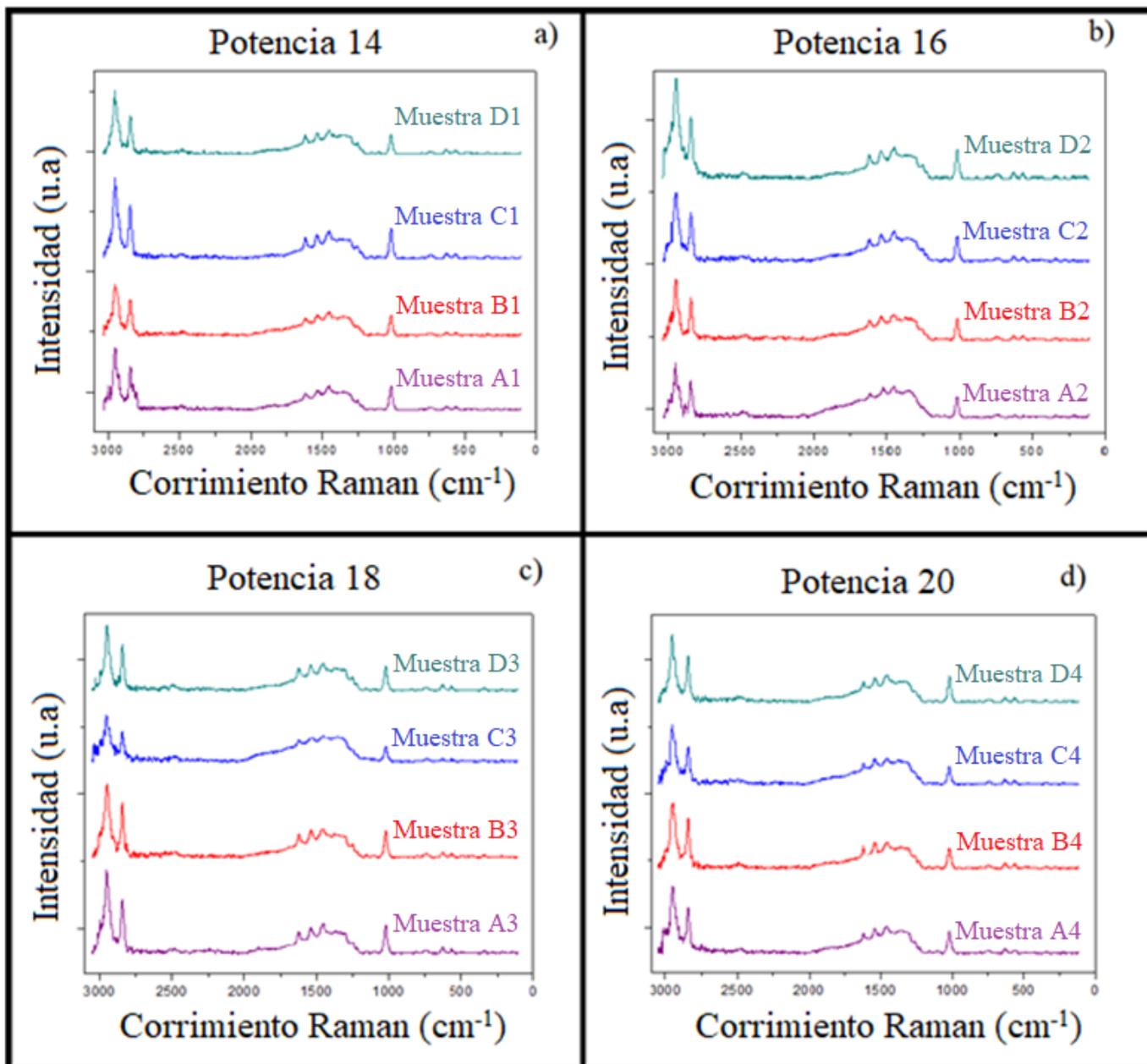


Figura 68. Comparación de los 16 espectros obtenidos del material compuesto variando la potencia y el número de ondas de choque.

a) Potencia 14 (A1-100, B1-150, C1-200 y D1-250).

b) Potencia 16 (A2-100, B2-150, C2-200 y D2-250).

c) Potencia 18 (A3-100, B3-150, C3-200 y D3-250).

d) Potencia 20 (A4-100, B4-150, C4-200 y D4-250).

Los espectrogramas obtenidos por el análisis Raman al material compuesto, posterior a su tratamiento con ondas de choque, no hay aumento o disminución en la intensidad del Raman después de someterlos a las ondas de choque, lo que puede significar que mediante esta técnica no se aprecian cambios significativos en los grupos funcionales del material compuesto. Sin embargo, no permite establecer un rango de aplicación, ya que no es posible asegurar que no existe cambio en la citotoxicidad de la DOXO, sino hasta realizar otras técnicas de caracterización complementaria que proporcione la información necesaria que se requiere para identificar cualquier modificación en la distribución espacial de los átomos que conforman la estructura de la molécula, y confirmar que ésta modificación puede o no generar una alteración en la función citotóxica del fármaco.

#### 6.4. Resultados de la evaluación de radiopacidad

Las imágenes se obtuvieron por el equipo de rayos X de la clínica universitaria UVM. En la imagen de la derecha (rayos X) se puede distinguir en la zona marcada con una (b), (que es donde se encuentra el hidrogel con las NPs de óxido de Fe) unos puntos que corresponden a las NPs, debido a su radiopacidad (Figura 69).

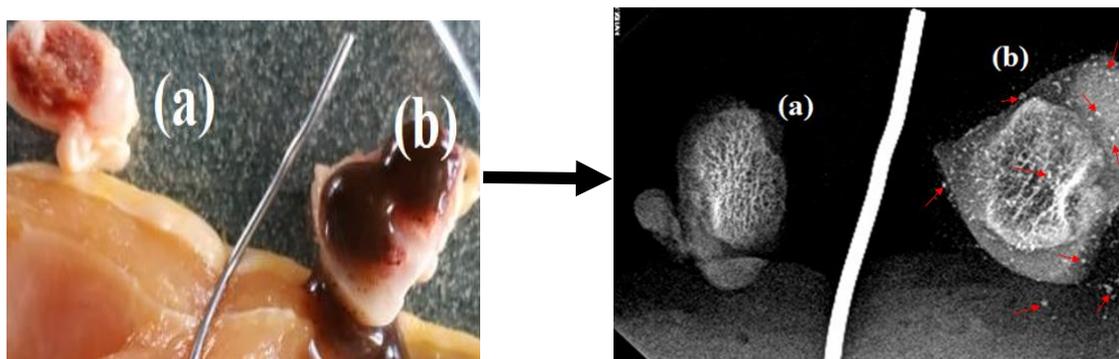


Figura 69. Radiografía del hidrogel con NPs de Fe en tejido blando y hueso de pollo; (a) zona sin hidrogel, (b) zona con hidrogel con NPs inmersas.

Esto permite utilizar las NPs de óxido de Fe en hidrogeles como marcador, ayudando a detectar la región en que se encuentra el hidrogel y, por ende, poder determinar la zona donde se libera el fármaco.

## 7. CONCLUSIONES

De los hidrogeles sintetizados se observó, mediante los espectrogramas IR, una disminución en las bandas de absorción correspondientes al grupo vinil, que se encuentra en los monómeros DMA y VCL. También que existe una relación en el aumento y disminución de las bandas de absorción, con el aumento y disminución en los porcentajes de los monómeros. Agregando que, mediante TGA, se observó solo una curva de degradación en los hidrogeles. Estos resultados pueden indicar que hubo polimerización y copolimerización de los monómeros.

Se obtuvieron resultados de liberación de DOXO, con dosis de liberación comparables a las concentraciones de DOXO que se han utilizado para realizar pruebas en ratones. Considerando que la mayor de liberación del fármaco a temperatura de 37 °C, fue a la mitad del tiempo (aproximadamente 5 horas), que la mayor liberación del fármaco a temperatura ambiente (25 °C). Este resultado puede ser contraproducente, ya que, lo que se busca es una mayor prolongación (de 3 a 4 semanas) de liberación a la temperatura corporal (37 °C). No obstante, es necesario realizar más pruebas para observar un mayor patrón.

En el material compuesto (hidrogel + NPs de óxido de Fe) se determinó que las NPs le aportan la característica de radiopacidad. Esto podría permitir observar la zona en la que se encuentra y se distribuye el hidrogel, y así, dirigir la liberación del fármaco.

Mediante los espectrogramas obtenidos por Raman, no se apreciaron cambios significativos en los grupos funcionales del material compuesto (Hidrogel + DOXO + NPs de óxido de Fe) después de aplicar las ondas de choque, sin embargo, es necesario realizar más pruebas (como resonancia magnética nuclear y espectroscopia de masas) para determinar que las ondas de choque no afecta la integridad molecular del fármaco.

## **8. TRABAJO FUTURO**

1. Realizar más pruebas complementarias, como resonancia magnética nuclear y espectroscopia de masas, que ayuden a evaluar la integridad molecular de la DOXO inmersa en el hidrogel DMA-VCL más NPs de óxido Fe, antes y después de aplicar ondas de choque al material compuesto.
2. Realizar pruebas de liberación de la DOXO inmersa en el hidrogel DMA-VCL, variando la temperatura y el pH.
3. Realizar pruebas de liberación en cultivo de células de la DOXO inmersa en el hidrogel DMA-VCL.
4. Presentar las bases necesarias para un posterior desarrollo de un modelo matemático. Con el cual se espera que ayude a predecir la dosis de DOXO que se requieren para llevar a cabo su liberación de manera intratumoral, tratándose de casos con metástasis hepática.

## 10. REFERENCIAS

- [1] L. Alfonso, S. Armas, and R. M. Pérez, "Identificación de tumor primario en pacientes con metástasis como forma de presentación de cáncer Identification of the primary tumor in patients with metastases presenting as cancer," vol. 53, no. 4, pp. 402–416, 2014.
- [2] "Cancer Stat Facts: Liver and Intrahepatic Bile Duct Cancer," National Cancer Institute, 2014. [Online]. Available: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/livibd.html>.
- [3] J. H. K. J. Bramley, "Los efectos secundarios de la inmunoterapia," *Eur. Soc. Med. Oncol.*, 2017.
- [4] A. C. T. Martha Margarita Velázquez Aviña, "Metanálisis de la eficacia y seguridad de doxorubicina liposomal pegilada en tumores malignos," *Univ. Nac. Autónoma México*, 2005.
- [5] K. P. Sampath, D. Bhowmik, S. Srivastava, S. Paswan, and A. S. Dutta, "Sustained Release Drug Delivery System Potential," *Pharma Innov.*, vol. 1, no. 2, pp. 48–60, 2012.
- [6] A. M. Loske, "Shock wave physics for urologists," *UNAM, Cent. Física Apl. y Tecnol. Av.*, 2007.
- [7] V. S. Miroslava Nedyalkova, Borjana Donkova, Julia Romanova, George Tzvetkov, Sergio Madurga, "Iron oxide nanoparticles – In vivo/in vitro biomedical applications and in silico studies," *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 249, pp. 192–212, 2017.
- [8] A. Arredondo Peñaranda and M. E. Londoño López, "Hidrogeles. Potenciales biomateriales para la liberación controlada de medicamentos," *Rev. Ing. Biomédica*, vol. 3, no. 5, pp. 83–94, 2014.
- [9] G. M. Cooper and R. E. Hduitian, *La célula*, Quinta edi. 2011.
- [10] M. Teresa, M. De Civetta, and J. D. Civetta, "Carcinogénesis," *Salud Publica Mex*, vol. 53, no. 5, pp. 405–414, 2011.
- [11] F. Arvelo and M. Poupon, "Aspectos moleculares y celulares de la metástasis cancerosa," pp. 304–312, 2001.
- [12] L. Alfonso, S. Armas, D. María, T. Andara, and G. N. Pedroso, "Metástasis hepática como forma de presentación de cáncer," vol. 54, no. 1, pp. 27–39, 2015.
- [13] V. Sáez, E. Hern, and L. S. Angulo, "Mecanismos de liberación de fármacos desde materiales polímeros," *Rev. Iberoam. Polímeros*, vol. 5, no. 1, pp. 55–70, 2004.
- [14] V. Sáez, E. Hernández, and L. López, "Liberación controlada de fármacos. aplicaciones biomédicas," *Rev. Iberoam. Polímeros*, vol. 4, no. 2, pp. 111–122, 2003.
- [15] W. E. S. Robert Byron Bird, Edwin N. Lightfoot, *Fenómenos de transporte*. 1992.
- [16] N. A. Peppas and B. Narasimhan, "Mathematical models in drug delivery: How modeling has shaped the way we design new drug delivery systems," *J. Control. Release*, vol. 190, pp. 75–81, 2014.
- [17] B. D. Weinberg, R. B. Patel, A. A. Exner, G. M. Saidel, and J. Gao, "Modeling doxorubicin transport to improve intratumoral drug delivery to RF ablated tumors," vol. 124, pp. 11–19, 2007.
- [18] J. Tezanos De La Herranz, "Aproximación a los Modelos Matemáticos Basados en Ecuaciones Diferenciales Ordinarias Usados en Quimioterapia. Aplicaciones y Limitaciones," 2017.
- [19] P. Real, "Estudio y desarrollo de modelos matemáticos de resistencia de resistencia a la quimioterapia .," 2016.
- [20] D. R. José Ángel Martín Castro, "La oncología. La realidad del cáncer. Abordaje general del paciente oncológico.," *Universidad Miguel Hernández de Elche*, 2014. .
- [21] E. C. Serrano and M. U. Fraile, "Polímeros inteligentes," *Universidad Carlos III de Madrid*, 2008.
- [22] R. R. Pablos, "Materiales inteligentes ( II ): Aplicaciones tecnológicas," 2004.
- [23] É. Hermida, "Polímeros," in *Materiales y materias primas*, 2011.
- [24] P. C. Ferreyra, "Polímeros naturales - Polímeros sintéticos," 2016. [Online]. Available: <https://slideplayer.es/slide/5405022/>.
- [25] M. B. y A. Marcilla, "Tecnología de polímeros," pp. 1–54, 2012.
- [26] N. L. Allinger, *Química orgánica*. 1978.
- [27] H. Staudinger, J. W. Hyatt, G. Eastman, and C. Nacional, "Polimerizacion," *Mi Quim. Org.*, vol. 2, pp. 9–19, 1966.
- [28] J. Fresneda, "Utilización De Hidrogeles Como," no. February 2017, p. 12, 2016.
- [29] J. L. Escobar, D. M. García, D. Zaldivar, and I. Katime, "Hidrogeles. Principales características en el diseño de sistemas de liberación controlada de fármacos," *Rev. Iberoam. Polímeros*, vol. 3, no. 3, pp. 1–25, 2002.
- [30] J. O.-P. C. e Tecnología and undefined 2013, "Síntesis de Hidrogeles Termosensibles de poli (N-isopropilacrilamida)-co-poli (N, N,-dimetilacrilamida)," *SciELO Bras.*, 2013.
- [31] et al Beija, Mariana, "Thin films of hydrophobically modified poly (N, N-dimethylacrylamide)," vol. 21, no. no 9, pp. 3940–3949, 2005.
- [32] "Sigma Aldrich®." [Online]. Available: [www.sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com).
- [33] L. Etchenausia, E. Deniau, J. Forcada, and M. Save, "Cationic Thermoresponse Poly( N -

- vinylcaprolactam) Microgels Synthesized by Emulsion Polymerization Using a Reactive Cationic Macro-RAFT Agent,” 2018.
- [34] “Applications: Free Radical Initiators,” Sigma Aldrich®, pp. 3–4.
- [35] Akrosorb™, “29582 egdma (75).”
- [36] V. B. Mathot, “Calorimetry and thermal analysis of polymers,” Hanser Publ., 1994.
- [37] L. A. Hernández-Zarazua, “Estudio de la estabilidad y evolución de emulsiones del tipo o/w mediante calorimetría diferencial de barrido (dsc) y dispersión dinámica de luz,” 2010.
- [38] D. A. Guzmán Campos, “Caracterización microestructural de la precipitación en aleaciones de Cu-Ni-Sn, mediante calorimetría diferencial de barrido y microdureza Vickers,” 2010.
- [39] et al. Suriñach, Santiago, “La calorimetría diferencial de barrido y su aplicación a la Ciencia de Materiales,” Bol. la Soc. Española Cerámica y Vidr., vol. 31, no. 1, pp. 11–17, 1992.
- [40] T. Theophanides, “Introductory Chapter Introduction to Infrared Spectroscopy,” no. April 2012, 2014.
- [41] S. Pedreira, “Ondas electromagnéticas,” 2012. [Online]. Available: <https://es.slideshare.net/silviapedreira1/ondas-electromagnéticas-14874977>.
- [42] et al Arcamone F, Cassinelli G, Fantini G, “Adriamycin, 14-hydroxydaunomycin, a new antitumor antibiotic from *S. peuceitius* var. *caesius*,” Biotechnol. Bioeng, vol. 11 (6), pp. 1101–10, 1969.
- [43] M. Tendler, “Reduced cardiotoxicity and comparable efficacy in a phase III trial of pegylated liposomal doxorubicin HCl (CAELYX™/Doxil®) versus conventional doxorubicin for first-line treatment of metastatic breast cancer,” Ann. Oncol., vol. 15, pp. 440–449, 2004.
- [44] et al. Kubecek Ondrej, “Extracorporeal elimination of circulating pegylated liposomal doxorubicin (PLD) to enhance the benefit of cytostatic therapy in platinum-resistant ovarian cancer patients.,” Acta Medica (Hradec Králové), vol. 58, no 1, pp. 3–8, 2015.
- [45] N. R. Moro, “Nuevas Estrategias en la administración y liberación de doxorubicina,” 2016.
- [46] K. Tam, “The roles of doxorubicin in hepatocellular carcinoma,” ADMET DMPK, vol. 1, no 3, pp. 29–44, 2013.
- [47] L. Harivardhan-Reddy and R. S. R. Murthy, “Estimación fluorimétrica del clorhidrato de doxorubicina en plasma, sangre entera y tejidos de ratas,” Ars Pharmaceutica, vol. 45, no. 2. pp. 131–144, 2004.
- [48] J. Samuel and P. Blanco, “Farmacocinética Clínica De Doxorubicina En Pacientes Diagnosticados De Linfoma No Hodgkin,” pp. 3–10, 2016.
- [49] F. F. L. Inés Castro Núñez, Eduardo Echarri Arrieta, Medicamentos citostáticos, vol. 4a Edición. Sociedad Española de Farmacéuticos de Hospitales, 2003.
- [50] P. J. Zhang, X.; Meng, L.; Lu, Q.; Fei, Z.; Dyson, “Targeted delivery and controlled release of doxorubicin to cancer cells using modified single wall carbon nanotubes,” Biomaterials, vol. 30, pp. 6041–6047, 2009.
- [51] A. E. V. Ramos, Jorge Castro; Luna, “Espectroscopia Raman y sus aplicaciones,” spectroscopy, vol. 36, pp. 1059–1067, 2005.
- [52] D. de I. Química, “Espectroscopia Ultravioleta - Visible,” Univ. Carlos III Madrid, pp. 1–9, 2010.
- [53] R. Loudon, “La teoría cuántica de la luz.,” OUP Oxford, 2000.
- [54] J. O. Cano, Vanessa Gutierrez; Márquez, “Espectroscopia Raman: Fundamento y aplicaciones,” 2014.
- [55] A. Gersten, Joel; Nitzán, “Teoría electromagnética de la dispersión Raman mejorada por moléculas adsorbidas sobre superficies rugosas,” El J. Chem. Phys., vol. 73, no. 7, pp. 3023–3037, 1980.
- [56] X. S. Cheng, Ji-Xin; XIE, “Coherente anti-Stokes Raman microscopía de dispersión: instrumentación, teoría y aplicaciones,” 2004.
- [57] et al Pollard, W. Thomas, “Teoría de la espectroscopía de absorción dinámica de estados no estacionarios,” J. Phys. Chem., vol. 96, no. 15, pp. 6147–6158, 1992.
- [58] A. Rodríguez, “Estudio de la síntesis y caracterización de nanopartículas de magnetita por métodos electroquímicos,” pp. 30–31, 2012.
- [59] U. S. R.M. Cornell, The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses, Second ed. Wiley-VCH, Weinheim, 2003.
- [60] V. E. Noval and C. O. Puentes, “Magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>): Una estructura inorgánica con múltiples aplicaciones en catálisis heterogénea,” Universidad Nacional de Colombia, 2016.
- [61] R. B.-G. García-Cerda, O.S. Rodríguez-Fernández, “Síntesis y propiedades de ferrofluidos de magnetita,” Soc. Mex. Cienc. y Tecnol. Superf. y Mater. A.C., vol. 16, pp. 28–31, 2003.
- [62] B. S. Rodríguez, “Síntesis y funcionalización covalente de nanopartículas superparamagnéticas para imagen biomédica,” 2014.
- [63] J. Liekens, S., De Clercq, E. & Neyts, “Angiogenesis: regulators and clinical applications.,” Biochem. Pharmacol., vol. 61, pp. 253–270, 2001.
- [64] C. H. L. D.F. Shriver, P.W. Atkins, Química inorgánica Vol. 1. 1997.
- [65] K. F. Chamé, “Síntesis y Caracterización de Nanopartículas Magnéticas,” Tesis Maest., p. 87, 2013.

- [66] M. Mahmoudi, S. Sant, B. Wang, S. Laurent, and T. Sen, "Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): Development, surface modification and applications in chemotherapy," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 63, no. 1–2, pp. 24–46, 2011.
- [67] A. Hernandez-Martinez et al., "Novel Biocompatible and Biodegradable PCL-PLA/ Iron Oxide NPs Marker Clip Composite for Breast Cancer Biopsy," *Polymers (Basel)*, vol. 10, no. 12, p. 1307, 2018.
- [68] A. M. Viviana S. de Lozano, María Julia Yáñez, *Principios y práctica de la Microscopía Electrónica*. 2014.
- [69] Instituto potosino de investigación científica y tecnológica, "International union of crystallography texts on crystallograph," pp. 1–30.
- [70] Universidad Carlos III de Madrid, "Difracción de Rayos X en Polímeros," *Curso Caracter. Mater.*, pp. 1–22, 2015.
- [71] J. Bernstein and G. R. Desiraju, *International union of crystallography texts on crystallograph*. Oxford Press University, 2009.
- [72] V. A. P. R. Carolina Trujillo Sáenz, "Caracterización mossbauer de minerales de hierro en rocas naturales," *Rev. Investig. Física*, vol. 3, pp. 32–40, 2000.
- [73] A. M. Loske, "The role of energy density and acoustic cavitation in shock wave lithotripsy," *Ultrasonics*, vol. 50, no. 2, pp. 300–305, 2010.
- [74] et al Moosavi-Nejad, S. Fatemeh, "Shock wave induced cytoskeletal and morphological deformations in a human renal carcinoma cell line," *Cancer Sci.*, vol. 97, no. 4, pp. 296–304, 2006.
- [75] et al. Gerdesmeyer, L., "Physical-technical principles of extracorporeal shockwave therapy (ESWT)," *Orthopade*, vol. 31, no. 7, pp. 610–617, 2002.
- [76] "Práctica 4: medida de viscosidades y densidades," pp. 1–13.
- [77] C. Gianni, L.; Munzone, E.; Capri, G.; Fulfaro, F.; Tarenzi, E.; Villani, F.; Spreafico, C.; Laffranchi, A.; Caraceni, A.; Martini, "Paclitaxel by 3-hour infusion in combination with bolus doxorubicin in women with untreated metastatic breast cancer: High antitumor efficacy and cardiac effects in a dose-finding and sequence-finding study," *Biomaterials*, vol. 13, pp. 2688–2699, 1995.
- [78] A. L. Ramos-jacques, J. A. Lujan-montelongo, C. Silva-cuevas, M. Cortez-valadez, and M. Estevez, "Lead ( II ) removal by poly ( N , N -dimethylacrylamide- co -2-hydroxyethyl methacrylate )," *Eur. Polym. J.*, vol. 101, no. January, pp. 262–272, 2018.
- [79] C. Fang, Y. Jing, Y. Zong, and Z. Lin, "Effect of N , N-dimethylacrylamide ( DMA ) on the comprehensive properties of acrylic latex pressure sensitive adhesives," *Int. J. Adhes. Adhes.*, vol. 71, pp. 105–111, 2016.
- [80] H. Kolya, T. Tripathy, and P. A. M. Pdma, "Biodegradable flocculants based on polyacrylamide and poly ( N , N-dimethylacrylamide ) grafted amylopectin," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 70, pp. 26–36, 2014.
- [81] A. Usanmaz, "Polymerization of N-Vinylcaprolactam and Characterization of Poly ( N-Vinylcaprolactam )," no. September, 2015.
- [82] M. Sheu et al., "Codelivery of doxorubicin-containing thermosensitive hydrogels incorporated with docetaxel-loaded mixed micelles enhances local cancer therapy," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 143, pp. 260–270, 2016.