



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO**  
**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

“Nanopartículas electromagnéticas como nueva forma farmacéutica.”

**TESIS**

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS**

PRESENTA

Q.F.B. Casillas Popova Sofía Nieves

Tutor: Dr. Jesús Gracia Mora  
Facultad de Química, Departamento de Química Inorgánica y Nuclear,  
UNAM

Ciudad de México, junio 2020.



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.

## Jurado asignado

Presidente: Dr. Luis Emilio Orgaz Baqué  
Vocal: Dra. Luz María Melgoza Contreras  
Vocal: Dr. Alfonso Ramón García Márquez  
Vocal: Dra. Viridiana Gisela Llera Rojas  
Secretario: Dr. Gerardo Leyva Gómez

Asesor del tema: Dr. Jesús Gracia Mora

Supervisor técnico: No aplica

**Sustentante: Casillas Popova Sofía Nieves**

Sitio donde se desarrolló el tema:

Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Facultad de Química, Unidad de Posgrado, Edificio B, Departamento de Química Inorgánica y Nuclear, Laboratorio 100.

Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Facultad de Química, Unidad de Posgrado, Edificio F-1, Departamento de Farmacia, Laboratorio del sistemas de liberación de fármacos.

## Agradecimientos.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Química porque más que ser una institución son mi hogar.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para realizar mis estudios de Maestría en Ciencias Químicas, con número de CVU 826910.

A la Dirección General de Asuntos de Personal Académico de la Universidad Nacional Autónoma de México (DGAPA-UNAM) por el apoyo PAPIIT IT201518 “Síntesis y caracterización de sistemas nanohíbridos superparamagnéticos con posible aplicación en el tratamiento del cáncer.”

Al programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado (PAEP) por el apoyo económico otorgado durante el congreso “22<sup>nd</sup> International Conference and Exhibition on Pharmaceutical Formulations” en Valencia, España.

A mi asesor, el Dr. Jesús Gracia Mora por su dedicación, guía, apoyo y confianza durante el desarrollo del presente trabajo.

Al Dr. Josué Romero del Instituto de Investigaciones en Materiales de la UNAM, por el apoyo proporcionado durante la caracterización con las técnicas de TEM y SEM.

Al Dr. Gustavo Tavizon Alvarado y al Instituto de Física de la UNAM, por el apoyo durante la caracterización magnética de las muestras.

A los miembros del jurado, por el tiempo invertido y sus valiosas aportaciones durante la revisión de la tesis.

A la Dra. Ruth Ivonne Téllez Ballesteros por su infinito apoyo y cariño durante mi formación a nivel licenciatura y maestría, porque más que un docente o una asesora, es mi modelo a seguir.

A mi madre, Margarita S. Popova, por ser un ejemplo de una mujer noble, fuerte y amorosa, por enseñarme que nada es imposible, alentarme a siempre ser mejor y confiar en mi aun cuando yo no lo hago.

A mis padre, Ricardo Casillas Rojas, por tu amor incondicional y por alentarme a ser una mujer fuerte e independiente.

A Néstor Rubén García García, quien permanece siempre a mi lado y busca lo mejor para mí. Se dice que el amor es una distracción para las personas, pero para mí, el amor eres tú, una motivación, inspiración y apoyo.

A Katherine Casillas Popova y a Johjan Saúl Hernández Jimeno por su amor incondicional, por estar presentes en mi vida y por los grandes momentos de felicidad que siempre me han causado. Estoy muy orgullosa de ustedes.

A mis amigos, les agradezco el apoyo y la compañía durante la licenciatura y la maestría, con ustedes mi vida ha sido muy divertida. Me gusta saber que, aunque pase el tiempo y aumente la distancia entre nosotros siempre están ahí para todo.

A Nallely M. García Gómez, por siempre hacerme reír.

A Diana Tiburcio González. por tus consejos y comprenderme en momentos difíciles.

A Camila Campos Escamilla, por siempre dedicarme un poquito de tu tiempo.

A Rodrigo T. Camacho porque conocerte es genial, te quiero mucho.

A Alán Abán Estrella, por siempre escuchar cuando tengo algo que contar.

A K. Nagibe Chávez Pérez por ser bien chévere, no hay otra forma de definirte.

A David Ramírez Hernández, uno de mis primeros amigos en la facultad quien me ha acompañado y protegido siempre.

A René Axel Sánchez Alonso, esperando que me leas y sepas que cuentas conmigo.

## Índice.

Glosario de abreviaturas.....	5
Índice de Figuras.....	9
índice de tablas.....	12
Resumen.....	13
Abstract.....	14
1.0 Antecedentes.....	15
1.1 Formas farmacéuticas.....	15
1.1.1 Definición de formas farmacéuticas.....	15
1.1.2 Definición de formas farmacéuticas de liberación modificada.....	15
1.1.3 Clasificación de las formas farmacéuticas de liberación modificada.....	16
1.1.3.1 Formas farmacéuticas de perfiles de liberación definidos.....	16
1.1.3.2 Formas farmacéuticas órgano dirigido.....	17
1.1.3.3 Formas farmacéuticas reguladas por retroalimentación.....	17
1.1.3.4 Formas farmacéuticas sensibles a estímulos.....	18
1.1.4 Sistemas magnetoeléctricos como nueva forma farmacéutica.....	18
1.1.4.1 Selectividad de las nanopartículas magnetoeléctricas y potencial de membrana.....	19
1.1.4.2 Electronanoporación.....	20
1.2 Materiales nanoestructurados.....	21
1.3 Ciencias de los materiales.....	24
1.3.1 Clasificación de los materiales.....	24
1.3.1.1 Materiales metálicos y cerámicos.....	25
1.3.1.2 Materiales poliméricos.....	25
1.3.1.2.1 Polímeros sensibles a estímulos.....	26
1.3.1.3 Materiales compuestos.....	27
1.4 Materiales multiferróicos.....	27
1.4.1 Materiales ferroeléctricos.....	28
1.4.1.1 Titanato de bismuto.....	29

1.4.1.2	Titanato de bario.....	30
1.4.2	Materiales magnéticos.....	30
1.4.2.1	Magnetita.....	31
1.4.2.2	Ferrita de cobalto.....	32
1.4.2.3	Magnetofricción.....	33
1.5	Descripción de la enfermedad a tratar: el cáncer.....	34
1.6	Tratamiento farmacológico.....	36
1.6.1	Metotrexato.....	37
1.6.2	Propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas del metotrexato.....	39
2.0	Planteamiento del problema.....	40
3.0	Justificación.....	41
4.0	Hipótesis.....	41
5.0	Objetivo general.....	41
5.1	Objetivos particulares.....	41
6.0	Materiales y métodos.....	43
6.1	Síntesis de nanopartículas tipo núcleo recubrimiento.....	43
6.1.1	Síntesis de magnetita.....	43
6.1.2	Síntesis de la ferrita de cobalto.....	43
6.1.3	Recubrimiento de núcleos magnéticos con titanato de bario.....	44
6.1.4	Recubrimiento de núcleos magnéticos con titanato de bismuto.....	45
6.2	Síntesis de polímero termosensible: PNIPAm.....	46
6.3	Recubrimiento de nanopartículas tipo núcleo recubrimiento con PNIPAm.....	47
7.0	Métodos de caracterización.....	48
7.1	Difracción de rayos X en polvos.....	48
7.2	Microscopía electrónica de barrido.....	49
7.3	Microscopía electrónica de transmisión.....	49
7.4	Magnetometría: magnetización en función de la temperatura y del campo magnético.....	50
7.5	Magnetofricción.....	50
7.6	Potencial Z y tamaño de partícula mediante dispersión dinámica de luz.....	51

7.7	Análisis Térmico: Calorimetría diferencial de barrido.....	52
7.8	Espectroscopia de absorción en el infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) ..	53
7.9	Análisis elemental.....	53
7.10	Espectroscopia de absorción en uv-visible.....	53
7.11	Evaluación de las nanopartículas como acarreador de fármacos: cinéticas e isotermas de adsorción y perfiles de liberación del metotrexato. ....	54
7.11.1	Estudios de adsorción del metotrexato.....	54
7.11.2	Evaluación de los efectos de la temperatura, cantidad adsorbida de metotrexato y la presencia de un campo magnético alterno en los perfiles de liberación del metotrexato.....	55
7.12	Análisis estadístico.....	57
8.0	Resultados y discusión.....	58
8.1	Difracción de rayos X en polvos.....	58
8.2	Microscopía electrónica de barrido. ....	67
8.3	Microscopía electrónica de transmisión. ....	69
8.4	Tamaño de cristalito, tamaño de partícula y distorsión de la red cristalina. ....	74
8.5	Magnetometría: Magnetización en función de la temperatura y del campo magnético.....	78
8.6	Magnetofricción. ....	84
8.7	Determinación de la LCST de polímeros termosensibles.....	86
8.8	Efecto de la fuerza iónica en la LCST. ....	91
8.9	FTIR: Determinación de la estructura del polímero 87. ....	92
8.10	Caracterización de las nanopartículas con recubrimiento polimérico: TEM, FTIR, contraste Z y análisis elemental. ....	94
8.11	Tamaño de partícula en nanopartículas con recubrimiento polimérico. ....	99
8.12	Estabilidad en dispersión: potencial Z.....	100
8.13	Evaluación de las nanopartículas como acarreador de fármacos: cinéticas e isotermas de adsorción. ....	103
8.14	Evaluación de las nanopartículas como acarreador de fármacos: Perfiles de liberación del metotrexato bajo la influencia de la temperatura y la hipertermia magnética. ....	111
9.0	Conclusión. ....	118

10.0	Perspectivas.....	118
11.0	Anexos. ....	120
	Anexo 1. Microscopía electrónica de barrido y de transmisión de las nanopartículas en proporciones 67-33 y 50-50 de núcleo y recubrimiento.....	120
	Anexo 2. Espectros de dispersión de rayos X emitidos durante la técnica de microscopía electrónica de transmisión. ....	121
	Anexo 3. Magnetometría: magnetización en función de la temperatura. ....	123
	Anexo 4. Efecto de la concentración sobre la capacidad de calentamiento de las nanopartículas sometidas a un campo magnético alterno. ....	130
	Anexo 5. Determinación de la LCST por métodos ópticos y calorimétricos. ....	131
	Anexo 6. Contraste Z. ....	132
	Anexo 7. Curvas de calibración del metotrexato en agua y solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M a pH 7.4.....	134
	Anexo 8. Modelos de las cinéticas de adsorción.....	135
	Anexo 9. Isotherma de adsorción de la cobalto ferrita recubierta con titanato de bismuto. ....	135
	Anexo 10. Modelos de las isotermas de adsorción.....	137
	Anexo 11. Modelos de ajuste para perfiles de liberación.....	137
	Anexo 12. Predominancia de los mecanismos difusivos y de relajación sobre la liberación. ....	138
12.0	Bibliografía.....	139

## Glosario de abreviaturas.

Abreviatura	Significado
A <sub>2A</sub>	Receptor de adenosina tipo 2A
A <sub>2B</sub>	Receptor de adenosina tipo 2B
AICAR	5-aminoimidazol-4carboxiamida ribonucleótido
AICART	5-aminoimidazol-4carboxiamida ribonucleótido transformilasa
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AML2	Línea celular de leucemia mieloide aguda
AMPD	Adenosina monofosfato desaminasa
ANADEVA	Análisis de la varianza
ARN	Ácido ribonucleico
Ba <sup>2+</sup>	Bario en estado de oxidación II
BaCO <sub>3</sub>	Carbonato de bario
BaTiO <sub>3</sub>	Titanato de bario
Bi(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ·5H <sub>2</sub> O	Nitrato de bismuto pentahidratado
Bi <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -TiO <sub>2</sub>	Sistema con cuatro sistemas estables, el Bi <sub>2</sub> Ti <sub>4</sub> O <sub>11</sub> , Bi <sub>12</sub> TiO <sub>20</sub> , Bi <sub>2</sub> Ti <sub>2</sub> O <sub>7</sub> y Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub>
Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub>	Titanato de bismuto
Cl <sup>-</sup>	Ion cloruro
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	Cloruro de cobalto hexahidratado
CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	Cobalto ferrita
Célula NK	Célula asesina (Traducido de sus siglas en inglés <i>Natural Killer</i> )
DE	Desviación estándar
DHF	Dihidrofolato
DHFR	Dihidrofolato reductasa
DSC	Calorimetría diferencial de barrido (traducido del inglés <i>Differential Scanning Calorimetry</i> )
dUMP	Desoxiuridina monofosfatp
EEM	Error estándar de la media

EMA	Agencia Europea de Medicamentos (Traducido del inglés <i>European Medicines Agency</i> )
Fe <sup>2+</sup>	Hierro en estado de oxidación II
Fe <sup>3+</sup>	Hierro en estado de oxidación III
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	Magnetita
α-Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Hematita
FeCl <sub>3</sub> •6H <sub>2</sub> O	Cloruro férrico hexahidratado
FeCl <sub>2</sub> •4H <sub>2</sub> O	Cloruro ferroso tetrahidratado
FAICAR	Formil-5-aminoimidazol-4-carboxiamida ribonucleótido
FDA	Administración de alimentos y medicamentos (Traducido de sus siglas en inglés <i>Food and Drug Administration</i> ).
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
FPGS	Folipoliglutamato sintetasa
FTIR	Espectroscopía de infrarrojo con transformada de <i>Fourier</i> (Traducido de sus siglas en inglés <i>Fourier Transform Infrared</i> )
GARFT	β-glicinamida ribonucleótido transformilasa
H <sub>a.c.</sub>	Campo magnético alterno
H <sub>d.c.</sub>	Campo magnético directo
HNO <sub>3</sub>	Ácido nítrico
H <sub>2</sub> Ti <sub>5</sub> O <sub>11</sub> •H <sub>2</sub> O	Pentatitanato protonado monohidratado
ICDD	Centro internacional de Datos de difracción (Traducido de sus siglas en inglés <i>International Centre for Diffraction Data</i> )
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
IPD	Índice de polidispersidad
K <sup>+</sup>	Ion potasio
LCST	Temperatura crítica inferior de la solución (Traducido de sus siglas en inglés <i>Lowest Critical Solution Temperature</i> )
MCF	Línea celular de adenocarcinoma humano de mama.
MDA-MB	Línea celular de cáncer de mama hormona independiente

$M_r$	Magnetización remanente
$M_s$	Magnetización de saturación
MTX	Metotrexato
$Na^+$	Ion sodio
$NaH_2PO_4 \cdot H_2O$	Fosfato de sodio monobásico monohidratado
$Na_2HPO_4$	Fosfato de sodio dibásico anhidro
NaOH	Hidróxido de sodio
NB4	Línea celular de maduración inducible
NP	Nanopartículas
NPM	Nanopartículas magnetoeléctricas
$N_2$	Nitrógeno
OMS	Organización mundial de la salud
pH	Potencial de hidrógeno
PEG	Polietilenglicol
PNIPAm	Poli(N-isopropilacrilamida)
PZCN	Punto neto de carga cero (traducido de sus siglas en inglés, <i>Point of Zero Net Charge</i> )
RAM	Reacciones adversas a medicamentos
RFC	Receptor de folato reducido (Traducido de sus siglas en inglés <i>Reduced folate Carrier</i> )
RKKY	Ruderman, Kittel, Kasuya Yoshida
SAR	Tasa de absorción específica (traducido de sus siglas en inglés <i>Specific Absorption Rate</i> )
SEM	Microscopía electrónica de barrido (Traducido de sus siglas en inglés <i>Scanning Electron Microscopy</i> )
S/I	Sin información
SIDA	Síndrome de inmunodeficiencia humana
TEM	Microscopía electrónica de transmisión (Traducido de sus siglas en inglés <i>Transmission Electron Microscopy</i> )

TEMED	<i>N, N, N', N'</i> -Tetrametilendiamina
THF	Tetrahidrofolato
Ti(OC <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ) <sub>4</sub>	Butóxido de titanio IV
Ti <sup>4+</sup>	Titanio en estado de oxidación IV
T <sub>g</sub>	Temperatura de transición vítrea
TS	Timidilato sintetasa
UCST	Temperatura crítica superior de la solución (Traducido de sus siglas en inglés <i>Upper Critical Solution Temperature</i> )
UV	Ultravioleta
V <sub>m</sub>	Potencial de membrana
ZFC	Calentamiento en campo frío (traducido de sus siglas en inglés, <i>zero field-cooled</i> )
10-FTHF	10-Formil-Tetrahidrofolato
ΔQ	Delta de calor
ΔG	Energía libre de Gibbs

## Índice de Figuras.

Figura 1. Sistemas de liberación modificada.....	16
Figura 2. Mecanismos de citotoxicidad mediada por anticuerpos. ....	17
Figura 3. Mecanismo de liberación y entrega de las nanopartículas magnetoelectricas.....	19
Figura 4. Mecanismo de formación de poros en la membrana celular (modificado de Casicola & Tarek, 2016). ....	21
Figura 5. Clasificación de los materiales nanoestructurados. ....	23
Figura 6. Clasificación de los materiales. ....	24
Figura 7. Clasificación de los polímeros. ....	25
Figura 8. Polímeros termosensibles tipo LCST (modificado de Holehouse & Pappu, 2015). ....	26
Figura 9. Poli-(N-isopropilacrilamida). ....	27
Figura 10. Materiales multiferróicos (modificado de Spaldin, N. A., 2017). ....	28
Figura 11. Estructura cristalina del titanato de bismuto (modificado de Snedden et al., 2004).....	29
Figura 12. Celda unidad del BaTiO <sub>3</sub> (modificado de Hummel, 2004). ....	30
Figura 13. Clasificación de los materiales magnéticos. ....	31
Figura 14. Estructura cristalina de la Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> (modificado de Khan et al., 2011).....	32
Figura 15. Procesos distintivos del crecimiento tumoral (modificado de Hanahan & Weinberg, 2011).....	34
Figura 16. Clasificación de fármacos antineoplásicos. ....	37
Figura 17. Mecanismo de acción del metotrexato.....	38
Figura 18. Protocolo de las a) cinéticas de adsorción y b) los perfiles de liberación el metotrexato. 56	
Figura 19. Patrones de difracción de rayos X en polvos de los sistemas de nanopartículas tipo núcleo-recubrimiento CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> de diferente composición. ....	59
Figura 20. Patrones de difracción de rayos X en polvos de los sistemas de CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub> de diferente composición.....	61
Figura 21. Patrones de difracción de rayos X en polvos de los sistemas de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> de diferente composición. ....	63
Figura 22. Patrones de difracción de polvos del sistema Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub> . ....	64
Figura 23. Microscopía electrónica de barrido de los sistemas de composición 83-17 de las nanopartículas de CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> (a), CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub> (b), Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> (c) y Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub> (d).68	
Figura 24. Microscopía electrónica de barrido de los sistemas a) CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> (33-67), b) CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub> (33-67), c) Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> (33-67) y d) Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub> (83-17).....	69
Figura 25. Microscopía electrónica de transmisión de a) CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> (50-50), b) CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub> (50-50) y c) Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> (50-50). ....	70
Figura 26. Microscopía electrónica de transmisión y patrón de difracción de electrones de la a) CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> , b) Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> , c) BaTiO <sub>3</sub> y d) Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub> . ....	72
Figura 27. Microscopía electrónica de transmisión de a) H <sub>2</sub> Ti <sub>5</sub> O <sub>11</sub> ·H <sub>2</sub> O y b) γ-Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> . ....	73
Figura 28. Microscopía electrónica de transmisión del sistema CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> (83-17). ....	73
Figura 29. Gráfica de barras y distribución del tamaño de partícula. ....	76
Figura 30. Curva de histéresis de los sistemas CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> , CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub> 83-17, CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub> 50-50 a una temperatura de 300 K. ....	79
Figura 31. Curva de histéresis de CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> , CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> 83-17 y CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> 50-50 a una temperatura de 300 K.....	79

Figura 32. Curva de histéresis de los sistemas a) $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ 83-17, $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ 50-50, con ampliación a los sistemas de proporción b) 50-50 y c) 83-17 a una temperatura de 300 K. ....	81
Figura 33. Curva de histéresis del sistema $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ 83-17 a una temperatura de 300 K (a) y estructura cristalina de la hematita a lo largo del eje c (b). ....	82
Figura 34. Curva del incremento de temperatura por unidad de tiempo para $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ , $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ 50-50, $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ 50-50 y $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ 50-50. ....	84
Figura 35. Determinación de la LCST en agua destilada mediante métodos ópticos en una concentración de 0.001 g/mL. ....	87
Figura 36. Influencia de la fuerza iónica en la LCST del polímero 87. ....	91
Figura 37. Espectros FTIR de la N-isopropilacrilamida, N,N'-Metilenbisacrilamida y el P87. ....	93
Figura 38. Microscopías de a) $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ , b) $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ y c) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ en una proporción 50-50 recubiertas de polímero 87 con la técnica de TEM. ....	95
Figura 39. Microscopía de a) nanogeles con nanopartículas aisladas y b) nanogel aislado mediante la técnica de STEM y TEM obtenidas del sistema $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ en proporción 50-50. ....	95
Figura 40. Espectro FTIR de los sistemas a) $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ con polímero 87, b) $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ , con polímero 87, c) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ con polímero 87 y d) el polímero 87. ....	97
Figura 41. Potencial Z de los sistemas nanométricos y materiales precursores a pH 7.4. ....	101
Figura 42. Cinéticas de adsorción de los sistemas $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ , $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ , y $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ con recubrimiento polimérico (10.0 mg) en un intervalo de concentración entre $10^{-5}$ y $10^{-4}$ M, a 25 °C, en 10.0 mL de agua destilada con agitación constante a 200 rpm. ....	104
Figura 43. Isotermas de adsorción de $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ , $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ y $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ con recubrimiento polimérico. ....	106
Figura 44. Isotermas de adsorción con y sin sonicación a los 480 min, a 25 °C con 10.0 mg de nanopartículas en 10.0 mL de agua destilada con agitación constante a 200 rpm. ....	107
Figura 45. Ajuste de la isoterma de adsorción con el modelo de Freundlich. ....	110
Figura 46. Perfiles de liberación a diferentes temperaturas y cantidad de metotrexato inicial. ....	112
Figura 47. Influencia de un campo magnético alterno y la temperatura en los perfiles de liberación del metotrexato. ....	116
Figura 48. Microscopía electrónica de barrido de las nanopartículas de $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ (a), $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ (b), $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ (c) y $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ (d) de proporción 67-33 y $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ (e), $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ (f), $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ (g) y $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ (h) de la proporción 50-50 en una escala de 100 nm. ....	120
Figura 49. Microscopía electrónica de transmisión de las nanopartículas de $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ (67-33). ....	121
Figura 50. Espectro de dispersión de rayos X emitidos durante la microscopia electrónica de transmisión de las nanopartículas de $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ . ....	121
Figura 51. Espectro de dispersión de rayos X emitidos durante la microscopia electrónica de transmisión de las nanopartículas de $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ . ....	122
Figura 52. Espectro de dispersión de rayos X emitidos durante la microscopia electrónica de transmisión de las nanopartículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ . ....	122
Figura 53. Espectro de dispersión de rayos X emitidos durante la microscopia electrónica de barrido de las nanopartículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ (a), $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ (b) y $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ (c). ....	123
Figura 54. Magnetización en función de la temperatura de la $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ a un campo magnético de 100 Oe siguiendo un protocolo ZFC. ....	123

Figura 55. Ciclos de histéresis de la $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ y la $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ en una proporción 83-17 a una temperatura de 50 K.....	124
Figura 56. Magnetización en función de la temperatura de la $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ y la $\text{Fe}_3\text{O}_4$ siguiendo un protocolo ZFC a un campo magnético de 100 Oe.....	126
Figura 57. Magnetización en función de la temperatura de la $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ (a) y la $\text{Fe}_3\text{O}_4$ (b) a un campo magnético de 100 Oe y un protocolo ZFC.....	128
Figura 58. Magnetización en función de la temperatura de la $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ (a) y la $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ (b) a un campo magnético de 100 Oe y un protocolo ZFC.....	129
Figura 59. Curva de la temperatura en función del tiempo para la $\text{Fe}_3\text{O}_4$ y la $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ sometidas a un campo de 17.4 kAm/m y una frecuencia de 100 kHz. ....	130
Figura 60. Primera (a) y segunda(b) derivada de la transmitancia en función de la temperatura....	131
Figura 61. Curvas calorimétricas para la determinación de la LCST (a) y la $T_g$ (b). ....	131
Figura 62. Contraste Z (a) y microscopía electrónica de transmisión con unidad de barrido (b) de las nanopartículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ en una proporción 50-50. ....	132
Figura 63. Microscopía electrónica de transmisión (a y c) y contraste Z (b y d) de las nanopartículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ recubiertas con polímero 87.....	133
Figura 64. Curva de calibración de metotrexato en agua (a) y en solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M a pH 7.4 (b). ....	134
Figura 65. Isotherma de adsorción de las nanopartículas de $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ (a) y diagrama de distribución de especies del metotrexato (b). ....	136
Figura 66. Predominancia de los mecanismos de liberación en el modelo Peppas Sahlin con $T_{lag}$ ..	138

## índice de tablas.

Tabla 1. Potencial de membrana de líneas celulares. <sup>21</sup> .....	20
Tabla 2. Tabla comparativa de las diferentes formas farmacéuticas .....	22
Tabla 3. Acarreadores nanométricos en el mercado. <sup>38,39</sup> .....	23
Tabla 4. Propiedades del sistema Bi <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -TiO <sub>2</sub> .....	29
Tabla 5. Descripción de los procesos distintivos de células tumorales. <sup>86</sup> .....	35
Tabla 6. Características de células sanas y células tumorales. <sup>24,88,89</sup> .....	36
Tabla 7. Propiedades farmacocinéticas y fisicoquímicas del metotrexato. <sup>93,97</sup> .....	39
Tabla 8. Proporción de reactivos utilizados para la síntesis del recubrimiento con BaTiO <sub>3</sub> .....	44
Tabla 9. Proporción de reactivos utilizados para la síntesis del recubrimiento con Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub> .....	45
Tabla 10. Proporciones monómero y entrecruzador .....	46
Tabla 11. Código de los patrones de difracción de compuestos estándar reportados por la ICDD. .	58
Tabla 12. Tamaño de cristalito y parámetro de deformación de la red cristalina. ....	74
Tabla 13. Diámetro de partícula y diámetro medio de la superficie circular y volumen.....	78
Tabla 14. Determinación de la LCST por ajuste a la función sigmoidea de Boltzmann. ....	88
Tabla 15. Índice de polidispersidad de los polímeros. ....	90
Tabla 16. Frecuencias de vibración de los grupos funcionales presentes en las materias primas y el polímero 87. <sup>112</sup> .....	92
Tabla 17. Análisis elemental de los sistemas CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> , CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub> y Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> 50-50 recubiertas de polímero 87. ....	96
Tabla 18. Diámetro de partícula medio (Diámetro promedio ± EEM) y el diámetro medio superficie esférica volumen de sistemas con y sin polímero.....	99
Tabla 19. Parámetros de la cinética de adsorción. ....	105
Tabla 20. Parámetros cinéticos del modelo de <i>Peppas-Sahlin</i> para la liberación de metotrexato en función de la temperatura y cantidad de metotrexato adsorbido.....	114
Tabla 21. Parámetros cinéticos del modelo de <i>Peppas-Sahlin</i> para la liberación de metotrexato a diferentes temperaturas y bajo la influencia de un campo magnético alterno. ....	117
Tabla 22. Modelos de ajuste de las cinéticas de adsorción. <sup>117</sup> .....	135
Tabla 23. Modelos de ajuste de las isotermas de adsorción. <sup>157</sup> .....	137
Tabla 24. Modelos de ajuste para la liberación. <sup>119,158</sup> .....	138

## Resumen.

Los materiales magnetoeléctricos son los compuestos multiferróicos más interesantes debido a su fascinante física y múltiples aplicaciones. Desde una perspectiva farmacéutica, dadas sus propiedades, las nanopartículas magnetoeléctricas como nuevos acarreadores de fármacos prometen mejorar la selectividad y eficiencia de la terapia.

Inicialmente, se propusieron cuatro sistemas de nanopartículas se tipo núcleo-recubrimiento, con posibles efectos magnetoeléctricos que, dado su composición, son sensibles a campos magnéticos externos y a la temperatura de las células tumorales. Mediante los métodos de coprecipitación y sol-gel se sintetizaron nanopartículas de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  y  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ , las cuales posteriormente se recubrieron con un polímero sensible a temperatura (PNIPAm) vía radicales libres.

De acuerdo con los patrones de difracción de rayos X, las micrografías TEM y SEM, los ciclos de histéresis de magnéticos, FTIR y el análisis elemental se logró obtener tres nanopartículas de tipo núcleo-cubierta recubiertas con PNIPAm, con un comportamiento superparamagnético que cumplen con las características adecuadas de morfología, tamaño y estabilidad química y térmica necesarias para utilizarlas como nanoacarreadores de fármacos. La transformación de nanopartículas superparamagnéticas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  a  $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$  durante su recubrimiento con  $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  limitó la aplicación de estas nanopartículas como acarreadores de fármacos debido a su comportamiento antiferromagnético.

Durante la evaluación de las nanopartículas como sistema de administración de fármacos, se eligió el metotrexato como fármaco modelo. Los estudios *in vitro* de adsorción y liberación del metotrexato, bajo diferentes condiciones de temperatura, cantidad de metotrexato adsorbido y la presencia de un campo magnético alterno revelaron que, independientemente de su composición, las nanopartículas mostraron un comportamiento fisicoquímico similar, debido a que estos procesos dependían principalmente del recubrimiento polimérico. La liberación de una mayor cantidad de metotrexato se logró bajo el efecto de un campo magnético alterno a  $36.5^\circ\text{C}$ .

## Abstract.

The magnetoelectric materials are the most interesting of the multiferroic compounds due to their fascinating physics and functionalities. From a pharmaceutical point of view, the new magnetoelectric core-shell nanocarriers are a promising drug delivery system that will improve the selectivity and efficiency of the current systems due to their electric and magnetic properties.

Here are proposed four different core-shell nanoparticles as new candidates for drug nanocarriers with possible magnetoelectric effects that respond to the tumoral cells temperature and to external alternating magnetic fields because of their thermo-responsive polymeric coating with PNIPAM and their magnetic cores, respectively. The proposed  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  and  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  polymer-coated nanoparticles were synthesized by coprecipitation, sol-gel method, and polymerization via free radicals, respectively.

The X-ray diffraction patterns, the TEM and SEM micrographs, the magnetization hysteresis loops, FTIR and elemental analysis results supported the obtention of three type core-shell nanoparticles coated with PNIPAM, with a superparamagnetic behavior that comply with the morphology, size, thermal and chemical stabilities characteristics required to be used as drug nanocarriers. The transformation of ferrimagnetic  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  into antiferromagnetic hematite ( $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) during the coating with  $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  limited the application of the nanoparticles as a drug delivery system.

During the evaluation of the nanoparticles as a drug delivery system, methotrexate was chosen as an antineoplastic model drug. The *in vitro* release and adsorption studies of methotrexate under several conditions of temperature, methotrexate amount and the presence of an alternating magnetic field revealed that independently of their composition the nanoparticles showed the same physicochemical behavior, which manifested as comparable drug release profiles and adsorption kinetics that mainly depended on the polymeric coating.

The best release performance of methotrexate from the nanoparticles was achieved under the effect of an alternating magnetic field at 36.5 °C.

## **1.0 Antecedentes.**

*“There is plenty of room at the bottom”*

Richard Feynman, American Physical Society Caltech, (1959).

### **1.1 Formas farmacéuticas.**

#### **1.1.1 Definición de formas farmacéuticas.**

Las ciencias farmacéuticas se han desarrollado rápidamente en los últimos años, por lo que es fácil olvidar que hace no menos de 50 años no existían tratamientos eficaces y seguros para enfermedades que implicaban la muerte prematura de millones de personas. <sup>1</sup> Sin embargo, a pesar del desarrollo en esta área aún prevalecen enfermedades sin tratamientos eficientes que implican un reto.

Las primeras formas farmacéuticas buscaban administrar cierta cantidad de fármaco en el cuerpo de manera específica, consistente y uniforme para generar una respuesta terapéutica con la menor cantidad de efectos adversos. <sup>2</sup> Estos sistemas denominados convencionales son una mezcla de uno o más fármacos con o sin aditivos que presentan características para su adecuada conservación, dosificación y administración <sup>3</sup> y se caracterizan por una liberación rápida del fármaco al cuerpo, donde el efecto terapéutico está limitado por la absorción. <sup>4</sup>

#### **1.1.2 Definición de formas farmacéuticas de liberación modificada.**

El reto que implica el tratamiento de diversas enfermedades dio lugar al desarrollo de nuevas generaciones de formas farmacéuticas que, dependiendo de sus propiedades y sus características fisicoquímicas, controlan la liberación de fármacos de manera uniforme independientemente de factores ambientales externos en el sitio de administración. <sup>2</sup> Las formas farmacéuticas de liberación modificada son sistemas de dosificación de fármacos diseñados para modificar el tiempo, la velocidad y/o el lugar de liberación de un fármaco para mejorar la eficiencia de la terapia, disminuir efectos adversos, reducir la frecuencia de

dosificación, etc. <sup>2,4,5</sup> A diferencia de los sistemas convencionales, el suministro del fármaco de los sistemas de liberación modificada está limitado por el proceso de liberación. <sup>4</sup>

### 1.1.3 Clasificación de las formas farmacéuticas de liberación modificada.

Las formas farmacéuticas de liberación modificada se clasifican con base en los mecanismos involucrados en la liberación como se muestra en la *figura 1*.



*Figura 1. Sistemas de liberación modificada.*

La clasificación divide a los sistemas de liberación en a) sistemas de perfil de liberación definidos, b) sistemas sensibles a estímulos externos, c) sistemas de retroalimentación donde la concentración de un agente detonador controla la liberación y finalmente d) los sistemas dirigidos a un órgano específico mediante el uso de anticuerpos monoclonales. <sup>4</sup>

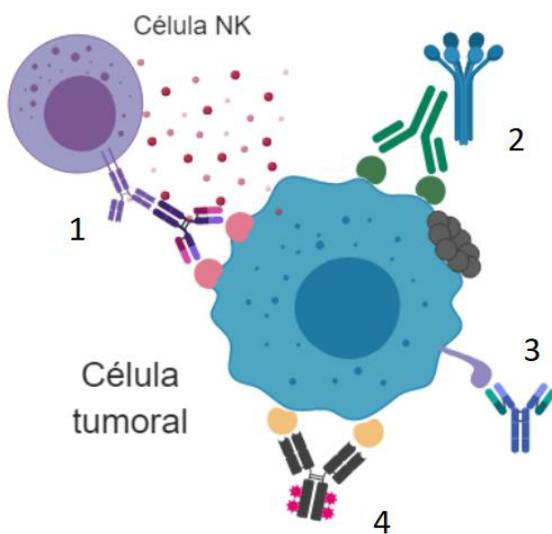
#### 1.1.3.1 Formas farmacéuticas de perfiles de liberación definidos.

Las formas farmacéuticas con perfiles de liberación definidos son sistemas cuyo diseño mantiene la concentración del fármaco en la sangre dentro del intervalo terapéutico durante un tiempo definido al controlar el proceso de difusión del fármaco. <sup>6</sup> Estos sistemas se

clasifican de acuerdo con dicho mecanismo en sistema matriciales, reservorio o micro reservorio, como se muestra en la *figura 1*, o con base en el tiempo de liberación en formas de liberación sostenidas o retardadas. <sup>4</sup>

### 1.1.3.2 Formas farmacéuticas órgano dirigido.

Los sistemas órgano dirigido utilizan anticuerpos monoclonales para dirigir un fármaco a un órgano al aprovechar la afinidad y especificidad de los anticuerpos hacia sus antígenos, disminuyendo efectos adversos y aumentando la biodisponibilidad del fármaco. Los anticuerpos monoclonales se emplean en el tratamiento del cáncer debido a sus efectos citotóxicos en las células tumorales mediados por cuatro mecanismos primordiales ilustrados en la *figura 2*. <sup>7</sup>



*Figura 2. Mecanismos de citotoxicidad mediada por anticuerpos.*

*Los mecanismos de citotoxicidad celular de los anticuerpos están mediados por 1) las células del sistema inmune, 2) el sistema complemento, que culmina en la formación del complejo de ataque a membrana, 3) la neutralización por unión a receptores y la posterior inhibición de cascadas de señalización y 4) la entrega específica de fármacos. <sup>7</sup>*

### 1.1.3.3 Formas farmacéuticas reguladas por retroalimentación.

Las formas farmacéuticas reguladas por retroalimentación son sistemas con mecanismos de respuesta a estímulos externos, que generalmente mimetizan los mecanismos fisiológicos homeostáticos. Estos sistemas controlan la liberación del fármaco como respuesta a la concentración de ciertas sustancias denominadas agentes detonantes. <sup>8</sup> Un ejemplo común de este tipo de sistemas son los reservorios que liberan insulina dependiendo de la concentración plasmática de glucosa. <sup>4</sup>

#### 1.1.3.4 Formas farmacéuticas sensibles a estímulos.

Las formas farmacéuticas sensibles a estímulos son sistemas que responden de manera dinámica a los estímulos en el ambiente celular.<sup>9</sup> Los estímulos más comunes para controlar la liberación de fármacos son el pH, la presión osmótica, temperatura, fuerza iónica, campos magnéticos, entre otros. Actualmente, los sistemas sensibles a más de un estímulo han mejorado el proceso de liberación del fármaco.<sup>10</sup> Las nanopartículas magnetoeléctricas se encuentran en esta clasificación.<sup>11</sup>

#### 1.1.4 Sistemas magnetoeléctricos como nueva forma farmacéutica.

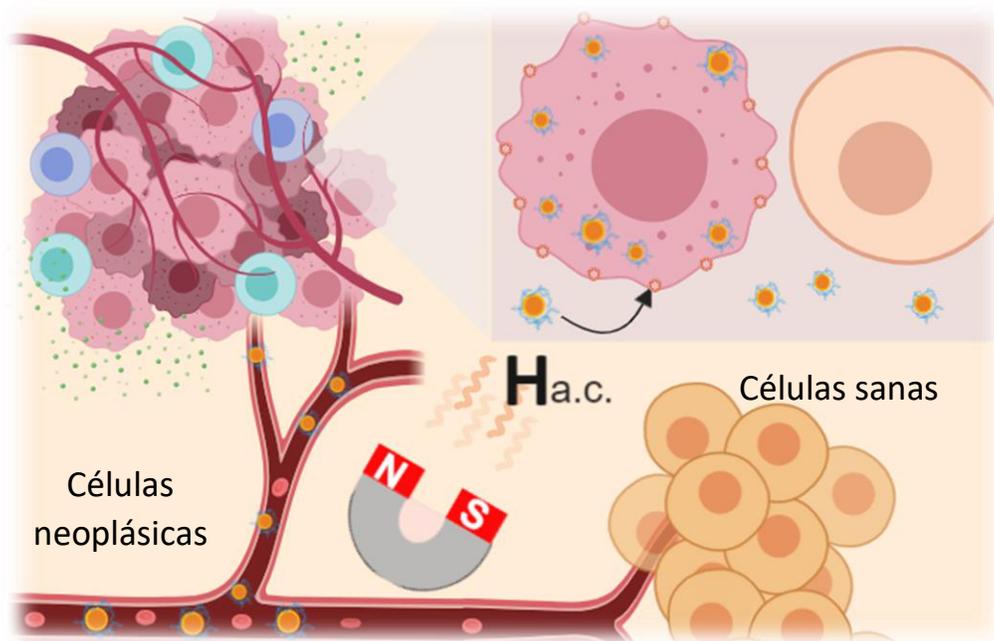
Los acarreadores magnetoeléctricos son un subgrupo de materiales multiferróicos que presentan el efecto magnetoeléctrico, un fenómeno que induce la polarización de un material bajo la aplicación de un campo magnético o que provoca la magnetización de un material por la imposición de un campo eléctrico externo.<sup>11</sup> Debido al efecto magnetoeléctrico, este tipo de acarreadores controla la entrega y liberación de fármacos en regiones localizadas mediante la aplicación de campos magnéticos externos, convirtiéndolos en acarreadores sensibles a estímulos.<sup>12</sup> Al considerar las propiedades únicas de las nanopartículas magnetoeléctricas, se ha propuesto un posible mecanismo de entrega y liberación de fármacos (*figura 3*).

La aplicación de nanopartículas (NP) magnetoeléctricas como sistemas acarreadores representa una nueva posibilidad para optimizar y mejorar el tratamiento de enfermedades como el síndrome de inmunodeficiencia humana (SIDA), el cáncer y enfermedades del sistema nervioso central que actualmente no son eficientemente tratadas.<sup>11</sup> En el caso del cáncer, prometen superar uno de los principales retos en su tratamiento, la entrega y liberación específica de fármacos a las células tumorales sin afectar células sanas.<sup>13</sup>

Las nanopartículas magnetoeléctricas son un sistema en vías de desarrollo que ha demostrado resultados para el tratamiento del cáncer en líneas celulares,<sup>12</sup> para la entrega de péptidos,<sup>14</sup> el tratamiento del sida,<sup>15</sup> el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central,<sup>16</sup> modular la actividad neuronal<sup>17</sup> y como sistemas diagnósticos.<sup>18</sup> A pesar

de los múltiples avances, aún falta caracterizar los materiales del sistema, comprobar el mecanismo de liberación propuesto, realizar estudios de liberación *in vitro*, de adsorción, de toxicidad y optimizar los parámetros farmacocinéticos.

Aunque existan estudios de las nanopartículas magnetoeléctricas para el tratamiento del sida o leucemias, cabe resaltar que podrían ser ineficientes para su tratamiento debido a que las células se encuentran dispersas en todo el cuerpo.



*Figura 3. Mecanismo de liberación y entrega de las nanopartículas magnetoeléctricas. Debido a su composición, las nanopartículas magnetoeléctricas pueden dirigirse a un órgano blanco, en donde debido a la aplicación de un campo magnético externo generan un campo eléctrico a nivel celular, el cual induce la electroporación de ciertas células dependiendo de su valor de potencial de membrana. La formación de poros de escala nanométrica en la membrana celular permite la entrada selectiva y acumulación de las nanopartículas dentro de las células donde finalmente se presenta la liberación del fármaco mediante algún estímulo externo o del microambiente celular.* <sup>15,17,19</sup>

#### 1.1.4.1 Selectividad de las nanopartículas magnetoeléctricas y potencial de membrana.

La membrana celular es una estructura dinámica formada por una bicapa lipídica de naturaleza anfipática, asimétrica, semipermeable y selectiva que se encarga de proteger las estructuras celulares, mantener la presión osmótica, el pH y regular procesos celulares. <sup>20,21</sup>

El ingreso selectivo de iones al ambiente intracelular impone un gradiente de concentraciones que impone una diferencia de potencial denominado potencial de membrana ( $V_m$ ) (*figura 4*), que otorga propiedades eléctricas a la membrana celular.<sup>22,23</sup> El potencial de membrana modula procesos vitales de la célula como la proliferación y la diferenciación, de manera que afecta el desarrollo de enfermedades como el cáncer, donde se ha observado que la despolarización continua de la célula favorece la proliferación de células tumorales.<sup>24</sup> Acorde con varios autores, la actividad eléctrica de las células permite identificar y monitorear el estado de actividad de las líneas celulares,<sup>25</sup> como se muestra en la *tabla 1*.

Línea celular	Tipo de célula	Capacitancia ( $\mu\text{F}/\text{cm}^2$ )
MCF-10A	Células sanas de pecho	3.94
MCF-7	Células tumorales de pecho en etapa temprana	1.95
MDA-MB-231	Células tumorales de pecho invasivas	1.81
MDA-MB-435S	Células tumorales de pecho en etapa tardía	1.10
AML2	Leucemia mieloide aguda	1.69
NB4	Leucemia promieloide aguda	2.25
95D	Carcinoma de pulmón altamente metastásico	2.00
95C	Carcinoma de pulmón poco metastásico	1.62

Tabla 1. Potencial de membrana de líneas celulares.<sup>21</sup>

Las nanopartículas magnetoeléctricas explotan las propiedades eléctricas de la membrana para electronanoporar una población de células con cierto potencial de membrana.<sup>19</sup>

#### 1.1.4.2 Electronanoporación.

La electronanoporación se refiere al proceso de formación de poros de escala nanométrica en la membrana plasmática mediante reacomodo de los lípidos de membrana y moléculas de colesterol como respuesta a estímulos eléctricos por arriba del valor umbral (*figura 4*).<sup>21</sup> Actualmente la electronanoporación se utiliza para protocolos de recombinación genética como la transformación, un proceso que incorpora fragmentos ADN exógeno al ADN bacteriano. En el laboratorio la inserción de plásmidos se realiza mediante dispositivos que

generan campos eléctricos externos e inducen la electronanoporación celular, por lo que, las nanopartículas magnetoeléctricas se pueden emplear para optimizar este proceso. <sup>26</sup>

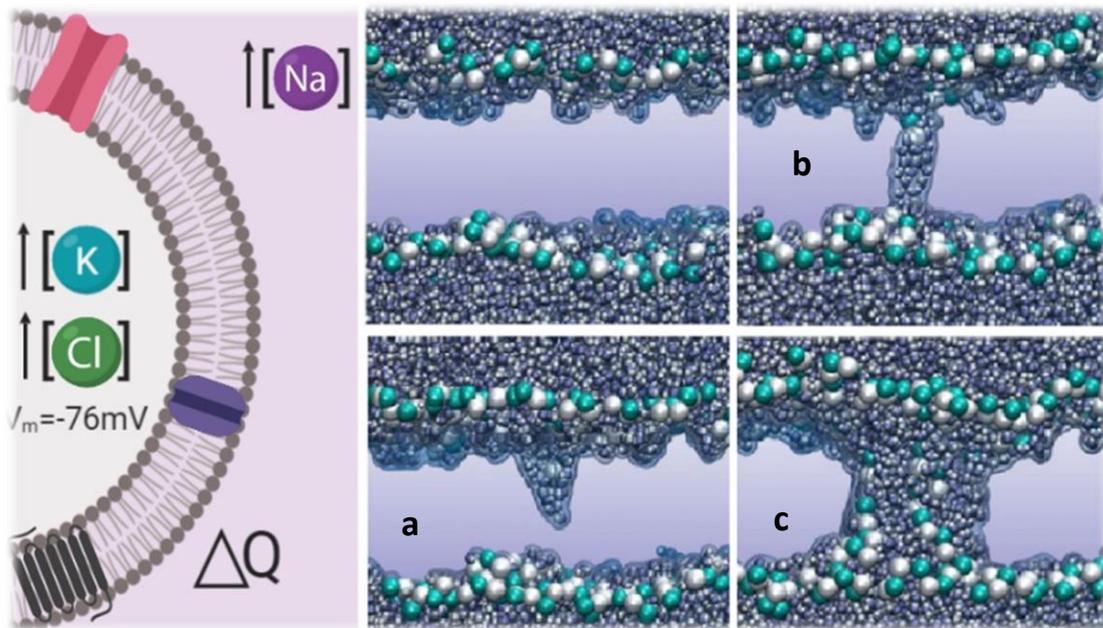


Figura 4. Mecanismo de formación de poros en la membrana celular (modificado de Casicola & Tarek, 2016).

La aplicación de campos eléctricos alternos en la célula origina una corriente eléctrica local por la movilización de cargas eléctricas en el citoplasma y el medio extracelular; dicha corriente eléctrica favorece la orientación de los momentos dipolares del agua en la superficie de la célula (a), los cuales forman estructuras de agua ancladas de los grupos glicerol de los fosfolípidos. Posteriormente se forman puentes de hidrógeno entre moléculas de agua en ambos lados de la membrana formando columnas de agua en la membrana (b). Finalmente, el poro se forma a partir de la estabilización las columnas de agua por la inserción de lípidos de membrana que migran de la superficie a la columna (c). <sup>27</sup>

## 1.2 Materiales nanoestructurados.

Los materiales nanoestructurados son sistemas sólidos cuyos componentes estructurales tienen al menos una dimensión menor a 100 nm. <sup>28</sup> Generalmente, los materiales nanoestructurados muestran propiedades distintas a aquellas que se presentan en un material de la misma composición y mayores dimensiones debido a su alta área superficial específica, su forma y a efectos cuánticos. <sup>29,30</sup>

El concepto de nanomateriales se introdujo en 1959, cuando Richard Feynman presentó el concepto de la manipulación de la materia a nivel atómico.<sup>31</sup> El progreso desde entonces, ha permitido la aplicación de los nanomateriales como catalizadores,<sup>32</sup> sistemas de liberación de fármacos,<sup>33</sup> agentes conservadores de trabajos de arte,<sup>34</sup> para la remediación de suelos,<sup>28</sup> entre otros. Dentro del área de farmacia, los materiales nanoestructurados se emplean como acarreadores de fármacos ya que presentan ciertas ventajas sobre los sistemas convencionales y de liberación modificada de mayor escala como se muestra en la *tabla 2*.<sup>35</sup>

	Sistemas convencionales	Sistemas de liberación modificada	Sistemas nanométricos
Uniformidad de la dosis	Bueno	Bueno	Bueno
Administración simple y precisa	Bueno	A la medida	A la medida
Simples de fabricar	Bueno		
Sistemas versátiles	Bueno	Bueno	Bueno
Disminución de la dosis, frecuencia de dosificación y eventos adversos.		Bueno	Excelente
Mayor seguridad		Bueno	Excelente
Perfiles de liberación uniformes	Bueno	Bueno	
Mayor apego al tratamiento		Bueno	
Menor degradación del fármaco		Bueno	Excelente
Aumento de la biodisponibilidad		Bueno	Excelente
Mayor capacidad de carga			A la medida
Responden a estímulos		A la medida	A la medida
Control del tiempo, velocidad y sitio de liberación		A la medida	A la medida
Menor reconocimiento por parte del sistema inmunológico			Excelente
Cambio en propiedades de materiales debido al tamaño			A la medida

Tabla 2. Tabla comparativa de las diferentes formas farmacéuticas.

Los nanoacarreadores generalmente están formados por polímeros, lípidos, virus e inclusive compuestos inorgánicos <sup>36</sup> que se clasifican según su composición en materiales simples o compuestos (figura 5). <sup>37</sup>

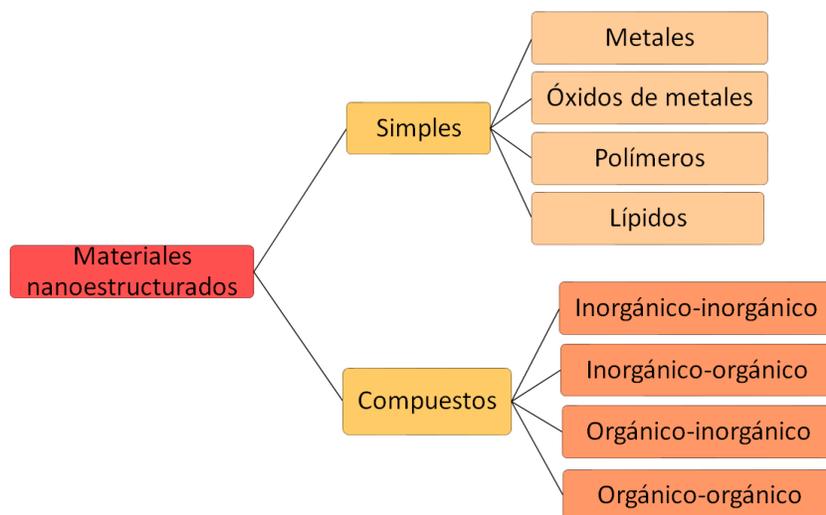


Figura 5. Clasificación de los materiales nanoestructurados.

En la tabla 3 se resumen algunos de los medicamentos en el mercado que utilizan acarreadores nanométricos. <sup>38,39</sup>

Medicamento	Nanoacarreador	Año	Tratamiento
AmBisome	Anfotericina B en liposomas	FDA 1997	Infecciones fúngicas
DaunoXome	Daunorrubicina en liposomas	FDA 1996	Sida
Oncaspar	L-asparagina recubierta de PEG	FDA 1994	Leucemia aguda linfoblástica
PegIntron	Interferon $\alpha 2b$ recubierto de PEG	FDA 2001	Hepatitis C
Megace	NP de acetato de megestrol	FDA 2005	Anorexia
Emend	NP de aprepitant	FDA 2003	Antiemético
Genoxol	Paclitaxel en nanocápsulas de PEG y Poli (D, L-lactato)	Corea del sur 2001	Cáncer metastásico de mama
NanoTherm	NP superparamagnéticas recubiertas de aminosilano	EMA 2013	Neoplasias
Feraheme	NP superparamagnéticas recubiertas de dextran	FDA 2009	Anemias

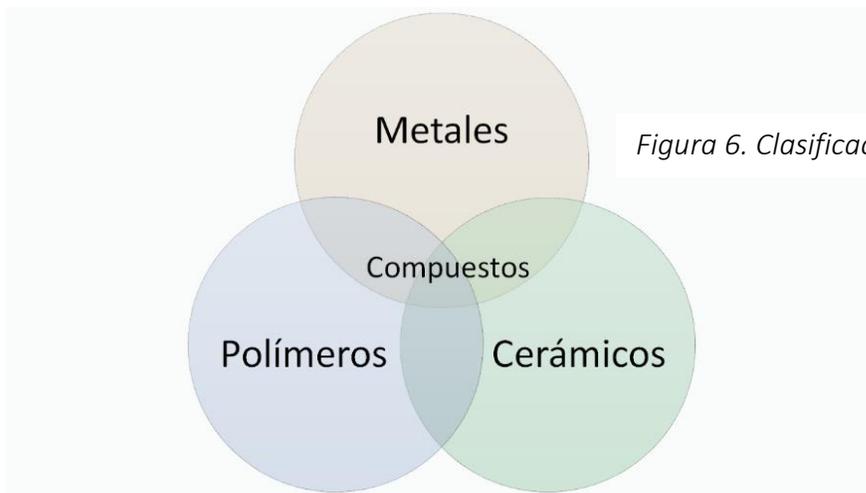
Tabla 3. Acarreadores nanométricos en el mercado. <sup>38,39</sup>

### 1.3 Ciencias de los materiales.

En su momento, el desarrollo y uso de los materiales fue fundamental para el progreso de la civilización humana, los materiales han influido de tal manera que, los antropólogos dividen las épocas históricas con base en el material de uso predominante. <sup>40</sup> La ciencia de los materiales es la disciplina relacionada con la generación y aplicación de conocimiento relacionado con la composición, estructura y transformación de los materiales con sus propiedades y usos. <sup>41</sup> En la industria farmacéutica el uso de nuevos materiales ha impulsado el desarrollo de sistemas de tratamiento más eficientes que disminuyen las reacciones adversas a medicamentos (RAMs) y cuyo comportamiento en un sistema biológico se puede predecir de acuerdo con las propiedades del material. <sup>42</sup>

#### 1.3.1 Clasificación de los materiales.

Los materiales se clasifican con base en sus propiedades como se muestra en la *figura 6*.



*Figura 6. Clasificación de los materiales.*

Debido al impacto actual de las nuevas tecnologías, hay autores que mencionan que hoy en día se vive en la era electrónica <sup>43</sup> y proponen incluirlos como una nueva categoría. Los materiales electrónicos se definen como aquellos materiales cuyas propiedades de interés son consecuencia de una estructura electrónica particular y se clasifican en materiales térmicos, eléctricos, magnéticos y ópticos. <sup>44</sup>

### 1.3.1.1 Materiales metálicos y cerámicos.

Los metales son materiales generalmente duros, maleables, que presentan buena conductividad térmica y eléctrica dependiendo de la temperatura. <sup>44,45</sup>

Por otra parte, los materiales cerámicos son sustancias inorgánicas no metálicas que constan de elementos metálicos y no metálicos, unidos principalmente por enlaces iónicos y/o covalentes que se caracterizan por su alta dureza, resistencia al desgaste, estabilidad química, resistencia térmica, baja ductilidad, baja tenacidad y bajo coeficiente de expansión térmica. <sup>46</sup>

### 1.3.1.2 Materiales poliméricos.

Los polímeros son moléculas de elevado peso molecular (1000-2000000 Da) formadas por la repetición de unidades químicas simples llamadas monómeros, los cuales se encuentran enlazados químicamente entre sí. <sup>44</sup> Los polímeros son materiales que resaltan por sus propiedades mecánicas y que se clasifican con base en su composición, comportamiento frente a la temperatura, cristalinidad y sensibilidad frente a estímulos (*figura 7*). <sup>47</sup>

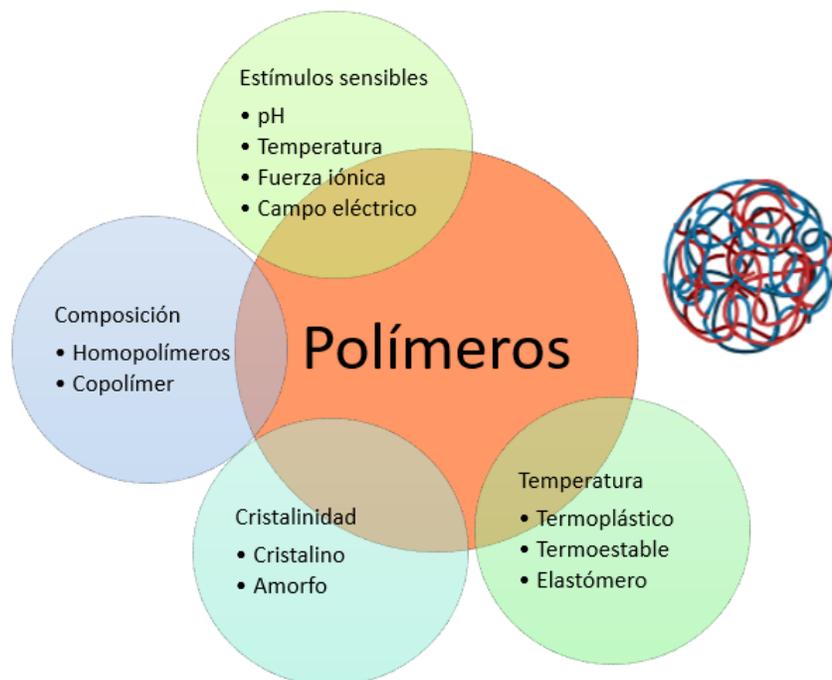
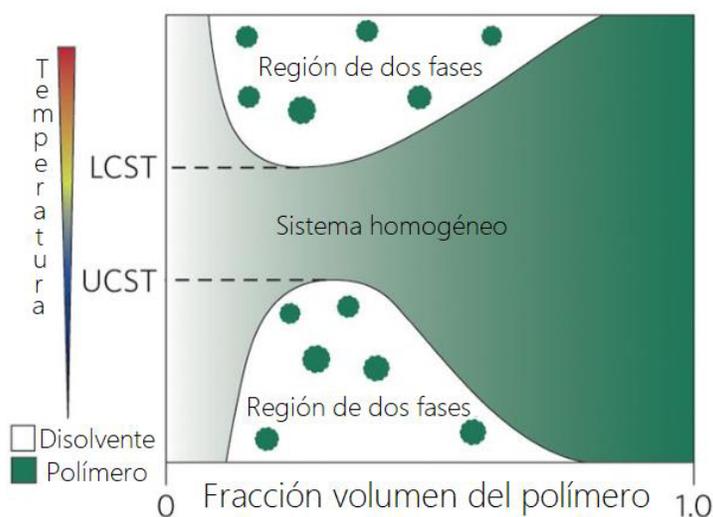


Figura 7. Clasificación de los polímeros.

### 1.3.1.2.1 Polímeros sensibles a estímulos.

Los polímeros sensibles a estímulos son aquellos que presentan cambios abruptos en sus propiedades físicas debido a la presencia de estímulos externos como la temperatura, pH, fuerza iónica, luz, ultrasonido, etc.<sup>48</sup>

Los polímeros termosensibles cambian su grado de solvatación como respuesta a cambios en la temperatura<sup>48</sup> y son por mucho los polímeros más estudiados en el área farmacéutica.<sup>10,49</sup> Los polímeros termosensibles se clasifican dependiendo de su comportamiento frente a la temperatura (*figura 8*).



*Figura 8. Polímeros termosensibles tipo LCST (modificado de Holehouse & Pappu, 2015).*

*Los polímeros se clasifican en polímeros LCST (Temperatura crítica inferior de la solución, traducido de sus siglas en inglés Lowest Critical Solution Temperature) o UCST (Temperatura crítica superior de la solución traducido de sus siglas en inglés Upper Critical Solution Temperature), donde el primero muestra una disminución de su grado de solvatación debido al incremento de temperatura del sistema, mientras que el segundo muestra el comportamiento contrario.<sup>50,51</sup>*

Desde su descubrimiento en 1967, el poli(N-isopropilacrilamida) (*PNIPAm traducido de sus siglas en inglés*) es uno de los polímeros termosensibles más investigados en el área farmacéutica debido a la cercanía de su temperatura de transición crítica con la temperatura fisiológica, su baja toxicidad, su capacidad para almacenar fármacos y restringir su movimiento difusivo en un medio acuoso.

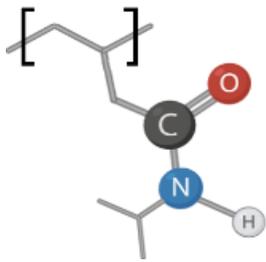


Figura 9. Poli-(N-isopropilacrilamida).

El PNIPAm es un homopolímero formado por el monómero N-isopropilacrilamida (figura 9) con un comportamiento tipo LCST. En un medio acuoso y en presencia de un agente de entrecruzamiento el PNIPAm forma hidrogeles dispuestos como arreglos tridimensionales de cadenas poliméricas hidrofílicas dispersas que muestran un grado de hinchamiento.<sup>52</sup> La polimerización del PNIPAm con otros monómeros de carácter hidrofílico o hidrofóbico

permite ajustar la temperatura de transición crítica.<sup>53</sup>

A pesar del enorme progreso en el desarrollo de sistemas de liberación basados en PNIPAm como hidrogeles y recubrimientos hasta la fecha no hay sistemas aprobados por la FDA en el mercado; ya que únicamente está aprobado su uso como agente estabilizador en el área cosmética.<sup>54</sup>

### 1.3.1.3 Materiales compuestos.

Sistema de materiales formado por una mezcla o combinación debidamente dispuesta de dos o más constituyentes que difieren en forma y composición química y son esencialmente insolubles entre sí. Los materiales compuestos se unen estructuralmente para obtener propiedades que, por regla general, no pueden ser adquiridas solo por los materiales originales. Típicamente los materiales compuestos se describen como una matriz de un material, en la cual se encuentra disperso otro material.<sup>41</sup>

## 1.4 Materiales multiferróicos.

Los compuestos multiferróicos son materiales que combinan dos o más ordenes ferróicos primarios simultáneamente en una misma fase.<sup>55</sup> Los órdenes ferróicos primarios son la ferroelasticidad, ferroelectricidad y el ferromagnetismo, los cuales muestran una deformación mecánica, una polarización o una magnetización espontánea respectivamente (figura 10).<sup>56</sup>

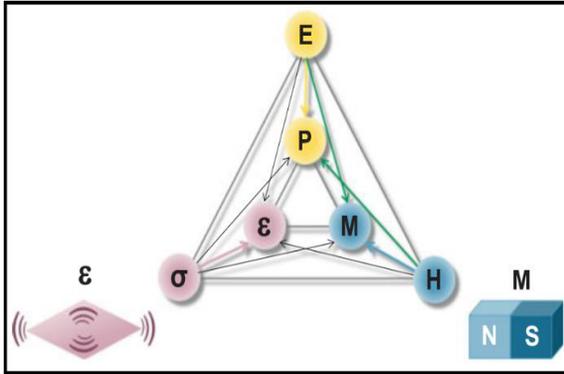


Figura 10. Materiales multiferróicos (modificado de Spaldin, N. A., 2017).

Los compuestos multiferróicos resultan del acoplamiento de los órdenes ferroicos primarios, la interacción entre los materiales ferroeléctrico y los ferroelásticos da la piezoelectricidad, entre los ferroelásticos y los ferromagnéticos los piezomagnéticos y entre los ferroeléctricos y ferromagnéticos los magnetoeléctricos.<sup>55</sup>

Los materiales magnetoeléctricos tienen múltiples aplicaciones como transductores eléctricos, sensores, formas farmacéuticas y dispositivos de almacenamiento debido a que presentan el efecto magneto eléctrico;<sup>57</sup> sin embargo, estos materiales son escasos por la incompatibilidad en la estructura electrónica que requieren ambos fenómenos, por lo que actualmente se buscan nuevos materiales de baja toxicidad que presenten el fenómeno magnetoeléctrico a temperatura ambiente.<sup>58</sup>

El ferromagnetismo requiere de un arreglo de electrones con una orientación paralela de los momentos magnéticos (regla de Hund), lo cual se presenta generalmente en capas semillenas de los orbitales  $d$  o  $f$ ; mientras que los materiales ferroeléctricos requieren la formación de enlaces covalentes dativos entre cationes y aniones vecinos para la formación de dipolos locales, lo cual ocurre entre metales de transición con orbitales  $d$  vacíos y el oxígeno.<sup>55</sup>

#### 1.4.1 Materiales ferroeléctricos.

Los materiales ferroeléctricos son un subgrupo de materiales dieléctricos que se caracterizan por mostrar una polarización espontánea reversible en ausencia de un campo eléctrico debido a la disposición asimétrica de iones en la celda unitaria del arreglo cristalino. Entre sus principales aplicaciones esta la elaboración de dispositivos de almacenamiento, actuadores, sensores y cualquier otro artefacto que requiera de un fuerte acoplamiento electromecánico, fenómeno que exhibe este tipo de materiales.<sup>59</sup>

### 1.4.1.1 Titanato de bismuto.

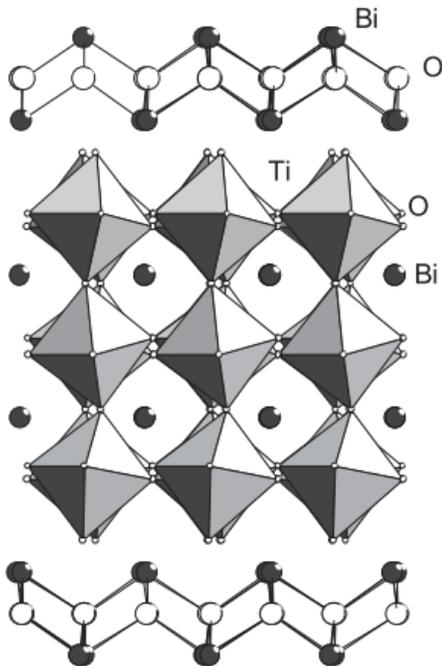
El sistema  $\text{Bi}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2$  forma cuatro sistemas estables, el  $\text{Bi}_2\text{Ti}_4\text{O}_{11}$ ,  $\text{Bi}_{12}\text{TiO}_{20}$ ,  $\text{Bi}_2\text{Ti}_2\text{O}_7$  y  $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ , en donde el último es un compuesto ferroeléctrico representativo con una estructura de perovskita perteneciente a la familia de compuestos de Aurivillius (*figura 11*).

<sup>60</sup> Algunas características de dichos sistemas se resumen en la *tabla 4*.

Sistema $\text{Bi}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2$	Estructura cristalina	Sistema	Temperatura de fusión (°C)	Propiedades características
$\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$	Perovskita	Tetragonal	1210	Ferroeléctrico
$\text{Bi}_2\text{Ti}_4\text{O}_{11}$	S/l	Monoclínico	1275	Antiferroeléctrico
$\text{Bi}_{12}\text{TiO}_{20}$	Selenito	Cúbico	865	Piezoeléctrico
$\text{Bi}_2\text{Ti}_2\text{O}_7$	Pirocloro	Cúbico	S/l	Piezoeléctrico

Tabla 4. Propiedades del sistema  $\text{Bi}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2$ .

El bismuto y muchos de sus complejos son ampliamente utilizados en el área médica como agentes antimicrobianos, antifúngicos, antitumorales y para el tratamiento de desórdenes gastrointestinales. <sup>61,62</sup>

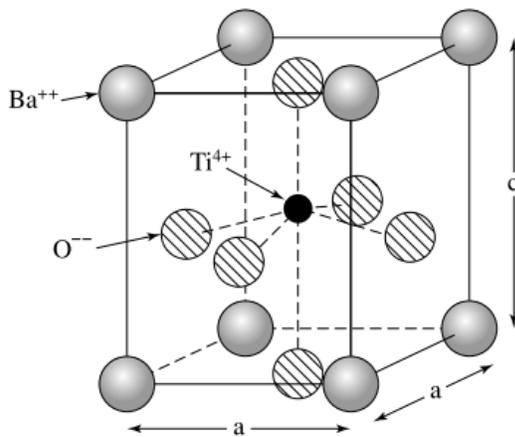


*Figura 11. Estructura cristalina del titanato de bismuto (modificado de Snedden et al., 2004)*

*Las fases de Aurivillius son una familia de compuestos que forman láminas con estructuras de entramados de unidades tipo fluorita y perovskita, descritas como pseudounidades de perovskita localizadas entre dos láminas  $(\text{Bi}_2\text{O}_2)^{2+}$  en donde en los sitios vacantes de la perovskita se localizan iones mono, di o trivalentes, mientras que en las láminas pueden encontrarse iones con estados de oxidación mayores, como el  $\text{Ti}^{4+}$ .* <sup>62</sup>

### 1.4.1.2 Titanato de bario.

Desde su descubrimiento en 1945, el titanato de bario ( $\text{BaTiO}_3$ ) ha sido uno de los materiales más estudiados por sus propiedades ferroeléctricas debido a distorsiones en la simetría cúbica. <sup>63</sup> El  $\text{BaTiO}_3$  tiene una estructura de perovskita con los átomos de bario en cada esquina de la celda unidad, un átomo de oxígeno en el centro de cada cara y un átomo de titanio ligeramente desplazado del centro de la celda unidad (*figura 12*). <sup>64</sup>



*Figura 12. Celda unidad del  $\text{BaTiO}_3$  (modificado de Hummel, 2004).*

*El  $\text{BaTiO}_3$  tiene una estructura tetragonal en donde los átomos de titanio se encuentran desplazados de sus posiciones simétricas, lo que resulta en un momento dipolar eléctrico en la celda unidad a lo largo del eje c, la alineación de los momentos dipolares individuales en una sola dirección forma dominios ferroeléctricos. La polarización del  $\text{BaTiO}_3$  se presenta a lo largo del plano cristalográfico 100 en un intervalo de temperatura de 5 °C a 118 °C. <sup>64</sup>*

El titanio y sus aleaciones se utilizan en sistemas biológicos como remplazo de tejidos, articulaciones e implantes dentales, lo que ha permitido la aplicación de algunos óxidos derivados como sistemas reservorio para la liberación prolongada de fármacos en implantes. <sup>65,66</sup> El  $\text{BaTiO}_3$  se utiliza como recubrimiento de implantes para estimular el crecimiento de tejidos con pulsos eléctricos <sup>67</sup> y como nanopartículas acarreadoras de fármacos. <sup>68</sup>

### 1.4.2 Materiales magnéticos.

Los materiales magnéticos son aquellos que responden ante un campo magnético externo y se pueden magnetizar ellos mismos. Dichos materiales se clasifican con base en su susceptibilidad magnética como se muestra en la *figura 13*. <sup>69</sup>

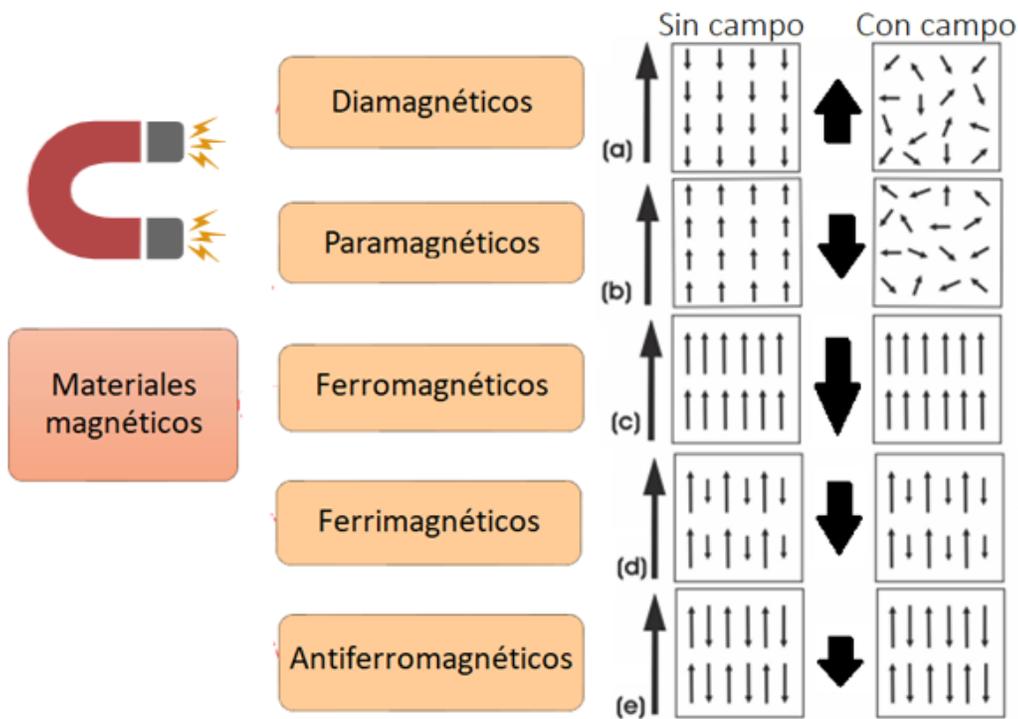


Figura 13. Clasificación de los materiales magnéticos.

Los materiales diamagnéticos (a) presentan susceptibilidad magnética negativa, mientras que los paramagnéticos (b) una susceptibilidad magnética positiva. La respuesta magnética en ambos desaparece después de la aplicación del campo, al contrario de los materiales ferromagnéticos, ferrimagnéticos y antiferromagnéticos, que presentan una magnetización remanente. Los materiales ferromagnéticos(c) forman dominios magnéticos de misma magnitud con orientación paralela, los ferrimagnéticos (d) muestran dominios de diferente magnitud con orientación antiparalela y finalmente los antiferromagnéticos (e) presentan dominios magnéticos de misma magnitud con orientación antiparalela.<sup>33</sup>

#### 1.4.2.1 Magnetita.

La magnetita es un óxido de hierro de fórmula química  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , con un átomo de hierro en estado de oxidación II ( $\text{Fe}^{2+}$ ) y dos átomos de hierro en estado de oxidación III ( $\text{Fe}^{3+}$ ), que muestra un comportamiento ferrimagnético, consecuencia de su estructura cristalina de espinela inversa (figura 14).<sup>70</sup> En la estructura de espinela inversa, los átomos de oxígeno forman un empaquetamiento cúbico compacto, en el cual se forman estructuras tetraédricas asociados al  $\text{Fe}^{2+}$  y estructuras octaédricas relacionadas al  $\text{Fe}^{3+}$ .<sup>71,72</sup>

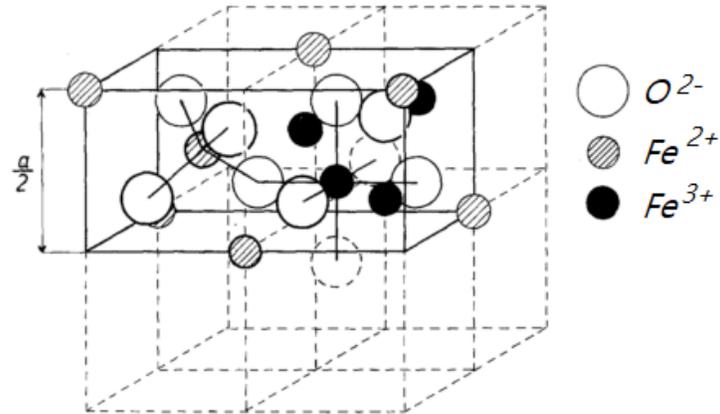


Figura 14. Estructura cristalina de la  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (modificado de Khan et al., 2011)

En la estructura de la magnetita, los átomos de  $\text{Fe}^{2+}$  y la mitad de los átomos de  $\text{Fe}^{3+}$  ocupan sitios octaédricos, mientras que el resto de los átomos de  $\text{Fe}^{3+}$  ocupan lugares tetraédricos. Los átomos de  $\text{Fe}^{3+}$  en posiciones octaédricas presentan un momento magnético opuesto de igual magnitud al de los átomos de  $\text{Fe}^{3+}$  en sitios tetraédricos, de manera que, se cancelan entre ellos. El momento magnético total es resultado de la suma de los momentos magnéticos de los átomos de  $\text{Fe}^{2+}$  que ocupan posiciones octaédricas en la magnetita.<sup>70,73,74</sup>

#### 1.4.2.2 Ferrita de cobalto.

La ferrita de cobalto ( $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ) es un compuesto con una estructura de espinela inversa y un comportamiento ferrimagnético por la suma de los momentos magnéticos del  $\text{Co}^{2+}$ .<sup>75</sup> Autores como Soleimani et al. (2018) reportan que la sustitución de  $\text{Fe}^{2+}$  por  $\text{Co}^{2+}$  en la estructura de espinela inversa de la  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  origina una estructura de una estabilidad térmica mayor.<sup>76</sup>

Los óxidos de hierro como la magnetita, ferrita de cobalto y maghemita se utilizan en la industria farmacéutica principalmente como agentes de contraste para la resonancia magnética nuclear, para la termoablación de células tumorales, para biopsias magnéticas, como suplementos de hierro y en menor proporción para la entrega y liberación de fármacos.<sup>38</sup> El uso poco frecuente de los óxidos de hierro como sistemas acarreadores de fármacos se atribuye a que no se han delimitado los requerimientos legales que garanticen su seguridad y eficacia, por lo que es primordial caracterizar los sistemas y proveer una base científica para el establecimiento de un marco legal.<sup>77</sup> Los efectos tóxicos de las nanopartículas de óxido de hierro son una de las principales preocupaciones del uso de

dichos sistemas, ya que su administración se relaciona con un estado de hipotensión <sup>78</sup> y estrés oxidativo por la incorporación del hierro presente en las nanopartículas a la sangre. <sup>79</sup> La exposición a  $\text{Co}^{2+}$  a corto o largo plazo puede causar efectos tóxicos en el organismo dependiendo de la dosis y el tiempo de exposición debido a la inhibición de enzimas, su afinidad por grupos sulfhidrilo de las proteínas, el desplazamiento de cationes divalentes y por favorecer ambientes hipóxicos, ambientes oxidativos y reacciones de hipersensibilidad tipo IV. <sup>80</sup>

Aunque las nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{BaTiO}_3$  y, en menor medida el  $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ , tienen las propiedades para emplearse como sistemas acarreadores de fármacos por sí solos, actualmente se han desarrollado sistemas compuestos porque su uso en conjunto mejora las características de los sistemas. A pesar del desarrollo de estos sistemas y las múltiples aplicaciones mencionadas, aún falta completar su caracterización y desarrollar mejores rutas sintéticas.

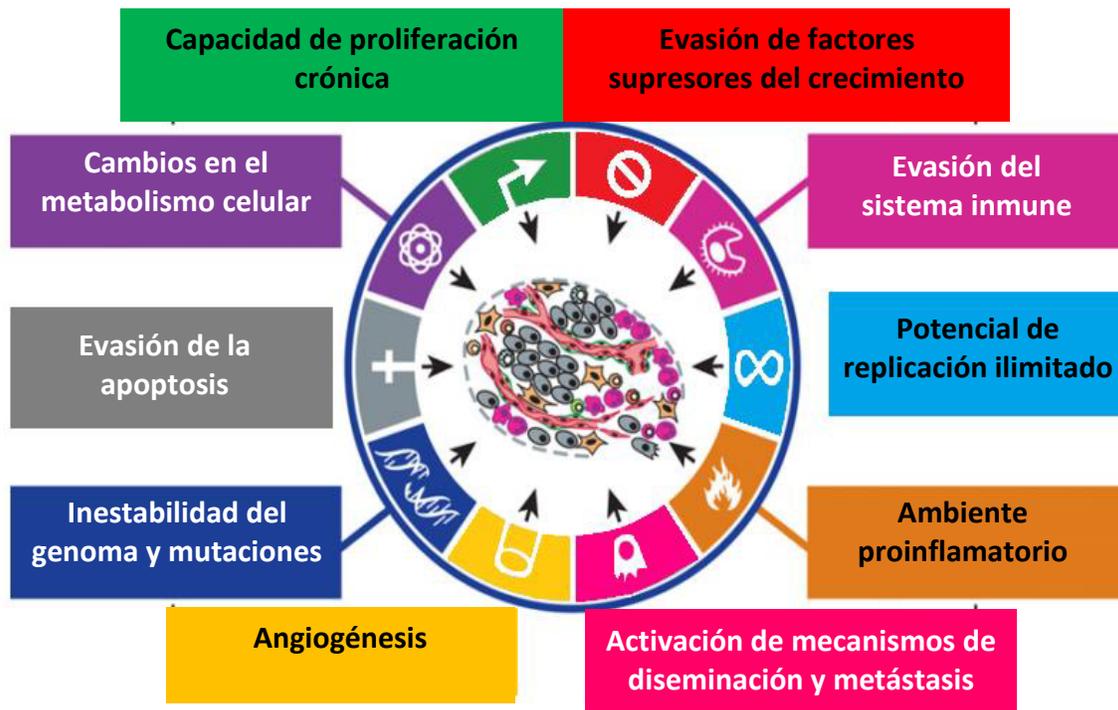
#### **1.4.2.3 Magnetofricción.**

La magnetofricción es una forma de fricción sin contacto que surge de la disipación de energía de un material magnético debido a la reorientación de los espines magnéticos como respuesta a un campo magnético alterno. <sup>81</sup> La transformación de la energía electromagnética en calor por materiales magnéticos bajo un campo magnético alterno se da por dos mecanismos principales estrechamente relacionados con la rotación de las nanopartículas. La relajación de Néel genera calor cuando las nanopartículas superan la barrera de energía potencial asociada a la anisotropía magnética, durante la reorientación de los dominios magnéticos en dirección del campo magnético externo, mientras que la relajación Browniana genera calor por la fricción entre las nanopartículas y el medio circundante debido a la rotación de las nanopartículas por fluctuaciones térmicas. <sup>82</sup>

Entre las opciones terapéuticas para el cáncer se encuentra la hipertermia magnética, un tratamiento que aprovecha la magnetofricción para exponer a una población de células tumorales a altas temperaturas con la finalidad de interrumpir vías celulares y causar la muerte de la población. <sup>83</sup>

## 1.5 Descripción de la enfermedad a tratar: el cáncer.

El término cáncer agrupa a un conjunto de enfermedades caracterizadas por un crecimiento anormal de células, situación que se transmite a células hijas y se manifiesta por un menor control del crecimiento y la función celular.<sup>84</sup> Por otra parte, el cáncer también se define como el conjunto de enfermedades complejas en las que aparecen procesos distintivos durante el desarrollo de la enfermedad, que son independientes del tejido y culminan en la ruptura de la homeostasis del ciclo celular.<sup>85</sup> Las características de las células tumorales que permiten su supervivencia, proliferación y diseminación se resumen en la *figura 15* y en la *tabla 5*



*Figura 15. Procesos distintivos del crecimiento tumoral (modificado de Hanahan & Weinberg, 2011)*

*Los principales agentes causales del cáncer son la inestabilidad del genoma de la célula y factores ambientales, los cuales originan procesos que culminan en la desregulación del ciclo celular.*<sup>85,86</sup>

Proceso	Descripción
Capacidad proliferativa	La capacidad proliferativa se presenta por una mayor producción de factores de crecimiento, una mejor eficiencia de unión de ligandos, la sobreexpresión de receptores y la activación constitutiva de genes asociados a la proliferación celular.
Evasión de factores supresores del crecimiento	Se refiere a la inhibición de los procesos que regulan negativamente la proliferación celular, generalmente asociados a genes supresores de tumores.
Evasión del sistema inmune	Las células tumorales tienen mecanismos para evadir el reconocimiento por parte del sistema inmune y para resistir los ataques citotóxicos.
Potencial de replicación ilimitado	La inmortalización se refiere a la capacidad proliferativa de las células tumorales sin una crisis ni senescencia.
Ambiente proinflamatorio	El ambiente proinflamatorio favorece el desarrollo y proliferación de las células tumorales.
Activación de mecanismos de diseminación y metástasis	Las células tumorales deforman su morfología mediante cambios a nivel del citoesqueleto y la matriz celular para aumentar su motilidad.
Angiogénesis	La angiogénesis tumoral es el crecimiento de vasos sanguíneos nuevos por una mayor demanda nutricional y para aumentar la descarga de desechos.
Inestabilidad del genoma	Un proinflamatorio y oxidante, así como una menor actividad de las telomerasas favorece las mutaciones en el ADN asociadas a oncogenes.
Evasión de la apoptosis	Durante el cáncer, la apoptosis provoca niveles altos de señalización de oncogenes y daño del ADN asociado a hiperproliferación.
Cambios en el metabolismo celular	Las células tumorales cambian su metabolismo para garantizar su supervivencia y cubrir requerimientos energéticos.

Tabla 5. Descripción de los procesos distintivos de células tumorales.<sup>86</sup>

Los procesos característicos de las células tumorales provocan cambios físicos y bioquímicos que permiten diseñar sistemas de liberación selectivos dirigidos a células tumorales.<sup>87</sup> Algunas diferencias destacables se resumen en la *tabla 6*.

	Células sanas 	Células tumorales 
Morfología	Uniforme	Irregular
Núcleo	Único núcleo con forma esférica.	Varios núcleos con forma irregular
Cromatina	Distribuida regular en la célula	Agregados gruesos
Nucleolo	Nucleolo único y discreto	Múltiples nucleolos de mayor tamaño
Citoplasma	Mayor volumen citoplasmático	Menor volumen citoplasmático
Oxígeno	Metabolismo aeróbico	Metabolismo hipóxico
Maduración	Células especializadas	Células no diferenciadas
Crecimiento	Controlado	Descontrolado
$V_m$	$V_m > 60$ mV	Células despolarizadas $V_m < 60$ mV
pH	$7.47 \pm 0.04$	pH ácido menor a 7.
Temperatura	$36.5$ °C	Temperatura $< 37$ °C

Tabla 6. Características de células sanas y células tumorales. <sup>24,88,89</sup>

Debido a que el cáncer engloba un conjunto de patologías heterogéneas con características similares, pero con ciertas singularidades que dependen del tejido, progreso de la enfermedad, tamaño de las células e, inclusive, de la genética del individuo, actualmente no existe un sistema de liberación de fármacos lo suficientemente robusto y eficiente que responda dinámicamente a la variabilidad de estímulos en el ambiente celular y a los diferentes valores que pueden tomar estos parámetros.<sup>90</sup>

## 1.6 Tratamiento farmacológico.

Los antineoplásicos son un grupo de fármacos con efectos citotóxicos o citostáticos, de diferentes estructuras y mecanismos de acción, que actúan a nivel del ADN, ARN o en las proteínas. Los fármacos antineoplásicos se clasifican con base en su mecanismo de acción como se muestra en la *figura 16*. <sup>91,92</sup>

Hoy en día la resistencia a los fármacos antineoplásicos y los efectos adversos asociados a su administración son un reto para los farmacéuticos, por lo que continua la búsqueda de nuevos fármacos y formas farmacéuticas que optimicen la farmacoterapia del cáncer.

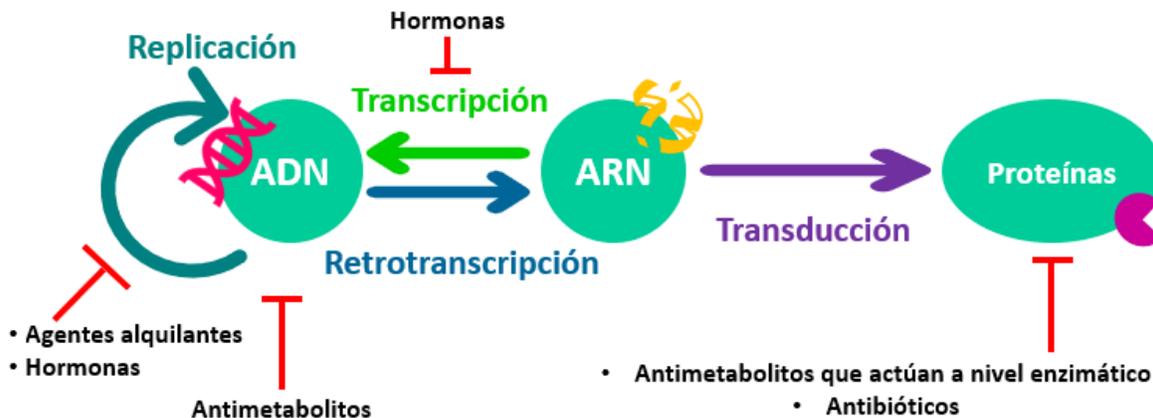


Figura 16. Clasificación de fármacos antineoplásicos.

Los agentes alquilantes forman intermediarios reactivos que se unen covalentemente a regiones del ADN impidiendo su replicación y funcionamiento; por ejemplo, las mostazas nitrogenadas, etileniminas, alquilsulfonatos, nitrosoureas, triazenos, agentes metilantes y análogos del cis-platino. Los antimetabolitos, por otra parte, interfieren con la replicación y funciones del ADN y ARN al sustituir moléculas necesarias para su síntesis mediante la inhibición enzimática, como los análogos del ácido fólico, de bases púricas, pirimidínicas y de la citídina. Las hormonas activan cascadas de señalización que regulan la transcripción de genes. Los antibióticos pueden intercalarse entre las bases nitrogenadas (actinomicinas), inhibir a las topoisomerasas (antraciclina y antracenedionas), y presentar efectos citotóxicos mediante la producción de especies reactivas del oxígeno dañinas para las células, entre otros efectos.<sup>91</sup>

### 1.6.1 Metotrexato.

El metotrexato es un análogo del ácido fólico utilizado para el tratamiento de trastornos dermatológicos,<sup>92</sup> la artritis reumatoide<sup>93</sup> y algunos tipos de cáncer.<sup>94</sup>

El metotrexato es un fármaco candidato para el tratamiento del cáncer porque posee efectos antiinflamatorios y analgésicos además de sus efectos citotóxicos.<sup>95</sup> La sobre expresión del marcador tumoral y receptor RFC (Acarreador de folato reducido traducido del inglés *Reduced Folate Carrier*) aumenta la captación del fármaco por parte de células tumorales.<sup>96</sup> A pesar de los beneficios del uso de metotrexato su administración puede provocar reacciones adversas como daño renal, pulmonar, en la piel, mucosas, tracto intestinal, hígado, sistema nervioso central y sistema inmune;<sup>97</sup> y una menor eficiencia terapéutica por al flujo del fármaco al ambiente extracelular por transportadores de poliglutamatos,<sup>94</sup> se ha

vuelto primordial el diseño de nuevas formas farmacéuticas que minimicen las reacciones adversas o nuevos fármacos que replacen a las terapias actuales.

La compleja farmacodinamia del metotrexato involucra la inhibición competitiva de varias enzimas involucradas en el metabolismo del ácido fólico, que culmina en una disminución en la síntesis de ADN, bases púricas y pirimidínicas, metionina, serina, timidilato, poliaminas y en la supresión de reacciones de metilación y efectos antiinflamatorios mediados por liberación de adenosina (figura 17).<sup>93,94</sup>

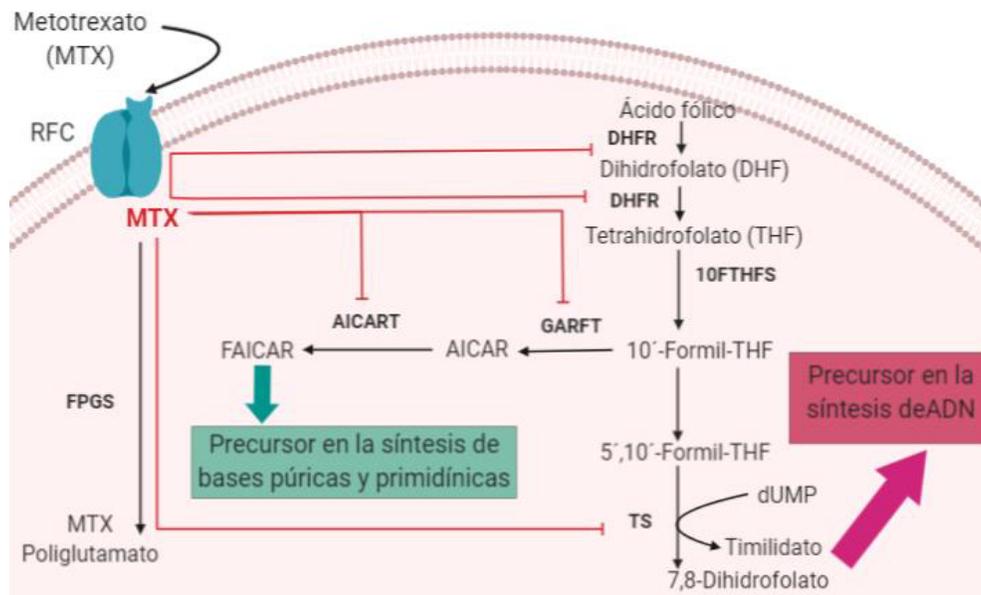


Figura 17. Mecanismo de acción del metotrexato.

El metotrexato inhibe cuatro enzimas principales en el metabolismo del ácido fólico; la dihidrofolato reductasa (DHFR), la timidilato sintetasa (TS),  $\beta$ -glicinamida ribonucleótido transformilasa (GARFT) y 5-aminoimidazol-4-carboxiamida ribonucleótido transformilasa (AICART). La inhibición enzimática disminuye la concentración de intermediarios metabólicos que participan en procesos como la síntesis de ADN, bases púricas y pirimidínicas, aminoácidos y procesos de metilación del ADN, lo cual resulta en la muerte celular. El metotrexato además de ser sustrato de las enzimas antes mencionadas se metaboliza por la folipoliglutamato sintetasa (FPGS) generando derivados tipo poliglutamato de metotrexato que inhiben a las mismas enzimas que el metotrexato. Finalmente, el efecto antiinflamatorio del metotrexato es resultado de inhibición de AICART y la adenosina monofosfato desaminasa (AMPD), lo cual provoca la acumulación de adenosina que, al unirse a sus respectivos receptores, especialmente los receptores  $A_{2A}$  y  $A_{2B}$ , provoca la liberación de interleucinas antiinflamatorias y disminuye la agregación y acumulación de las células del sistema inmune.

<sup>93,94,98</sup>

### 1.6.2 Propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas del metotrexato.

Al momento de desarrollar una forma farmacéutica se deben considerar las limitaciones del sistema sobre las propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas que debe tener el fármaco para poder formularse en dicho sistema. <sup>35</sup> En la *tabla 7*, se resumen las propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas del metotrexato.

Características		Metotrexato
<b>Propiedades farmacocinéticas</b>		
Clasificación biofarmacéutica	Fármaco tipo III	
Biodisponibilidad oral	70 % (Varia del 64-90 %)	
Excreción urinaria	>80 %	
Unión a proteínas	(46.5-54) %	
Depuración (mL/min/kg)	2.1	
Volumen de distribución (L/kg)	(0.55-1)	
Tiempo de vida media (h)	6-8	
Tiempo máximo (h)	1-2	
Metabolito principal	7-hidroximetotrexato	
<b>Propiedades fisicoquímicas</b>		
Masa molecular (g/mol)	454.44	
log P	-1.85	
pka	4.7	
Solubilidad (mg/mL)	0.171	
Punto de fusión (°C)	195	

Tabla 7. Propiedades farmacocinéticas y fisicoquímicas del metotrexato. <sup>93,97</sup>

## 2.0 Planteamiento del problema.

Desde los primeros estudios acerca de la mitosis y la apoptosis, se les consideraba, equivocadamente, como procesos opuestos siendo que en realidad son procesos independientes pero coexistentes que se regulan entre sí y mantienen la homeostasis celular; <sup>99</sup> sin embargo cuando se rompe la homeostasis en el ciclo celular se presenta el cáncer, un conjunto de enfermedades multifactoriales caracterizadas por un crecimiento anormal de células y una reducción de las funciones celulares. <sup>85,94</sup>

De acuerdo con la *Organización Mundial de la Salud (OMS)* y el *Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI)* el cáncer, la diabetes y los accidentes cerebrovasculares son la causa del 70 % de muertes prematuras en México y a nivel mundial. El diagnóstico tardío y tratamientos ineficientes son la principal causa de la alta mortalidad del cáncer, <sup>100</sup> por lo que hoy en día es imperativo desarrollar sistemas selectivos y eficientes para su diagnóstico y tratamiento.

El desarrollo de estos nuevos sistemas es un reto dado que la génesis de la enfermedad origina una heterogénea población de células tumorales, lo cual en conjunto con la complejidad de los procesos involucrados en el progreso del cáncer, los requerimientos citotóxicos de la terapia y las reacciones adversas asociadas a su administración dificulta el desarrollo de sistemas robustos y eficientes que traten la gran variedad de células tumorales sin afectar a las células sanas. <sup>101</sup>

Las nanopartículas magnetoeléctricas prometen mejorar la terapia contra el cáncer mediante la permeación selectiva de fármacos en una población de células tumorales, con base en su valor de potencial de membrana. Se espera que la permeación selectiva reduzca los efectos citotóxicos de la terapia en células sanas y las reacciones adversas asociadas a su administración. Asimismo, su recubrimiento con un polímero termosensible busca mejorar la funcionalidad del sistema, optimizar la liberación del fármaco, responder selectivamente al ambiente tumoral, aumentar la capacidad de carga del sistema y estabilizar la suspensión de nanopartículas en la sangre.

### **3.0 Justificación.**

Uno de los principales problemas de la terapia contra el cáncer es la gran variedad de reacciones adversas que se presentan por la administración de fármacos antineoplásicos que actúan indiscriminadamente en células tumorales y células sanas; por lo que actualmente es primordial desarrollar sistemas selectivos que minimicen dichos efectos.

Considerando que, dadas sus propiedades, las nanopartículas magnetoeléctricas prometen disminuir las reacciones adversas a medicamentos mediante la entrega y liberación específica de fármacos a las células tumorales, este proyecto busca sintetizar nanopartículas con posibles características magnetoeléctricas, cubrirlas con un polímero termosensible y evaluar su capacidad como acarreadores de fármacos.

### **4.0 Hipótesis.**

El acoplamiento de las fases ferrimagnéticas y ferroeléctricas y su posterior recubrimiento con un polímero termosensible permitirá el desarrollo de un potencial sistema nanométrico con las características adecuadas para emplearse como un acarreador de fármacos que mejorará la entrega y liberación específica de fármacos antineoplásicos.

### **5.0 Objetivo general.**

Sintetizar y caracterizar cuatro sistemas de nanopartículas de tipo núcleo-recubrimiento de diferente composición recubiertas de un gel estímulo-sensible para su aplicación en liberación de fármacos.

#### **5.1 Objetivos particulares.**

- Sintetizar nanopartículas de magnetita y ferrita de cobalto mediante el método de coprecipitación y caracterizarlas química y magnéticamente

- Recubrir las nanopartículas con un material ferroeléctrico mediante el método de sol-gel para obtener los siguientes sistemas:
  - Magnetita – Titanato de bario ( $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ )
  - Magnetita – Titanato de bismuto ( $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ )
  - Ferrita de cobalto – Titanato de bario ( $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ )
  - Ferrita de cobalto – Titanato de bismuto ( $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ )
- Sintetizar y caracterizar un copolímero termosensible (PNIPAm) compuesto de *N*-isopropilacrilamida y *N,N'*-Metileno-bisacrilamida vía radicales libres, con las propiedades adecuadas para utilizarse como sistema termosensible acarreador de fármacos.
- Recubrir y caracterizar las nanopartículas magnetoeléctricas con un copolímero termosensible (PNIPAm) vía radicales libres.
- Evaluar las características fisicoquímicas de interés farmacéutico de las nanopartículas recubiertas con PNIPAm.
- Evaluar las cinéticas e isothermas de adsorción de las nanopartículas recubiertas con PNIPAm.
- Evaluar la capacidad de las nanopartículas como sistemas de liberación de fármacos a diferente temperatura, cantidad de metotrexato y bajo la influencia de un campo magnético alterno.

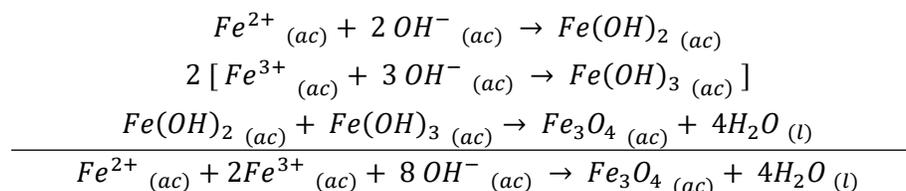
## 6.0 Materiales y métodos.

### 6.1 Síntesis de nanopartículas tipo núcleo recubrimiento.

Las nanopartículas tipo núcleo-recubrimiento se sintetizaron mediante síntesis química, un método corriente arriba (“*bottom up*”), que explota las propiedades químicas de las moléculas para que reaccionen. <sup>37</sup>

#### 6.1.1 Síntesis de magnetita.

Las nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> se sintetizaron por el método de coprecipitación reportado por *Khashan et al.* <sup>102</sup> que involucra la adición de una base a una mezcla de cloruros de hierro con diferentes estados de oxidación en una proporción molar 2:1 (Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup>). Las reacciones químicas involucradas durante la síntesis son:

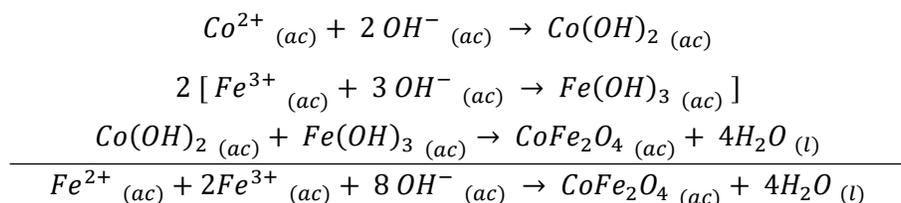


Para la síntesis de las nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> se disolvieron 0.8550 g de FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O (*Sigma Aldrich, 97 %*) y 0.3225 g de FeCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O (*Sigma Aldrich, > 99.0 %*) en 15 mL de agua destilada y se sometió a calentamiento hasta alcanzar una temperatura de 80 °C. Posteriormente, manteniendo la temperatura y en un ambiente de N<sub>2</sub>, se adicionaron rápidamente 5 mL de NaOH (*J. T. Baker, 95 %*) de una concentración 2.5 M a la disolución precursora de hierro. Finalmente, las nanopartículas se purificaron mediante decantación magnética y lavados con etanol y agua hasta alcanzar un pH neutro. El precipitado purificado se secó en un horno (*Biobase*) a 60 °C y una presión de 50 mm Hg.

#### 6.1.2 Síntesis de la ferrita de cobalto.

Las nanopartículas de CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> se sintetizaron mediante el método de coprecipitación reportado por *López et al.* <sup>103</sup> Inicialmente se prepararon 25.0 mL de una disolución ácida de FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O (*Sigma Aldrich, 97 %*) y CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (*Sigma Aldrich, >98.0 %*) con una

concentración de 0.4 M y 0.2 M respectivamente. La disolución se acidificó con 830  $\mu\text{L}$  de HCl concentrado (*J. T. Baker, 36.5-38 %*). Posteriormente, se adicionaron 200.0 mL de una disolución de NaOH (*J. T. Baker, 95 %*) 0.15 M a una velocidad de flujo de 20  $\mu\text{L/h}$  mediante una bomba jeringa. Las reacciones involucradas durante la síntesis son:



Las nanopartículas de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  se purificaron mediante decantación magnética y lavados de etanol y agua hasta alcanzar un pH neutro. El precipitado purificado se secó en un horno (*Biobase*) a 60  $^{\circ}\text{C}$  y a una presión de 50 mm Hg.

### 6.1.3 Recubrimiento de núcleos magnéticos con titanato de bario.

Con la finalidad de mejorar las propiedades superficiales y eléctricas de los núcleos magnéticos se recubrieron con  $\text{BaTiO}_3$  mediante el método sol-gel modificado reportado por *Corral-Flores et al. (2010)*<sup>104</sup> empleando diferentes proporciones de núcleo y recubrimiento. Las cantidades de núcleos magnéticos, carbonato de bario ( $\text{BaCO}_3$ ) (*Sigma Aldrich, >99.0 %*) y butóxido de titanio (IV) ( $\text{Ti}(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)_4$ ) (*Sigma Aldrich, 97 %*) utilizadas se encuentran en la *tabla 8*.

Proporción de núcleo-recubrimiento	Masa de NP (g)	$\text{BaCO}_3$ (g)	Butóxido de Ti ( $\mu\text{L}$ )
(83-17) %	0.1000	0.0175	30.8
(67-33) %	0.1000	0.0421	74.1
(50-50) %	0.1000	0.0855	150.4
(33-67) %	0.1000	0.1735	305.4
(17-83) %	0.1000	0.4173	734.4

Tabla 8. Proporción de reactivos utilizados para la síntesis del recubrimiento con  $\text{BaTiO}_3$ .

Inicialmente, los núcleos magnéticos se suspendieron mediante sonicación en 50 mL de agua destilada con tres gotas de  $\text{HNO}_3$  concentrado (*J. T. Baker, 70 %*) durante tres minutos.

Para la formación del sol se prepararon las disoluciones precursoras de Ba<sup>2+</sup> y Ti<sup>4+</sup> disolviendo las cantidades indicadas en la *tabla 8*. El BaCO<sub>3</sub> se disolvió en 40 mL de una disolución 0.1 M de ácido cítrico (*Omnichem, 100.45 %*) mientras que el butóxido de titanio (IV) se disolvió en 40 mL de una disolución de ácido cítrico 0.1 M en etanol absoluto (*J. T. Baker, 99.5 %*) bajo agitación constante. Después se adicionaron tres mL de etilenglicol (*J. T. Baker, 99.9 %*) a cada una de las disoluciones precursoras, para después mezclarlas y formar un sol, el cual se adicionó a la suspensión de nanopartículas. La suspensión se sonicó durante cinco minutos y se sometió a calentamiento a 60 °C a 200 rpm hasta evaporar los disolventes. Una vez formado el gel, se secó en un horno de vacío a 130 °C y 50 mm Hg para eliminar los restos de disolventes remanentes.

Finalmente, el gel formado se calcinó a 700 °C durante 5 h bajo las siguientes condiciones:

- Tasa de calentamiento 1.8 °C/min de temperatura ambiente hasta 350 °C
- Tasa de calentamiento 1.5 °C/min desde 350 °C hasta 700 °C
- Tasa de enfriamiento 4 °C/min desde 700 °C hasta temperatura ambiente

#### 6.1.4 Recubrimiento de núcleos magnéticos con titanato de bismuto.

El recubrimiento de núcleos con Bi<sub>4</sub>Ti<sub>3</sub>O<sub>12</sub>, se realizó mediante el método sol-gel modificado reportado por *Ivicheva et al.*<sup>60</sup> Nuevamente, se prepararon varios sistemas con diferente proporción de recubrimiento, por lo que se adicionaron las masas de los núcleos magnéticos, de nitrato de bismuto pentahidratado (Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O) (*Sigma Aldrich, >99. 0 %*) y de butóxido de titanio (IV) (Ti(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>) (*Sigma Aldrich, 97 %*) de la *tabla 9*.

Proporción núcleo-recubrimiento	Masa de NP (g)	Bi(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ·5H <sub>2</sub> O (g)	Butóxido de Ti (μL)
(83-17) %	0.1000	0.0346	18.4
(67-33) %	0.1000	0.0832	44.3
(50-50) %	0.1000	0.1690	89.9
(33-67) %	0.1000	0.3432	182.4
(17-83) %	0.1000	0.8252	438.7

Tabla 9. Proporción de reactivos utilizados para la síntesis del recubrimiento con Bi<sub>4</sub>Ti<sub>3</sub>O<sub>12</sub>.

Durante el recubrimiento con  $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  se siguió una metodología similar a la del recubrimiento con  $\text{BaTiO}_3$ , por lo que la suspensión de los núcleos se realizó de la misma manera. Para la formación del sol se prepararon las disoluciones precursoras de  $\text{Bi}^{3+}$  y  $\text{Ti}^{4+}$  disolviendo las cantidades indicadas en la *tabla 9*. El  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  se disolvió en 1 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado para luego agregarlo a 40 mL de una disolución 0.1 M de ácido cítrico mientras que el butóxido de titanio (IV) se disolvió en 40 mL de una disolución de ácido cítrico 0.1 M en etanol absoluto bajo agitación constante. A cada disolución se le adicionaron 3 mL de etilenglicol.

Una vez preparadas ambas disoluciones precursoras se mezclaron y se adicionaron a la suspensión de nanopartículas. La suspensión se sonó durante cinco minutos y se sometió a calentamiento a 60 °C a 200 rpm hasta evaporar los disolventes. Una vez formado el gel, se secó en un horno de vacío a 130 °C y 50 mm Hg para eliminar los disolventes remanentes. Finalmente, el gel se calcinó a 700 °C durante 5 h bajo condiciones empleadas durante el recubrimiento con el  $\text{BaTiO}_3$ .

## 6.2 Síntesis de polímero termosensible: PNIPAm.

Se prepararon varios copolímeros de diferente proporción de monómero y entrecruzador con *N*-isopropilacrilamida (*Sigma Aldrich*, >99.0 %) y *N, N'*-Metilenbisacrilamida (*Sigma Aldrich*, 99 %) para determinar aquel con las mejores características para usarse como un sistema termosensible acarreador de fármacos. Las proporciones empleadas se indican en la *tabla 10*. Los polímeros se sintetizaron vía radicales libres de acuerdo con el método modificado de *Purushotham et al.*<sup>105</sup>

Polímero	N-isopropilacrilamida		N, N'-Metilenbisacrilamida	
	(%)	(g)	(%)	(g)
Polímero 95	95	0.0950	5	0.0050
Polímero 90	90	0.0900	10	0.0100
Polímero 87	87	0.0870	13	0.0130
Polímero 85	85	0.0850	15	0.0150

Tabla 10. Proporciones monómero y entrecruzador.

Para la síntesis, se pesó la masa indicada en la *tabla 10* de monómero y entrecruzador y se disolvió en 50 mL de agua destilada. La disolución se montó en un sistema a reflujo donde se burbujeó en N<sub>2</sub> y se calentó a 60°C. Una vez alcanzada la temperatura se adicionó *N, N, N', N'*-Tetrametilendiamina (TEMED) (*Molecular Sigma Biology, 99 %*) al 8 % mol/mol como acelerador y persulfato de amonio (*Sigma Aldrich >98.0 %*) al 1 % mol/mol como iniciador y se dejó reaccionar durante 5 h. Finalmente la purificación de los polímeros se realizó mediante membranas de diálisis con la finalidad de eliminar los restos del catalizador y el iniciador.

### **6.3 Recubrimiento de nanopartículas tipo núcleo recubrimiento con PNIPAm.**

Una vez establecido el polímero y las nanopartículas con las características ideales para utilizarse como sistema de liberación, se recubrieron las nanopartículas tipo núcleo-recubrimiento con el polímero en una proporción en masa 1:1 vía radicales libres, siguiendo la metodología antes descrita.

## 7.0 Métodos de caracterización.

Inicialmente en este trabajo se planteó la síntesis de cuatro sistemas nanométricos acarreadores de fármacos de diferente composición para el tratamiento de enfermedades asociados a cambios en las propiedades eléctricas de la membrana celular. A lo largo del proyecto se evaluaron las propiedades de interés farmacéutico del sistema, las cuales involucran técnicas de caracterización estructural, funcional, morfológica y fisicoquímica. A continuación, se describen brevemente las técnicas empleadas, la preparación de la muestra y su aplicación.

### 7.1 Difracción de rayos X en polvos.

La difracción de rayos X en polvos es una técnica de caracterización que identifica una muestra, determina su estructura cristalina, pureza, parámetros de red, etcétera. La técnica se empleó para identificar las fases sintetizadas, utilizando la base de datos de la *ICDD (Centro Internacional de Datos de Difracción, (traducido de sus siglas en inglés International Centre for Diffraction Data))* y el programa *Match! Phase Identification from Powder Diffraction*.

Experimentalmente se utilizó un difractómetro de rayos X (*BRUKER AXS, modelo D8 ADVANCE DAVNM*) con lámpara de molibdeno a una longitud de onda ( $\lambda$ ) de 0.7093 nm.

De igual forma, a partir de las características de los picos de mayor intensidad para cada fase se determinó el tamaño del cristalito y la deformación de la red mediante la ecuación de *Scherrer*<sup>106</sup> (ecuación 1) y la aproximación de *Williamson-Hall*<sup>106</sup> (ecuación 2) respectivamente.

$$\text{Ecuación de Scherrer} \quad D = \frac{k\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde:

- $D$  = Tamaño de cristalito
- $k$  = Constante de Scherrer (depende de la forma del cristalito y distribución de tamaño, en donde para una forma esférica  $k=0.89$ )
- $\lambda$  = Longitud de onda
- $\beta$  = Ancho de la reflexión
- $\vartheta$  = Ángulo de Bragg

$$\text{Aproximación de Williamson – Hall} \quad \varepsilon = \frac{\beta_{hkl}}{4 \tan \theta} \quad (\text{Ecuación 2})$$

Donde:  $\varepsilon$  = Deformación de la red  
 $\beta_{hkl}$  = Ancho de la reflexión corregida  
 $\vartheta$  = Ángulo de Bragg

## 7.2 Microscopía electrónica de barrido.

La microscopía electrónica de barrido (*SEM por sus siglas en inglés, Scanning Electron Microscopy*) es una técnica que describe algunas propiedades superficiales de la muestra a través de electrones secundarios o electrones retrodispersados emitidos.

Esta técnica se empleó para caracterizar la morfología de la superficie, estructura, tamaño de partícula, entre otras. La muestra de nanopartículas se preparó colocando una gota de la dispersión de nanopartículas en etanol absoluto (*J. T. Baker, 99.5 %*), sobre una cinta de carbono. Esta técnica se llevó a cabo con un microscopio electrónico de barrido SEM JEOL JSM-7600F.

El análisis de las imágenes se realizó utilizando los programas *Gatan* e *Image J*, con los cuales se midió un mínimo de 200 nanopartículas por sistema para determinar el diámetro promedio y calcular el diámetro medio de la superficie del volumen esférica mediante *ecuación 3*.

$$\text{Diámetro medio de la superficie volumen esférica} \quad d_{\text{área}} = \frac{\sum nd^3}{\sum nd^2} \quad (\text{Ecuación 3})$$

Donde:  $d$  = diámetro de partícula  
 $n$  = número de partículas

## 7.3 Microscopía electrónica de transmisión.

La microscopía electrónica de transmisión (TEM por sus siglas en inglés, *Transmission Electron Microscopy*) es una técnica de múltiples aplicaciones que permite caracterizar a detalle muestras de escala nanométrica. Mediante la técnica de microscopía electrónica de transmisión se obtuvieron imágenes detalladas a través de la transmisión/dispersión de electrones, a partir de las cuales se obtuvo el patrón de difracción de electrones y la

composición elemental de la muestra por la emisión de rayos X característicos y micrografías en campo oscuro, cuyas zonas más brillantes corresponden a regiones con átomos con un mayor número atómico o con mayor cantidad de materia a partir de los electrones retrodispersados (contraste Z).

Las muestras de nanopartículas se prepararon colocando una gota de una dispersión de nanopartículas en etanol absoluto (*J. T. Baker, 99.5 %*), sobre una rejilla de soporte de cobre, malla 200 con *formvar* y recubrimiento de carbono. Esta técnica se llevó a cabo en un microscopio electrónico de transmisión TEM JEOL JEM-ARM200F. El análisis de las imágenes se realizó utilizando el programa *Gatan*.

#### **7.4 Magnetometría: magnetización en función de la temperatura y del campo magnético.**

El Magnetómetro de muestra vibrante es un equipo en donde el movimiento oscilatorio de la muestra genera un cambio de flujo magnético en el interior de unas bobinas, en las cuales se induce una corriente eléctrica proporcional a la magnetización de la muestra.<sup>107</sup> Se utilizó un magnetómetro SQUID (*traducido de sus siglas en inglés, Superconducting Quantum Interference Devices*), MPMS3 (*Quantum Design Inc.*) para describir el comportamiento magnético en función del campo magnético y la temperatura. Para la magnetización en función de la temperatura se siguió el protocolo de calentamiento en campo frío ZFC (*traducido de sus siglas en inglés, zero field-cooled*),<sup>108</sup> que mide la magnetización durante su calentamiento desde la temperatura más baja posible. Experimentalmente se midió la magnetización en un intervalo de 2 a 300 K con una magnitud de campo de 100 Oe. El diamagnetismo intrínseco de los átomos se corrigió mediante las constantes de Pascal.<sup>109</sup> Por otro lado, la magnetización en función del campo magnético se midió a una temperatura de 300 K con un campo de 4 T.

#### **7.5 Magnetofricción.**

Entre las opciones terapéuticas para el cáncer se encuentra la hipertermia magnética, un tratamiento que aprovecha la magnetofricción para exponer a una población de células tumorales a altas temperaturas con la finalidad de interrumpir vías celulares y causar la

muerte de la población. <sup>83</sup> Dada las aplicaciones de la terapia de hipertermia magnética, experimentalmente se evaluó la capacidad de calentamiento de las nanopartículas mediante un sistema *in vitro* implementado en la Universidad Nacional Autónoma de México que mide la temperatura con un diodo tipo Zener, un termopar y un sensor de infrarrojo. <sup>110</sup> Considerando las mejores condiciones de medición mencionadas por el autor, se realizó la determinación de 2 mL de muestra, durante 15 minutos, a una concentración de 1 mg/mL, a una magnitud de campo de 17.4 kAm/m y una frecuencia de 100 kHz.

A partir de los datos experimentales se calculó la tasa de absorción específica SAR (traducido de sus siglas en inglés *Specific Absorption Rate*). En fluidos magnéticos, el término SAR se define como la potencia de calentamiento por unidad de masa para un campo y frecuencia determinados. <sup>110</sup> Experimentalmente el SAR se aproximó con la pendiente de la recta del cambio de temperatura en función del tiempo (*ecuación 4*).

$$\Delta T = \frac{SAR}{C_{p_{H_2O}} m_{H_2O}} m_{NP}(t) \quad (\text{Ecuación 4})$$

Donde la pendiente corresponde  $m = \frac{SAR}{C_{p_{H_2O}} m_{H_2O}} m_{NP}$

## 7.6 Potencial Z y tamaño de partícula mediante dispersión dinámica de luz.

El potencial Z es una propiedad superficial de gran interés farmacéutico ya que se asocia con la estabilidad de sistemas dispersos y permite intuir el comportamiento de un coloide en un medio. El potencial Z se define como el potencial eléctrico en la región de corte de la doble capa eléctrica. <sup>111</sup> El potencial Z se calculó a partir de la movilidad mediante la ecuación de Helmholtz-Smoluchowski (*ecuación 5*).

$$\text{Ecuación de Helmholtz – Smoluchowski} \quad \zeta = \frac{\mu\eta}{\varepsilon\varepsilon_0} \quad (\text{Ecuación 5})$$

Donde:  $\zeta = \text{Potencial Z}$

$\mu = \text{Movilidad}$

$\varepsilon = \text{Constante dieléctrica del agua}$

$\eta = \text{Viscosidad del medio}$

$\varepsilon_0 = \text{Constante de permitividad en el vacío}$

La determinación del potencial Z de las muestras de nanopartículas y polímeros se llevó a cabo en un equipo Zetasizer Nano ZS (*Malvern Panalytical*) en una celda capilar de número DTS1060, en donde el polímero se encontraba en una concentración 0.002 mg/mL, mientras que para el análisis de las nanopartículas se adicionó 2 mL de una dispersión en una solución amortiguadora de fosfatos  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (*Mallinckrodt Chemical Wog, 99.0-101.0 %*) /  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (*J. T. Baker, 98.2 %*) a pH 7.4.

Con el equipo Zetasizer Nano ZS (*Malvern Panalytical*) además de medir el potencial Z de las nanopartículas se midió su tamaño mediante la dispersión dinámica de luz. En este caso, se determinó la LCST de los polímeros a partir de las mediciones del tamaño de partícula, empleando las mismas condiciones durante la determinación del potencial Z en un intervalo de temperatura de 33 a 46 °C. La medición del tamaño de las nanopartículas no se realizó por esta técnica ya que las nanopartículas tienden a formar agregados en dispersión, por lo que esta técnica sobreestima su tamaño real.

Finalmente, durante las mediciones del tamaño de los polímeros también se consiguieron los valores del índice de polidispersidad (IPD), un parámetro que indica la variación en los pesos moleculares de un polímero. El IPD se calcula mediante la siguiente ecuación.

$$IPD = \frac{\text{Masa molecular promedio en masa}}{\text{Masa molecular promedio en número}} \quad (\text{Ecuación 6})$$

### 7.7 Análisis Térmico: Calorimetría diferencial de barrido.

La calorimetría diferencial de barrido DSC (traducido de sus siglas en inglés *Differential Scanning Calorimetry*) es una técnica que detecta transiciones endotérmicas y exotérmicas, como las temperaturas de transición, entalpía de sólidos y líquidos en función de la temperatura. Con el análisis térmico se caracterizó el comportamiento térmico de los polímeros, usando un calorímetro diferencial de barrido DSC1 (*Mettler Toledo*) en donde se colocaron 3 mL de muestra en una concentración de 0.002 g/mL, en una atmósfera de  $\text{N}_2$ , con un ciclo de calentamiento de 20 a 200 °C y una rapidez 2.5 °C/min.

## 7.8 Espectroscopia de absorción en el infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR).

La espectroscopia de absorción en el infrarrojo es una técnica que identifica las frecuencias de vibraciones específicas de las moléculas característicos de los enlaces presentes en un compuesto orgánico o inorgánico.

En este caso, la técnica se empleó para determinar la estructura química del polímero y su presencia como recubrimiento en las nanopartículas. Los grupos funcionales y señales se identificaron conforme a lo reportado por *Coates*,<sup>112</sup> *Mohamed et al.*,<sup>113</sup> *Mürbe et al.*<sup>114</sup>

Para el análisis de muestra se colocó mínimo 5 mg de muestra seca en un espectro FTR/FR *Spectrum 400 (Perkin-Elmer)*, en un intervalo de longitud de onda de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ .

## 7.9 Análisis elemental.

El análisis elemental es una técnica que cuantifica la cantidad de carbono, hidrógeno nitrógeno y azufre en una muestra; y se empleó para determinar la cantidad de recubrimiento polímero en las nanopartículas.

La técnica de análisis elemental se realizó en el analizador elemental Perkin Elmer 2400, en donde se usó cistina como compuesto de calibración para evaluar la cantidad de polímero que recubre las nanopartículas magnetoeléctricas. Se determinó el porcentaje de carbono, hidrógeno y nitrógeno en cada uno de los sistemas preparados.

## 7.10 Espectroscopia de absorción en uv-visible.

La espectroscopia de absorción en el UV-visible es una técnica que identifica y cuantifica moléculas de acuerdo con sus transiciones electrónicas. Se utilizó un espectrofotómetro GNESYS THERMO SCIENTIFIC, en un intervalo de 186 a 1034 nm a una temperatura de 25 °C en una celda de cuarzo para cuantificar la cantidad de metotrexato en el sistema y seguir su cinética de adsorción y de liberación. Para esto se realizaron curvas de calibración de agua y en solución amortiguadora de fosfatos  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (*Mallinckrodt Chemical Wog*, 99.0-101.0 %) /  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (*J. T. Baker*, 98.2 %) pH 7.4, las cuales se analizaron a una longitud de onda de 303.29 nm de acuerdo con lo reportado en la *FEUM*.<sup>115</sup>

Por otra parte, también se utilizó este equipo en su modo de transmitancia a 550 nm para determinar mediante turbidimetría la LCST de los polímeros en una concentración de 0.002 mg/mL.<sup>116</sup> La concentración del polímero fue crucial durante esta determinación porque a altas concentraciones de polímero, la suspensión se observa opaca a cualquier temperatura porque predominan las interacciones entre el polímero (contribución entálpica desfavorable), de ahí que es importante trabajar en un intervalo de concentraciones adecuado.

### **7.11 Evaluación de las nanopartículas como acarreador de fármacos: cinéticas e isotermas de adsorción y perfiles de liberación del metotrexato.**

Además de la caracterización estructural, morfológica, funcional y fisicoquímica de los acarreadores nanométricos se realizó la evaluación de las nanopartículas como acarreador de fármacos mediante estudios de cinéticas e isotermas de adsorción y de los perfiles de liberación bajo diferentes condiciones.

#### **7.11.1 Estudios de adsorción del metotrexato.**

Para la evaluación de la cinética de adsorción se colocaron 10.0 mg de nanopartículas en 10.0 mL de diferentes disoluciones de metotrexato en un intervalo de concentraciones de  $10^{-4}$  a  $10^{-5}$  M, a pH 5 bajo agitación constante a 200 rpm y 25 °C. Las soluciones se prepararon a partir de una disolución concentrada de metotrexato a una concentración de 0.171 mg/mL. Durante el seguimiento de las cinéticas de adsorción se monitoreó la concentración de metotrexato mediante un método espectrofotométrico durante 10 h. Periódicamente se tomaron alícuotas de 500  $\mu$ L cada 15 minutos durante los primeros 90 minutos, luego a los 120, 150, 180, 240, 360, 480 y 600 minutos (*figura 18*). Los datos se ajustaron con el programa *OriginPro 2016* a los diferentes modelos reportados por *Qiu et al.*<sup>117</sup>

Una isoterma de adsorción es la representación de la cantidad de adsorbato que es adsorbido en la superficie de un sólido en relación con la concentración de equilibrio del adsorbato en el medio.<sup>118</sup>

Las isotermas de adsorción se evaluaron en las mismas condiciones empleadas durante los estudios de la cinética de adsorción del metotrexato. A los 480 minutos se separaron las nanopartículas del medio mediante decantación magnética y se cuantificó la cantidad de metotrexato adsorbido con un método espectrofotométrico mediante la diferencia en la cantidad inicial y final de metotrexato en el medio de disolución.

De manera adicional, también se evaluó el efecto de la sonicación durante la adsorción, por lo que se construyeron dos isotermas con y sin una sonicación durante el primer minuto de la adsorción. Nuevamente, los datos obtenidos se ajustaron con el programa *OriginPro 2016* a los diferentes modelos teóricos.<sup>118</sup>

#### **7.11.2 Evaluación de los efectos de la temperatura, cantidad adsorbida de metotrexato y la presencia de un campo magnético alterno en los perfiles de liberación del metotrexato.**

Finalmente, como parte de la evaluación de las nanopartículas como acarreadores nanométricos se evaluó la liberación *in vitro* del metotrexato bajo los efectos de la temperatura, la cantidad de metotrexato adsorbida y la influencia de un campo magnético alterno. La disolución *in vitro* determina la velocidad a la cual el fármaco se incorpora al medio desde el acarreador nanométrico y evalúa la interferencia del acarreador o el método de fabricación sobre la liberación del principio activo.<sup>35</sup>

Se evaluó el efecto de la temperatura en la liberación de metotrexato a 25 °C (por debajo de la LCST) y a 40 °C (por arriba de LCST) con un seguimiento espectrofotométrico durante 1440 minutos. Los perfiles de liberación se realizaron en 10.0 mL de una solución amortiguadora de fosfato 0.1 M a pH 7.4 con 10.0 mg de nanopartículas bajo agitación constante a 200 rpm. Periódicamente se extrajeron 500 µL de medio para cuantificar el metotrexato a los 15, 30, 60, 90, 150, 210, 270, 390, 510 y 1440 minutos (*figura 18*).

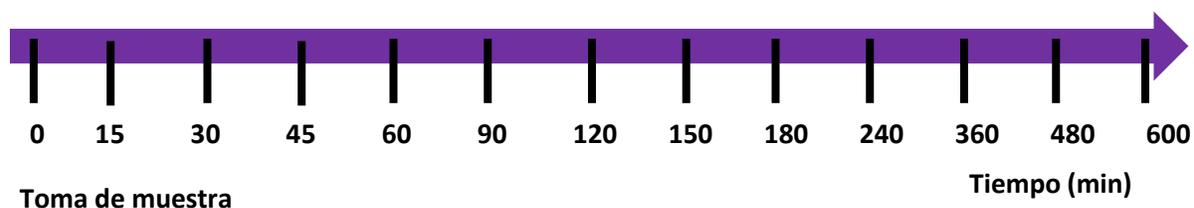
Con base en las isotermas de adsorción, de manera adicional se evaluó el efecto de la temperatura y la cantidad de metotrexato inicial adsorbida en las nanopartículas.

Bajo las mismas condiciones de temperatura, pH, volumen, tiempos de muestreo y agitación se realizaron perfiles de liberación con nanopartículas con metotrexato adsorbido en

disoluciones de metotrexato 0.00015 y 0.0003 M que corresponden a la primera y segunda meseta de la isoterma de adsorción sometida a sonicación.

Para terminar, de acuerdo con los resultados de los perfiles de liberación se evaluó el efecto de un campo magnético externo en la liberación de metotrexato de 10.0 mg de nanopartículas, en 10.0 mL de una disolución amortiguadora de fosfatos 0.1 M a un pH 7.4, a 36.5 °C, 200 rpm, una intensidad de campo magnético de 1.6 kAm/m y a una frecuencia de 107 kHz. Los intervalos de tiempo de muestreo fueron similares a los mencionados en estudios previos. Las nanopartículas estudiadas se cargaron de fármaco en una disolución 0.0003 M de metotrexato. Para el ajuste de los perfiles de liberación se utilizó el programa *DDsolver* considerando los datos hasta el 60 % de la liberación del fármaco.<sup>119</sup>

Cinética de adsorción del metotrexato



Liberación *in vitro* del metotrexato

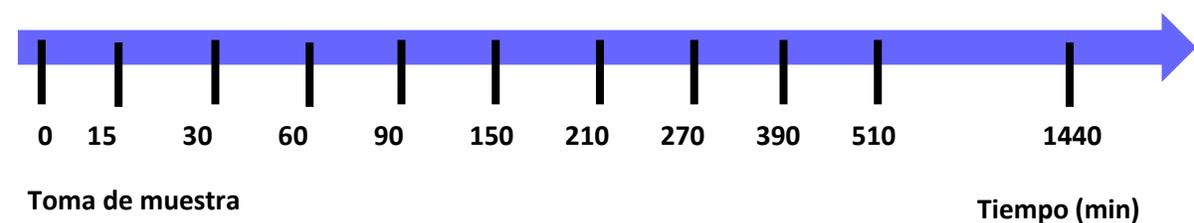


Figura 18. Protocolo de las a) cinéticas de adsorción y b) los perfiles de liberación el metotrexato

Cada estudio se realizó con un mínimo de tres repeticiones para los tres diferentes sistemas.

## 7.12 Análisis estadístico.

La estadística es una herramienta que recolecta, organiza, resume y analiza datos con la finalidad de hacer inferencias, interpretar datos y dar una conclusión a partir de un cierto número de datos. <sup>120</sup> Dependiendo del diseño experimental se determinó el método estadístico más adecuado para analizar los datos con un mínimo de significancia de 0.05. Los análisis empleados fueron los siguientes:

- El diámetro de partícula determinado con la técnica de SEM de las nanopartículas con y sin recubrimiento polimérico se analizó con una prueba de Kruskal-Wallis ( $p < 0.05$ ).
- La curva del incremento de temperatura por unidad de tiempo para la  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  y  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  de proporción 50-50 se analizó con una prueba de análisis de la varianza (ANADEVA) de una vía de medidas repetidas y una prueba *post hoc* Tuckey ( $p < 0.001$ ).
- La temperatura LCST establecida por turbidimetría y el índice de polidispersidad de los polímeros, se analizó con una prueba ANADEVA de dos vías de medidas repetidas y una prueba *post hoc* Tuckey ( $p < 0.05$ ).
- El potencial Z de los sistemas nanométricos y materiales precursores se analizaron con una prueba de ANADEVA de una vía.
- Las cinéticas de adsorción de los sistemas  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  y  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  de proporción 50-50 con recubrimiento polimérico, así como sus parámetros cinéticos se evaluaron con una prueba de ANADEVA de una vía de medidas repetidas y una prueba *post hoc* Tuckey ( $p < 0.001$ ).
- Las isotermas de adsorción de los sistemas  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  y  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  con y sin ausencia de sonicación se analizaron con una prueba de ANADEVA de dos vías y una prueba *post hoc* Tuckey ( $p < 0.05$ ).
- Finalmente, los perfiles de liberación a diferentes temperaturas y sometido a hipertermia magnética se evaluaron con una prueba ANADEVA de tres vías y una prueba *post hoc* Tuckey ( $p < 0.05$ ) y una prueba ANADEVA de dos vías y una prueba *post hoc* Tuckey ( $p < 0.05$ ) respectivamente.

## 8.0 Resultados y discusión.

El objetivo del trabajo consistió en diseñar cuatro nuevos sistemas nanométricos acarreadores de fármacos para el tratamiento de enfermedades caracterizadas por un cambio en las propiedades eléctricas de la membrana celular, como lo es el cáncer. El proyecto involucró la síntesis del sistema y la caracterización estructural, funcional, morfológica y fisicoquímica.

### 8.1 Difracción de rayos X en polvos.

Dentro de las técnicas de caracterización estructural se encuentran la difracción de rayos X de polvos, una técnica capaz de identificar fases cristalinas, determinar el diámetro de cristalito, la pureza de las fases entre otras aplicaciones.

Inicialmente, mediante esta técnica se identificó a las fases que conforman la muestra al comparar los patrones de difracción experimentales con los patrones de difracción de compuestos de referencia previamente reportados por la *ICDD*. Los códigos de los patrones de difracción de rayos X de los estándares empleados se resumen en la *tabla 11*.

Compuesto	Código	Calidad
$\text{Fe}_3\text{O}_4$	00-019-0629	*
$\text{CoFe}_2\text{O}_4$	00-022-1086	*
$\text{BaTiO}_3$	00-034-0129	*
$\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$	00-035-0795	*
$\text{Fe}_2\text{O}_3$	00-033-0664	*

Tabla 11. Código de los patrones de difracción de compuestos estándar reportados por la ICDD.

A continuación, en las *figuras 19, 20, 21 y 22* se observa los difractogramas de los sistemas  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  y  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  respectivamente, en los cuales se muestran los sistemas con diferente proporción de núcleo y recubrimiento.

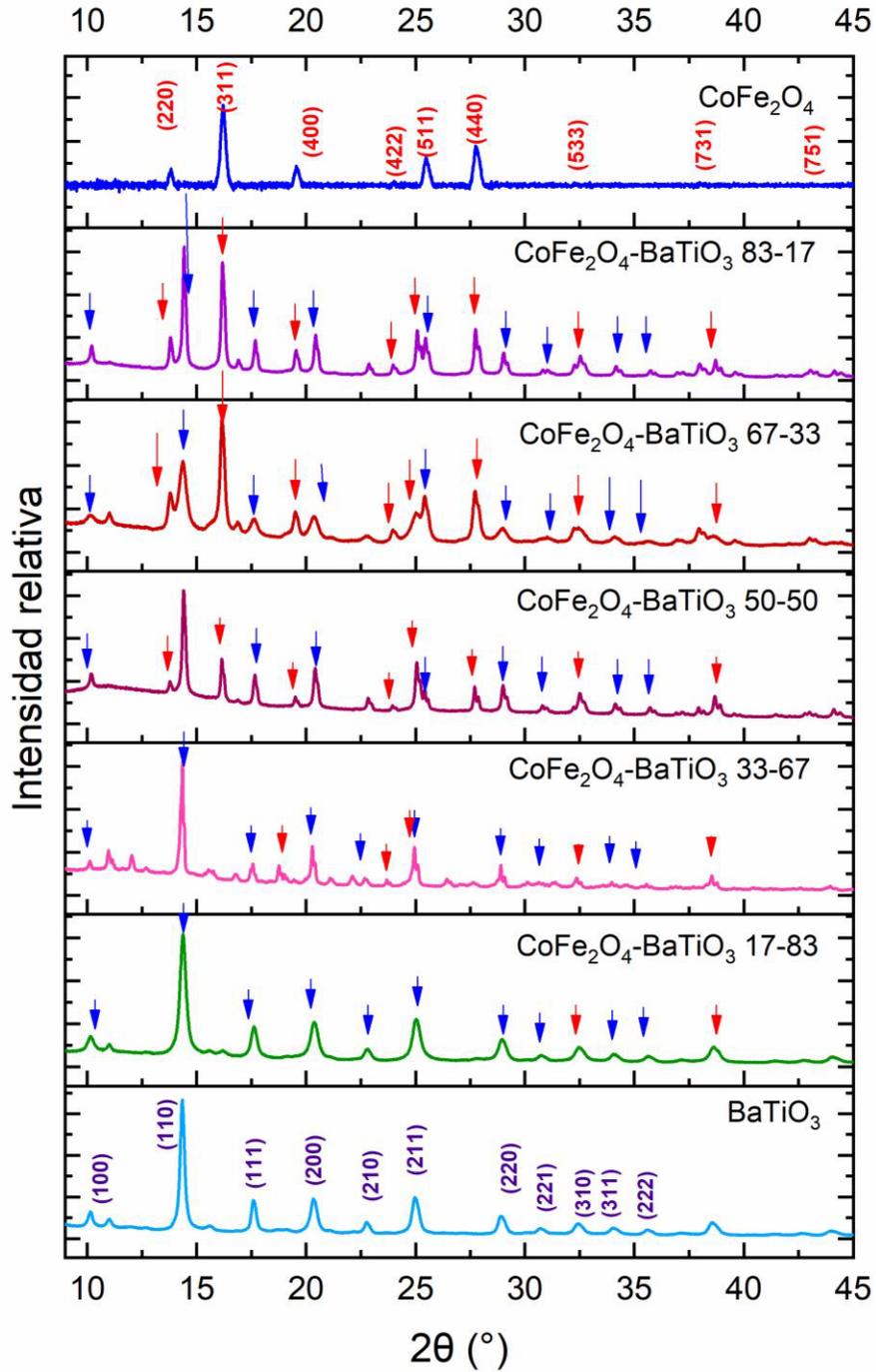


Figura 19. Patrones de difracción de rayos X en polvos de los sistemas de nanopartículas tipo núcleo-recubrimiento  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  de diferente composición.

Las flechas rojas indican los planos correspondientes al núcleo de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  y las flechas azules al recubrimiento con  $\text{BaTiO}_3$ .

Los índices de Miller  $hkl$  se relacionan con reflexiones específicas que cumplen con la ley de Bragg y están asociados a un conjunto de planos atómicos que identifican inequívocamente a un sistema. Como se observa en el difractograma correspondiente al sistema  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ - $\text{BaTiO}_3$  de la *figura 19*, la presencia de los índices de Miller de ambas fases en las nanopartículas núcleo-recubrimiento indica la obtención y la presencia de ambas fases en el sistema de nanopartículas. En el difractograma, también se observa la variación en la intensidad de los picos asociados a los diferentes índices de Miller, lo cual se atribuye principalmente al factor de estructura y al factor de polarización.

De manera cualitativa se observa que, conforme aumenta la cantidad de núcleo y disminuye la cantidad de recubrimiento, los picos asociados a la cobalto ferrita aumentan su intensidad mientras que los picos asociados al titanato de bario disminuyen, lo cual se debe principalmente al factor de estructura. La intensidad de los haces difractados es directamente proporcional a la amplitud de la onda y al factor de estructura, que se define como la suma de todas las ondas dispersadas por los electrones de los átomos de un cristal en una dirección, de manera que la intensidad del haz difractado depende del número de dispersores, es decir, de la masa. A mayor masa, mayor es el factor de estructura y mayor será la intensidad del haz difractado y la señal observada en el difractograma.

Por otra parte, en el difractograma es evidente que a valores de *theta* mayores a  $30^\circ$  la intensidad de los picos disminuye independientemente de la cantidad de muestra debido al factor de polarización. Considerando que la difracción es un fenómeno de dispersión de los electrones, la intensidad del haz dispersado depende del ángulo del haz incidente, por lo que la intensidad es máxima en la dirección del haz incidente y mínima en dirección perpendicular a la incidente. Utilizando lámpara de molibdeno, la intensidad máxima se alcanza cuando  $2\theta$  está entre  $10$  y  $30^\circ$ .

De manera adicional, en el difractograma también se observa que las fases cuya composición predominan en los sistemas sintetizados presenta un mayor grado de cristalinidad, lo cual se manifiesta en la intensidad de los picos y la amplitud del intervalo de  $2\theta$ , en el cual están definidos dichos picos. Los sistemas en donde predomina el recubrimiento no son buenos candidatos para el diseño de acarreadores electromagnéticos debido a la estrecha relación

de la estructura cristalina con las propiedades magnéticas, se espera que estos sistemas muestren propiedades magnéticas deficientes.<sup>121</sup>

Finalmente, en el difractograma del sistema  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ , además de los picos de interés, se aprecian señales adicionales que sugiere la presencia de subproductos del método sintético o a la incorrecta monocromación del haz de rayos X (la presencia de radiación  $k\beta$ ). Después del análisis del difractograma, de acuerdo con la *ICDD* los picos se atribuyeron al pentatitanato protonado monohidratado  $\text{H}_2\text{Ti}_5\text{O}_{11}\cdot\text{H}_2\text{O}$  (00-044-0131, calidad\*) (figura 20).

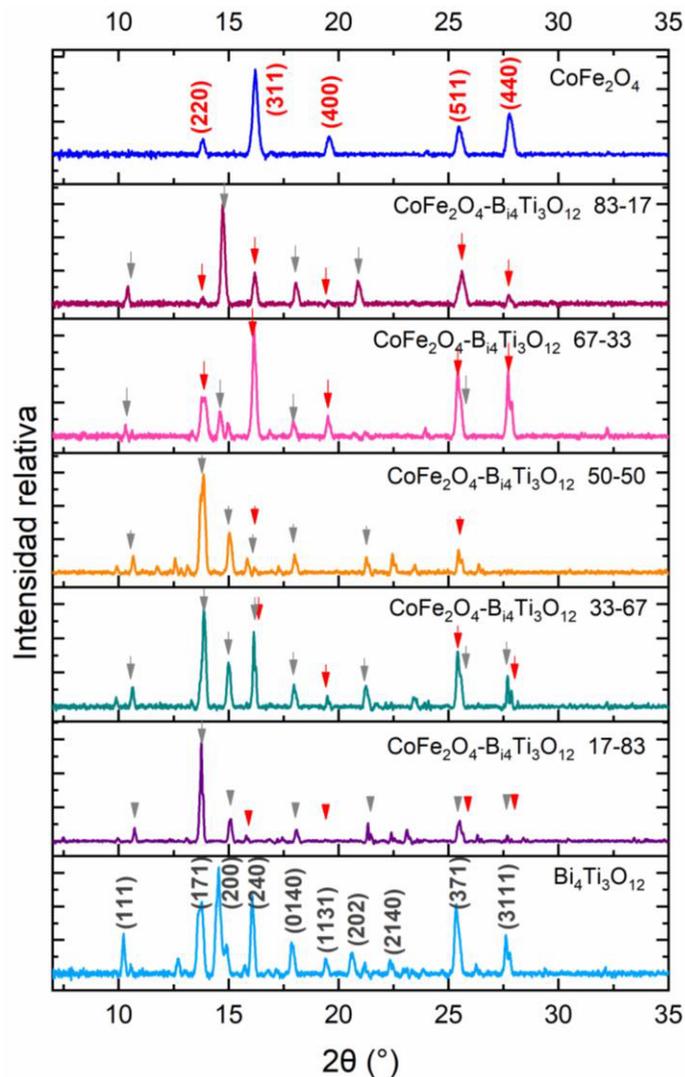


Figura 20. Patrones de difracción de rayos X en polvos de los sistemas de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  de diferente composición.

Las flechas rojas indican los planos asociados al núcleo de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  y las flechas grises al  $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ .

Al igual que con el sistema  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ , en el difractograma de la *figura 20* correspondiente al sistema  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  la presencia de los índices de Miller de ambas fases en las nanopartículas núcleo-recubrimiento indica la obtención y la presencia de ambas fases en el sistema de nanopartículas. De igual forma en la *figura 20* se muestra una variación de la intensidad de los picos asociados a los diferentes índices de Miller de manera similar al sistema anterior, lo cual se atribuye nuevamente al factor de polarización y al factor de estructura. En este sistema se observa la misma tendencia en donde la intensidad de las reflexiones depende de la cantidad de masa presente en el sistema y su grado de cristalinidad, en donde en sistemas con una mayor proporción de núcleo, los picos asociados a esta fase están más definidos y con una mayor intensidad; y viceversa, en sistemas con mayor proporción de recubrimiento, los picos asociados a esta fase son aquellos mejor definidos y de mayor intensidad.

Independientemente de la cantidad de muestra en el sistema, las reflexiones por arriba de  $30^\circ\text{C}$  muestran muy baja intensidad, por lo que solo se muestra el difractograma por debajo de este ángulo.

Finalmente, en el difractograma de este sistema también se observan picos que no corresponden a ninguna de las fases del sistema  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ , sino para el  $\text{H}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$  (00-047-05161, calidad I) en los sistemas de composición 83-17, 67-33 y 33-67, y para el  $\text{H}_2\text{Ti}_5\text{O}_{11}\cdot\text{H}_2\text{O}$  en los sistemas 50-50 y 17-83. La mínima intensidad de las reflexiones de estas fases secundarias indica que su presencia es mínima en la muestra.

En la *figura 21* correspondiente al difractograma de los sistemas de la  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ , nuevamente se confirma la obtención de las fases de interés, tanto de la  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  como el  $\text{BaTiO}_3$ . Al igual que en los difractogramas anteriores, se observa que conforme cambia la proporción de las fases cambia la intensidad de los picos asociados a dicha fase.

En su mayoría, los picos se encuentran bien definidos en un intervalo del ángulo  $2\theta$ , sin embargo, para el sistema con composición de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  de proporción 67-33 se observa de manera cualitativa que los picos son más anchos y menos definidos, lo cual indica un menor grado de cristalinidad a comparación de los otros sistemas, de manera que se tiene

un tamaño de partícula menor. Conforme al fundamento del método sol-gel la falta de cristalinidad en esta muestra en particular se atribuye a un mal control de la temperatura durante el calentamiento, el secado y la deshidratación del recubrimiento.

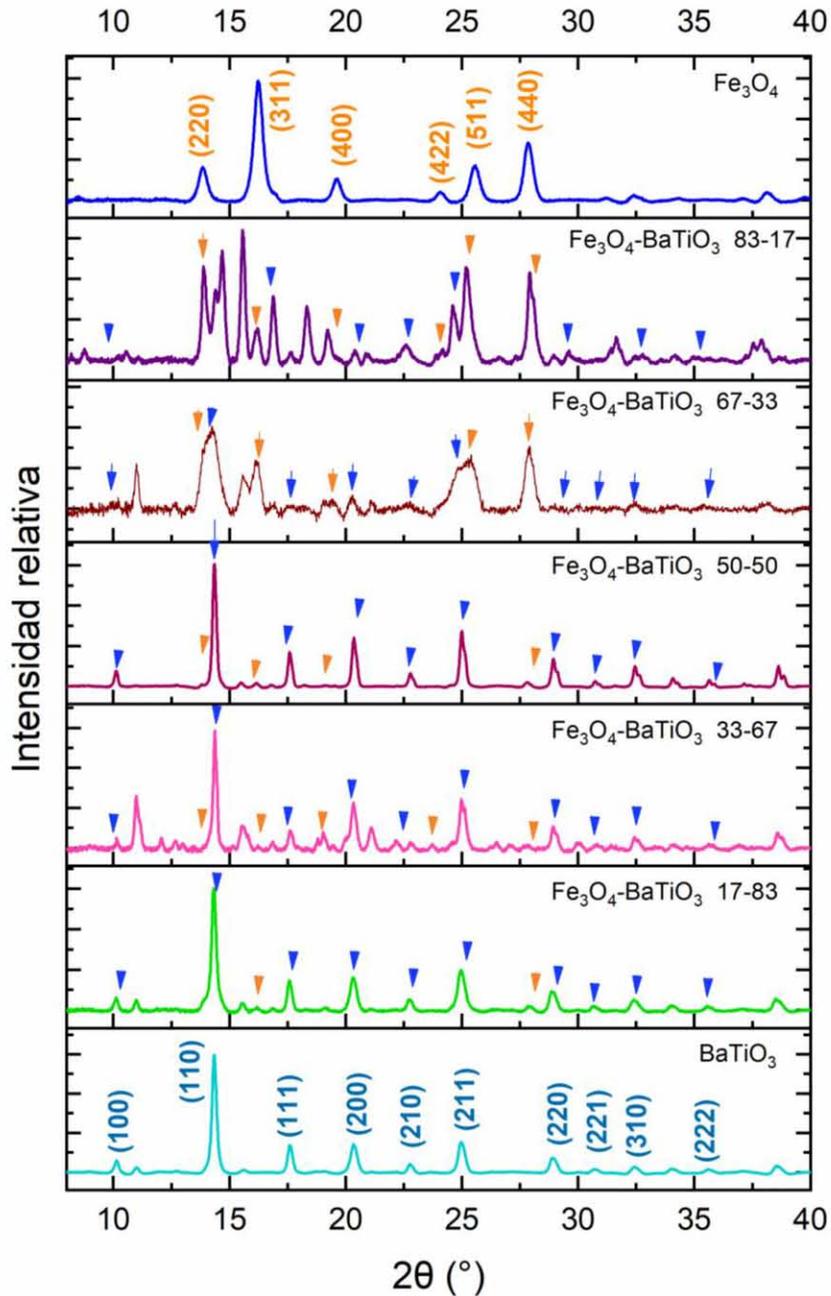


Figura 21. Patrones de difracción de rayos X en polvos de los sistemas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  de diferente composición.

Los índices de Miller corresponden al núcleo de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  y los azules al  $\text{BaTiO}_3$ .

En el sistema  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ , al igual que en los sistemas anteriores, se observan picos adicionales que no corresponden a las fases de interés, los cuales, en este caso, corresponden al  $\text{BaTi}_4\text{O}_9$  (01-075-2048, calidad C) para la proporción 83-17,  $\text{Ba(OH)}_2$  (00-022-1054, calidad B) para el sistema 33-67 y al  $\text{H}_2\text{Ti}_5\text{O}_{11}\cdot\text{H}_2\text{O}$  para los sistemas 17-83 y 67-33. Cabe resaltar que en el sistema 50-50 no se identificaron picos asociados a fases secundarias.

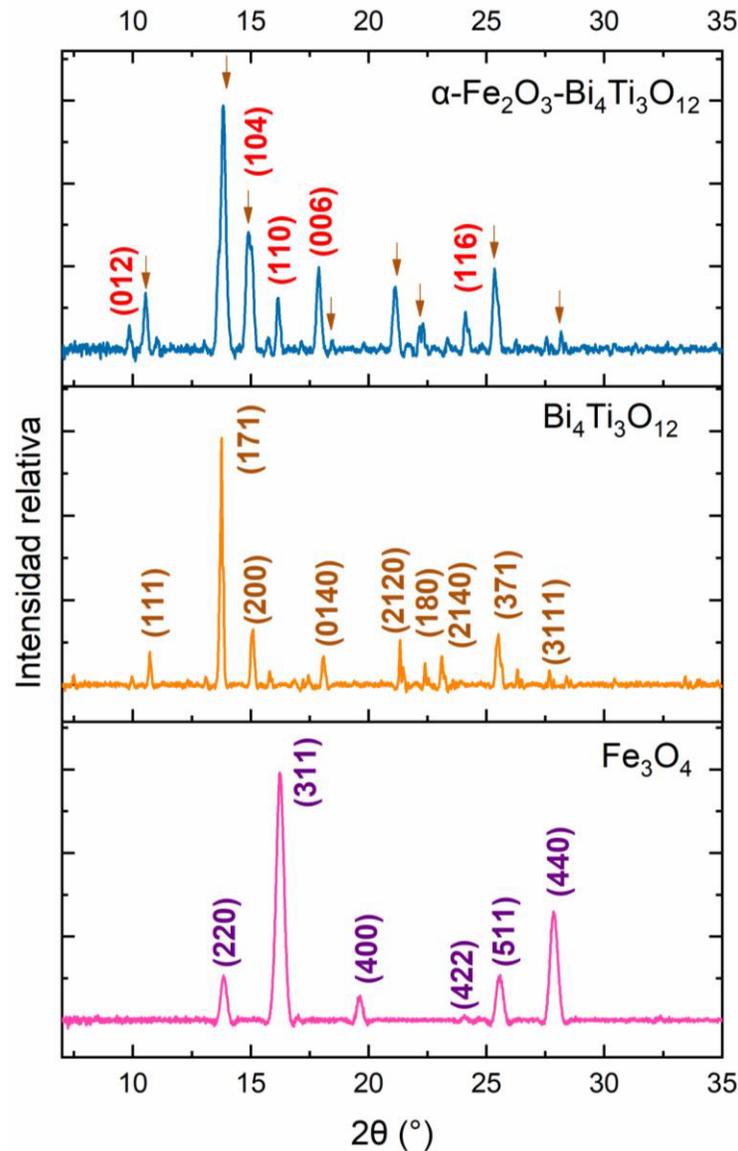
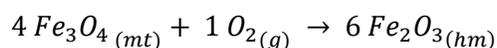


Figura 22. Patrones de difracción de polvos del sistema  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ . Los índices de Miller cafés corresponden al  $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ , los rojos a la  $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$  y los morados a la  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .

Finalmente, en la *figura 22* se observa el difractograma del sistema  $Fe_3O_4$ - $Bi_4Ti_3O_{12}$ , en el cual se muestra que no se obtuvieron las fases deseadas, ya que en lugar de formar  $Fe_3O_4$  y  $Bi_4Ti_3O_{12}$  se formó hematita ( $\alpha$ - $Fe_2O_3$ ) un óxido de hierro que muestra un comportamiento antiferromagnético y que no es de interés para el proyecto por su comportamiento antiferromagnético. De manera cualitativa la transición de fases se manifestó con un cambio en la coloración de la muestra de un polvo negro a un polvo rojo.

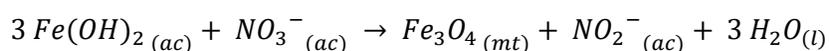
La  $Fe_3O_4$  es un sistema termodinámicamente menos estable en comparación con la  $CoFe_2O_4$ , de manera que la primera es más reactiva y tiende a sufrir cierto grado de oxidación cuando está en contacto con el aire o a altas temperaturas, transformándose en hematita o en maghemita ( $\gamma$ - $Fe_2O_3$ ).<sup>122</sup> El sistema  $Fe_3O_4$ - $\alpha$ - $Fe_2O_3$  tiene un crecimiento topotaxial que se caracteriza por una reacción en estado sólido entre dos cristales correlacionados por algunos planos cristalográficos, en el caso de este sistema, por los planos 111 y 001.<sup>123</sup> Además, en este tipo de sistemas también hay un crecimiento epitaxial que implica la formación de una nueva fase desde la superficie por la presencia de agentes reductores u oxidantes. La reacción de oxidación de magnetita a hematita es la siguiente:



La conversión entre ambos óxidos se ha reproducido experimentalmente bajo condiciones oxidantes como el oxígeno, variando la composición, temperatura y presión. Un método muy empleado para la conversión de magnetita a hematita es el calentamiento por arriba de los 700 °C en presencia de oxígeno.<sup>124</sup>

Durante la síntesis vía sol-gel del recubrimiento de la  $Fe_3O_4$ , para la densificación del  $Bi_4Ti_3O_{12}$  y el  $BaTiO_3$  se empleó una temperatura de 700 °C, lo cual en presencia de fuertes agentes oxidantes en el medio de reacción como lo son el oxígeno y el citrato que favorecen la formación de la  $\alpha$ - $Fe_2O_3$ . Sin embargo, a pesar de que usaron las mismas condiciones de reacción para el recubrimiento con ambos titanatos, solo se formó  $\alpha$ - $Fe_2O_3$  en el caso del recubrimiento con  $Bi_4Ti_3O_{12}$ , lo cual sugiere que el bismuto o su anión, el nitrato, favorecieron la oxidación de la  $Fe_3O_4$ . No hay mucho al respecto en la literatura, pero hay autores que mencionan que algunos metales como el Bi o el As favorecen el crecimiento epitaxial de la

magnetita a hematita.<sup>125</sup> De acuerdo con la literatura, aunque el nitrato es un anión muy oxidante, este no reacciona con la  $Fe_3O_4$  para formar  $\alpha-Fe_2O_3$ , por lo que inclusive la  $Fe_3O_4$  se utiliza como catalizador para reducir nitratos en aguas contaminadas.<sup>126</sup> Considerando el principio de Le Châtelier, la presencia de nitratos en el medio favorece la formación de magnetita, como se muestra en la siguiente reacción.<sup>127</sup>



Con el fin de obtener el sistema  $Fe_3O_4-Bi_4Ti_3O_{12}$ , se evaluaron varias temperaturas de calcinación, sin embargo, cabe mencionar que a 500 y 600 °C el producto final era la  $\alpha-Fe_2O_3$ . Como la  $\alpha-Fe_2O_3$  no era una fase de interés para el trabajo no se sintetizaron sistemas de diferente proporción de núcleo y recubrimiento.

Debido a la naturaleza de la muestra, la difracción de rayos X en polvos se realiza en condiciones severas de difracción porque los cristales al ser muy pequeños y estar orientados en diferentes direcciones dan lugar a pocas reflexiones. Por lo cual, para generar el patrón de difracción completo se rotan los cristales en el haz de rayos X para así irradiar varios cristales del mismo material en diferentes orientaciones simultáneamente. La superposición del conjunto de reflexiones genera un círculo completo para una reflexión en particular. El refinamiento de Rietveld se basa fundamentalmente en lo anterior, y es un método de refinamiento que determina con mayor precisión los parámetros estructurales, la muestra al comparar mediante el método de mínimos cuadrados los picos de difracción experimentales con un modelo teórico que considera la estructura cristalina, el grupo espacial, posición de los átomos en la celda, etc.<sup>128</sup>

En todos los sistemas, se observó la formación de fases adicionales asociadas principalmente a variantes del óxido de titanio. La formación del  $H_2Ti_5O_{11} \cdot H_2O$  se atribuye principalmente al pH, la cantidad de disolvente y el peso molecular del sustituyente alquílico del alcóxido, que en este caso fue el butilo.<sup>37</sup> Considerando que se utilizó un sustituyente voluminoso que presenta cierto impedimento estérico, volúmenes de disolventes relativamente grandes y

pH ácidos, se infiere que se propiciaron cinéticas de reacción rápidas y la formación de algunos óxidos de titanio de mayor tamaño y grado de hidrólisis como el  $\text{H}_2\text{Ti}_5\text{O}_{11}\cdot\text{H}_2\text{O}$ .

Durante el método de sol-gel se prefieren condiciones que favorezcan una cinética de hidrólisis y condensación lenta para evitar la precipitación, formación de productos de mayor hidrólisis y la segregación de fases. Sin embargo, para evitar la precipitación de subproductos, se manejaron pH ácidos y volúmenes de disolventes relativamente grandes, condiciones que incrementan a velocidad de la reacción. Se impuso un pH menor a uno para el recubrimiento con  $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  y de dos para el de  $\text{BaTiO}_3$ .

De manera general, los sistemas recubiertos con el  $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ , a comparación de los sistemas con  $\text{BaTiO}_3$ , presentaron una mayor proporción de subproductos porque las condiciones experimentales propiciaron cinéticas de la hidrólisis y policondensación más rápidas y difíciles de controlar.

## 8.2 Microscopía electrónica de barrido.

Tras el análisis de los difractogramas anteriores, se confirmó la obtención de las fases deseadas, aunque con base en estos resultados no se puede afirmar la obtención de nanopartículas de tipo núcleo-recubrimiento, ya que existe la posibilidad de que ambas fases estuvieran segregadas. Para comprobar la morfología de la superficie, estructura y tamaño de partícula se utilizaron las técnicas de SEM y TEM. En la *figura 23*, se muestra el SEM de los diferentes sistemas en una proporción 83-17 en donde se aprecia claramente que en todos los sistemas se obtuvieron agregados de nanopartículas. En el caso del sistema de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ , los agregados de nanopartículas son tan pequeñas que dan la sensación de tener una textura afelpada.

Las imágenes de SEM de las proporciones 33-67 y 50-50 no se muestran aquí, debido a que presentan características de morfología y textura similares a la de los sistemas representados en la *figura 23*. Las imágenes se encuentran en el *anexo 1*. Al contrario de los sistemas antes descritos, en las micrográficas de SEM de los sistemas donde predomina la cantidad de recubrimiento se aprecian estructuras adicionales de mayor tamaño con forma de láminas poligonales y nanotubos además de los agregados irregulares de nanopartículas.

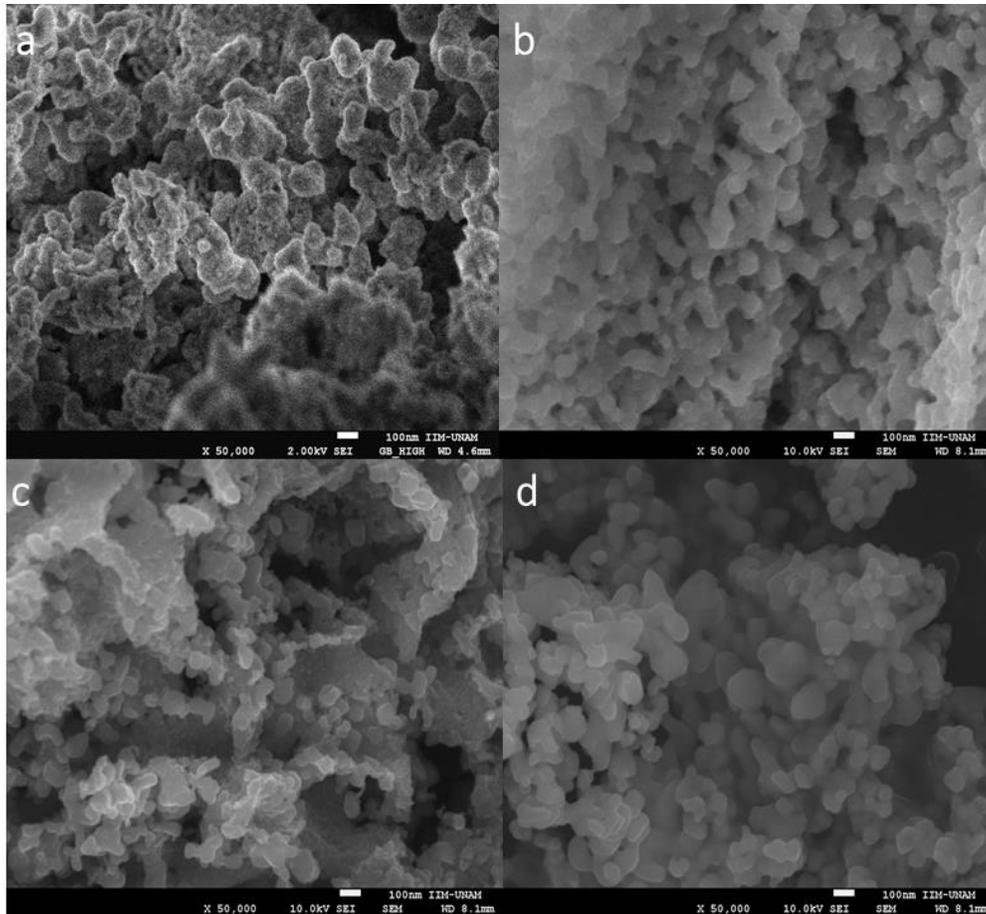


Figura 23. Microscopía electrónica de barrido de los sistemas de composición 83-17 de las nanopartículas de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  (a),  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  (b),  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  (c) y  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  (d).

En la *figura 24*, se observa que cuando hay un exceso de recubrimiento, las fases se segregan y se forman nanopartículas de  $\text{BaTiO}_3$  y en menor proporción nanotubos de varios óxidos de titanio, en las cuales se presenta la inserción de los núcleos magnéticos. La descripción en morfología del  $\text{BaTiO}_3$  como nanopartículas poligonales y en ocasiones cuando el tamaño de grano es mayor como láminas poligonales concuerda con microscopías reportadas en la bibliografía.<sup>129,130</sup>

Asimismo, la presencia de nanotubos concuerda con rayos X en donde se observaron señales por fases secundarias, principalmente los óxidos de titanio con diferente grado de hidrólisis que se caracterizan por tener esta morfología forma de nanotubos, incluyendo al  $\text{H}_2\text{Ti}_5\text{O}_{11}\cdot\text{H}_2\text{O}$ .<sup>131</sup>

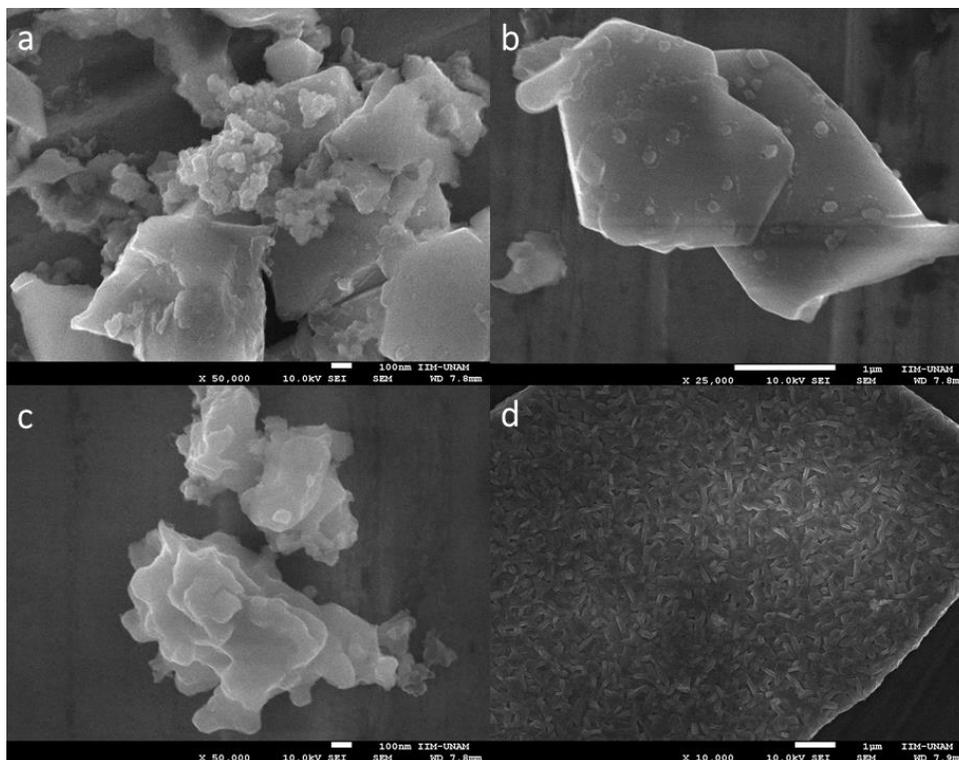


Figura 24. Microscopía electrónica de barrido de los sistemas a)  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  (33-67), b)  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  (33-67), c)  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  (33-67) y d)  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  (83-17).

Con base en las microscopías de SEM, se deduce que en los sistemas con una mayor proporción de núcleo no hay una segregación de las fases formando sistemas más homogéneos con las características adecuadas para utilizarse como acarreadores de fármacos.

### 8.3 Microscopía electrónica de transmisión.

Posteriormente, con la técnica de TEM se obtuvieron imágenes más detalladas, de escala nanométrica, en donde se diferencian las fases correspondientes al recubrimiento y el núcleo. En la *figura 25*, se aprecia que el grosor del recubrimiento va desde los 2.58 nm y hasta los 7.10 nm para los sistemas en una proporción 50-50.

Las microscopías de TEM correspondientes a los sistemas en una proporción de recubrimiento menor (proporciones 83-17 y 67-33) no se muestran en esta sección, ya que al ser poca la cantidad de recubrimiento, se observan regiones sin recubrir o con poco

recubrimiento y distribución irregular. A pesar de que el recubrimiento era heterogéneo, se logró el recubrimiento de un contado número de nanopartículas (*anexo 1*).

El grado de heterogeneidad entre la población de nanopartículas y entre los componentes de la superficie tiene repercusiones biológicas y tecnológicas importantes, que limitan la formulación, los métodos de preparación, escalamiento y la respuesta celular. El tamaño, la forma, carga y la distribución de los componentes en la superficie son factores que determinan los mecanismos de distribución, biotransformación y eliminación a los cuales van a ser sometidos los nanoacarreadores, de manera que limitan la biodisponibilidad del acarreador y del fármaco.<sup>132</sup> Una población heterogénea de nanopartículas se va a comportar de manera variada, por lo que la efectividad de la terapia, la toxicidad y la respuesta celular final se van a ver afectados.

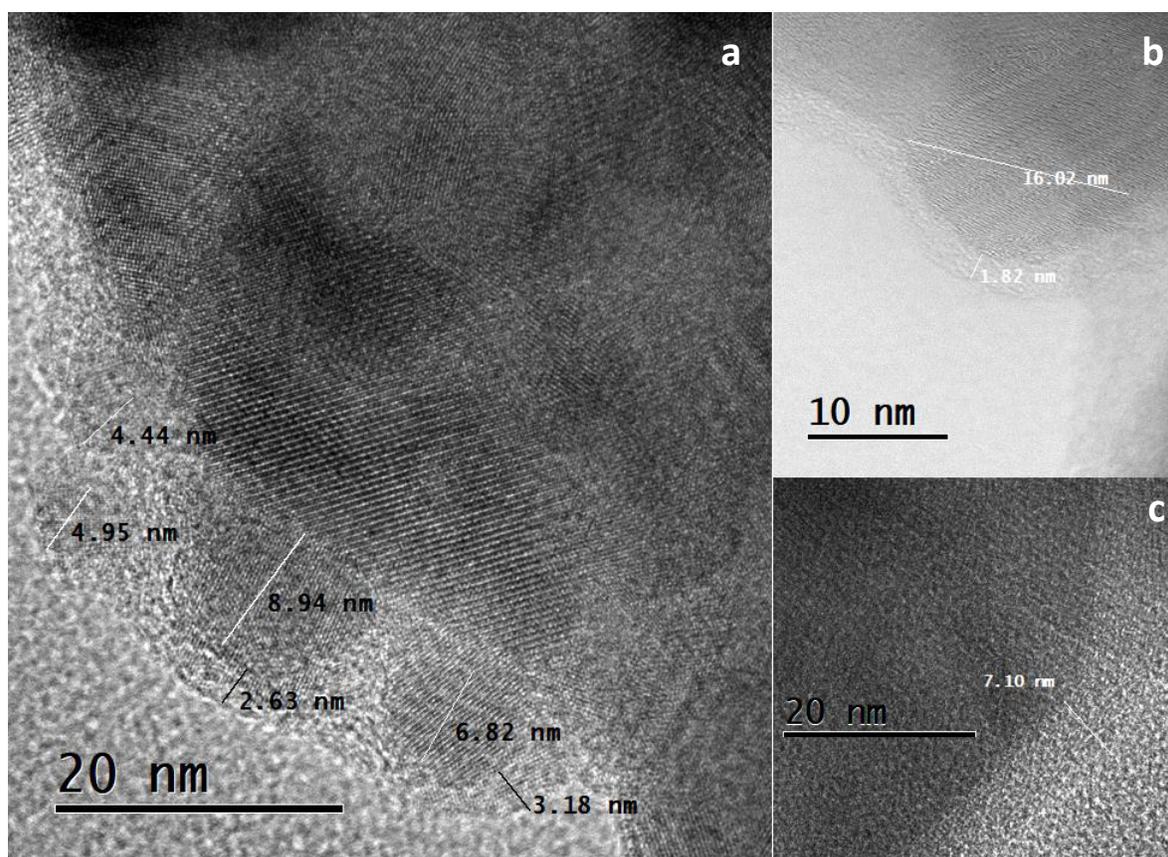


Figura 25. Microscopía electrónica de transmisión de a)  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  (50-50), b)  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  (50-50) y c)  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  (50-50).

De acuerdo con las microscopías de la *figura 25*, se determinó que los sistemas en una proporción 50-50 mostraban, dentro de lo posible, un recubrimiento más homogéneo. Durante la síntesis es muy difícil controlar la homogeneidad del recubrimiento porque los núcleos magnéticos en dispersión tienden a sedimentar y flocular, por lo que a lo largo de la síntesis el área superficial no permanece constante. A pesar de que las suspensiones de los núcleos ferrimagnéticos son bastante inestables en dispersión, al manejar una proporción 50-50 se obtuvo un sistema de características adecuadas con un recubrimiento de grosor variable.

Con el objetivo de lograr recubrimientos más homogéneos en nanopartículas de tipo núcleo-recubrimiento generalmente se recomienda utilizar métodos que formen el núcleo y el recubrimiento de manera simultánea, sin embargo, en este caso las incompatibilidades existentes entre los métodos sintéticos no lo permitieron, ya que mientras la coprecipitación requiere de un pH básico, el método de sol-gel requiere de un pH ácido.

Finalmente, cabe mencionar que no se obtuvieron imágenes de TEM del sistema  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  debido a que ya no era de interés por su comportamiento anti ferromagnético.

A continuación, se describen tanto las fases de interés y las fases secundarias con la técnica de TEM en términos de su estructura cristalina mediante la difracción de los electrones.

En la *figura 26* se muestran las microscopías de donde se obtuvieron los patrones de difracción de electrones de los sistemas, a partir de los cuales se identificaron a las fases sintetizadas mediante sus índices de Miller correspondientes. Las imágenes mostradas no pertenecen a una proporción en particular, sino que se obtuvieron de los sistemas donde predomina el núcleo porque es muy difícil obtener imágenes en la dirección de un mismo eje cristalográfico, característica necesaria para obtener el patrón de difracción de electrones.

Mediante los índices de Miller, nuevamente se identificaron los planos de átomos de los patrones de difracción representados en la *figura 26* que pertenecen a la a)  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ , b)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , c)  $\text{BaTiO}_3$  y d)  $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ , lo cual nuevamente reafirma la obtención de las fases, como ya anteriormente se hizo con los rayos X.

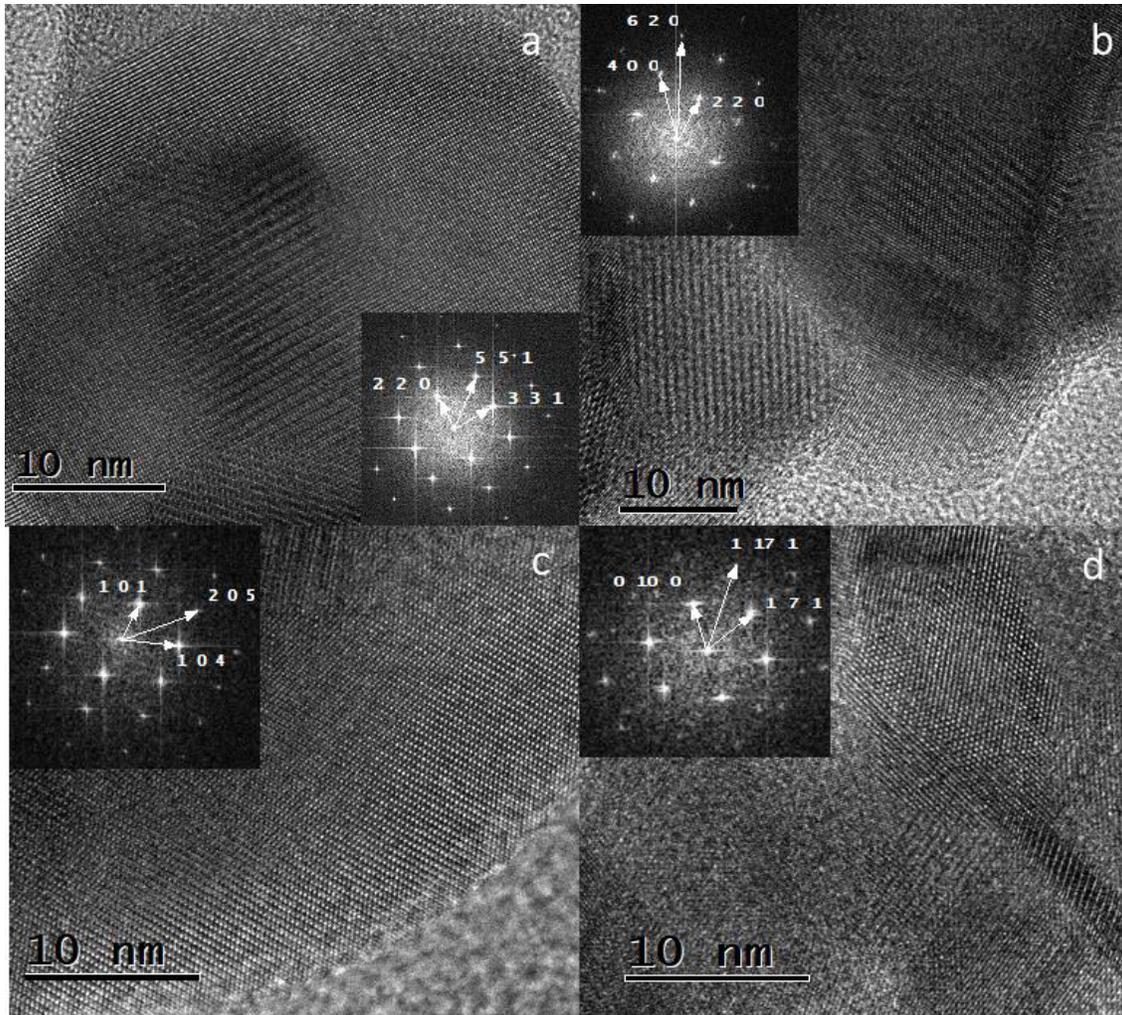


Figura 26. Microscopía electrónica de transmisión y patrón de difracción de electrones de la a)  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ , b)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , c)  $\text{BaTiO}_3$  y d)  $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ .

A pesar de que en las microscopías de la *figura 26* son adecuadas para la obtención de un patrón de difracción de electrones, en estas microscopías es difícil diferenciar las fases presentes debido a su superposición y la dirección de las nanopartículas en la muestra. Aunque no se distinguen las fases, es evidente en la microscopía de la *figura 26* inciso “c” correspondiente al  $\text{BaTiO}_3$  que esta fase se encuentra en el borde del sistema.

A pesar de que se obtuvieron los sistemas de interés, en las microscopías también se observaron planos asociados a fases secundarias como la  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$  y el  $\text{H}_2\text{Ti}_5\text{O}_{11}\cdot\text{H}_2\text{O}$  (*figura 27*), lo que identifica dichas fases y reafirma la información obtenida con pruebas anteriores, la difracción de rayos X y SEM.

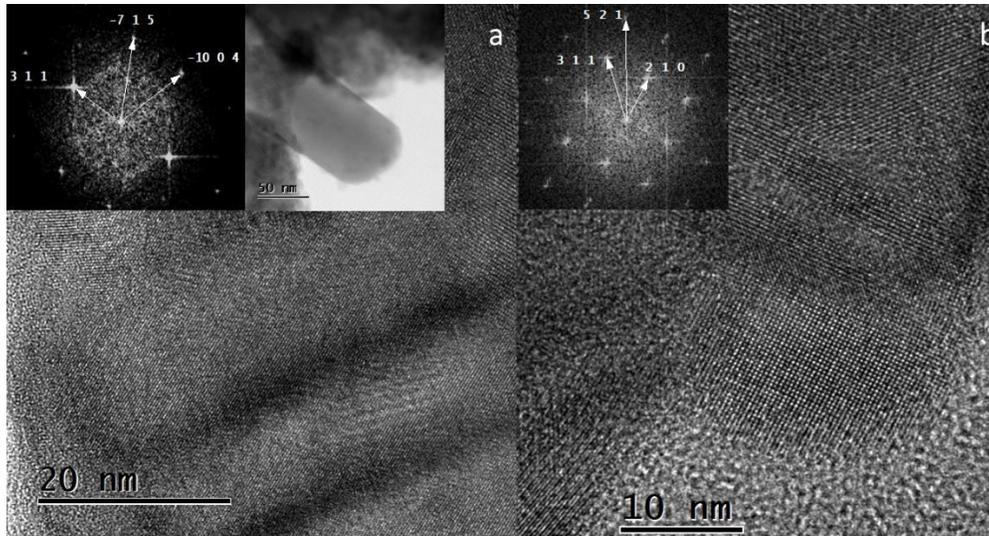


Figura 27. Microscopía electrónica de transmisión de a)  $H_2Ti_5O_{11} \cdot H_2O$  y b)  $\gamma-Fe_2O_3$ .

El objetivo inicial de las microscopías era obtener una imagen en eje de zona para ambas fase y así afirmar su presencia y contacto, sin embargo, solo fue posible obtener una imagen con estas características para el sistema  $CoFe_2O_4-BaTiO_3$ . En la *figura 28*, se muestra una microscopía con un patrón de difracción del  $BaTiO_3$  en donde se observa un núcleo 3.48 nm y un recubrimiento de aproximadamente 3.78 nm. En la imagen las dos partes de la muestra con distinta composición se contrastan por la intensidad, aunque no tienen una diferencia topográfica entre ellas, lo que sugiere que se obtuvieron nanopartículas tipo núcleo-recubrimiento.

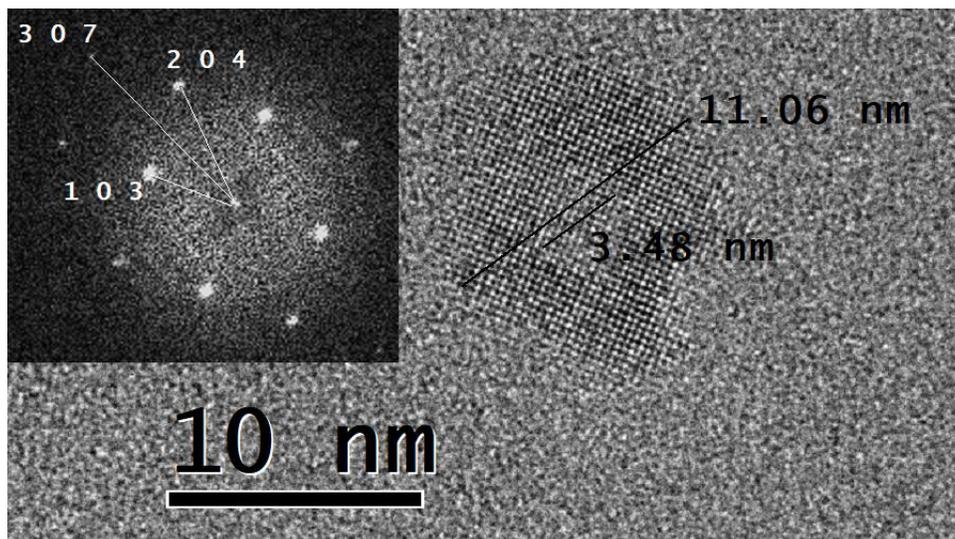


Figura 28. Microscopía electrónica de transmisión del sistema  $CoFe_2O_4-BaTiO_3$  (83-17).

Finalmente, a partir de las imágenes de TEM y SEM, se corroboró la composición de los sistemas a partir de la emisión de radiación electromagnética de la muestra tras ser irradiado con haz de electrones (*anexo 2*). Aunque las imágenes demuestran que los elementos que conforman el sistema se encuentran en un mismo punto y que las fases no están segregadas, las proporciones de los elementos no son del todo confiables porque la detección de la dispersión de rayos X es un técnica semicuantitativa.

#### 8.4 Tamaño de cristalito, tamaño de partícula y distorsión de la red cristalina.

Posteriormente, a partir de los rayos X se obtuvo el tamaño de cristalito (D) mediante la ecuación de *Scherrer*<sup>133</sup> y el desplazamiento de la red ( $\epsilon$ ) con la aproximación de *Williamson-Hall*.<sup>106</sup> Los valores se encuentran representados en la *tabla 12*.

Sistema	Proporción	Fase	D (nm)	$\epsilon$
	100	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	8.15	0.0145
	100	BaTiO <sub>3</sub>	15.42	0.0087
	100	CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	13.29	0.0089
	100	Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub>	16.14	0.0082
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub>	83-17	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	12.48	0.0095
	67-33	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	15.05	0.0079
	50-50	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	16.84	0.0071
	33-67	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	13.35	0.0089
	17-83	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	12.49	0.0095
CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub>	83-17	CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	21.26	0.0056
	67-33	CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	17.06	0.0070
	50-50	CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	21.87	0.0061
	33-67	CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	20.12	0.0057
	17-83	CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	11.06	0.0107
CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub>	83-17	CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	19.57	0.0061
	67-33	CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	22.05	0.0054
	50-50	CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	29.42	0.0041
	33-67	CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	33.93	0.0035
	17-83	CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	24.51	0.0052

Tabla 12. Tamaño de cristalito y parámetro de deformación de la red cristalina.

El tamaño aproximado de cristalito se calculó a partir del pico de mayor intensidad de la  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  y la  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ , que corresponde a la reflexión 311, considerando una forma esférica de las nanopartículas. Dada la geometría irregular de los recubrimientos sobre la superficie de las nanopartículas no se calculó el tamaño de cristalito para estas fases porque para aplicar la ecuación de *Scherrer*, se requiere de una relación razonablemente definida entre los ejes cristalinos y la geometría del sistema.<sup>133</sup>

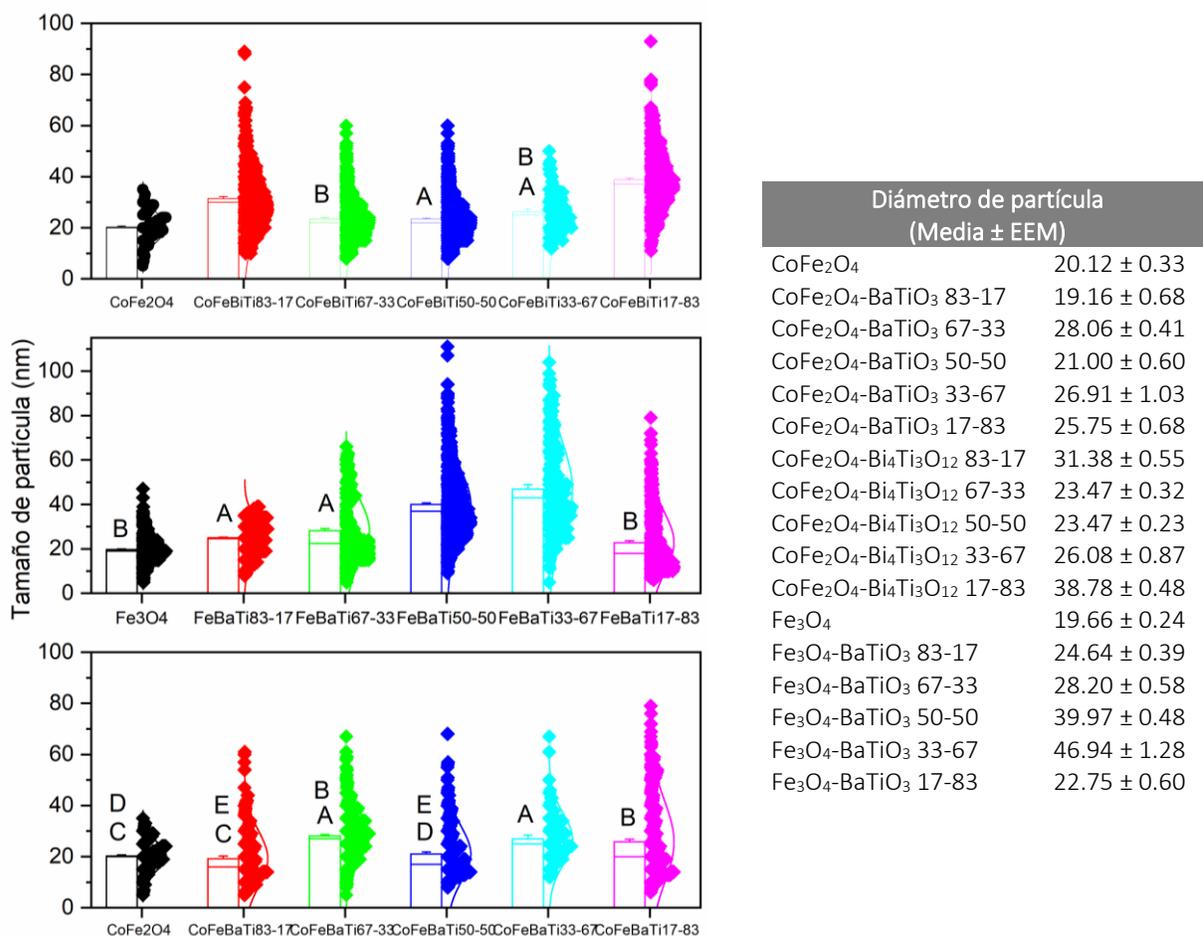
El tamaño de cristalito se define como el tamaño del dominio donde se lleva a cabo la difracción y donde es posible aplicar la operación de simetría y de traslación en el sólido cristalino.<sup>106</sup> En materiales magnéticos, esta medida se relaciona con los dominios magnéticos, los cuales son arreglos en donde los espines de los electrones se orientan hacia cierta dirección en particular y que son los causantes del comportamiento magnético. En la *tabla 12* se observan variaciones en el tamaño de cristalito de los núcleos desde los 8.15 nm, hasta los 33.93 nm independientemente de la proporción de recubrimiento. Experimentalmente se espera un comportamiento superparamagnético por parte de los sistemas al considerar la relación del dominio y el tamaño del cristalito, el cual en general debe ser menor a 20 nm.<sup>121</sup>

Por otra parte, en la *tabla 12*, también se muestra el parámetro asociado a las microdeformaciones o defectos cristalinos. En el caso de un monocristal imperfecto las microdeformaciones se atribuyen a defectos como vacancias, átomos intersticiales, átomos sustitucionales, dislocaciones y fallas de apilamiento. Al igual que con el tamaño de cristalito, no hay una relación entre las microdeformaciones y la cantidad de recubrimiento. Una estrategia alternativa para generar materiales que presenten el fenómeno magnetoeléctrico consiste en introducir el acoplamiento indirecto, a través de la tensión entre los materiales mediante su recubrimiento. El recubrimiento genera tensiones de alrededor del 1 % en los materiales magnéticos, como es el caso de los sistemas sintetizados (*tabla 12*).<sup>58</sup>

De acuerdo con *Ederer & Spaldin*<sup>134</sup> el parámetro de deformación de la red afecta las propiedades magnéticas de los materiales ferrimagnéticos, de manera que una mayor distorsión en la red cristalina disminuye la magnetización de saturación y aumenta la temperatura de Curie.

En las ferritas la redistribución de los cationes con diferentes estados de oxidación en los sitios octaédricos y tetraédricos deforma la red cristalina y la orientación de los espines magnéticos cambiando las propiedades magnéticas de los materiales.<sup>135</sup> Se espera que las muestras con los valores de deformación de la red cristalina más altos posiblemente presenten valores de magnetización de saturación menores a los esperados (*tabla 12*), especialmente en las nanopartículas que presentan valores cercanos al 1 % como la Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, las nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-BaTiO<sub>3</sub> (proporciones 33-67 y 17-83) y las nanopartículas de CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-BaTiO<sub>3</sub> (proporción 17-83).

Posteriormente, se determinó el diámetro promedio de las partículas mediante la técnica de SEM, los datos se encuentran representados en la *figura 29*.



*Figura 29. Gráfica de barras y distribución del tamaño de partícula. Diámetro promedio ± EEM. Prueba de Kruskal-Wallis. Las letras en común indican que no hay diferencia significativa entre los grupos marcados ( $p < 0.05$ ).*

De manera general, en esta figura se observa que en ningún sistema el tamaño de partícula excede los 100 nm y que el diámetro promedio está alrededor de los 25 nm. Con la prueba de Kruskal-Wallis ( $p < 0.05$ ) se constata que los sistemas presentan diferente distribución de tamaño de partícula independientemente de su composición, lo que sugiere que el recubrimiento no afecta el tamaño, pero sí la homogeneidad de la población.

En los sistemas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  y  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  es evidente que los sistemas con mayor proporción de recubrimiento tienen una distribución de tamaño de partícula más amplia. La distribución del tamaño de partícula influye en la eficacia, estabilidad, seguridad, capacidad de carga, capacidad de evasión del sistema inmune y la biodisponibilidad de los acarreadores nanométricos. Considerando el tamaño de las partículas, se espera un desempeño adecuado de las nanopartículas como acarreador de fármacos.

Comparando los valores de la *tabla 12* del tamaño de cristalito determinado por el método de rayos X con el tamaño de partícula determinado con la técnica de SEM, se aprecia que ambas dimensiones son diferentes, ya que, por un lado, con rayos X se determina el tamaño del dominio cristalino, mientras que en SEM se determina el tamaño de dominio cristalino y los átomos en la frontera que lo rodea.<sup>121</sup>

En la *figura 29* se representa el diámetro promedio de las nanopartículas, una medida que, en una distribución perfectamente simétrica, como es el caso, corresponde con los valores de la media, la mediana y la moda y que representa el diámetro de mayor frecuencia en la muestra. El diámetro promedio, al ser susceptible a valores extremos, no es un parámetro útil para describir la capacidad del sistema como adsorbente puesto que no representa adecuadamente a la población. Por lo que, generalmente se utiliza el diámetro medio de la superficie circular y volumen, una medida que expresa el tamaño en términos de área de superficie por unidad de volumen y que se utiliza en estudios de adsorción, recubrimiento, y degradación de la superficie. En la *tabla 13*, se aprecia que los valores del diámetro antes mencionado oscilan dentro de un intervalo independientemente de la cantidad de recubrimiento.

	Diámetro de partícula (Media $\pm$ EEM)	Diámetro medio de la superficie circular y volumen (nm)
CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	20.12 $\pm$ 0.33	22.94
CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> 83-17	19.16 $\pm$ 0.68	31.88
CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> 67-33	28.06 $\pm$ 0.41	33.97
CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> 50-50	21.00 $\pm$ 0.60	32.51
CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> 33-67	26.91 $\pm$ 1.03	34.82
CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> 17-83	25.75 $\pm$ 0.68	43.79
CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub> 83-17	31.38 $\pm$ 0.55	41.28
CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub> 67-33	23.47 $\pm$ 0.32	29.24
CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub> 50-50	23.47 $\pm$ 0.23	29.23
CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub> 33-67	26.08 $\pm$ 0.87	31.18
CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub> 17-83	38.78 $\pm$ 0.48	49.53
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	19.66 $\pm$ 0.24	22.84
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> 83-17	24.64 $\pm$ 0.39	29.37
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> 67-33	28.20 $\pm$ 0.58	41.36
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> 50-50	39.97 $\pm$ 0.48	51.34
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> 33-67	46.94 $\pm$ 1.28	63.06
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> 17-83	22.75 $\pm$ 0.60	38.76

Tabla 13. Diámetro de partícula y diámetro medio de la superficie circular y volumen.  
Diámetro de partícula promedio  $\pm$  EEM y diámetro medio superficie-volumen.

De acuerdo con los valores de diámetro los sistemas, aquellos con valores más grandes como el de la CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-BaTiO<sub>3</sub> 17-83, CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-Bi<sub>4</sub>Ti<sub>3</sub>O<sub>12</sub> proporciones 83-17 y 17-83 y Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-BaTiO<sub>3</sub> proporciones 67-33, 50-50 y 33-67, no poseen las características adecuadas para utilizarse como acarreadores de fármacos porque presentan una menor área superficial disponible.

### 8.5 Magnetometría: Magnetización en función de la temperatura y del campo magnético.

A partir de los resultados de las microscopías y la difracción de rayos X se concluyó que los sistemas en proporción 50-50 eran los más adecuados para emplearse como acarreadores nanométricos, de tal forma que se prosiguió con la evaluación de sus propiedades magnéticas.

En las *figuras 30, 31, 32 y 33* se muestran las curvas de magnetización en función del campo magnético de los sistemas CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-BaTiO<sub>3</sub>, CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-Bi<sub>4</sub>Ti<sub>3</sub>O<sub>12</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-BaTiO<sub>3</sub> y Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Bi<sub>4</sub>Ti<sub>3</sub>O<sub>12</sub> respectivamente.

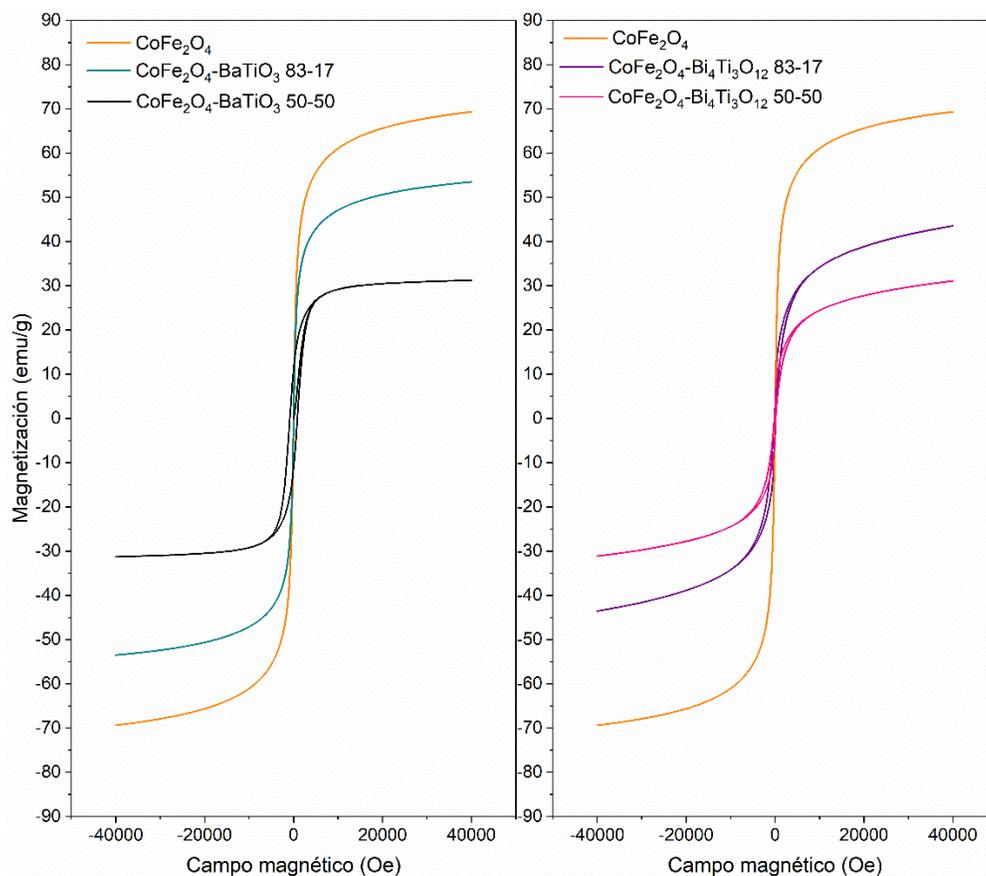


Figura 31. Curva de histéresis de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  83-17 y  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  50-50 a una temperatura de 300 K.

Figura 30. Curva de histéresis de los sistemas  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  83-17,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  50-50 a una temperatura de 300 K.

En las figuras 30 y 31 de los sistemas de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  recubiertos con  $\text{BaTiO}_3$  y  $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  respectivamente, se observa que en todos los sistemas, ya sea núcleos de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  y sistemas recubiertos, las curvas de magnetización en función del campo magnético muestran el comportamiento de un material superparamagnético, el cual se caracteriza por una coercitividad y magnetización remanente con un valor igual o muy cercano a cero.<sup>136</sup> Aunque se observa un comportamiento superparamagnético, en los sistemas recubiertos se aprecia una ligera histéresis debido a la contribución de agregados de mayor que se comportan como materiales ferrimagnéticos en la población de nanopartículas. Las nanopartículas superparamagnéticas al no presentar magnetización remanente son especialmente útiles como acarreadores de fármacos ya que esta característica impide que las nanopartículas se atraigan entre sí por interacciones dipolares y de esta manera evitan la trombosis.<sup>137</sup>

El comportamiento superparamagnético se presenta en nanopartículas con un diámetro menor a los 20 nm,<sup>121</sup> donde no es favorable la formación de multidominios. Los resultados de la magnetización confirman el tamaño de partícula observado con rayos X y en las microscopías.

A pesar de que para el núcleo de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  se observa un comportamiento superparamagnético, su valor de magnetización de saturación de 69.34 emu/g es mucho menor al valor 80 emu/g que se presenta en la fase volumétrica, lo cual se atribuye principalmente al tamaño de la partícula y a las distorsiones de la red cristalina. *Safi et al.*<sup>138</sup> mencionan que cuando el tamaño de partícula es menor al diámetro crítico, la magnetización de saturación tiende a disminuir porque en estas dimensiones las nanopartículas están sujetas a fluctuaciones térmicas,<sup>139</sup> es decir, en esta escala la energía térmica es comparable con la energía de anisotropía magnética por lo que, aunque los momentos magnéticos se sometan a un campo magnético tienden a cambiar de dirección aleatoriamente. Por otra parte, las interacciones superficiales también contribuyen a disminuir el valor de la magnetización de saturación, ya que los que los átomos en la superficie no forman parte del dominio magnético y no participan en la respuesta magnética.<sup>140</sup>

Finalmente, en las *figuras 30 y 31* se observa que una mayor cantidad de recubrimiento minimiza la magnetización de saturación del sistema debido a la naturaleza diamagnética de los titanatos del orden de  $-10^{-6}$  hasta  $-10^{-3}$  que no contribuye con el momento magnético de todo el material superparamagnético del orden de  $10^6$  y  $10^3$ .

Por otro lado, en la curva de histéresis de la *figura 32* del sistema  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ , se muestra que los núcleos de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  tienen un comportamiento superparamagnético, al contrario de los sistemas recubiertos con el  $\text{BaTiO}_3$  que se comportan como materiales ferrimagnéticos que además presentan una distorsión de los ciclos de histéresis clásicos (*figura 32.b y 32.c*).

Al igual que en el caso de la  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  sin recubrir, la  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  muestra un valor de magnetización de saturación menor (48.59 emu/g) a comparación del valor de 96 emu/g que se presenta en la fase volumétrica, lo cual nuevamente se imputa a la naturaleza diamagnética del  $\text{BaTiO}_3$  a las fluctuaciones térmicas y a las dimensiones de las nanopartículas.

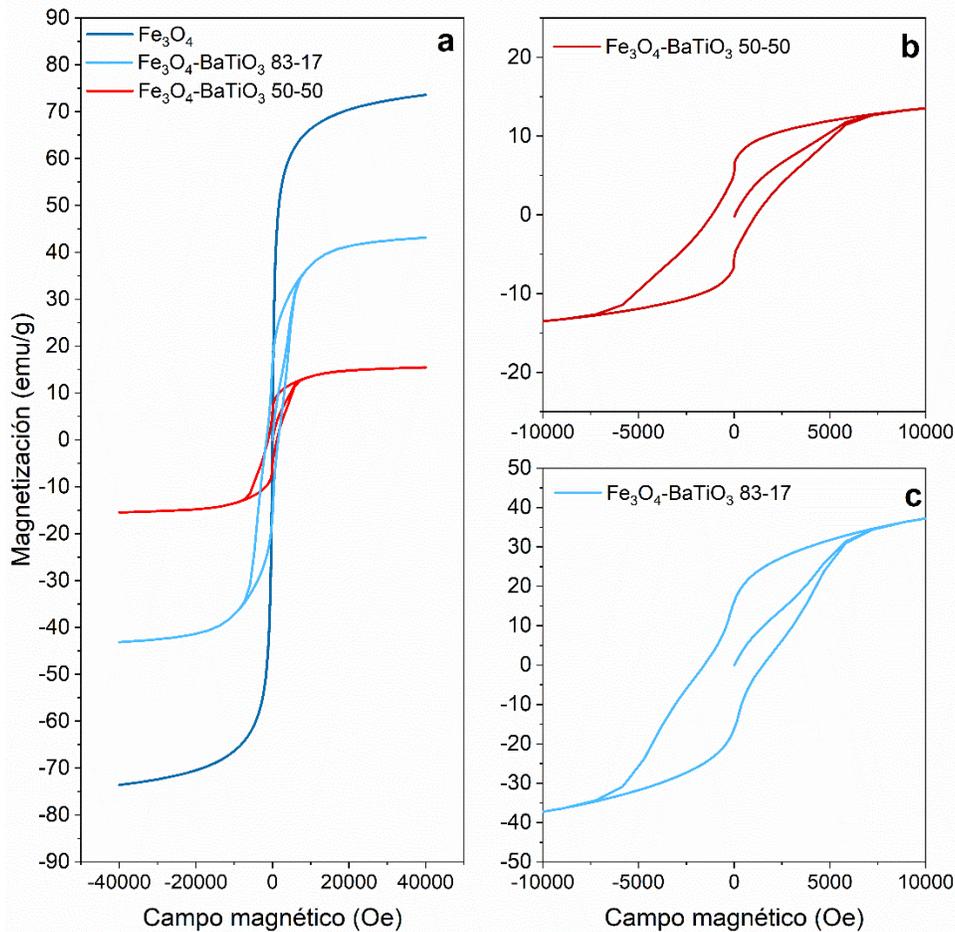


Figura 32. Curva de histéresis de los sistemas a)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  83-17,  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  50-50, con ampliación a los sistemas de proporción b) 50-50 y c) 83-17 a una temperatura de 300 K.

De acuerdo con diversos autores, la distorsión que se presenta en los ciclos de histéresis del sistema de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ , se denomina ciclo de “cintura de avispa”, un fenómeno que se caracteriza por un estrechamiento del ciclo a medida que el campo se acerca al valor de cero, seguido por una ampliación de este. Existen varias explicaciones de las causas de esta distorsión como la combinación de dos fases magnéticas con diferente coercitividad <sup>141</sup> o el efecto de la interacción de la anisotropía dipolar y la anisotropía magnetocristalina a bajas temperaturas en curvas de histéresis. <sup>142</sup> Considerando las teorías antes descritas y las condiciones experimentales que requieren se atribuye la deformación de los ciclos de histéresis experimentales a la combinación de dos fases magnéticas de diferente coercitividad en las nanopartículas.

La geometría de la curva de histéresis depende de la contribución relativa de cada una de las fases presentes y, por lo tanto, es posible determinar la presencia de fases magnéticas de diferente coercitividad y su proporción mediante la relación de cocientes de parámetros característicos de las curvas de histéresis como la magnetización de saturación, magnetización remanente, campo coercitivo. <sup>143</sup> Dado que el cociente de  $M_r/M_s$  para los sistemas  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  83-17 y  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  50-50 es de 0.44 y 0.41 respectivamente, mientras que  $H_r/H_c$  es de 1.08 y 1.05, se infiere que la muestra está compuesta por la combinación de partículas con un comportamiento superparamagnético y nanopartículas de un solo dominio.

De acuerdo con *Taxue et al.* <sup>141</sup> la “cintura de avispa” resulta de la combinación de nanopartículas con tamaños mayores a 8 nm, con un intervalo óptimo entre los 20 y 25 nm, lo cual concuerda con los tamaños determinados mediante la técnica de SEM.

De manera adicional, el fenómeno de “cintura de avispa” a bajas temperaturas por la interacción de la anisotropía dipolar y la anisotropía magnetocristalina se observó en el sistema de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  proporción 83-17 de la *figura 54* en el *anexo 3*, pero nuevamente, por cuestiones de relevancia, no se presenta en esta sección.

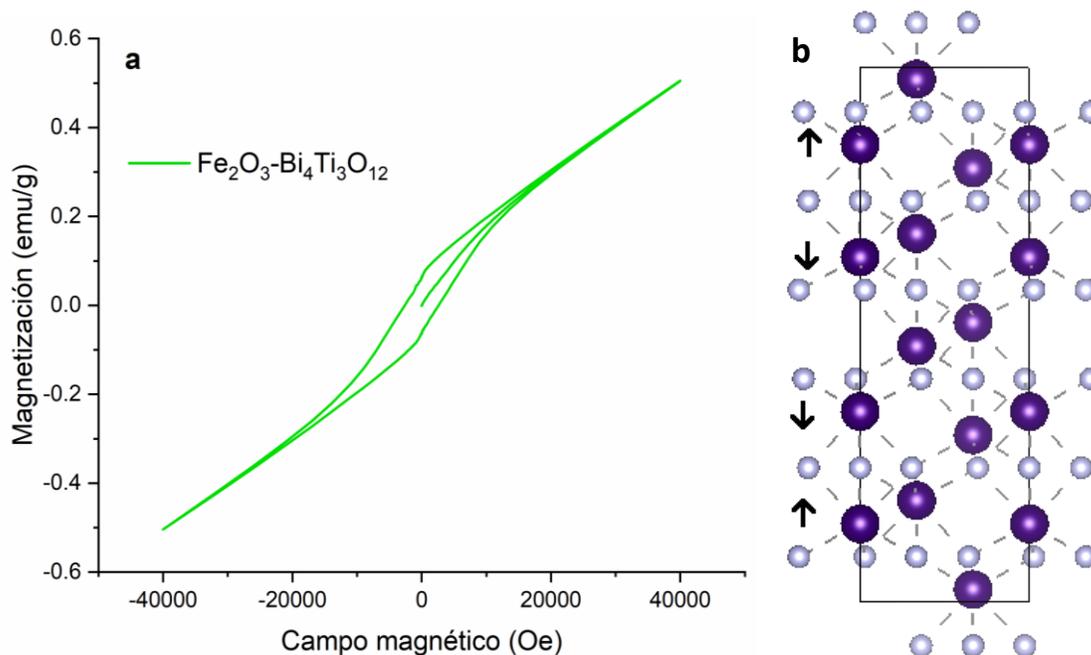


Figura 33. Curva de histéresis del sistema  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  83-17 a una temperatura de 300 K (a) y estructura cristalina de la hematita a lo largo del eje c (b).

Inicialmente, tras identificar mediante rayos X la formación de  $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$  a partir de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , se esperaba que el sistema mostrara un comportamiento antiferromagnético, en el cual, en presencia de un campo magnético hay una alineación parcial de los momentos magnéticos en dirección al campo, provocando una magnetización positiva sin histéresis que se representaría como una línea recta de pendiente positiva. Sin embargo, la muestra si presentó una ligera histéresis, como se muestra en la *figura 33*.

La  $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$  se comporta como un material ferromagnético por arriba de la temperatura de Morin debido a que en estas condiciones se presentan ligeros desplazamientos en la estructura cristalina y la subsecuente inclinación de los momentos magnéticos.<sup>144</sup> La temperatura de Morin es aquella a la cual se presenta una transición magnética de primer orden que ocurre en ciertos materiales antiferromagnéticos en donde los espines magnéticos se inclinan y pierden su orientación antiparalela, lo que resulta en un momento magnético perpendicular al eje de fácil magnetización del material.<sup>144,145</sup>

En la *figura 33*, además de las curvas de histéresis, se muestra la estructura cristalina de la hematita tipo corindón en donde los momentos magnéticos del  $\text{Fe}^{3+}$  toman una orientación ferromagnética en un mismo plano, y un acoplamiento antiferromagnético entre los planos a lo largo del eje c. La inclinación de los momentos magnéticos surge del equilibrio entre la anisotropía magnetocristalina y la anisotropía dipolar, donde la primera predomina por arriba de la temperatura de Morin y la segunda por debajo de la misma. En la  $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$  la temperatura de Morin depende de la magnitud del campo, la densidad del sólido y el tamaño de partícula. La temperatura de Morin disminuye en sistemas nanoparticulados porque en estas dimensiones hay menor simetría y es más fácil reorientar los momentos magnéticos en el arreglo antiferromagnético de la hematita. En este caso, los resultados de la magnetización en función de la temperatura de la *figura 53*, del *anexo 3* indican que la temperatura de Morin de la muestra de hematita para nanopartículas se un tamaño promedio de  $60.39 \pm 5.32$  es de aproximadamente 231 K.

De manera adicional, como parte de un proyecto de mayor escala se caracterizó el comportamiento magnético de las muestras en función de la temperatura, sin embargo, por

cuestiones de extensión y relevancia del tema, dichos gráficos se presentan de manera adicional en el *anexo 3*.

### 8.6 Magnetofricción.

Algunas nanopartículas magnéticas son capaces de generar calor debido a la aplicación de un campo magnético alterno. La capacidad de calentamiento de los sistemas se evaluó de manera semicuantitativa mediante un equipo implementado en la Universidad Nacional Autónoma de México con un termómetro de fibra óptica.<sup>110</sup> La cantidad de nanopartículas necesarias para la medición se determinó midiendo el incremento de temperatura en función del tiempo a varias concentraciones de nanopartículas de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  y  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , el gráfico de los datos resultantes se encuentra en el *anexo 4*.

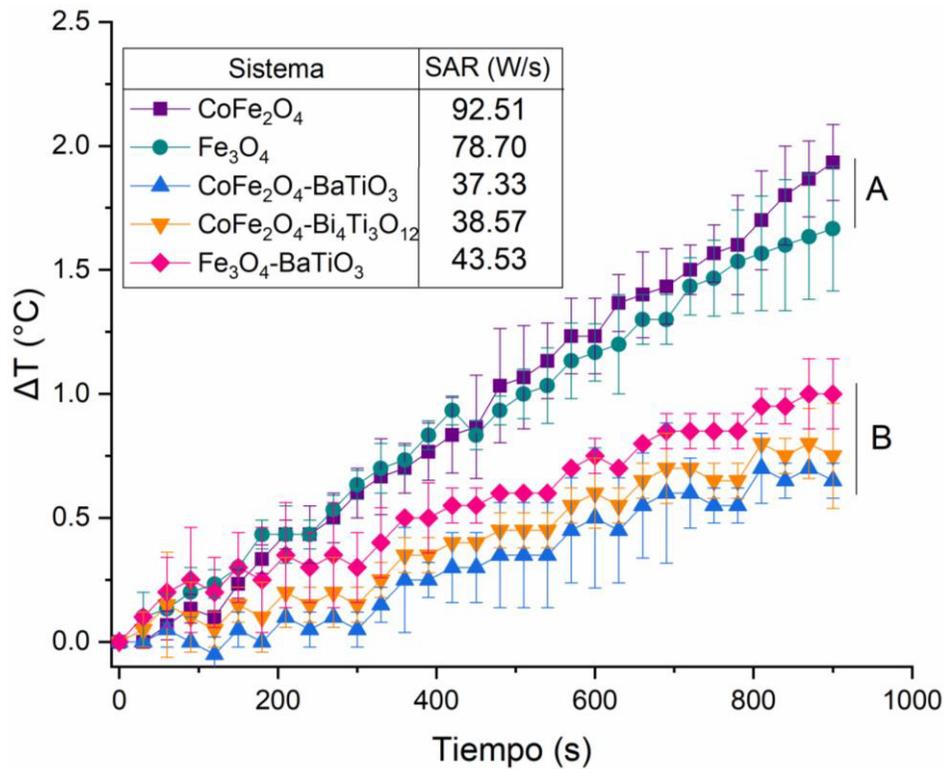


Figura 34. Curva del incremento de temperatura por unidad de tiempo para  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  50-50,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  50-50 y  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  50-50. Incremento de temperatura  $\pm$  DE. Prueba de ANADEVA de una vía de medidas repetidas, post hoc Tuckey ( $p < 0.001$ ). No hay diferencia significativa entre las nanopartículas marcadas con la misma letra.

En la *figura 34* se muestra la gráfica del incremento de temperatura ( $\Delta T$ ) en función del tiempo para los sistemas en una proporción 50-50. En la gráfica se muestra que los núcleos sin recubrir de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  y  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  incrementan significativamente la temperatura del medio (alrededor de  $2^\circ\text{C}$ ) en comparación de los sistemas recubiertos en una relación 50-50, que muestran un aumento desde  $0.65^\circ\text{C}$  y hasta  $1^\circ\text{C}$ . Los sistemas recubiertos no muestran una diferencia estadística significativa entre en su capacidad de calentamiento independientemente de su composición.

El efecto de la disipación del calor es uno de los principales inconvenientes de sistemas de hipertermia magnética para el tratamiento del cáncer porque tiende a disminuir la selectividad del sistema. Por lo anterior, el diseño de las nanopartículas no estaba dirigido para crear un sistema de este tipo y la capacidad de calentamiento de las nanopartículas no define la utilidad del sistema. Dado que los sistemas recubiertos no incrementan en más de un grado la temperatura del medio, se espera que las nanopartículas no causen daño a tejidos sanos por la disipación del calor, a pesar de que la temperatura a nivel nanométrico es mayor.<sup>146</sup>

Posteriormente, a partir de la gráfica de la *figura 34* se calculó el valor de SAR, una medida que indica la capacidad de calentamiento por unidad de masa para un campo y frecuencia determinados. Al comparar los valores de SAR de los núcleos sin recubrir y los núcleos recubiertos se observó una relación en donde la capacidad de calentamiento depende únicamente del núcleo magnético y no del sistema completo, de manera que, las nanopartículas recubiertas con un 50 % de núcleo magnético presentan la mitad de la capacidad de calentamiento de los núcleos magnéticos por sí solos. Los valores de SAR experimentales se encuentran dentro de los intervalos reportados por para la  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  y la  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  a los valores de campo y la frecuencia utilizados.<sup>74,147</sup>

La capacidad de calentamiento de los núcleos magnéticos depende principalmente de los fenómenos de relajación.<sup>82</sup> Las corrientes parásitas no se consideran, ya que se empleó un sensor de temperatura de fibra óptica, el cual no presenta el fenómeno de calentamiento

por inducción. Los mecanismos de calentamiento por fenómenos de relajación están estrechamente relacionados con la rotación de las nanopartículas. Por un lado, la relajación de Néel genera calor cuando las nanopartículas superan la barrera de energía potencial asociada a la anisotropía magnética, durante la reorientación de los dominios magnéticos en dirección del campo magnético externo. Por otra parte, la relajación Browniana implica el calentamiento por la fricción entre las nanopartículas y el medio circundante debido a la rotación de las nanopartículas por fluctuaciones térmicas.<sup>82</sup>

Es importante mencionar que la técnica empleada determina el incremento de temperatura en el medio, no el calor real generado a nivel nanométrico. Una técnica más adecuada para cuantificar la capacidad de calentamiento en esta escala, son los sistemas donde se aprovecha la dependencia térmica de la luminiscencia de algunos compuestos orgánicos, complejos de rutenio, puntos cuánticos y compuestos de la serie de los lantánidos.<sup>146,148</sup>

### **8.7 Determinación de la LCST de polímeros termosensibles.**

Después de establecer las proporciones de núcleo-recubrimiento más adecuadas para las nanopartículas, se sintetizaron varios nanogeles termosensibles de diferente proporción para definir aquel con las mejores características para recubrir dichas nanopartículas. Entre las características de mayor importancia destaca la temperatura crítica inferior de la solución, una temperatura que marca el cambio en el grado de solvatación y define la capacidad para almacenar fármacos y restringir su movimiento. La LCST se determinó por métodos ópticos como la turbidimetría y la dispersión dinámica de luz y con métodos calorimétricos como el DSC. En los gráficos de la *figura 35* se determinó la LCST de los cuatro polímeros sintetizados al seguir la transmitancia mediante turbidimetría (a) y el tamaño de partícula mediante dispersión dinámica de luz (b).

Con respecto a la *figura 35a* se observa que para todos los polímeros la transmitancia disminuye conforme aumenta la temperatura, mientras que en la *figura 35b* se muestra como aumenta el tamaño de partícula al incrementar la temperatura. De manera general, se observa como el incremento de temperatura lleva a una disminución de la solubilidad del polímero.

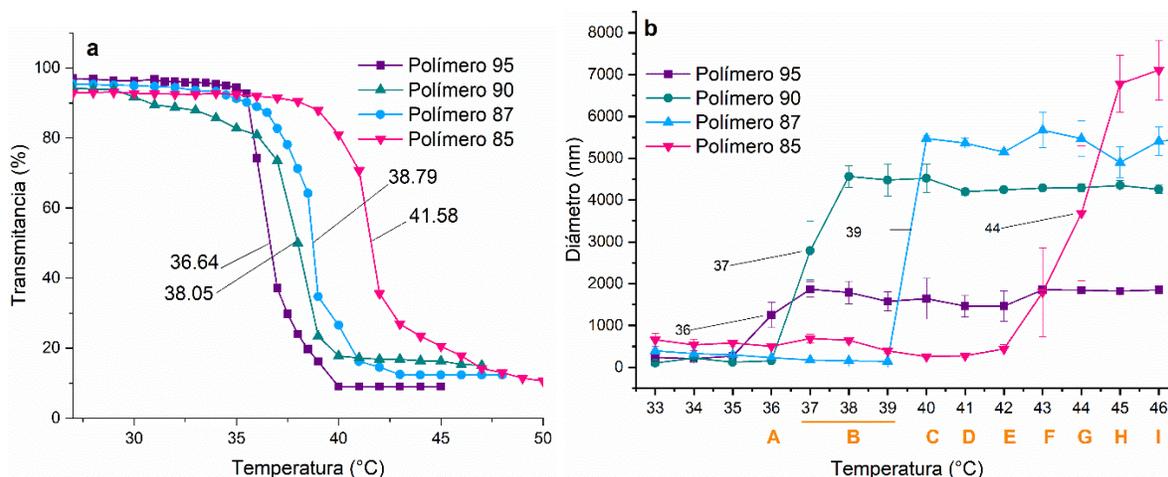


Figura 35. Determinación de la LCST en agua destilada mediante métodos ópticos en una concentración de 0.001 g/mL.

(a) Determinación de la LCST por Turbidimetría a  $\lambda=550$  nm. Transmitancia (%).

(b) Determinación de la LCST por dispersión dinámica de luz. Diámetro (nm)  $\pm$  DE. Prueba de ANADEVIA de dos vías de medidas repetidas, prueba post hoc Tuckey  $p<0.05$ . A  $p<0.05$  de polímero 95 con respecto a polímero 90 y 87, B  $p<0.05$  de polímero 95 con respecto a polímero 90 y 87 y entre polímero 87 y 90; C, E y I  $p<0.05$  entre todos los polímeros, D y H  $p<0.05$  entre todos los polímeros excepto polímero 87 y 90, F  $p<0.05$  entre todos los polímeros excepto polímero 85 y 95, G  $p<0.05$  entre todos los polímeros excepto polímero 85 y 90.

La relación del grado de solvatación con la temperatura se describe en términos energéticos mediante la energía libre de Gibbs ( $\Delta G$ ), una expresión que considera las contribuciones entálpicas y entrópicas en el fenómeno de solvatación del polímero. Por un lado, la contribución entálpica favorece la solubilidad del polímero siempre y cuando predominen las interacciones polímero-disolvente sobre las interacciones de las moléculas del agua y del polímero consigo mismos. En contraste, la entropía generalmente tiene una contribución negativa a la solvatación del polímero porque este fenómeno requiere de orientaciones específicas de las moléculas de agua para que interactúen con los grupos hidrofílicos del polímero al mismo tiempo que forman estructuras tipo clatrato alrededor de las regiones hidrófobas del mismo. La orientación particular de las moléculas de agua es un proceso entrópico no favorable que limita el número de microestados posibles.<sup>116</sup>

A temperaturas por debajo de la LCST, los grupos hidrofílicos (grupos amida, amina y carbonilo) de las cadenas poliméricas interactúan con las moléculas de agua a través de

puentes de hidrógeno. En estas condiciones predomina el término entálpico de manera que las interacciones por puente de hidrógeno del polímero y el disolvente compensan la contribución entrópica poco favorable. En estas condiciones, el polímero se encuentra hidratado y la suspensión se observa traslucida, de manera que la transmitancia es alta (*figura 35a*) y el tamaño de partícula es relativamente pequeño porque el polímero “prefiere” interactuar con el medio y no entre sí (*figura 35b*).

Por otro lado, por arriba de la LCST, el término entrópico es la contribución predominante en el proceso de solvatación. Esta contribución aumenta conforme incrementa la temperatura, en estas condiciones se favorecen las interacciones hidrófobas entre las cadenas poliméricas y un colapso del sistema. Por arriba de la LCST la suspensión del polímero se observa turbia, de manera que la transmitancia disminuye (*figura 35a*) porque el polímero se encuentra interactuando consigo mismo dando lugar a la formación de agregados del polímero relativamente grandes (*figura 35b*).

A partir de las gráficas de la *figura 35* se determinó la LCST mediante el método gráfico. En dichas gráficas la LCST corresponde al punto de inflexión de las curvas sigmoideas. Posteriormente, los valores de LCST se confirmaron mediante las gráficas de la primera y segunda derivada (*anexo 5*) y con el ajuste de la LCST a la función sigmoidea de Boltzmann. Los valores de LCST determinados por el ajuste a la función sigmoidea de Boltzmann se encuentran resumidos en la *tabla 14*.

Polímero	LCST por turbidimetría (°C)	LCST por dispersión dinámica de luz (°C)
Polímero 95	36.69 ± 0.06	35.95
Polímero 90	37.76 ± 0.07	36.98
Polímero 87	38.63 ± 0.09	39.64
Polímero 85	41.52 ± 0.10	44.01

Tabla 14. Determinación de la LCST por ajuste a la función sigmoidea de Boltzmann.

La principal desventaja de emplear métodos ópticos para determinar la LCST es la fuerte dependencia del método con la longitud de onda, de ahí que la LCST varía para una misma muestra como se muestra en *figura 35* y la *tabla 14*. La longitud de onda empleada determina el tamaño de partícula detectada.

Considerando los posibles valores de tamaño de partícula del coloide y los tres fenómenos de dispersión de luz asociados a coloides se concluyó que la longitud de onda más apropiada para la determinación de la LCST era 550 nm, ya que en estas condiciones no se presenta dispersión inelástica y la longitud de la onda es lo suficientemente corta para que el método sea sensible. Por debajo de la LCST se esperaban tamaños de partícula en donde predomina la dispersión de Rayleigh o la dispersión de Mie, fenómenos que dependen de la longitud de onda y en los que se ha observado que, a menor longitud de onda, mayor es el fenómeno de dispersión. A temperaturas por arriba de la LCST, cuando el tamaño es mucho mayor que la longitud de onda se presenta el fenómeno de Tyndall, el cual es independiente de la longitud de onda.

Independientemente del método empleado, en las gráficas de la *figura 35* se observa que a mayor proporción de entrecruzador hay un desplazamiento de la LCST hacia temperaturas mayores. La adición de comonómeros hidrofílicos tiende a incrementar la LCST, mientras que, la adición de comonómeros hidrófobos tiene el efecto contrario. Los comonómeros hidrofílicos, al presentar una mayor cantidad de grupos polares, favorecen las interacciones polímero-disolvente, de manera que se presenta una contribución entálpica y entrópica positiva que propicia el proceso de hidratación y el incremento de la temperatura de transición.<sup>9</sup>

De acuerdo con los valores de LCST experimentales, el polímero con una proporción de monómero y entrecruzador del 87-13 % respectivamente es el más adecuado para recubrir las nanopartículas en vista de que su LCST es más acorde para el objetivo del sistema. Se buscó un polímero con una temperatura de transición arriba de la temperatura fisiológica de las células sanas y por debajo de la temperatura donde hay daño celular entre los 40 y 43 °C que varía dependiendo de la línea celular.<sup>149</sup>

En la *figura 35b*, además de determinar la LCST, también se obtuvo información de la relación entre el tamaño de partícula, la proporción del agente entrecruzador y la temperatura. Entre los 33 y 35 °C, a temperaturas por debajo de la LCST de todos los polímeros, no hay diferencia significativa en el tamaño, lo que indica que en este intervalo el radio hidrodinámico no varía con respecto a la composición. Al llegar a los 36 °C y hasta los 46 °C se aprecian cambios

significativos en el tamaño que dependen de la composición y la temperatura, puesto que en este intervalo hay cambios en el grado de hidratación de los polímeros al alcanzar su temperatura de transición. Finalmente, a los 46 °C, cuando todos los polímeros están en su máximo estado de colapso, se aprecia que a mayor cantidad de entrecruzador el tamaño de los agregados poliméricos es significativamente mayor. En su estado colapsado, el tamaño de los polímeros favorece la formación de trombos y el reconocimiento por parte del sistema inmunológico.<sup>132</sup>

Dado la dependencia de la LCST con la longitud de onda empleada en métodos ópticos se empleó la calorimetría diferencial de barrido para comprobar las temperaturas de transición, sin embargo, los picos asociados a la transición no estaban bien definidos por lo que no fue posible obtener la temperatura por este método (*anexo 5*). La forma y altura de los picos endotérmicos para un mismo polímero dependen de su peso molecular, la velocidad de calentamiento, la concentración y la fuerza iónica.<sup>116</sup>

Los polímeros muestran una distribución de pesos moleculares, en donde la amplitud de la gaussiana en la cual están distribuidos representa la polidispersidad del sistema. Generalmente, en polímeros polidispersos las transiciones que se caracterizan por picos anchos que se extienden en un amplio intervalo de temperatura. Valores de índices de polidispersidad fuera del intervalo de 1.5 a 2 para polímeros sintetizados vía radicales libres son comunes en sistemas polidispersos.

Polímero	Estado	IPD
Polímero 95	Hinchado	0.373 ± 0.201
	Colapsado	0.338 ± 0.334
Polímero 90	Hinchado	0.571 ± 0.126
	Colapsado	0.525 ± 0.402
Polímero 87	Hinchado	0.495 ± 0.180
	Colapsado	0.466 ± 0.316
Polímero 85	Hinchado	0.626 ± 0.246
	Colapsado	0.653 ± 0.217

Tabla 15. Índice de polidispersidad de los polímeros.  
Prueba de ANADEVa de dos vías, prueba *post hoc* Tuckey  $p < 0.05$ .

Con base en los valores reportados en la *tabla 15*, se afirma que todos los sistemas poliméricos son altamente polidispersos, por lo que las cadenas poliméricas de largos variables colapsan en un amplio intervalo de temperatura de manera que las transiciones térmicas no son evidentes en las curvas calorimétricas. De manera adicional, se observa que el IPD tiende a aumentar a mayor cantidad de agente entrecruzador.

### 8.8 Efecto de la fuerza iónica en la LCST.

Posteriormente se evaluó el efecto de la fuerza iónica sobre la LCST del polímero 87 mediante los métodos ópticos. En la *figura 36* se observa el aumento de la LCST de 38.63 a 37.16 °C por turbidimetría y de 36.98 a 36.21 °C mediante dispersión dinámica de luz. El desplazamiento de la LCST a mayores temperaturas conforme aumenta la fuerza iónica se atribuye a que, al incrementar la fuerza iónica, se presentan interacciones ion-dipolo que antes no estaban presentes y que se favorecen sobre las interacciones dipolo-dipolo entre agua y el polímero, por lo que el polímero colapsa a menores temperaturas.

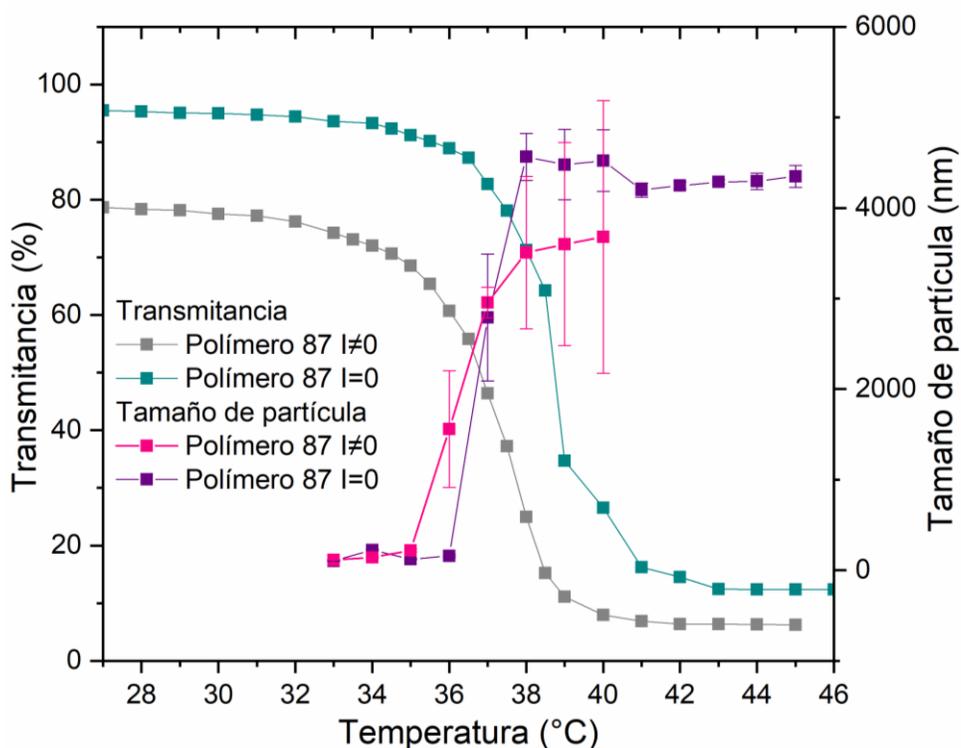


Figura 36. Influencia de la fuerza iónica en la LCST del polímero 87.

El desplazamiento de la LCST por la fuerza iónica implica ajustes en el diseño del acarreador nanométrico debido a la relación de la LCST con la liberación de fármacos. Sin embargo, se espera que este efecto se compense con el aumento de la LCST debido al uso del polímero como recubrimiento. <sup>105,150</sup>

### 8.9 FTIR: Determinación de la estructura del polímero 87.

Después de determinar la LCST, se comprobó la unión entre el monómero y el entrecruzador mediante los espectros FTIR de las materias primas y el polímero 87.

Intervalo de frecuencia (cm <sup>-1</sup> )	Grupo funcional	Enlace	Vibración
2970-2950	Metilo	C-H	Tensión asimétrica
2880-2860			Tensión simétrica
1470-1430			Flexión asimétrica
1380-1370			Flexión simétrica
1385-1380	Dimetilos geminales	C-H	Doblete
2935-2915	Metileno	C-H	Tensión asimétrica
2865-2845			Tensión simétrica
1485-1445			Flexión
750-720		-(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> -	Balaceo
1680-1620	Alqueno	C=C	Tensión
1650-1600	Alquenos conjugados		Tensión
3095-3075	Vinilo terminal	C-H	Tensión
1420-1410	Vinilo	C-H	Flexión en el plano
995-985 y 915-890			Flexión fuera del plano
1680-1630	Amida	C=O	Tensión
3300-3340	Amida primaria	N-H	Tensión
3300-3500	Amida secundaria		Tensión
1250-1020	Amida	N-C	Tensión
3000-2840	Alcanos	C-H	Tensión
3100-3000			Tensión
3600-3650	Oxihidrilo	O-H	Tensión
3550-3200	Oxihidrilo	O-H	Tensión Puentes de hidrógeno

Tabla 16. Frecuencias de vibración de los grupos funcionales presentes en las materias primas y el polímero 87. <sup>112</sup>

En la *tabla 16* se muestran las bandas asociadas a los grupos funcionales presentes en las materias primas y el polímero. <sup>112</sup>

En la *figura 37* se muestran los espectros de las materias primas en donde se observan las bandas asociadas a sus grupos funcionales como los grupos vinilo, las amidas, alquenos conjugados, alcanos, y grupos metilenos.

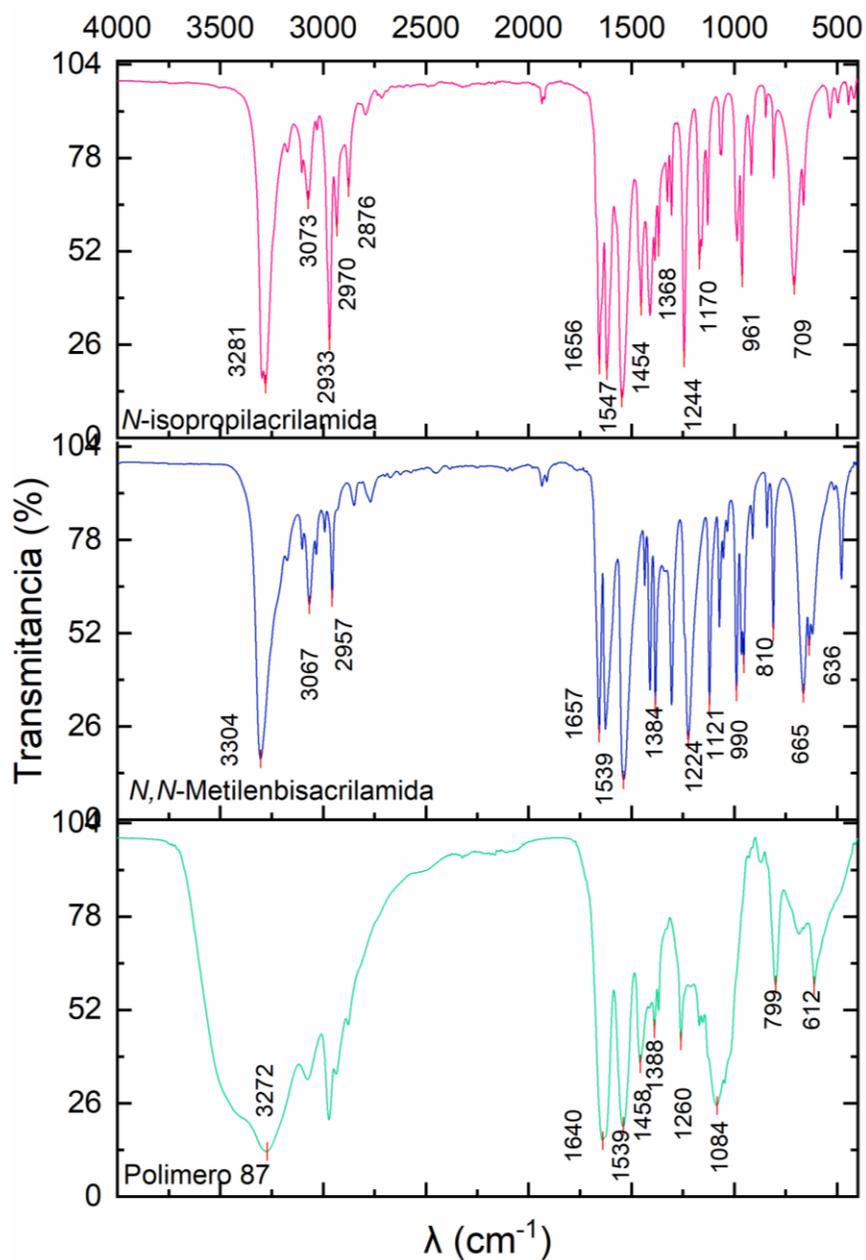


Figura 37. Espectros FTIR de la N-isopropilacrilamida, N,N'-Metilenbisacrilamida y el P87.

En el espectro del polímero 87 se aprecia que desaparecen las señales de algunos grupos presentes en las materias primas, como los metilenos, los grupos vinilo y los alquenos conjugados. La desaparición de los dobles enlaces se atribuye a que, durante la etapa de inicio de la polimerización vía radicales se da la apertura de los dobles enlaces para formar radicales libres que atacan y se unen a otras moléculas. La desaparición de los dobles enlaces indica la polimerización de los monómeros y en cierta medida el entrecruzamiento de las cadenas.

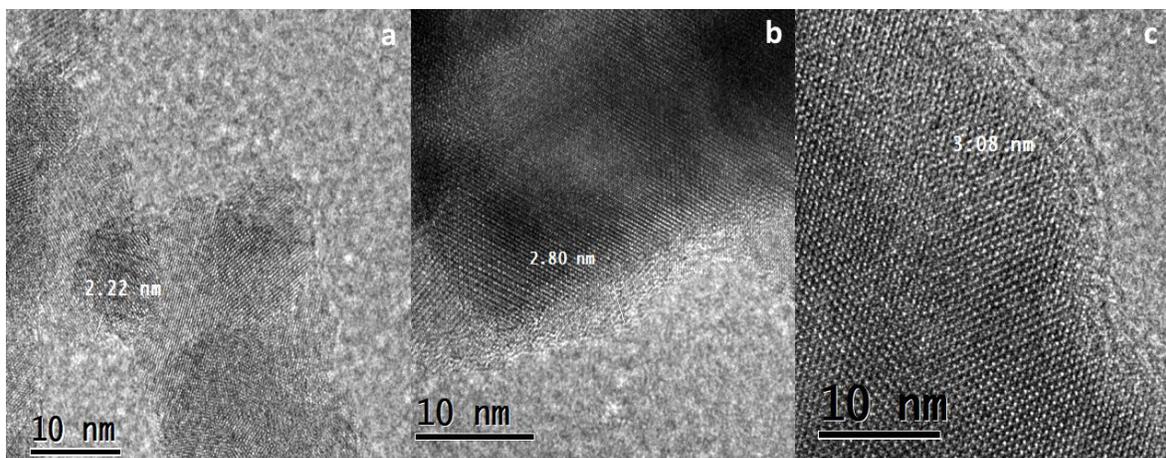
De manera adicional, en el espectro del polímero 87 se observa que solo permanecen las bandas de los grupos metilos y las amidas presentes en las materias primas. Las bandas asociadas a las amidas presentan cierto grado de ensanchamiento, como la banda a los  $1680-1630\text{ cm}^{-1}$ , lo cual es consecuencia de la formación de puentes de hidrógeno entre el nitrógeno de este grupo e hidrógenos cercanos. Dada la formación de puentes de hidrógeno, no es sorpresa que en el espectro también aparecieran bandas asociadas a grupos oxihidrilo resultado de la formación de puentes de hidrógeno con moléculas de agua adsorbidas al polímero.

#### **8.10 Caracterización de las nanopartículas con recubrimiento polimérico: TEM, FTIR, contraste Z y análisis elemental.**

Una vez establecido el polímero más adecuado al diseño inicial de las nanopartículas se recubrieron las nanopartículas previamente seleccionadas, es decir los sistemas  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  en una proporción 50-50. Posteriormente, se comprobó el adecuado recubrimiento de las nanopartículas mediante las técnicas de SEM, TEM, STEM y análisis elemental.

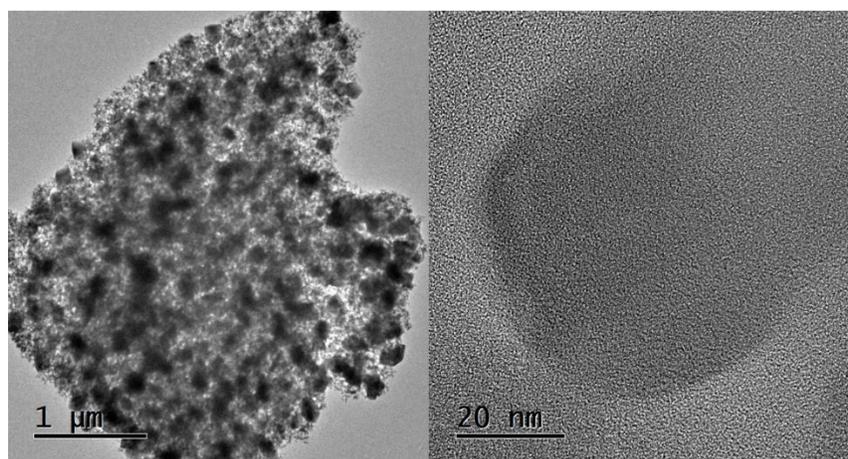
En las microscopías de la *figura 38* correspondientes a los sistemas  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  en proporción 50-50 recubiertos con el polímero 87, se observa una delgada capa amorfa sobre la superficie de las nanopartículas, lo que indica su adecuado recubrimiento con el polímero. El grosor de la capa de polímero en el caso de los tres sistemas se encuentra alrededor de los 2 nm, sin embargo, esta medida subestima el grosor

real debido a que el polímero se encuentra en su estado colapsado. El recubrimiento polimérico se aprecia con mayor claridad en las imágenes del contraste Z del *anexo 6*.



*Figura 38. Microscopías de a)  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ , b)  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  y c)  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  en una proporción 50-50 recubiertas de polímero 87 con la técnica de TEM.*

Aunque se logró recubrir las nanopartículas con el polímero, en las microscopías también se observó la formación de subproductos como nanogeles aislados y nanogeles de mayor tamaño con nanopartículas incrustadas (*figura 39*), por lo que fue necesario la purificación del sistema antes de realizarse los estudios de adsorción y liberación.



*Figura 39. Microscopía de a) nanogeles con nanopartículas aisladas y b) nanogel aislado mediante la técnica de STEM y TEM obtenidas del sistema  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  en proporción 50-50.*

Acorde con las microscopías, el análisis elemental reafirma el recubrimiento de las nanopartículas con el polímero 87, no obstante, a pesar de que se adicionó una proporción 1:1 de nanopartículas y de polímero el porcentaje total de polímero esta entre el 1.5 y el 2.6 % m/m, como se muestra en la *tabla 17*.

La comparación en masa de los elementos ligeros que forman al polímero con respecto a los elementos pesados que conforman las nanopartículas generalmente da lugar a porcentajes de recubrimiento bajos, sin embargo, esto no necesariamente implica un proceso de recubrimiento ineficiente. En la literatura diversos autores reportan porcentajes similares a los obtenidos, entre 1.3 y 5.0 % m/m de polímero sobre nanopartículas cuya cantidad es adecuada para sistemas acarreadores de fármacos.<sup>105,150</sup>

Sistema	Elemento	Porcentaje ± DE	Fórmula mínima molecular
CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> 50-50	C	0.670 ± 0.000	CHN
	H	0.060 ± 0.000	
	N	1.280 ± 0.000	
CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub> 50-50	C	0.400 ± 0.005	CHN
	H	0.035 ± 0.000	
	N	0.975 ± 0.211	
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> 50-50	C	0.950 ± 0.005	CH <sub>3</sub> N
	H	0.240 ± 0.013	
	N	1.010 ± 0.003	

Tabla 17. Análisis elemental de los sistemas CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-BaTiO<sub>3</sub>, CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-Bi<sub>4</sub>Ti<sub>3</sub>O<sub>12</sub> y Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-BaTiO<sub>3</sub> 50-50 recubiertas de polímero 87.

Aunque el porcentaje de polímero con respecto a las nanopartículas es adecuado al objetivo del estudio, el porcentaje es inferior a lo esperado debido a la formación de subproductos como se mostró anteriormente en la *figura 39*, por lo que se sugiere modificar algunas variables de la síntesis durante el recubrimiento, principalmente el pH.

Asimismo, a partir de los porcentajes del análisis elemental se calculó la fórmula mínima molecular que indica la relación mínima de los átomos en el polímero. La fórmula mínima molecular calculada fue la misma para la CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-BaTiO<sub>3</sub> y CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-Bi<sub>4</sub>Ti<sub>3</sub>O<sub>12</sub>, pero difiere para Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-BaTiO<sub>3</sub>, lo que indica que el polímero que recubre este sistema puede tener una

estructura diferente o un mayor grado de hidratación por lo que los hidrógenos adicionales corresponden a moléculas de agua adsorbidas en la superficie.

Con la finalidad de determinar el enlace entre el polímero y las nanopartículas se realizaron los espectros FTIR correspondientes a los sistemas recubiertos (*figura 40*).

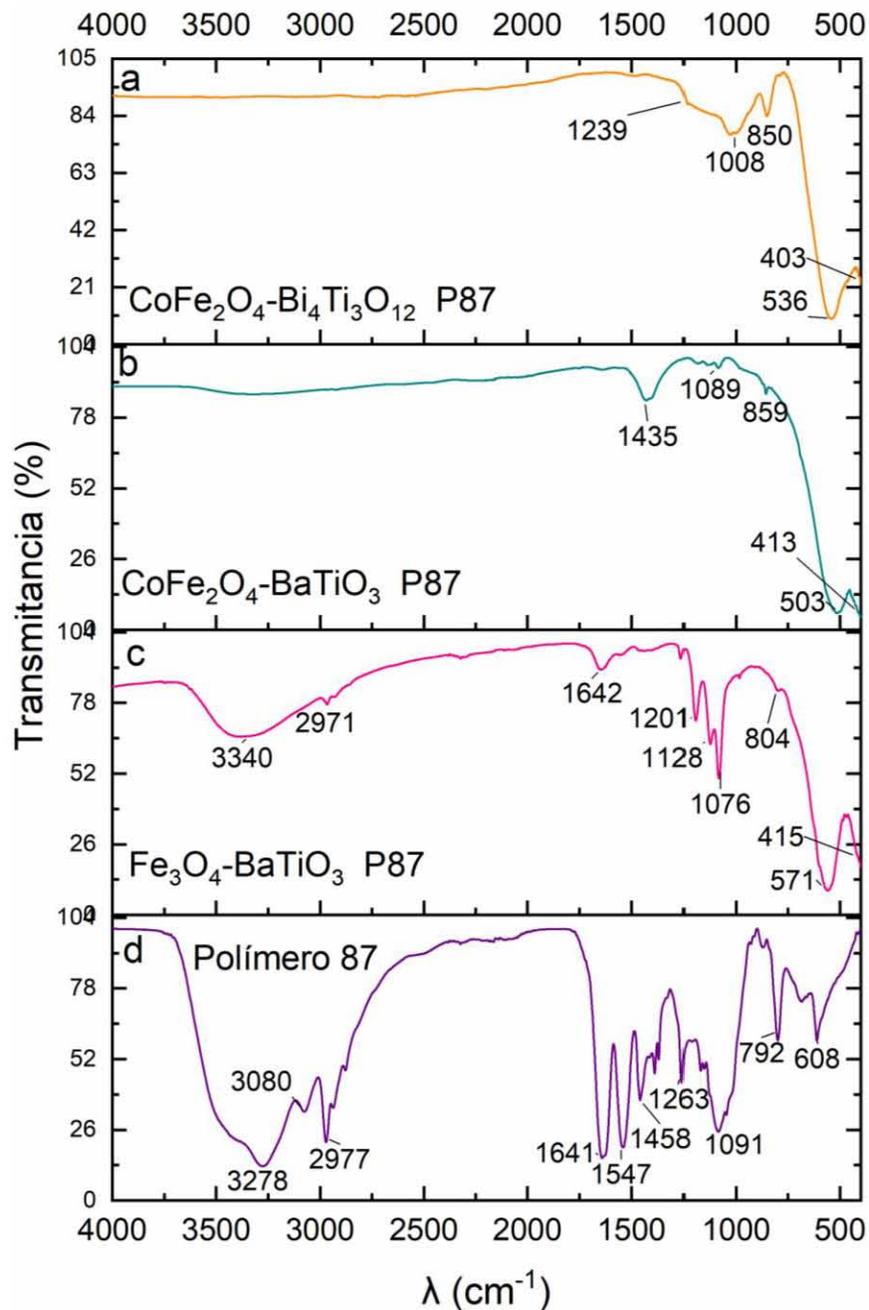


Figura 40. Espectro FTIR de los sistemas a)  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  con polímero 87, b)  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ , con polímero 87, c)  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  con polímero 87 y d) el polímero 87.

Las señales entre 500 y 600  $\text{cm}^{-1}$  y entre los 400 y 450  $\text{cm}^{-1}$  en el espectro de la *figura 40* de los incisos *a*, *b* y *c* se asocian a la estructura de espinela inversa de la  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  y la  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  según corresponda, donde la primera se debe a la vibración del enlace entre el oxígeno y el catión bivalente en sitios tetraédricos, mientras que la segunda a la vibración del enlace entre el oxígeno y el catión trivalente en complejos octaédricos.<sup>113,114</sup>

Con respecto a los titanatos, se han reportado tres bandas asociadas al enlace entre el titanio y el oxígeno; la primera localizada entre los 850 y 800  $\text{cm}^{-1}$ , la segunda entre los 650 y 550  $\text{cm}^{-1}$  y la tercera alrededor de los 400  $\text{cm}^{-1}$ .<sup>151</sup> Dado que alrededor de los 550 y 400  $\text{cm}^{-1}$  también hay bandas asociadas a la estructura de espinela inversa, la única banda que identifica inequívocamente al  $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  y al  $\text{BaTiO}_3$  está entre los 850 y 800  $\text{cm}^{-1}$  y se debe a la vibración del enlace entre el titanio y el oxígeno. En la *figura 40*, en los incisos *a*, *b* y *c* se observa esta banda, corroborando el recubrimiento con el  $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  (*a*) y con  $\text{BaTiO}_3$  (*b*, *c*).

En los espectros, las bandas de grupos presentes en el polímero tienen señales muy débiles debido a que su concentración es muy baja, está alrededor del 1 % (*tabla 17*), sin embargo, si se llegan a identificar algunas bandas que indican la presencia del polímero.

Para el sistema  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  se observan las bandas asociadas al estiramiento del enlace entre el carbono y el nitrógeno del grupo amida presente entre los 1250 y 1020  $\text{cm}^{-1}$ . El sistema  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ , además de la señal del estiramiento del enlace entre el carbono y el nitrógeno del grupo amida, también hay una banda relacionada con los grupos metilo del polímero a los 1438  $\text{cm}^{-1}$ .

Finalmente, para el sistema  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  es más evidente la presencia de bandas asociadas a las amidas, los metilos y grupos oxihidrilo resultado de la formación de puentes de hidrógeno en el sistema. Al igual que en el polímero, en este sistema se presenta el ensanchamiento de bandas asociadas a los grupos amida presentes en el polímero, como la banda a los 1680-1630  $\text{cm}^{-1}$ , lo cual, como ya se mencionó anteriormente, se debe a la formación de puentes de hidrógeno entre el nitrógeno del grupo amida e hidrógenos cercanos. En general, para ningún sistema fue evidente la aparición de una banda que indicara inequívocamente el enlace entre las nanopartículas y el polímero, sin embargo, en el sistema

Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-BaTiO<sub>3</sub> se apreció el corrimiento de la banda del grupo oxihidrilo de 3278 cm<sup>-1</sup> en el polímero a 3340 cm<sup>-1</sup> en las nanopartículas, lo que indica que en el polímero se presentan interacciones por puente de hidrógeno intramoleculares, mientras que en las nanopartículas son puentes de hidrógeno intermoleculares. Dado la naturaleza de los sistemas se infiere que las nanopartículas y el polímero están unidos por puentes de hidrógeno dado que los oxígenos en la superficie de las nanopartículas no satisfacen su carga completamente y son susceptibles a formar enlaces para estabilizar la carga.

Para corroborar que los puentes de hidrógeno son los principales responsables de la interacción entre las nanopartículas y las cadenas poliméricas se pueden realizar una serie de técnicas como lo son la espectroscopía de infrarrojo, resonancia magnética nuclear de protones<sup>152</sup> y la técnica de estructura fina por absorción de rayos x extendida (*EXAFS por sus siglas en inglés Extended X-ray Absorption Fine Structure*).<sup>153</sup>

### 8.11 Tamaño de partícula en nanopartículas con recubrimiento polimérico.

Tras confirmar que el sistema estaba recubierto de polímero se determinó el tamaño de partícula mediante la técnica de SEM. En la *tabla 18*, se muestran los valores del diámetro promedio y del diámetro medio de la superficie de volumen.

	Diámetro de partícula (Media ± EEM)	Diámetro medio de la superficie volumen (nm)
CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> 50-50	21.00 ± 0.60 A	32.51
CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub> 50-50	23.47 ± 0.23 B	29.23
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> 50-50	39.97 ± 0.48 C	51.33
CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> 50-50 P87	35.92 ± 0.40 A	31.70
CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -Bi <sub>4</sub> Ti <sub>3</sub> O <sub>12</sub> 50-50 P87	16.49 ± 0.66 B	28.88
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -BaTiO <sub>3</sub> 50-50 P87	20.82 ± 0.31 C	24.21

Tabla 18. Diámetro de partícula medio (Diámetro promedio ± EEM) y el diámetro medio superficie esférica volumen de sistemas con y sin polímero.

Prueba de Kruskal-Wallis, *post hoc* Mann-Whitney, p<0.05 entre las nanopartículas con recubrimiento polimérico y las nanopartículas sin recubrir marcadas con la misma letra.

De acuerdo con el análisis estadístico, las nanopartículas de los sistemas  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  y  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  recubiertas con el polímero son significativamente menores en tamaño considerando el diámetro promedio en comparación con los sistemas sin recubrir, lo que se esperaba dado que la adición de una capa más al sistema debe aumentar el tamaño.

A diferencia de los sistemas anteriores, la  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ , disminuye significativa su tamaño tras recubrir con el polímero, lo cual no tiene lógica debido a que un aumento en la masa técnicamente debe aumentar el volumen de las nanopartículas. La disminución en el tamaño se atribuye a que el valor de diámetro promedio es susceptible a valores extremos inferiores o superiores, por lo que un valor muy grande o pequeño puede desplazar el valor promedio. En este caso se infiere que para el sistema sin recubrir con el polímero posiblemente se midió el diámetro de un agregado relativamente grande que se consideró equívocamente como una sola nanopartícula, por lo que su valor de diámetro promedio esta sobreestimado.

Para evadir valores promedio sobreestimados o subestimados se calculó el diámetro promedio de la superficie esférica y volumen que describe al sistema en términos de área superficial, donde diámetros pequeños indican mayor área superficial. De manera general se observó una disminución significativa en el diámetro después del recubrimiento polimérico, lo que indica una mayor área superficial, de manera que el polímero cumple una de sus funciones, que es aumentar el área superficial y la capacidad de carga del sistema.

### **8.12 Estabilidad en dispersión: potencial Z.**

Como parte final de la caracterización del sistema recubierto con el polímero se evaluó el potencial Z de los sistemas con y sin recubrimiento polimérico a pH fisiológico.

El potencial Z es una propiedad superficial de gran interés farmacéutico ya que es un parámetro asociado a la estabilidad de sistemas dispersos y que juega un papel fundamental en la farmacocinética del acarreador nanométrico que permite intuir su comportamiento en el organismo. En la *figura 41* se muestra que el potencial Z de los núcleos magnéticos, recubrimiento ferroeléctrico, el polímero 87 y los sistemas núcleo-recubrimiento en proporción 50-50 con y sin polímero es negativo. Las nanopartículas con potencial Z negativo

generalmente sufren de rápida opsonización, fagocitosis y eliminación por parte del sistema retículo endotelial.<sup>154</sup> El valor de potencial Z de los sistemas sugiere que los mecanismos antes mencionados, así como la filtración glomerular pueden ser las principales vías de eliminación de las nanopartículas del organismo.

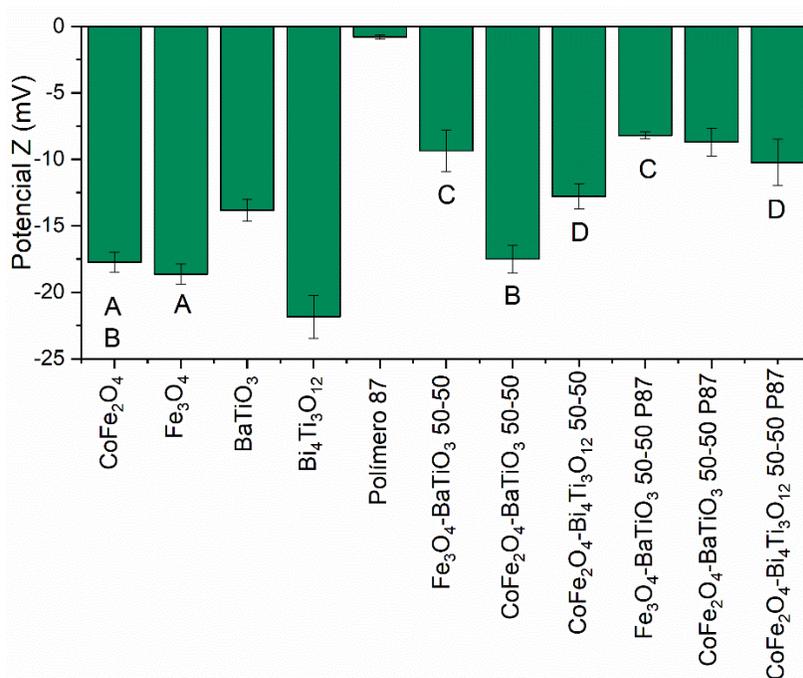


Figura 41. Potencial Z de los sistemas nanométricos y materiales precursores a pH 7.4. Media  $\pm$  DE, Prueba de ANADEV A de una vía. No hay diferencia significativa entre los grupos con la misma letra ( $p < 0.001$ ).

Como se muestra en la figura 41, el valor absoluto del potencial Z de todos los sistemas y de los materiales precursores está por debajo de 30 mV, lo que indica que todos los sistemas son poco estables en la dispersión y tienden a formar agregados reversibles. Considerando valores absolutos de potencial Z, de acuerdo con la regla empírica de oro, los sistemas con un potencial Z por arriba de los 60 mV indican una estabilidad excelente, por arriba de los 30 mV revelan una buena estabilidad, mientras que los sistemas entre los 5 y 20 mV son sistemas dispersos de estabilidad a corto plazo.<sup>154</sup>

El potencial Z de la Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, el BaTiO<sub>3</sub> y el Bi<sub>4</sub>Ti<sub>3</sub>O<sub>12</sub> por separado tienen los valores más negativos, en un intervalo entre -13.83 y -18.63 mV, de manera que estos son los sistemas más estables.

El potencial Z entre los núcleos magnéticos no es significativamente diferente, no obstante, cuando se recubren con los titanatos, este valor disminuye significativamente para los sistemas  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  y  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ , por lo que se infiere que las nanopartículas recubiertas son menos estables en dispersión que los núcleos por sí solos a pesar de que el potencial Z permanece negativo. En el caso del sistema  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ , aunque no hay una disminución significativa del potencial con respecto a la  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ , se aprecia que hay una tendencia del potencial Z a disminuir.

El comportamiento observado concuerda con el modelo del capacitor para el potencial Z, el cual considera que, en un mismo volumen al aumentar el tamaño de las partículas por el recubrimiento, disminuye la distancia entre ellas y hay un mayor traslape de la doble capa de cada nanopartícula, lo que se manifiesta con una disminución en el potencial Z.

El polímero 87 tiene un potencial Z de  $-0.80$  mV que indica que el recubrimiento polimérico no debería influir en el valor del potencial Z. Esto se confirma al comparar el potencial Z de los sistemas  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  y  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  con y sin recubrimiento polimérico, los cuales no muestran una diferencia significativa, aunque si hay una tendencia del potencial a disminuir tras el recubrimiento con el polímero.

En el caso del sistema  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  es evidente que el recubrimiento con el  $\text{BaTiO}_3$  no disminuye significativamente el potencial Z del sistema, no obstante, este disminuye drásticamente cuando se recubre con el polímero.

Aunque se esperarí que el polímero 87, dado su valor de potencial, fuera un sistema poco estable porque se ha reportado que valores de potencial entre los  $\pm 5$  mV se asocian con sistemas que tienen a agregarse fácilmente, su valor de potencial no refleja la estabilidad del sistema puesto que esta regla no aplica para tensoactivos y sistemas poliméricos de alto peso molecular. La estabilidad de polímeros involucra otros mecanismos independientes del potencial Z cuyo componente principal es la entropía del sistema. Este mecanismo de estabilización también afecta a las nanopartículas recubiertas con el polímero, de manera que, aunque estos sistemas presentan los valores de potencial más cercanos a cero, estos valores no reflejan su estabilidad.

La estabilidad dada por el recubrimiento polimérico se relaciona con el desplazamiento del plano de corte de la doble capa eléctrica, mediado por el impedimento estérico entre las cadenas. Cuando las partículas se acercan, la interpenetración limitada de las cadenas resulta en una repulsión efectiva relacionada con una disminución en la entropía conformacional. Finalmente, aunque se espera que el potencial Z negativo de las nanopartículas disminuya la eficiencia de electroporación y captura celular de las nanopartículas por la repulsión entre los grupos fosfato de la membrana celular y las nanopartículas, en cierta medida es conveniente porque a su vez disminuye su citotoxicidad.<sup>155</sup>

### **8.13 Evaluación de las nanopartículas como acarreador de fármacos: cinéticas e isothermas de adsorción.**

Una vez concluida la caracterización estructural, morfológica y fisicoquímica de los sistemas que describen y confirman la obtención del sistema deseado se prosiguió con la evaluación de los procesos que gobiernan la liberación del fármaco del acarreador nanométrico descritos en términos de la cinética de adsorción y la evaluación de los perfiles de liberación. Para dar seguimiento durante el proceso de adsorción en agua y la liberación a pH fisiológico en solución amortiguadora de fosfatos se realizaron las curvas de calibración del metotrexato en dichos medios (*anexo 7*).

Con la finalidad de obtener las isothermas de adsorción del metotrexato inicialmente se realizaron las cinéticas de adsorción para conocer la velocidad del proceso de adsorción, determinar el tiempo en que se alcanza el equilibrio y describir la fisicoquímica del proceso de adsorción mediante el ajuste con varios modelos mencionados resumidos en el *anexo 8*. En la *figura 42* se muestra las cinéticas de adsorción del metotrexato en a)  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ , b)  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ , y c)  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  en un intervalo de concentraciones de  $10^{-5}$  a  $10^{-4}$  M. Considerando los modelos de cinética de reacción y sus respectivos coeficientes de determinación ajustados, se observó que los datos se ajustaron mejor a una adsorción de pseudo orden uno, mientras que al considerar modelos difusivos se ajustaron mejor al modelo de difusión de sólido homogéneo (*anexo 8*).

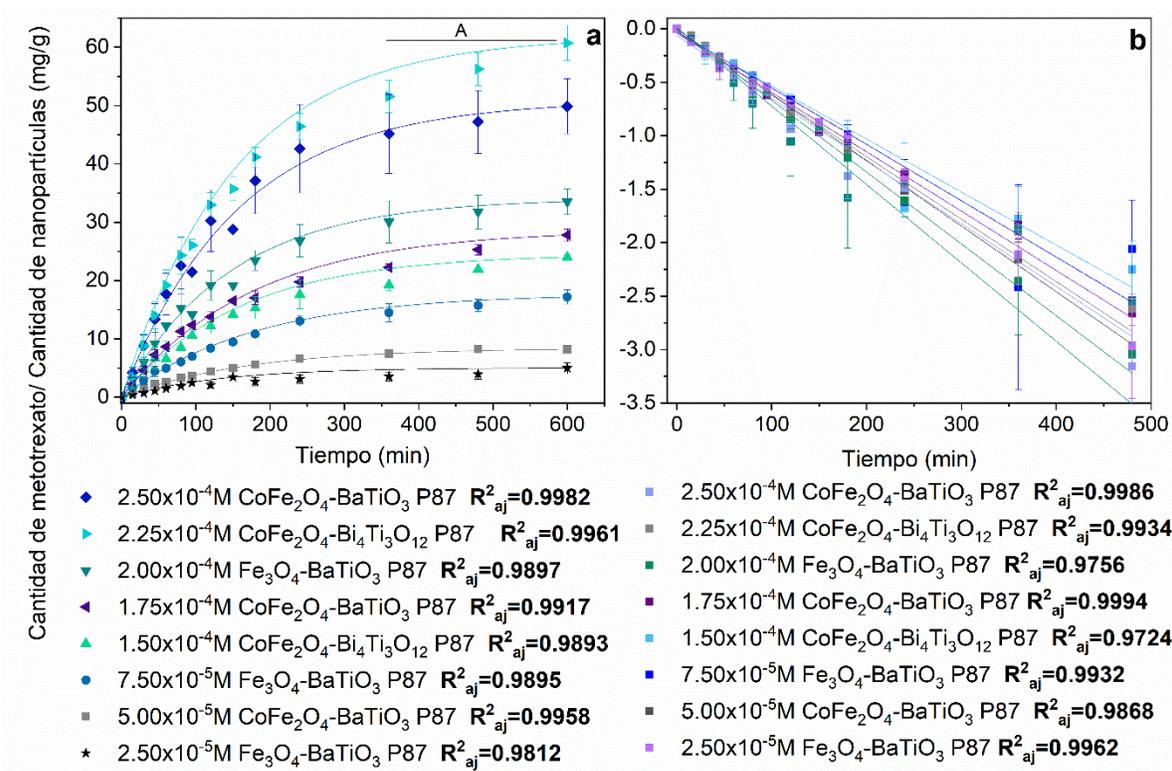


Figura 42. Cinéticas de adsorción de los sistemas  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ , y  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  con recubrimiento polimérico (10.0 mg) en un intervalo de concentración entre  $10^{-5}$  y  $10^{-4}$  M, a  $25^\circ\text{C}$ , en 10.0 mL de agua destilada con agitación constante a 200 rpm.

a) Ajuste al modelo de cinética de pseudo orden uno. Cantidad adsorbida promedio  $\pm$  EEM. Prueba de ANADEV de una vía de medidas repetidas, post hoc Tuckey; \*  $p < 0.001$  en los tiempos en el intervalo de 0 a 240 minutos con respecto a los 600 minutos.

b) Ajuste a modelo de difusión de sólido homogéneo a tiempos largos.

Las cinéticas de adsorción se describieron con modelos matemáticos en términos de cinética de reacción y modelos difusivos debido a que ambos modelos describen al proceso y aportan información diferente desde su perspectiva.

Los modelos basados en cinéticas de reacción se diferencian de los modelos difusivos en que los primeros mencionados consideran a la adsorción como un proceso de una etapa, mientras que los modelos difusivos describen al proceso en tres etapas que involucran la difusión en la fase volumétrica y el medio que rodea al adsorbato, la difusión entre las partículas o en casos de un adsorbente poroso, la difusión en los poros y finalmente el equilibrio entre la adsorción y desorción.

Es importante comentar que el ajuste a un modelo de pseudo orden uno, en donde la cinética original de segundo orden toma la forma de una de primer orden indica que el proceso de adsorción depende de la cantidad de nanopartículas y la concentración de metotrexato, pero que, al estar el metotrexato en una mayor concentración en comparación con la cantidad de nanopartículas prácticamente no presenta cambio en su concentración; por lo que la constante de velocidad no cambia significativamente conforme a la concentración de metotrexato. A partir del modelo de pseudo orden uno se obtuvo la capacidad de adsorción de los sistemas y la constante de rapidez de la reacción, dichos valores se resumen en la *tabla 19*.

Por otra parte, a partir de los valores diámetro promedio y el ajuste por el modelo de difusión de sólido homogéneo a tiempos largos, se concluyó que el paso limitante durante la adsorción es la difusión entre las partículas y se obtuvo el valor de la constante de difusión del metotrexato a las diferentes concentraciones (*tabla 19*).

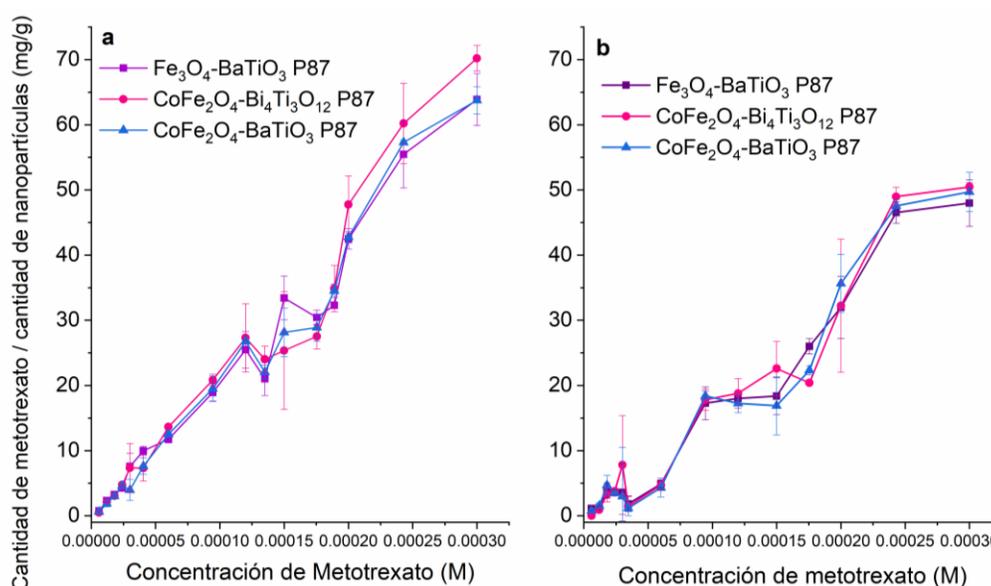
Concentración (M)	Pseudo orden uno		Difusión de sólido homogéneo	
	$q_e$ (mg/g)	$k$ (min <sup>-1</sup> )	$D$ (cm <sup>2</sup> /s)	Diámetro (cm)
$2.50 \times 10^{-5}$	$4.4115 \pm 0.3066$	$0.0066 \pm 0.0011$	$1.3826 \times 10^{-6}$	0.003592
$5.00 \times 10^{-5}$	$8.5388 \pm 0.0965$	$0.0061 \pm 0.0002$	$2.8755 \times 10^{-7}$	0.001649
$7.50 \times 10^{-5}$	$17.2679 \pm 0.3064$	$0.0056 \pm 0.0002$	$4.4332 \times 10^{-7}$	0.002082
$1.50 \times 10^{-4}$	$23.3930 \pm 0.6346$	$0.0060 \pm 0.0004$	$1.3366 \times 10^{-6}$	0.003592
$7.50 \times 10^{-4}$	$26.8225 \pm 0.7281$	$0.0061 \pm 0.0004$	$1.4361 \times 10^{-6}$	0.001649
$2.00 \times 10^{-4}$	$33.4304 \pm 0.7593$	$0.0067 \pm 0.0004$	$2.9754 \times 10^{-7}$	0.002082
$2.25 \times 10^{-4}$	$50.0603 \pm 1.2872$	$0.0069 \pm 0.0004$	$4.6221 \times 10^{-7}$	0.003592
$2.50 \times 10^{-4}$	$60.3545 \pm 1.0630$	$0.0061 \pm 0.0002$	$4.5066 \times 10^{-7}$	0.002082

Tabla 19. Parámetros de la cinética de adsorción.

De manera adicional en la *figura 42b* se observa que, a tiempos largos, hay una mayor dispersión de los datos, lo cual se atribuye a que en estas condiciones no se cumple en su totalidad una de las principales asunciones del modelo que dicta que durante el proceso de adsorción el área superficial específica permanece constante, ya que las nanopartículas al ser un sistema de estabilidad a corto plazo en dispersión tiende a la floculación de manera que disminuye el área superficial. La variación en el estado de dispersión del sistema conforme al tiempo afecta significativamente la constante de difusión, por lo que para su

cálculo se consideraron puntos hasta los 60 minutos. Sin embargo, no se observa ninguna tendencia de la constante de difusión conforme a la concentración dado a la fuerte dependencia de esta variable con el tamaño de partícula.

Finalmente, de acuerdo con la *figura 42*, a partir de los 360 minutos se alcanza el equilibrio puesto que no hay un incremento significativo en la cantidad adsorbida ( $p < 0.001$ ) al paso de tiempo. Considerando el diseño experimental y el tiempo en el que se alcanza el equilibrio se desarrollaron las siguientes isothermas de adsorción con una toma de muestra a los 480 minutos.



*Figura 43. Isothermas de adsorción de CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-BaTiO<sub>3</sub>, CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-Bi<sub>4</sub>Ti<sub>3</sub>O<sub>12</sub> y Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-BaTiO<sub>3</sub> con recubrimiento polimérico.*

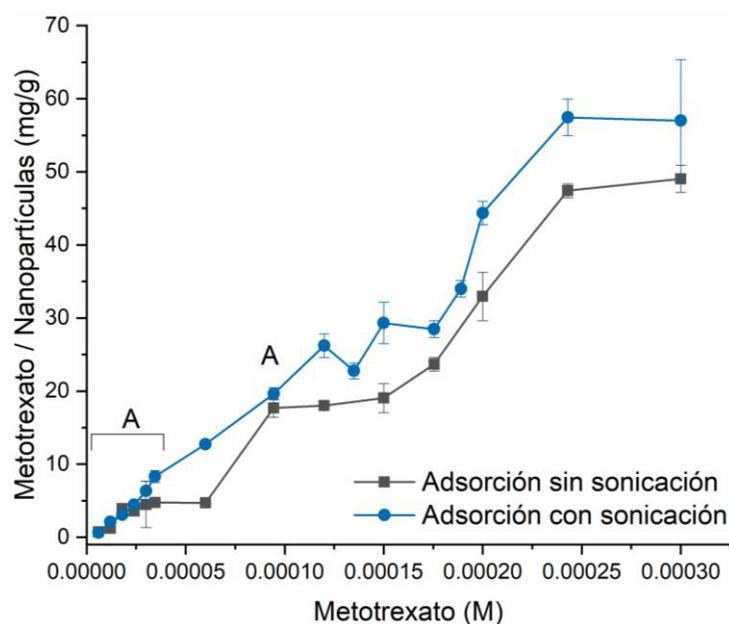
*Se colocaron 10.0 mg de nanopartículas en 10.0 mL de agua destilada con agitación constante a 200 rpm, a 25 °C y toma de muestra a los 480 min,*

*a) Adsorción con sonicación. Cantidad adsorbida promedio ± EEM. Prueba de ANADEVa de una vía ( $p < 0.05$ ).*

*b) Adsorción sin sonicación. Cantidad adsorbida promedio ± EEM. Prueba de ANADEVa de una vía ( $p < 0.05$ ).*

En la *figura 43* se muestran las isothermas de adsorción del metotrexato en CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-BaTiO<sub>3</sub>, CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-Bi<sub>4</sub>Ti<sub>3</sub>O<sub>12</sub> y Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-BaTiO<sub>3</sub> con (a) y sin sonicación (b) durante un minuto al inicio de la adsorción.

Como se observa en las isothermas de la *figura 43* no hay diferencia significativa en la cantidad adsorbida independientemente de la composición, lo que indica que las nanopartículas  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  y  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  con recubrimiento polimérico adsorben de manera similar y que la adsorción depende en gran medida del polímero. Con respecto a la influencia de la sonicación en la adsorción si se observa una diferencia en la forma de la isothermas de adsorción, variando la máxima cantidad adsorbida y el número de mesetas. Dado que no hay diferencia estadística en cuanto a composición para simplificar el análisis de las isothermas de adsorción y la influencia de la sonicación se promedió la cantidad adsorbida de los tres sistemas, como se muestra en la *figura 44*.



*Figura 44. Isothermas de adsorción con y sin sonicación a los 480 min, a 25 °C con 10.0 mg de nanopartículas en 10.0 mL de agua destilada con agitación constante a 200 rpm. Cantidad adsorbida promedio (mg/g)  $\pm$  EEM. ANADEVIA de dos vías, post hoc Tuckey, A  $p < 0.05$  no hay diferencia entre las isothermas con y sin sonicación a estas concentraciones.*

De acuerdo con el análisis estadístico la sonicación aumenta significativamente la cantidad adsorbida en las nanopartículas a partir de concentraciones mayores o iguales a  $1 \times 10^{-4}$  M. Durante la adsorción la parte inicial de la isoterma depende de la tasa del cambio del número de sitios activos conforme el adsorbato se va colocando en la superficie, por lo que, generalmente, las isothermas de adsorción se clasifican con base en la pendiente inicial de la

isoterma de adsorción. De acuerdo con la clasificación de *Giles et al.*<sup>156</sup> y con la forma de la pendiente inicial de las isothermas de la *figura 44* se infiere que en el caso de los sistemas que no se sometieron a sonicación la isoterma muestra un comportamiento tipo *L*, que describe sistemas en donde conforme se adsorbe el adsorbato, disminuye los sitios disponibles; mientras que los sistemas que se sonicaron se asemejan a isothermas tipo *C* en donde los sitios disponibles permanecen constantes por lo que la isoterma se muestra un comportamiento lineal hasta el punto donde se alcanza una meseta que indica la saturación de todos los sitios disponibles. Este comportamiento sugiere una alta afinidad entre el adsorbato y el adsorbente, que puede dar lugar a dos fenómenos; la penetración del metotrexato a regiones entre las partículas en donde no es favorable la asociación del disolvente con el polímero que recubre a las nanopartículas y a una reorientación de las nanopartículas conforme se adsorbe el metotrexato exponiendo nuevos sitios activos.<sup>156</sup>

Las isothermas de la *figura 44*, al alcanzar dos mesetas se subclasifican como isothermas del grupo tres de acuerdo con el número de mesetas según la clasificación de *Giles et al.*,<sup>156</sup> sin embargo, de acuerdo con el principio de la isoterma tipo *C* técnicamente no existen isothermas *C* del subgrupo 3 con dos mesetas, por lo que se infiere que en la isoterma con adsorción se presentó una anomalía, en donde dadas las condiciones experimentales una isoterma tipo *L* se comporta como una isoterma tipo *C*.

La finalidad de sonicar a las nanopartículas al inicio de la adsorción era crear ondas de ultrasonido que den lugar a la cavitación y así dispersar adecuadamente a las nanopartículas, reducir su tamaño y exponer toda el área superficial específica disponible.

Se infiere que, durante la adsorción al estar expuesta toda el área superficial, la primera meseta de la isoterma sometida a sonicación indica la formación de una monocapa y la saturación del área superficial específica.

Generalmente, cuando se alcanza la primera meseta en una isoterma se infiere la formación de una monocapa y la saturación del área superficial específica, sin embargo, se han reportado casos donde la cantidad adsorbida indica un área superficial específica es menor a la capacidad real. La ausencia de la primera meseta en la isoterma en la cual se no se sonicó al sistema sugiere que a estas concentraciones la cantidad adsorbida es menor a la cantidad

máxima que pueden adsorber las nanopartículas. Este fenómeno se ha reportado anteriormente en compuestos aromáticos heterocíclicos, como lo es metotrexato, y se ha atribuido a la formación de agregados del adsorbato que se unen en regiones específicas o la competencia de los sitios activos por las moléculas del medio puede dar lugar a este fenómeno. En este caso, esta meseta en particular se imputa tanto a la competencia de los puentes de hidrógeno por los grupos amida, amina y carboxilo del metotrexato, el agua y las cadenas del polímero, así como por la formación de agregados del metotrexato.

La formación de agregados del metotrexato se lleva a cabo por la presencia de sustituyentes polares en las pteridinas. Generalmente, el par de electrones libres de los átomos de nitrógeno de los compuestos heteroaromáticos deficientes en electrones  $\pi$  da lugar a la formación de puentes de hidrógeno entre los nitrógenos con las moléculas de agua. Sin embargo, este efecto se reduce por la incorporación de sustituyentes polares, mostrando un comportamiento contrario a lo observado para la mayor parte de las sustancias aromáticas o alifáticas. La incorporación de las aminas en las pteridinas del metotrexato favorece las interacciones por puentes de hidrógeno intermoleculares entre las aminas y los nitrógenos del anillo, provocando la formación de agregados y disminuyendo la interacción con las nanopartículas.

Posteriormente se observa que en ambas isothermas se alcanza una segunda meseta en el mismo intervalo de concentraciones del orden de  $10^{-4}$  M lo que indica la formación de una bicapa por adsorción cooperativa, en donde la interacción entre las moléculas de metotrexato por puentes de hidrógeno favorece la unión de más moléculas.

Con base en las cinéticas de adsorción en donde se concluyó que el paso limitante durante la adsorción es la difusión entre las partículas, también se esperaba un aumento en la cantidad adsorbida por la exposición de área superficial poco accesible por la unión del adsorbato y la difusión del fármaco a regiones entre las partículas que no son accesibles por el agua.

Experimentalmente, no se comprobó la formación de una tercera capa de adsorbato porque no fue posible concentrar más las disoluciones de metotrexato ya que se estaba trabajando

con concentraciones cercanas a la saturación, por lo que si se quisiera observar este fenómeno se requeriría disminuir la cantidad de nanopartículas en el mismo volumen.

Entre las funciones del recubrimiento polimérico destacaban el aumentar la funcionalidad del sistema al volverlo termosensible, proveer a las nanopartículas con mayor estabilidad fisicoquímica e incrementar la capacidad de carga de las nanopartículas. Este último se logró ya que la cantidad adsorbida de las nanopartículas aumenta el doble cuando se recubre con el polímero como se muestra en el *anexo 9*.

Después de clasificar las isotermas, se prosiguió con el ajuste de diferentes modelos descritos, haciendo énfasis en modelos que consideran la formación de multicapas. Se consideraron los modelos reportados por *Foo & Hameed* <sup>157</sup> (*anexo 10*), dentro de los cuales el modelo de *Freundlich* destaca por el mejor ajuste a los datos experimentales de acuerdo con el coeficiente de determinación ajustado ( $R^2_{aj}$ ). A pesar de que el modelo de *Freundlich* no tiene un fundamento termodinámico detrás de su expresión, es un modelo ampliamente utilizado que describe a la adsorción como un proceso en donde los sitios de mayor afinidad son los primeros en ocuparse y donde la adsorción disminuye exponencialmente hasta que termina el proceso.

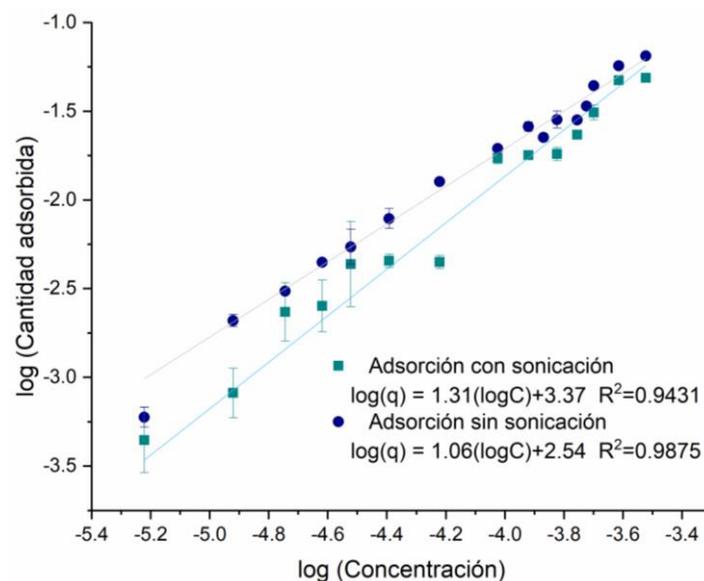


Figura 45. Ajuste de la isoterma de adsorción con el modelo de Freundlich.  
*log cantidad adsorbida promedio  $\pm$  EEM.*

La isoterma de *Freundlich* describe la heterogeneidad de la superficie y la distribución del adsorbato en la superficie y la energía asociada a estos sitios de acuerdo con el valor de la pendiente. Cuando esta toma valores cercanos o por encima de uno, como es el caso, en donde la pendiente es de  $1.06 \pm 0.03$  y de  $1.31 \pm 0.09$  para las isotermas con y sin sonicación respectivamente, el adsorbato se encuentra distribuido heterogéneamente en la superficie y en general se presenta el fenómeno de adsorción cooperativa. Este comportamiento concuerda con lo antes descrito, en donde la naturaleza del metotrexato y la formación de multicapas indicaba adsorción de tipo cooperativa.

En la isoterma de Freundlich, la ordenada al origen representa la capacidad de adsorción ( $k_F$  L/mg) y fue significativamente mayor en la isoterma en la cual se sonicó, con un valor de  $3.37 \pm 0.33$  a comparación de la isoterma sin sonicar con una capacidad de  $2.53 \pm 0.12$ . Este comportamiento concuerda con lo esperado debido a que se exponía una mayor cantidad de área superficial al sonicar, la cual después de un tiempo no está disponible por la formación de agregados.

#### **8.14 Evaluación de las nanopartículas como acarreador de fármacos: Perfiles de liberación del metotrexato bajo la influencia de la temperatura y la hipertermia magnética.**

Inicialmente se buscaron las condiciones en la que se adsorbiera la mayor cantidad de fármaco a las nanopartículas, lo cual de acuerdo con las isotermas de adsorción se presenta en las disoluciones de metotrexato cercanas a la saturación sometidas a sonicación, por lo que se escogieron estas condiciones para cargar los sistemas cuyos perfiles de liberación se evaluarían posteriormente. Se evaluó el efecto de la temperatura a 25 y 40 °C durante 24 h y se evaluó el efecto de un campo magnético alterno en la liberación a una frecuencia de 107 kHz y una magnitud de 1.6 kAm/m durante 24 h a 36.5 °C.

En la *figura 46* se muestra el efecto de la temperatura y la cantidad de fármaco cargado en el sistema en la liberación. Se adsorbió el fármaco a partir de concentraciones de metotrexato 0.00015 y 0.0003 M que corresponden a la primera y segunda meseta de la isoterma de adsorción sometida a sonicación

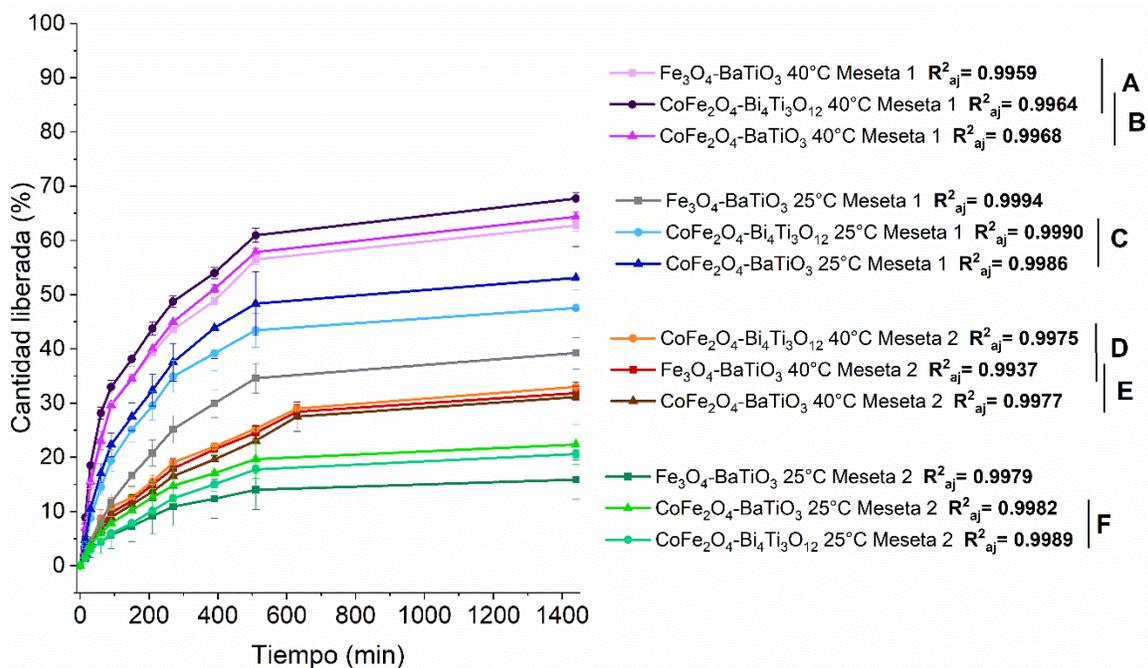


Figura 46. Perfiles de liberación a diferentes temperaturas y cantidad de metotrexato inicial. Se evaluó el efecto de la temperatura en la liberación de metotrexato a 25 °C (por debajo de la LCST) y a 40 °C (por arriba de LCST) durante 1440 minutos, con 10.0 mg de nanopartículas en 10.0 mL de una solución amortiguadora de fosfato 0.1 M a pH 7.4 bajo agitación constante a 200 rpm. Se probaron nanopartículas con metotrexato adsorbido en disoluciones de metotrexato 0.00015 y 0.0003 M que corresponden a la primera y segunda meseta de la isoterma de adsorción sometida a sonicación.

Porcentaje liberado promedio (%)  $\pm$  EEM. ANADEVIA de tres vías, post hoc Tuckey  $p < 0.05$  no hay diferencia entre los grupos marcado con las mismas letras.

Con respecto a la temperatura, se observó que independientemente de la región de la isoterma en la cual se realizó la adsorción, hay un aumento significativo en el porcentaje de fármaco liberado a 40 °C (por arriba de la LCST) en comparación de los 25 °C (por debajo de la LCST). Por un lado, se esperaba que el metotrexato tuviera una liberación basal muy baja (casi nula) debido a la difusión por debajo de la LCST, dado que en estas condiciones el metotrexato interacciona fuertemente con las regiones hidrofílicas de las cadenas mediante puentes de hidrógeno. A 25 °C, el porcentaje de metotrexato liberado por las nanopartículas cargadas en la primera y segunda meseta es del 50 y 20 % respectivamente. Por arriba de la temperatura LCST, se esperaba una mayor liberación porque se favorecen las interacciones entre las cadenas poliméricas y se debilitan las interacciones con el metotrexato, además de

que en estas condiciones el coeficiente de difusión tiende a ser mayor por el efecto de la temperatura.

Con relación a la cantidad de fármaco cargado en el sistema en la liberación, inicialmente se esperaba que la liberación fuera superior en los sistemas con una mayor cantidad de metotrexato adsorbido, e inclusive que se presentara un efecto en donde se libera una cantidad de fármaco significativa en los primeros tiempos de la liberación (*efecto burst*); sin embargo, experimentalmente se observó lo contrario. De manera general, independientemente de la temperatura las nanopartículas cargadas en la segunda meseta de la isoterma liberan menos del 30 %, de manera que no se presenta el efecto *burst*, mientras que las nanopartículas cargadas en la primera meseta de la isoterma liberan entre el 30 y 70 % del fármaco a 25 y 40 °C respectivamente.

Independientemente de la temperatura, los sistemas donde se adsorbió más metotrexato presentaron una liberación significativamente menor que los sistemas con menor cantidad de fármaco, lo que sugiere que en la segunda meseta una gran cantidad de fármaco se adsorbe en regiones entre partículas poco accesibles por el agua, comportamiento que concuerda con las isotermas de adsorción y con el modelo difusivo de mejor ajuste en las cinéticas de adsorción.

Finalmente, en los perfiles de liberación es evidente que hay diferencias significativas debido a la composición al contrario de las isotermas de adsorción. Los distintos perfiles de adsorción en las diferentes condiciones no muestran una tendencia alguna, por lo que se infiere que las diferencias en los porcentajes liberados se atribuyen a una distribución heterogénea del metotrexato en la superficie de las nanopartículas, como ya antes describió la isoterma de *Freundlich*, por lo que los sistemas que liberaron en mayor cantidad posiblemente estuvieran ligeramente más cargados.

A pesar del efecto de la temperatura, composición y cantidad de fármaco adsorbido, de acuerdo con el coeficiente de determinación ajustado ( $R^2_{aj}$ ), los datos de los perfiles de liberación se ajustaron mejor al modelo de *Peppas-Sahlin* con tiempo de latencia ( $T_{lag}$ ), un modelo que considera la difusión y del proceso de relajación de las cadenas poliméricas. El

ajuste de los perfiles de liberación se realizó con el programa *DDsolver* de acuerdo con los modelos reportados por *Zhang et al.* <sup>158</sup> y *Burschi* <sup>119</sup> mencionados en el *anexo 11*. El modelo de *Peppas-Sahlin* pertenece al grupo de modelos de liberación semi empíricos destinados a sistemas poliméricos, lo que sugiere que la liberación depende únicamente del recubrimiento polimérico.

El modelo de *Peppas-Sahlin* se aplica a sistemas donde hay una liberación anómala por la difusión del fármaco y el reacomodo de cadenas poliméricas de manera simultánea, que suele presentarse principalmente en acarreadores que integran matrices hidrofílicas desde las cuales para que inicie la liberación debe existir un flujo del agua al interior, el hinchamiento del polímero y la subsecuente difusión del fármaco. <sup>159</sup>

Este modelo determina el mecanismo de liberación predominante en función de los valores de las constantes  $k_1$  y  $k_2$  de los datos experimentales hasta el tiempo donde se liberó el 60 % del fármaco mediante las expresiones en el *anexo 11*.

Temperatura (°C)	Meseta	F	R	m	T <sub>lag</sub>
40	1	1.50 ± 0.96	-0.50 ± 0.04	0.49	10.22
40	2	2.83 ± 0.99	-1.83 ± 0.01	0.68	3.97
25	1	4.74 ± 0.98	-3.74 ± 0.02	0.65	10.18
25	2	3.60 ± 0.99	-2.60 ± 0.01	0.71	2.25

Tabla 20. Parámetros cinéticos del modelo de *Peppas-Sahlin* para la liberación de metotrexato en función de la temperatura y cantidad de metotrexato adsorbido.

De acuerdo con los parámetros cinéticos  $F$  y  $R$  asociadas a los fenómenos de la difusión y la relajación de las cadenas poliméricas respectivamente, se concluyó que la liberación se rige principalmente por la difusión (*tabla 20*).

En los valores del parámetro  $F$  se observa una tendencia en donde a mayores temperaturas disminuye la velocidad de difusión del fármaco debido al colapso de las cadenas del polímero que dificulta la difusión del fármaco. A 40 °C, de acuerdo con la *figura 46* se libera una mayor cantidad de fármaco, aunque a una menor velocidad.

El fenómeno de relajación de las cadenas se refiere a la transición del polímero del estado hinchado al colapsado y la aparición de una interfase vítrea-gomosa por la entrada del agua

y la hidratación de las cadenas poliméricas.<sup>159</sup> Los valores negativos de la constante  $R$  indican que este fenómeno es despreciable en la liberación, lo que sugiere que la hidratación de las cadenas del polímero se presenta durante un corto periodo de tiempo donde la liberación del fármaco es nula o que el fármaco se localiza principalmente en la superficie. Este efecto es más notorio en la *figura 66* del *anexo 12*, en donde se muestra la predominancia de los mecanismos de liberación a lo largo del tiempo. En esta gráfica es evidente que, a pesar de que la contribución de la relajación de las cadenas es menor en comparación de la difusión, en el caso de los sistemas donde se modificó la temperatura se observa que a tiempos cortos hay una mayor influencia del fenómeno de relajación.

El tiempo de latencia es un parámetro que indica el comienzo de la liberación del fármaco del sistema. Con base en los valores reportados en la *tabla 20*, este parámetro depende de la cantidad inicial del fármaco y la temperatura. De manera general, los sistemas con una mayor cantidad de fármaco inicial presentan tiempos de latencia significativamente menores debido a que en estos sistemas la diferencia en el gradiente de concentraciones es mayor, por lo que el fármaco tiende a ir más rápido de la zona de mayor concentración a la región de menor concentración. Por otro lado, con respecto a la temperatura, se observó que las nanopartículas con la misma cantidad inicial de metotrexato presentan tiempos de latencia más largos cuando incrementa la temperatura debido a que en estas condiciones el polímero colapsa y forma agregados que dificultan la difusión del fármaco.

Finalmente, al predominar la difusión como mecanismo de liberación se pueden hacer ciertas consideraciones con respecto al exponente de difusión Fickniana y así, determinar la geometría del polímero. Dado que los valores de los exponentes están entre 0.5 y 1 se concluye que el polímero forma películas finas en la superficie de las nanopartículas.

Como parte final del proyecto, se evaluaron los efectos un campo magnético alterno en la liberación de metotrexato adsorbido en la segunda meseta de la isoterma de adsorción sometida a sonicación (0.0003M), condiciones en donde se adsorbe una mayor cantidad de fármaco y no se presenta el *efecto burst*.

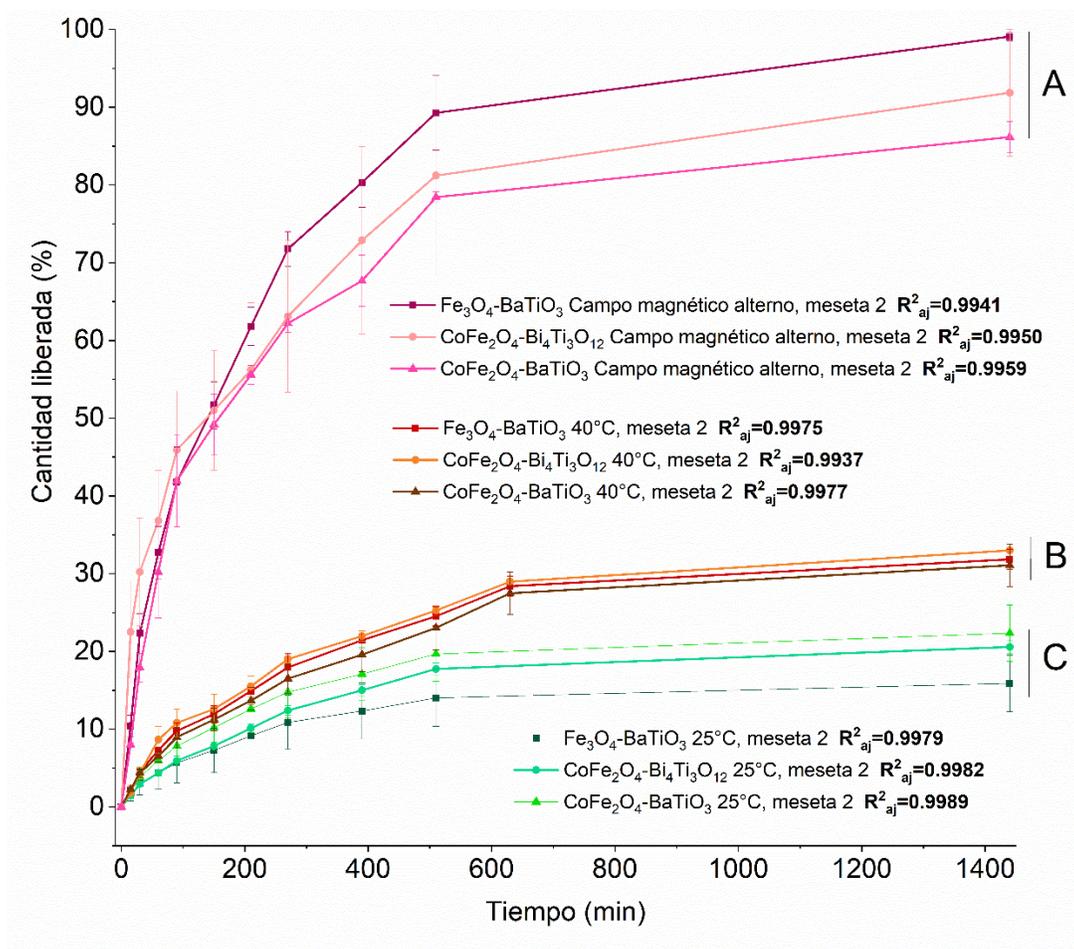


Figura 47. Influencia de un campo magnético alterno y la temperatura en los perfiles de liberación del metotrexato.

Se evaluó el efecto de un campo magnético alterno de 1.6 kAm/m y a una frecuencia de 107 kHz en 10.0 mg de nanopartículas colocadas en 10.0 mL de una disolución amortiguadora de fosfatos 0.1 M a un pH 7.4, a 36.5 °C y a 200 rpm. Además, se evaluó el efecto de la temperatura a 25 y 40 °C en las mismas condiciones.

Porcentaje liberado promedio (%) ± EEM. ANADEVa de dos vías, post hoc Tuckey  $p < 0.05$  no hay diferencia entre los grupos marcados con las mismas letras.

En la figura 47 se observa que, a diferencia de la temperatura, cuando las nanopartículas se sometieron a un campo magnético alterno se liberó el 100 % del metotrexato dentro del tiempo evaluado, en comparación con las nanopartículas bajo la influencia de la temperatura. En los perfiles de liberación sometidos a un campo magnético alterno se liberó una mayor cantidad de fármaco porque el campo magnético incrementa en mayor medida

la temperatura a nivel nanométrico a la vez que favorece el movimiento de las nanopartículas por el fenómeno de relajación Browniana.<sup>146,160</sup>

De igual manera, se observó que, nuevamente, los datos experimentales presentaron un mejor ajuste al modelo de *Peppas-Sahlin*. Dado que no hay diferencia significativa en la composición en los perfiles de liberación bajo la influencia de un campo magnético alterno, el ajuste de los parámetros cinéticos se realizó sin considerar el efecto de la composición para facilitar la comparación entre grupos (*tabla 21*).

Campo magnético	Temperatura (°C)	Meseta	F	R	m	T <sub>lag</sub>
No	25	2	3.60 ± 0.99	-2.60 ± 0.01	0.71	2.25
No	40	2	2.83 ± 0.99	-1.83 ± 0.01	0.68	3.97
Si	36.5	2	0.86 ± 0.43	0.14 ± 0.43	0.46	8.15

Tabla 21. Parámetros cinéticos del modelo de *Peppas-Sahlin* para la liberación de metotrexato a diferentes temperaturas y bajo la influencia de un campo magnético alterno.

Los datos reportados en la *tabla 21* indican que, la difusión predomina como mecanismo de liberación independientemente de la temperatura y la presencia de un campo magnético alterno. Al comparar los parámetros *F*, asociados a la difusión, se observa que las nanopartículas liberan una mayor cantidad de metotrexato, aunque a una menor velocidad cuando se someten a un campo magnético alterno.

Mediante fenómenos de relajación, las nanopartículas incrementan la temperatura del medio a nivel nanométrico (alrededor de 70 °C)<sup>146</sup> cuando están bajo los efectos de un campo magnético alterno, favoreciendo que las cadenas poliméricas colapsen y limiten la difusión del metotrexato.

Este fenómeno refleja que, en estas condiciones, la liberación depende en cierta medida de los mecanismos de la relajación, lo cual se observa en el valor positivo del parámetro *R* y en el aumento del tiempo de latencia.

De manera adicional, en la *figura 66* del *anexo 12* que representa el predominio de los mecanismos de liberación en función del tiempo se muestra que, en los perfiles de liberación sometidos a un campo magnético alterno, los efectos de los mecanismos de relajación aumentan conforme pasan el tiempo.

Como ya se mencionó anteriormente, la capacidad de calentamiento de las nanopartículas depende de los fenómenos de relajación, de los cuales, el fenómeno de la relajación Browniana genera calor a partir de la fricción entre las nanopartículas y el medio circundante debido a la rotación de las nanopartículas que dado sus dimensiones son susceptibles a fluctuaciones térmicas, dicho movimiento favorece el ingreso de moléculas de agua a regiones poco accesibles entre partículas, por lo que hay una ligera hidratación de las cadenas y una liberación controlada del fármaco a lo largo de toda liberación. Este efecto, además, se ve potenciado por el incremento de temperatura a nivel nanométrico.

## **9.0 Conclusión.**

Se sintetizaron tres tipos diferentes de nanopartículas de tipo núcleo-recubrimiento de manera exitosa mediante el método de coprecipitación para el núcleo y el método de sol-gel para el recubrimiento.

El acoplamiento de las fases ferrimagnéticas y ferroeléctricas, y su posterior recubrimiento con un polímero termosensible permitió desarrollar tres sistemas de nanopartículas sensibles a campos magnéticos alternos y a la temperatura que, además, cumplen con las características de morfología, tamaño, estabilidad térmica y capacidad de adsorción de fármacos necesarias para utilizarse como sistemas de liberación de fármacos.

El Intervalo de dosis de metotrexato es muy amplio y depende de la vía de administración, el esquema de administración, tipo de neoplasia, la fisiología de cada individuo y patologías concomitantes.<sup>161</sup> Considerando una vía de administración intravenosa, con dosis entre 25 y 500 mg por ciclo, se requeriría entre 430 mg y 8.3 g de nanopartículas.

## **10.0 Perspectivas.**

Actualmente existen muchas patologías que carecen de un tratamiento farmacológico eficiente, por lo que muchas disciplinas trabajan en conjunto para el desarrollo de nuevos materiales, formas farmacéuticas y biomoléculas que muestren un mejor desempeño y puedan utilizarse como alternativas terapéuticas.

Como primera parte de este proyecto se establecieron las proporciones y la metodología para la síntesis de tres diferentes sistemas de nanopartículas de tipo núcleo-recubrimiento cubiertas con un polímero termosensible con posibles efectos magnetoeléctricos. Dichos sistemas se caracterizaron de manera estructural, morfológica, magnética, fisicoquímica y farmacéutica; sin embargo, queda pendiente continuar con la caracterización eléctrica, comprobar que efectivamente se presenta el efecto magnetoeléctrico y determinar el acoplamiento de las fases.

Desde la parte farmacéutica, son necesarios los estudios de toxicidad en líneas celulares, evaluar la capacidad de electronanoporación de las nanopartículas, comprobar el mecanismo de liberación propuesto y evaluar la farmacocinética de los nanoacarreadores.

## 11.0 Anexos.

Anexo 1. Microscopía electrónica de barrido y de transmisión de las nanopartículas en proporciones 67-33 y 50-50 de núcleo y recubrimiento.

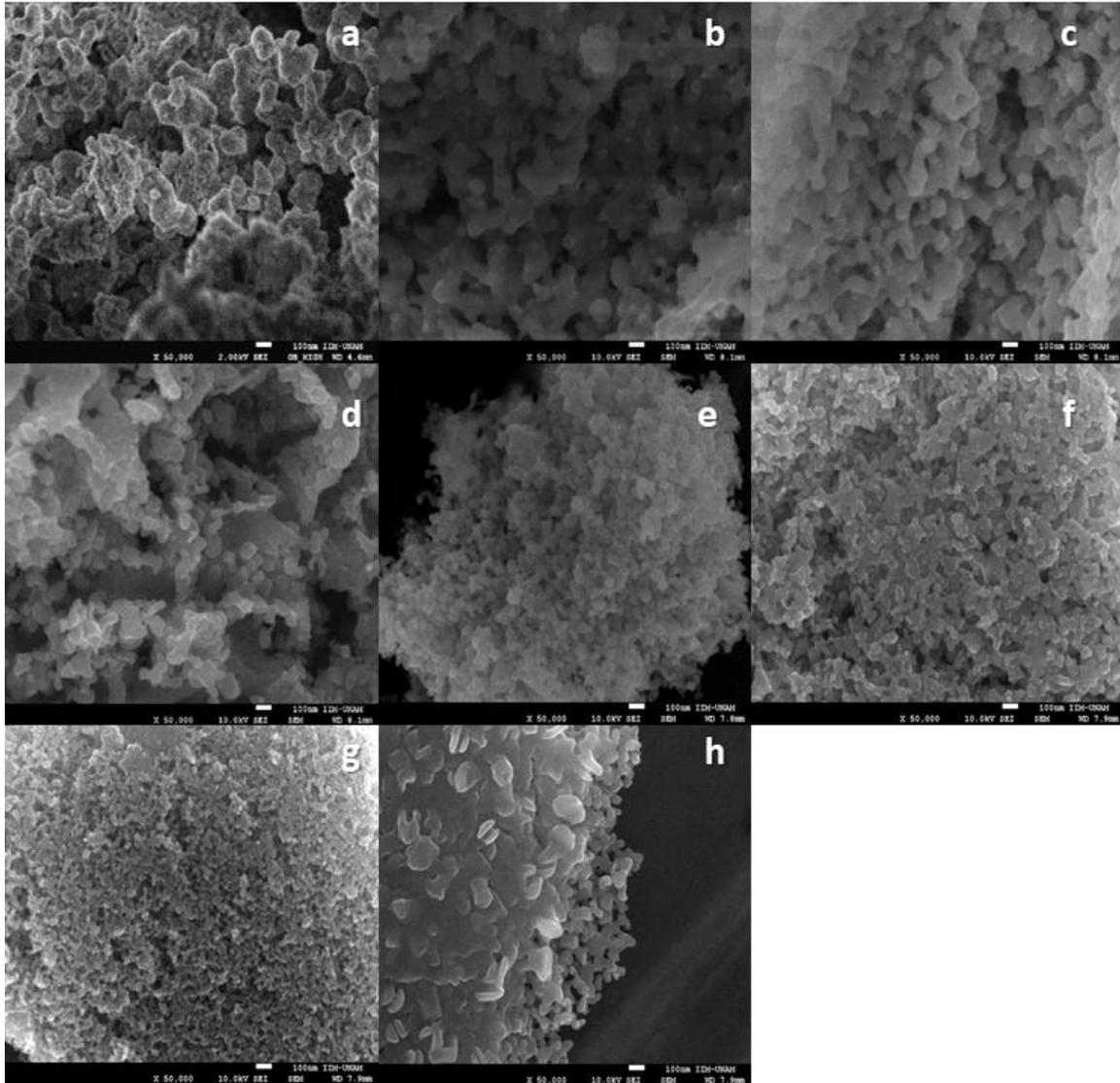


Figura 48. Microscopía electrónica de barrido de las nanopartículas de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  (a),  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  (b),  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  (c) y  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  (d) de proporción 67-33 y  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  (e),  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  (f),  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  (g) y  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  (h) de la proporción 50-50 en una escala de 100 nm.

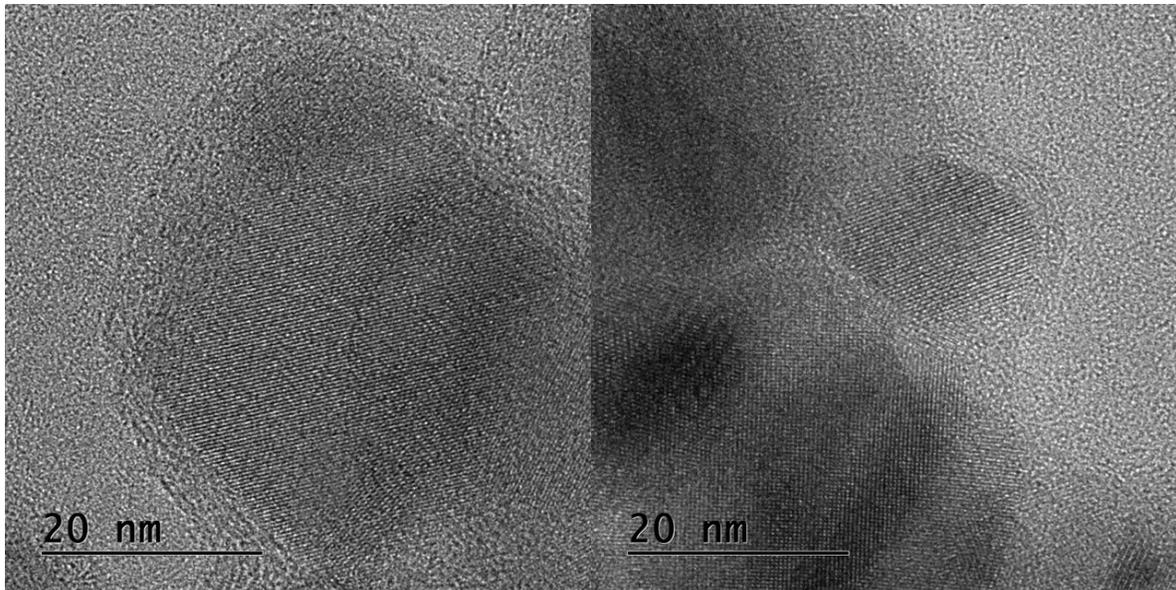


Figura 49. Microscopía electrónica de transmisión de las nanopartículas de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  (67-33).

Anexo 2. Espectros de dispersión de rayos X emitidos durante la técnica de microscopía electrónica de transmisión.

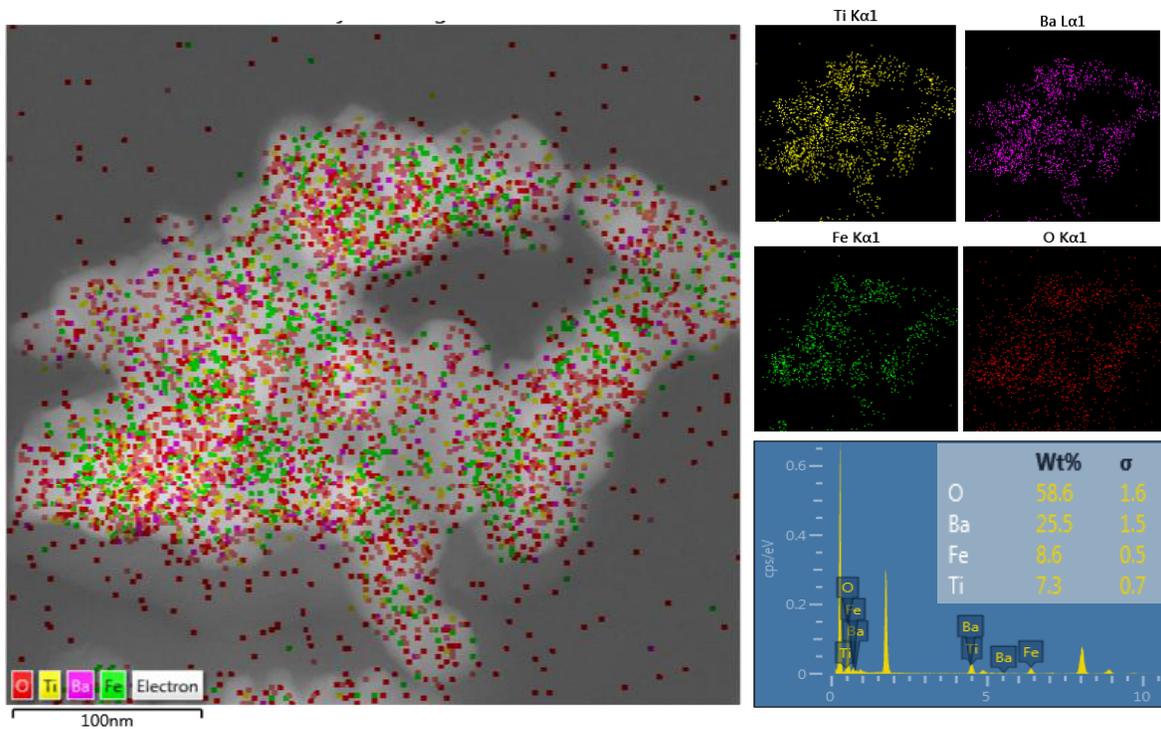


Figura 50. Espectro de dispersión de rayos X emitidos durante la microscopía electrónica de transmisión de las nanopartículas de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ .

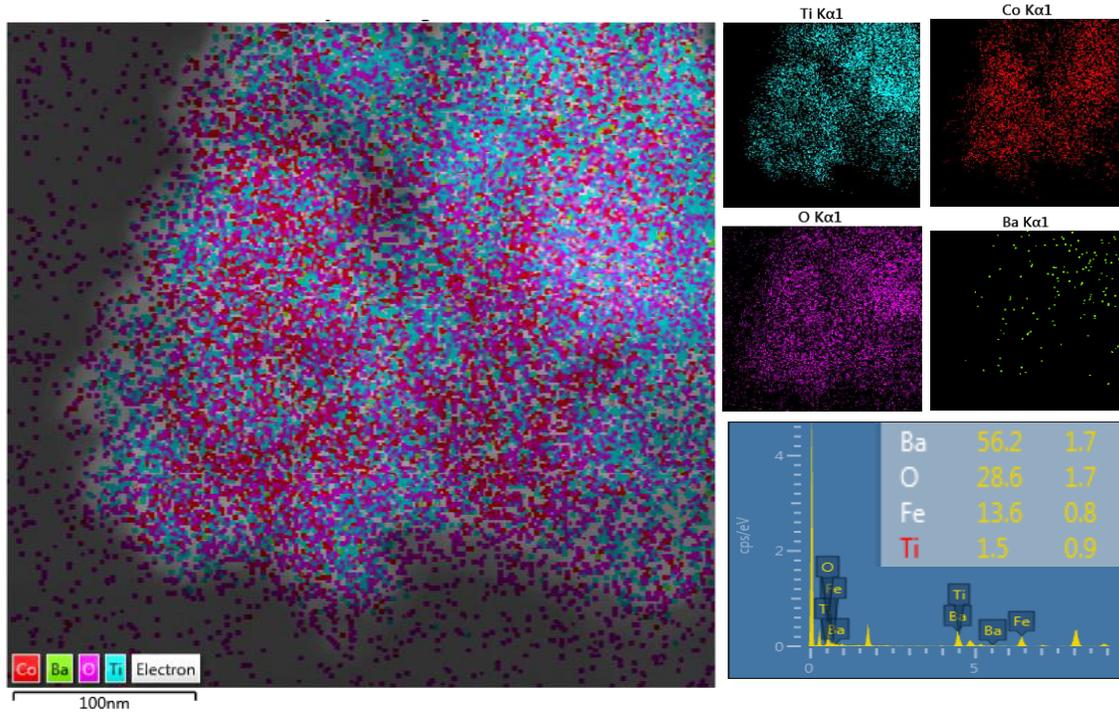


Figura 51. Espectro de dispersión de rayos X emitidos durante la microscopía electrónica de transmisión de las nanopartículas de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ .

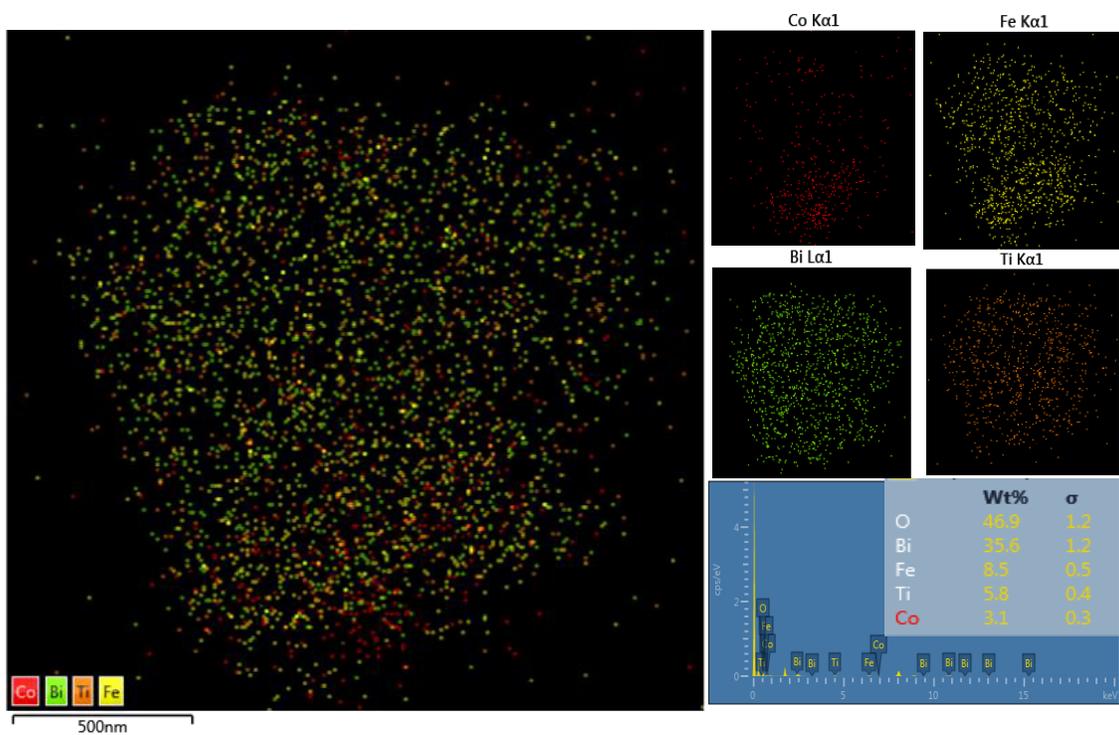


Figura 52. Espectro de dispersión de rayos X emitidos durante la microscopía electrónica de transmisión de las nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ .

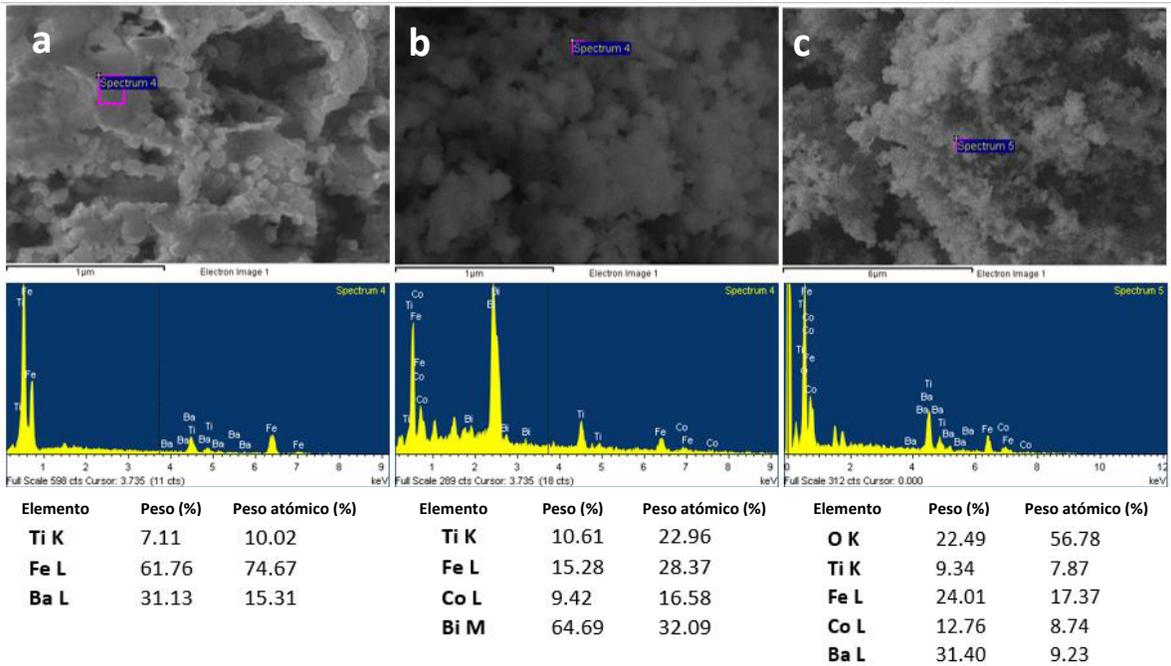


Figura 53. Espectro de dispersión de rayos X emitidos durante la microscopía electrónica de barrido de las nanopartículas de  $Fe_3O_4$ - $BaTiO_3$  (a),  $CoFe_2O_4$ - $Bi_4Ti_3O_{12}$  (b) y  $CoFe_2O_4$ - $BaTiO_3$  (c).

### Anexo 3. Magnetometría: magnetización en función de la temperatura.

Determinación de la temperatura de Morin de la  $\alpha$ - $Fe_2O_3$ .

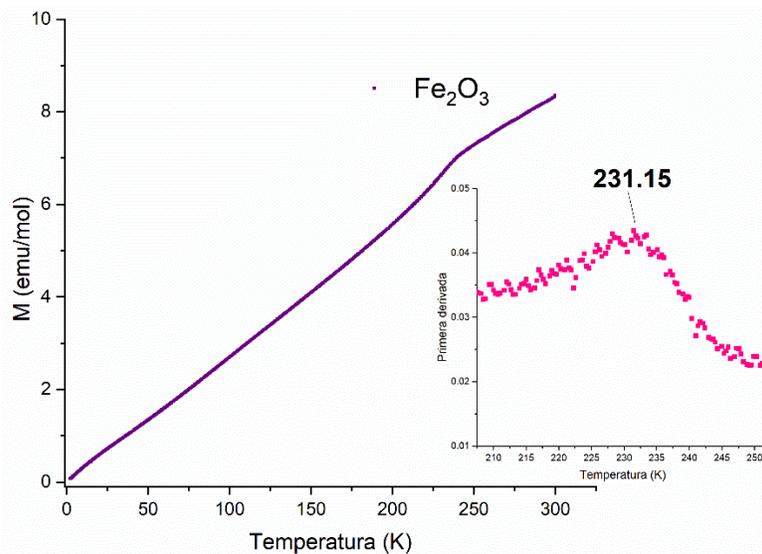


Figura 54. Magnetización en función de la temperatura de la  $\alpha$ - $Fe_2O_3$  a un campo magnético de 100 Oe siguiendo un protocolo ZFC.

La hematita es un compuesto antiferromagnético con un momento magnético neto igual a cero que surge de la orientación antiparalela de los dominios magnéticos de una misma magnitud. Dado el arreglo de los espines magnéticos, los compuestos antiferromagnéticos a bajas temperaturas y bajo la influencia de un campo magnético presentan una susceptibilidad magnética positiva muy baja, cercana a cero (*figura 54*), que tiende a crecer conforme aumenta la temperatura. <sup>144</sup> La susceptibilidad magnética de la hematita incrementa conforme aumenta la temperatura porque la energía térmica favorece la distorsión del ordenamiento de los espines magnéticos hasta alcanzar una temperatura crítica (temperatura de Morin) a partir de la cual, se comporta como un material ferromagnético. <sup>162</sup> En la *figura 54*, la temperatura de Morín se obtuvo a partir del punto de inflexión de la curva de magnetización en función de la temperatura, en donde para nanopartículas de un diámetro promedio  $60.39 \pm 5.32$  corresponde a 231 K.

#### Deformación de los ciclos de histéresis a 50 K por interacciones dipolares.

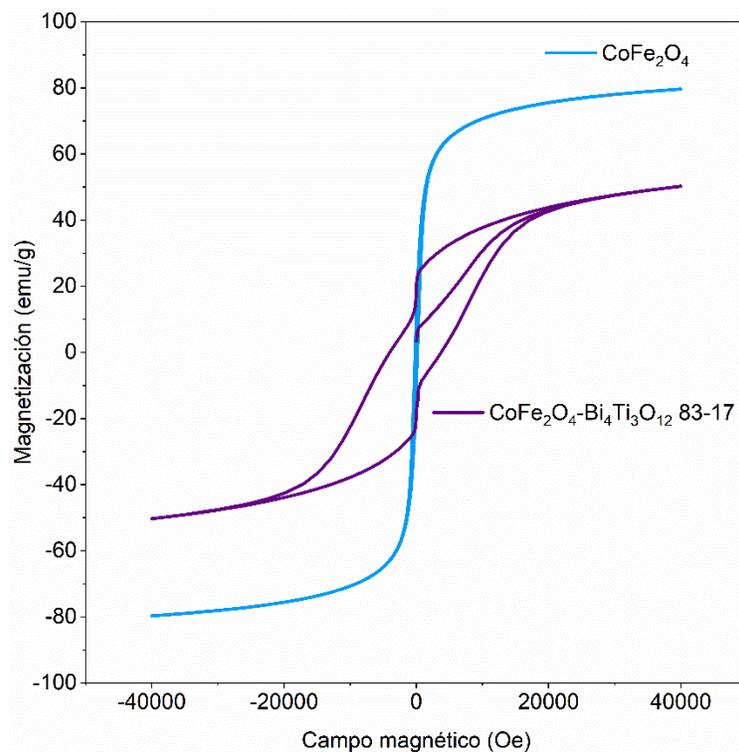


Figura 55. Ciclos de histéresis de la  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  y la  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  en una proporción 83-17 a una temperatura de 50 K.

Como ya se mencionó antes, el sistema de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  presentó el fenómeno de “cintura de avispa” en su ciclo de histéresis por la presencia de la combinación de dos fases magnéticas con diferente coercitividad en la muestra.<sup>141</sup> De manera adicional, se mencionó que este fenómeno se presenta en materiales a bajas temperaturas por la interacción de la anisotropía dipolar y la anisotropía magnetocristalina (*figura 55*).<sup>142</sup>

Generalmente, en un sistema magnético coexisten tres tipos de interacciones principales, la interacción ferrimagnética, dipolar y *RKKY* (una interacción que debe su nombre a los investigadores que la descubrieron *Ruderman, Kittel, Kasuya y Yoshida*), por lo cual a bajas temperaturas la interacción de las tres resulta en un cierto comportamiento magnético. Sin embargo, cuando el sistema se recubre, las interacciones dipolares son las únicas que prevalecen en el sistema debido a su alcance. Como se observa en la expresión de *Herzer* (*ecuación 7*), la interacción dipolar se presenta en una región inversamente proporcional al volumen de las nanopartículas a la tercera potencia.<sup>140,160,163</sup> El acoplamiento dipolar entre partículas vecinas favorece la desmagnetización de algunas de ellas y la deformación de los ciclos de histéresis, por lo cual la deformación de los ciclos de histéresis es una evidencia indirecta del recubrimiento del sistema.<sup>163</sup>

$$Volumen_{correlación} = \left(\frac{A}{K}\right)^6 \left(\frac{1}{D^3}\right) \quad (\text{Ecuación 7})$$

Donde: *A* corresponde a la constante de intercambio.  
*K* es la constante de anisotropía magnética.  
*V* es el volumen en el cual pueden interactuar varios dominios magnéticos entre partículas.  
*D* es el tamaño del dominio magnético.

### **Magnetización en función de la temperatura de los núcleos de $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ y $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .**

La magnetización de las nanopartículas superparamagnéticas se midió bajo un programa de medición de campo cero de enfriamiento que consiste en enfriar la muestra hasta la temperatura más baja posible en ausencia de un campo magnético externo y medir la magnetización conforme se calienta la muestra bajo un campo magnético externo.<sup>108</sup>

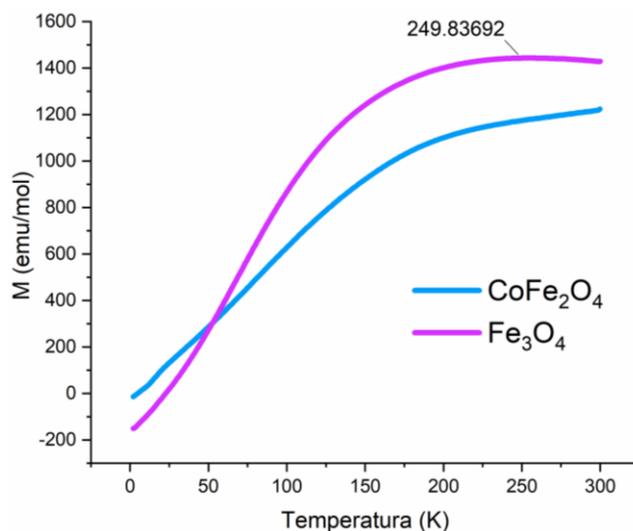


Figura 56. Magnetización en función de la temperatura de la  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  y la  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  siguiendo un protocolo ZFC a un campo magnético de 100 Oe.

En la figura 56 se observa que las ferritas presentan un comportamiento superparamagnético que se caracteriza por un incremento en la magnetización conforme aumenta la temperatura hasta alcanzar un máximo, a partir del cual, la magnetización disminuye lentamente. Las curvas de magnetización en función de la temperatura de la  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  y la  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  muestran diferentes geometrías debido a su fuerte dependencia con la distribución del tamaño de partícula, la cual, de acuerdo con los resultados de SEM es diferente para ambos núcleos.<sup>164</sup>

A bajas temperaturas, las nanopartículas no tienen la energía suficiente para orientarse en dirección al campo magnético, por lo que se observan valores de magnetización muy bajos; sin embargo, conforme aumenta la temperatura y así la energía térmica de las nanopartículas, éstas son capaces de orientar sus dominios magnéticos en dirección al campo magnético hasta un valor máximo. La temperatura a la cual se alcanza el máximo de magnetización y la energía térmica y de anisotropía magnética se vuelven comparables se denomina temperatura de bloqueo.<sup>160</sup> Después de la temperatura de bloqueo, la energía térmica de las nanopartículas alcanza una cierta magnitud que favorece la desorganización del material y la orientación azarosa de los dominios magnéticos, lo que se manifiesta como una disminución en la magnetización del material.

A pesar de que la  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  presenta un comportamiento superparamagnético, dentro del intervalo de temperatura empleado no se logró determinar su temperatura de bloqueo ya que no se aprecia con claridad el inicio del descenso de la magnetización. Por el contrario, en la  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  se observa que la temperatura de bloqueo es de 250 K (*figura 56*).

Como ley general se entiende que los sistemas siempre tienden a ordenamientos de menor energía de manera que cuando las nanopartículas se congelan en ausencia de un campo magnético externo los momentos magnéticos están orientados en diferentes direcciones para disminuir la energía magnetostática.<sup>164</sup>

Inicialmente, a bajas temperaturas (alrededor del 0 K), se esperaban valores de magnetización positivos cercanos a cero para las ferritas, sin embargo, como se observa en la *figura 56*, en estas condiciones se observaron valores de magnetización negativos poco frecuentes en este tipo de materiales. En la literatura se han reportado ferritas que presentan valores negativos de magnetización, un fenómeno conocido como magnetización reversa o magnetización negativa, dependiendo del tipo de interacciones de intercambio magnético presentes en el material, su estructura cristalina y la energía de anisotropía magnética.<sup>108</sup>

La magnetización negativa es un fenómeno que no surge del diamagnetismo intrínseco de los materiales y que se define como el paso de los valores de magnetización positivos a negativos en función de la temperatura para un material por debajo de su temperatura de ordenamiento magnético.<sup>108</sup> De acuerdo con la teoría de campo molecular de Néel, en el caso de las ferritas, donde hay un acoplamiento antiparalelo de los momentos magnéticos entre los diferentes iones en sitios tetraédricos y octaédricos, la magnetización negativa se presenta cuando la energía de Zeeman es menor que la energía de anisotropía magnética y se prohíbe la reorientación de la magnetización neta en dirección del campo magnético externo por la anisotropía magnética del sistema.<sup>108</sup> En un arreglo cristalino de espinela inversa, los momentos magnéticos en sitios octaédricos y tetraédricos tienen un comportamiento distinto respecto a la temperatura debido a que los iones en estos sitios muestran una contribución del momento angular del espín al momento angular total, lo que

repercute físicamente en la prohibición de la orientación de los momentos en dirección al campo magnético externo.

A pesar de las explicaciones que se les puede dar a este fenómeno, actualmente no existen teorías que predican el comportamiento de la curva de magnetización una vez que esta presenta valores negativos.

### Magnetización en función de la temperatura de los núcleos recubiertos.

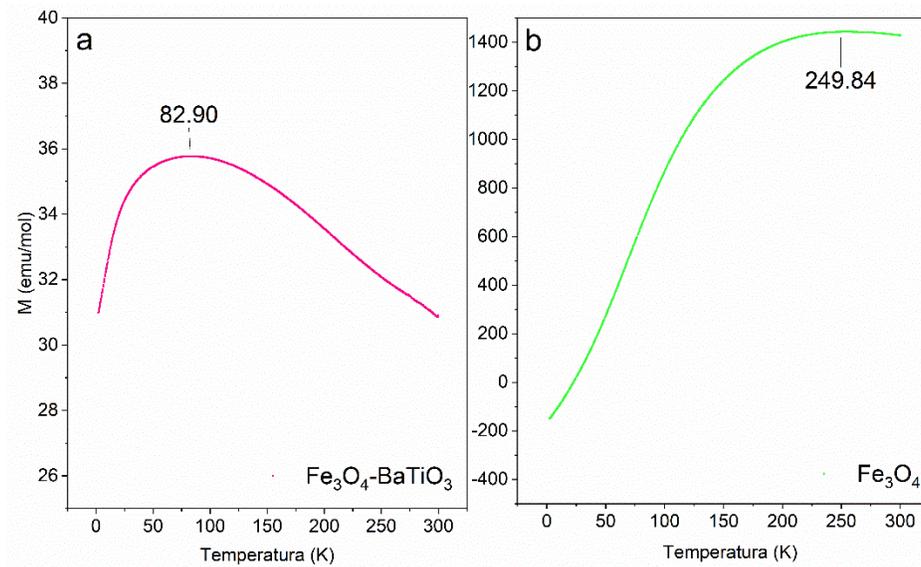


Figura 57. Magnetización en función de la temperatura de la  $Fe_3O_4$ -BaTiO<sub>3</sub> (a) y la  $Fe_3O_4$  (b) a un campo magnético de 100 Oe y un protocolo ZFC.

En la figura 57 se muestra que los sistemas de  $Fe_3O_4$  con y sin recubrimiento siguen el comportamiento superparamagnético antes descrito de la magnetización en función de la temperatura, en el cual hay un aumento progresivo de la magnetización hasta la temperatura de bloqueo, a partir de la cual dicha magnetización tiende a disminuir. A pesar de que ambos sistemas siguen el mismo comportamiento superparamagnético, en la figura 57 son evidentes ciertas diferencias atribuidas al recubrimiento.

En general, se observa que hay una disminución de la magnetización por el recubrimiento con BaTiO<sub>3</sub> debido a que su naturaleza diamagnética no contribuye con el momento magnético de todo el material y a que el recubrimiento de los núcleos distorsiona los

momentos magnéticos en la superficie, aumentando el grosor de la capa de momentos magnéticos que no contribuyen al sistema.

A su vez, el recubrimiento modifica la geometría del pico de magnetización de manera indirecta, ya que influye en la distribución del tamaño de partícula.<sup>164</sup>

Finalmente es evidente que el recubrimiento con los titanatos disminuye la temperatura de bloqueo del sistema, ya que este parámetro depende fuertemente del número de interacciones presentes en el sistema, en donde un mayor número de interacciones implica un aumento en la temperatura de bloqueo.<sup>165</sup>

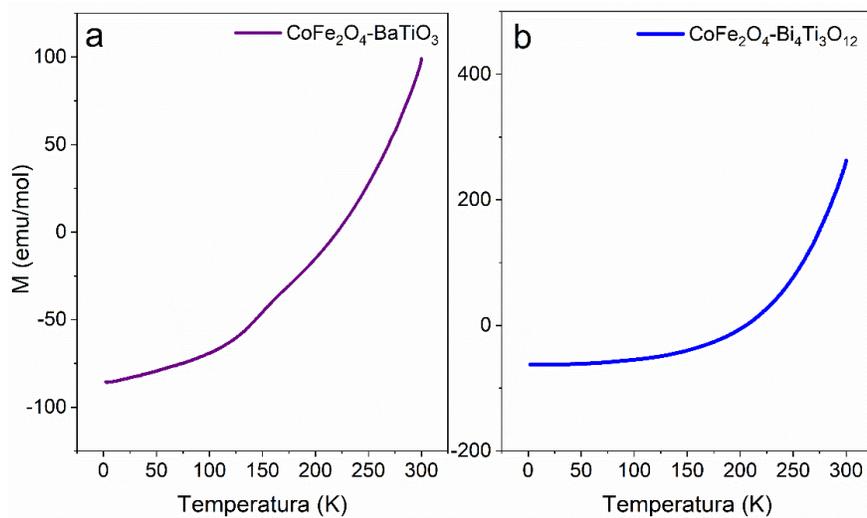


Figura 58. Magnetización en función de la temperatura de la  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  (a) y la  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  (b) a un campo magnético de 100 Oe y un protocolo ZFC.

Al contrario del sistema de la  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , los sistemas de la  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  recubierta con  $\text{BaTiO}_3$  (a) y  $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  (b) de la figura 58 no presentan un comportamiento típico de un material superparamagnético, sino que se observa nuevamente el fenómeno de la magnetización negativa, el cual nuevamente se atribuye a los distintos comportamientos de los momentos magnéticos en sitios octaédricos y tetraédricos con respecto a la temperatura y a su respectiva contribución del momento angular del espín al momento angular total. Sin embargo, la descripción de los sistemas no se extiende más debido a que, como ya se mencionó anteriormente, a pesar de que existen teorías que explican el origen del fenómeno, aún no existen teorías que predican su comportamiento.

Anexo 4. Efecto de la concentración sobre la capacidad de calentamiento de las nanopartículas sometidas a un campo magnético alterno.

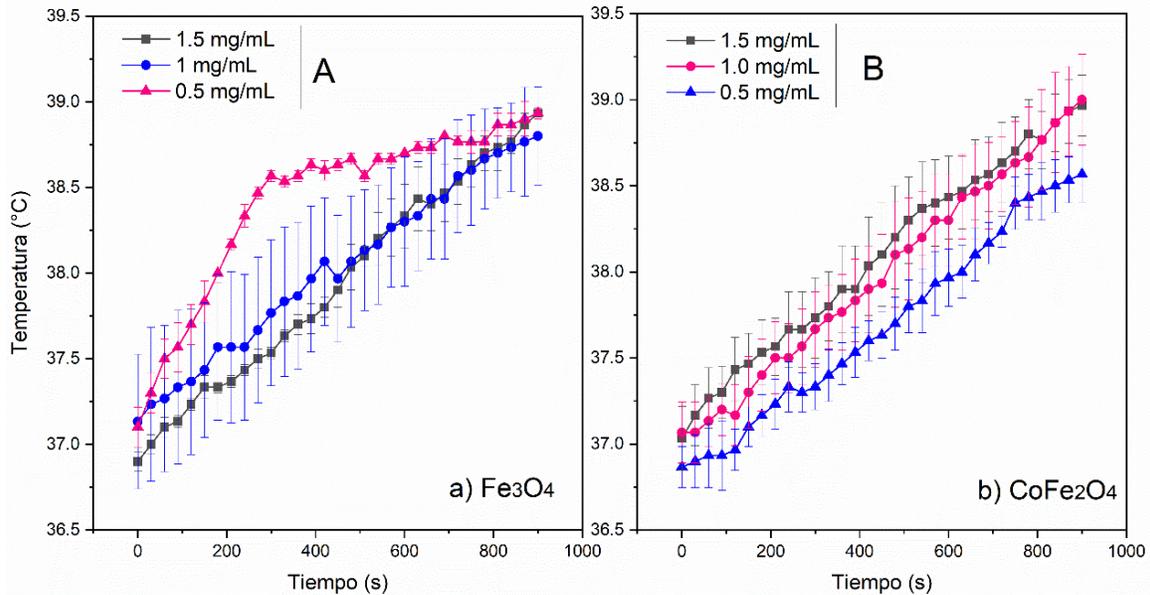


Figura 59. Curva de la temperatura en función del tiempo para la  $Fe_3O_4$  y la  $CoFe_2O_4$  sometidas a un campo de  $17.4 \text{ kAm/m}$  y una frecuencia de  $100 \text{ kHz}$ .

Temperatura  $\pm$  DE. Prueba de ANADEV de una vía de medidas repetidas, post hoc Tuckey ( $p < 0.001$ ). No hay diferencia significativa entre las nanopartículas marcadas con la misma letra.

En la figura 59 se observa que no hay diferencia en la capacidad de calentamiento debido a la concentración, por lo que para las determinaciones de la capacidad de calentamiento se utilizó una concentración de  $1 \text{ mg/mL}$ , condiciones en las cuales las nanopartículas se dispersan mejor.

De manera general, para los núcleos magnéticos se observa una tendencia que concuerda con la teoría, en donde a mayor concentración, mayor es la capacidad de calentamiento; excepto en el caso de la magnetita a una concentración de  $0.5 \text{ mg/mL}$ , sin embargo, se espera que este efecto se deba a que en realidad se pesó una mayor cantidad de masa.

Anexo 5. Determinación de la LCST por métodos ópticos y calorimétricos.

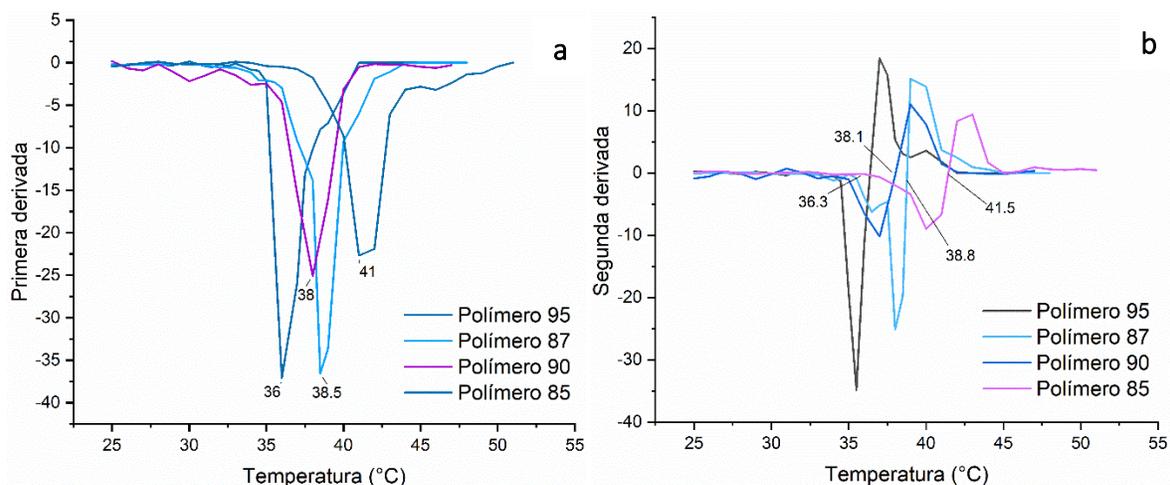


Figura 60. Primera (a) y segunda (b) derivada de la transmitancia en función de la temperatura.

En la figura 60 se observa que la temperatura de transición corresponde a un mínimo en el gráfico de la primera derivada y al punto asintótico en la segunda derivada. Los valores de la LCST determinados mediante la primera y segunda derivada no difieren mucho de los valores determinados por el método gráfico y el ajuste a la función sigmoidea de Boltzmann.

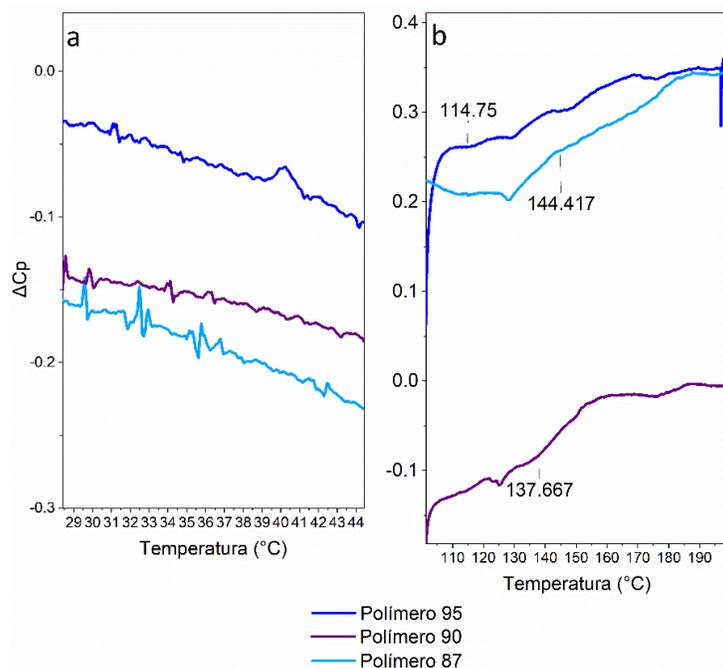


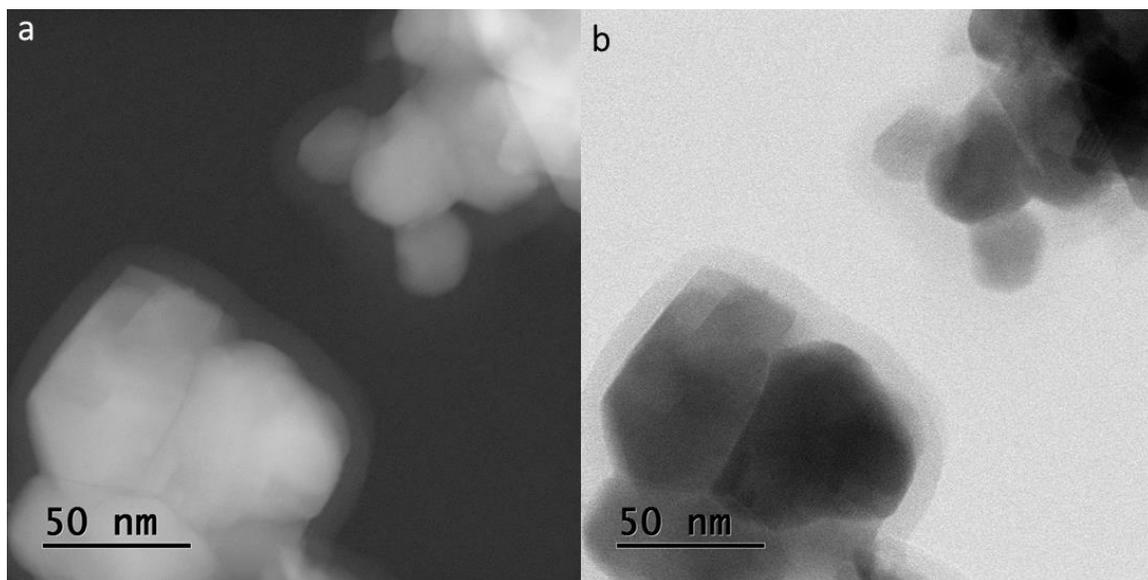
Figura 61. Curvas calorimétricas para la determinación de la LCST (a) y la  $T_g$  (b).

Cuando se utilizan métodos ópticos, la LCST varía dependiendo de la longitud de onda empleada, por lo que generalmente se sugiere utilizar la calorimetría diferencial de barrido para comprobar las temperaturas de transición.

Experimentalmente no se comprobaron las LCST de los diferentes polímeros sintetizados porque los picos asociados a esta transición no estaban definidos en un intervalo de temperatura debido a la alta polidispersidad de los polímeros (*figura 61a*).<sup>116,166</sup>

Además del análisis de la LCST, mediante las curvas calorimétricas se determinó la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) de los polímeros (*figura 60b*), en las cuales se observa que la  $T_g$  incrementa cuando aumenta la cantidad del entrecruzador.

#### Anexo 6. Contraste Z.



*Figura 62. Contraste Z (a) y microscopía electrónica de transmisión con unidad de barrido (b) de las nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-BaTiO<sub>3</sub> en una proporción 50-50.*

En la *figura 62* se muestran microscopías de las nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-BaTiO<sub>3</sub> en una proporción 50-50 antes del recubrimiento polimérico. Las nanopartículas superparamagnéticas y el recubrimiento ferroeléctrico se diferencian con mayor claridad con la técnica de contraste Z debido a cambios en la intensidad en las zonas de diferente composición (*figura 62a*).

Por otra parte, en las microscopías de las nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  recubiertas con polímero 87, no se parecía con claridad las tres diferentes fases presentes, los núcleos, el recubrimiento ferroeléctrico y el recubrimiento polimérico con tanta claridad.

El recubrimiento polimérico se aprecia mejor con la técnica de contraste Z, de la cual se obtienen imágenes en campo oscuro en donde dos muestras que tengan distinta composición se observan con diferente intensidad, aunque no exista ninguna diferencia topográfica entre ellas dependiendo de la cantidad de materia o el número atómico. Al comparar las *figuras 63 c y d* se aprecia el polímero como la región de menor intensidad debido a su alto contenido de carbono (número atómico relativamente) y que en general presenta un grosor variable a lo largo de la superficie de las nanopartículas. Nuevamente se reitera que las dimensiones del polímero son una medida subestimada por el estado de hidratación del polímero.

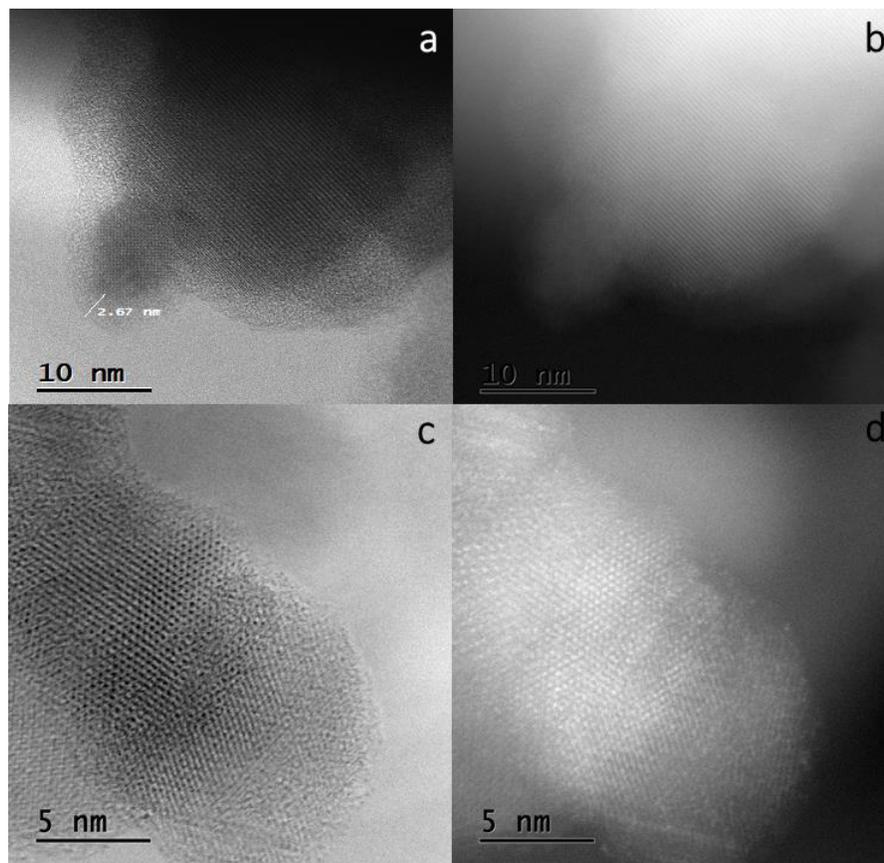


Figura 63. Microscopía electrónica de transmisión (a y c) y contraste Z (b y d) de las nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$  recubiertas con polímero 87.

## Anexo 7. Curvas de calibración del metotrexato en agua y solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M a pH 7.4.

En las curvas de calibración el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) toma valores cercanos a uno, de 0.999 en agua y de 0.999 en solución amortiguadora de fosfatos respectivamente, lo que afirma la linealidad de la curva y su capacidad para obtener resultados confiables.

La especificidad del método también se observa en los valores de absorptividad molar, cuyos valores de 24032.38 y 23895.42  $\text{L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$  se encuentran dentro del intervalo reportado para el metotrexato (23200-25200)  $\text{L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$  a  $\lambda = 303 \text{ nm}$  (*Pubchem*)<sup>167</sup> lo que garantiza la identidad del analito y en cierto grado la especificidad del método. Con base en el coeficiente de determinación y el valor de coeficiente de absorptividad molar de ambas curvas de calibración se garantiza la calidad del método.

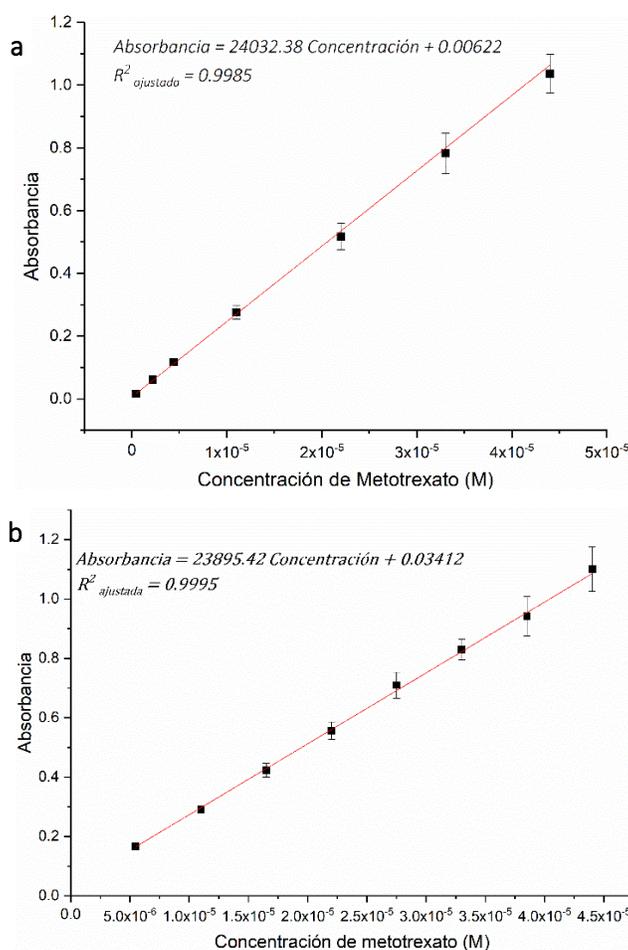


Figura 64. Curva de calibración de metotrexato en agua (a) y en solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M a pH 7.4 (b).

## Anexo 8. Modelos de las cinéticas de adsorción.

Cinética de adsorción	Expresión
Orden cero	$q_t = q_0 - kt$
Orden uno	$\ln q_t = \ln q_0 - kt$
Pseudo orden uno	$\ln q_t = \ln q_e - q_e kt$
Orden dos	$\frac{1}{q_t} = \frac{1}{q_0} + kt$
Pseudo orden dos	$q_t = \frac{t}{\frac{1}{h_0} + \frac{t}{q_e}}$
Elovich	$\ln q_t = \beta \ln \alpha \beta + \beta \ln t$
Difusión entre partículas a tiempos cortos	$\frac{q}{q_\infty} = 6 \left( \frac{D_s}{R^2 \pi} \right)^2 t^{\frac{1}{2}}$
Difusión entre partículas a tiempos largos	$\ln \left( \frac{q}{q_\infty} \right) = 1 - \frac{6}{\pi} e \left( -\frac{D_s \pi^2 t}{R^2} \right)$
Weber Morris	$q_t = k_{int} t^{\frac{1}{2}}$
Dumwald Wagner	$\log(1 - F^2) = -\frac{K}{2.303} t$
Modelo de doble exponencial	$\ln(q_e - q_t) = \ln \left( \frac{D_2}{m_a} \right) - k_2 t$

Tabla 22. Modelos de ajuste de las cinéticas de adsorción.<sup>117</sup>

Con la finalidad de obtener las isothermas de adsorción del metotrexato inicialmente se realizaron las cinéticas de adsorción para conocer la velocidad del proceso de adsorción, determinar el tiempo en que se alcanza el equilibrio y describir la fisicoquímica del proceso de adsorción, por lo que se ajustaron los datos a los diversos modelos expresados en la *tabla 22* y se seleccionó el mejor modelo con base en el coeficiente de determinación ajustado.

## Anexo 9. Isotherma de adsorción de la cobalto ferrita recubierta con titanato de bismuto.

Entre las funciones del recubrimiento polimérico destacaba el incrementar la capacidad de carga de las nanopartículas, una característica que se logró, como se muestra en la isoterma de adsorción de la *figura 65a* en donde se observa que la cantidad máxima de carga de la

$\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  es de 25 mg/g mientras que con el polímero es de 60 mg/g cuando la muestra se somete a sonicación durante un minuto al inicio del proceso de adsorción.

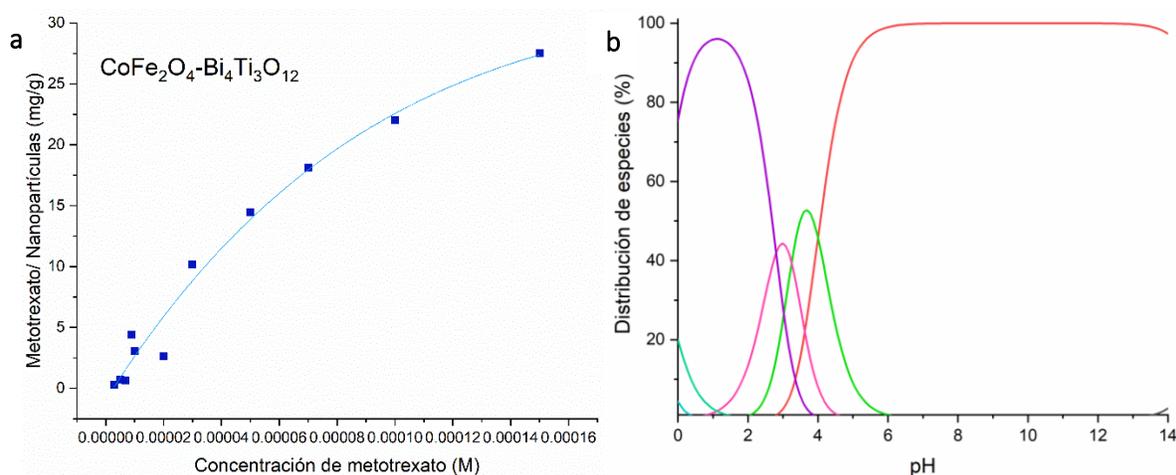


Figura 65. Isotherma de adsorción de las nanopartículas de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$  (a) y diagrama de distribución de especies del metotrexato (b).

La isoterma se construyó con 10.0 mg de nanopartículas de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ , en 10.0 mL de una disolución amortiguadora de fosfatos 0.1 M a un pH de 7.4, a 25 °C y agitación constante a 200 rpm y tiempo de toma de muestra a los 480 min. Las nanopartículas se sometieron a sonicación durante el primer minuto del proceso de adsorción.

La diferencia en la cantidad adsorbida máxima entre las nanopartículas con y sin recubrimiento se atribuye a que el polímero, aumenta la estabilidad en dispersión de las nanopartículas y así su área superficial específica total. Además, de que el polímero interactúa con el metotrexato mediante puentes de hidrógeno, una interacción que no depende de las fuerzas electrostáticas ni de la especie ionizada del metotrexato que predomina en el medio, al contrario de las nanopartículas sin recubrir. La carga superficial en las nanopartículas depende del punto neto de carga cero PZNC (*traducido de sus siglas en inglés, Point of Zero Net Charge*), cuyos valores para los nanopartículas son de alrededor de 7. A un pH de 7.4, las nanopartículas tienen carga negativa, por lo que hay una repulsión con la especie predominante del metotrexato en el medio que igualmente está cargada negativamente debido a la desprotonación de sus grupos carboxílicos (figura 65b).

## Anexo 10. Modelos de las isotermas de adsorción.

Isoterma	Modelo matemático	Expresión linealizada	R <sup>2</sup> <sub>aj</sub> Con y sin sonicación
Henry	$q = K_H C$		0.8874 0.8599
Langmuir	$q = \frac{K_L q_m C}{1 + K_L C}$	$\frac{1}{q} = \frac{1}{q_m} + \frac{1}{q_m K_L C}$	0.7772 0.9513
Freundlich	$q = K_F C^{1/n}$	$\log q = \log K_F + \frac{1}{n} \log C$	0.9431 0.9875
Tempkin	$q = \frac{RT}{b_T} \ln A_T C$	$q = \frac{RT}{b_T} \ln A_T + \frac{RT}{b_T} \ln C$	0.7241 0.6599
Florey-Huggins	$\frac{\theta}{C_o} = K_{FH} (1 - \theta)^{n_{FH}}$	$\log \frac{\theta}{C_o} = \log K_{FH} + n_{FH} \log (1 - \theta)$	0.5346 0.5345
Hill	$q = \frac{q_{SH} C^n}{K_D + C^n}$	$\log \frac{q}{q_{SH} - q} = n_H \log C - \log K_D$	0.9395 0.9687
Simps	$q = \frac{K_S C^\beta}{1 + a_S C^\beta}$	$\beta \ln C = -\ln \left( \frac{K_S}{q_e} \right) + \ln a_S$	0.9247 0.9686
Koble Carrigan	$q = \frac{AC^n}{1 + BC^n}$	$\frac{1}{q} = \frac{1}{AC^n} + \frac{B}{A}$	0.8857 0.9177
BET	$q_e = \frac{q_s C_B C}{1 + C(C_B - 2) - C^2(C_B - 1)}$	$\frac{C}{q(C_S - C_e)} = \frac{1}{q_s C_B} + \frac{C_B - 1}{q_s C_B} \left( \frac{C}{C_S} \right)$	0.9418 0.8975

Tabla 23. Modelos de ajuste de las isotermas de adsorción. <sup>157</sup>

## Anexo 11. Modelos de ajuste para perfiles de liberación.

Modelo de liberación	Expresión
Orden cero	$F = k_0 t$
Orden cero con T <sub>lag</sub>	$F = k_0 (t - T_{lag})$
Orden cero con F <sub>o</sub>	$F = F_0 + k_0 t$
Primer orden	$F = 100(1 - e^{k_1 t})$
Primer orden con T <sub>lag</sub>	$F = 100(1 - e^{k_1 (t - T_{lag})})$
Primer orden con F <sub>max</sub>	$F = F_{max}(1 - e^{k_1 t})$
Primer orden con T <sub>lag</sub> y F <sub>max</sub>	$F = F_{max}(1 - e^{k_1 (t - T_{lag})})$
Higuchi	$F = k_H t^{0.5}$
Higuchi con T <sub>lag</sub>	$F = k_H (t - T_{lag})^{0.5}$
Higuchi con F <sub>o</sub>	$F = F_0 + k_H t^{0.5}$

Korsmeyer-Peppas	$F = k_{KP}t^n$
Korsmeyer-Peppas con $T_{lag}$	$F = k_{KP}(t - T_{lag})^n$
Korsmeyer-Peppas con $F_0$	$F = F_0 + k_{KP}t^n$
Hixon-Crowell	$F = 100(1 - (1 - k_{HC}t)^3)$
Hixon Crowel con $T_{lag}$	$F = 100(1 - (1 - k_{HC}(t - T_{lag}))^3)$
Hopfenberg	$F = 100(1 - (1 - k_{HB}t)^n)$
Hopfenberg con $T_{lag}$	$F = 100(1 - (1 - k_{HB}(t - T_{lag}))^n)$
Baker-Lonsdale	$\frac{3}{2} \left( 1 - \left( 1 - \frac{F}{100} \right)^{\frac{2}{3}} \right) - \frac{F}{100} = k_{BL}t$
Baker-Lonsdale con $T_{lag}$	$\frac{3}{2} \left( 1 - \left( 1 - \frac{F}{100} \right)^{\frac{2}{3}} \right) - \frac{F}{100} = k_{BL}(t - T_{lag})$
Makoid-Banakar	$F = k_{MB}t^n e^{-kt}$
Makoid-Banakar con $T_{lag}$	$F = k_{MB}(t - T_{lag})^n e^{-k(t - T_{lag})}$
Peppas-Sahlin 1	$F = k_1 t^m + k_2 t^{2m}$
Peppas-Sahlin 1 con $T_{lag}$	$F = k_1 (t - T_{lag})^m + k_2 (t - T_{lag})^{2m}$ $F = \frac{1}{1 + \frac{k_2 t^m}{k_1}} \quad R = \frac{F k_2 t^m}{k_1}$
Peppas-Sahlin 2	$F = k_1 t^{0.5} + k_2 t$
Peppas-Sahlin 2 con $T_{lag}$	$F = k_1 t^{0.5} + k_2 t$

Tabla 24. Modelos de ajuste para la liberación. <sup>119,158</sup>

## Anexo 12. Predominancia de los mecanismos difusivos y de relajación sobre la liberación.

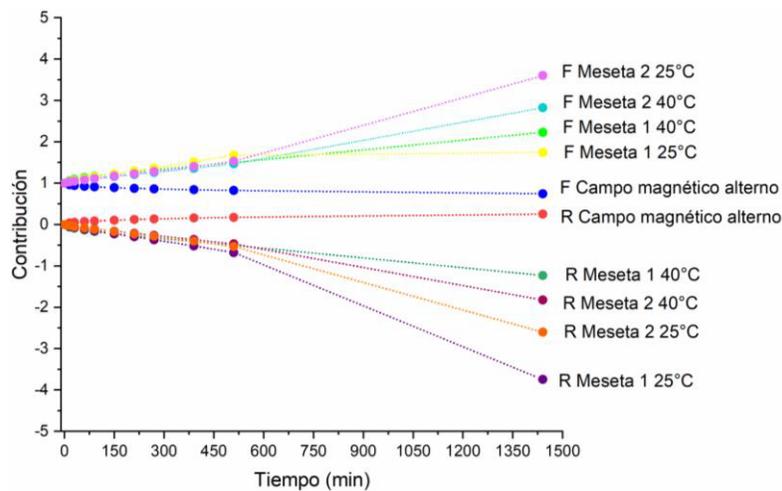


Figura 66. Predominancia de los mecanismos de liberación en el modelo Peppas Sahlin con  $T_{lag}$ .

## 12.0 Bibliografía.

- (1) Rowland, M.; Noe, C. R.; Smith, D. A.; Tucker, G. T.; Crommelin, D. J.; Peck, C. C.; Rocci Jr, M. L.; Besançon, L.; Shah, V. P. *Journal of pharmaceutical sciences* **2012**, *101*, 4075.
- (2) Ghosh, T. K.; Jasti, B. R. In *Theory and practice of contemporary pharmaceuticals*; Jasti, B. R., Ed.; CRC press.: 2004, p 333.
- (3) de la Federación, D. O.
- (4) Chien, Y. *Novel drug delivery systems*; CRC Press, 1991.
- (5) Remington, J. P. *Remington: the science and practice of pharmacy*; Lippincott Williams & Wilkins, 2006; Vol. 1.
- (6) Bhowmik, D.; Gopinath, H.; Kumar, B. P.; Duraivel, S.; Kumar, K. S. *The Pharma Innovation* **2012**, *1(10, Part A)*, 24.
- (7) Adams, G. P.; Weiner, L. M. *Nature biotechnology* **2005**, *23*, 1147.
- (8) Siegel, R. A. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society* **2014**, *190*, 337.
- (9) Soppimath, K. S.; Aminabhavi, T. M.; Dave, A. M.; Kumbar, S. G.; Rudzinski, W. *Drug development and industrial pharmacy* **2002**, *28*, 957.
- (10) Mura, S.; Nicolas, J.; Couvreur, P. *Nature materials* **2013**, *12*, 991.
- (11) El Azim, H. A. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* **2017**, *37*, 46.
- (12) Guduru, R.; Liang, P.; Runowicz, C.; Nair, M.; Atluri, V.; Khizroev, S. *Scientific reports* **2013**, *3*, 2953.
- (13) Rodzinski, A.; Guduru, R.; Liang, P.; Hadjikhani, A.; Stewart, T.; Stimpfil, E.; Runowicz, C.; Cote, R.; Altman, N.; Datar, R.; Khizroev, S. *Sci Rep* **2016**, *6*, 20867.
- (14) Stewart, T. S.; Nagesetti, A.; Guduru, R.; Liang, P.; Stimpfil, E.; Hadjikhani, A.; Salgueiro, L.; Horstmyer, J.; Cai, R.; Schally, A. *Nanomedicine* **2018**, *13*, 423.
- (15) Nair, M.; Guduru, R.; Liang, P.; Hong, J.; Sagar, V.; Khizroev, S. *Nature communications* **2013**, *4*, 1707.
- (16) Kaushik, A.; Jayant, R. D.; Nikkhah-Moshaie, R.; Bhardwaj, V.; Roy, U.; Huang, Z.; Ruiz, A.; Yndart, A.; Atluri, V.; El-Hage, N.; Khalili, K.; Nair, M. *Scientific reports* **2016**, *6*, 25309.
- (17) Guduru, R.; Liang, P.; Hong, J.; Rodzinski, A.; Hadjikhani, A.; Horstmyer, J.; Levister, E.; Khizroev, S. *Nanomedicine* **2015**, *10*, 2051.
- (18) Nagesetti, A.; Rodzinski, A.; Stimpfil, E.; Stewart, T.; Khanal, C.; Wang, P.; Guduru, R.; Liang, P.; AgoulNIK, I.; Horstmyer, J.; Khizroev, S. *Scientific reports* **2017**, *7*, 1610.
- (19) Stimpfil, E.; Nagesetti, A.; Guduru, R.; Stewart, T.; Rodzinski, A.; Liang, P.; Khizroev, S. *Applied Physics Reviews* **2017**, *4*, 021101.
- (20) Goni, F. M. *Biochimica et biophysica acta* **2014**, *1838*, 1467.
- (21) Kulbacka, J.; Satkauskas, S. *Transport Across Natural and Modified Biological Membranes and Its Implications in Physiology and Therapy*; Springer, 2017; Vol. 227.
- (22) Gouaux, E., & MacKinnon, R. *Science* **2005**, *310*, 1461.
- (23) Fox, S. I. In *Fisiologia humana (14a)*; McGraw Hill Mexico: 2014.
- (24) Yang, M.; Brackenbury, W. J. *Frontiers in physiology* **2013**, *4*, 185.
- (25) Qiao, G.; Duan, W.; Chatwin, C.; Sinclair, A.; Wang, W. *Journal of Physics: Conference Series* **2010**, *224*, 012081.
- (26) Kim, C. Y.; Sekino, T.; Niihara, K. *Journal of the American Ceramic Society* **2003**, *86*, 1464.
- (27) Casciola, M.; Tarek, M. *Biochimica et biophysica acta* **2016**, *1858*, 2278.
- (28) Hochella Jr, M. F. *Elements* **2008**, *4*, 373.
- (29) Mueller, N. C.; Nowack, B. *Elements* **2010**, *6*, 395.
- (30) Purev, E. *Chemical Sciences Journal* **2016**, *07*.

- (31) Hulla, J. E.; Sahu, S. C.; Hayes, A. W. *Human & experimental toxicology* **2015**, *34*, 1318.
- (32) Singh, S. B., & Tandon, P. K. *J Energy Chem Eng* **2014**, *2*(3), 106.
- (33) Altavilla, C.; Ciliberto, E. *Inorganic nanoparticles: synthesis, applications, and perspectives. An overview*; CRC Press: New York, 2011; Vol. 1.
- (34) Giorgi, R.; Dei, L.; Ceccato, M.; Schettino, C.; Baglioni, P. *Langmuir* **2002**, *18*, 8198.
- (35) Ghosh, T. K.; Jasti, B. R. *Theory and practice of contemporary pharmaceuticals*; CRC press, 2004.
- (36) Cho, K.; Wang, X.; Nie, S.; Chen, Z. G.; Shin, D. M. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* **2008**, *14*, 1310.
- (37) Ghosh Chaudhuri, R.; Paria, S. *Chemical reviews* **2012**, *112*, 2373.
- (38) Weissig, V.; Guzman-Villanueva, D. *International journal of nanomedicine* **2015**, *10*, 1245.
- (39) Weissig, V.; Pettinger, T. K.; Murdock, N. *International journal of nanomedicine* **2014**, *9*, 4357.
- (40) Ferguson, C. **2006**.
- (41) Bensaude-Vincent, B. *Historical Studies in the Physical and Biological Sciences* **2001**, *31*(2), 223.
- (42) Elliott, J.; Hancock, B. *MRS bulletin* **2006**, *31*, 869.
- (43) Spaldin, N. *ScienceNordic* **2018**.
- (44) Hummel, R. E. *Understanding materials science: history, properties, applications*; Springer Science & Business Media, 2004.
- (45) Siegel, R. W., & Fougere, G. E. *Nanostructured Materials* **1995**, *6*(1-4), 205.
- (46) Chevalier, J.; Gremillard, L. *Journal of the European Ceramic Society* **2009**, *29*, 1245.
- (47) Mathur, A. M.; Moorjani, S. K.; Scranton, A. B. *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews* **1996**, *36*, 405.
- (48) James, H. P.; John, R.; Alex, A.; Anoop, K. *Acta Pharmaceutica Sinica B* **2014**, *4*, 120.
- (49) Qiu, Y.; Park, K. *Advanced drug delivery reviews* **2001**, *53*, 321.
- (50) Gandhi, A.; Paul, A.; Sen, S. O.; Sen, K. K. *asian journal of pharmaceutical sciences* **2015**, *10*, 99.
- (51) Holehouse, A. S.; Pappu, R. V. *Nat Mater* **2015**, *14*, 1083.
- (52) Amsden, B. *Macromolecules* **1998**, *31*, 8382.
- (53) Roy, D.; Brooks, W. L.; Sumerlin, B. S. *Chemical Society Reviews* **2013**, *42*, 7214.
- (54) Englert, C.; Brendel, J. C.; Majdanski, T. C.; Yildirim, T.; Schubert, S.; Gottschaldt, M.; Windhab, N.; Schubert, U. S. *Progress in Polymer Science* **2018**, *87*, 107.
- (55) Spaldin, N. A. *MRS bulletin* **2017**, *42*, 385.
- (56) Algueró, M.; Gregg, J. M.; Mitoseriu, L. *Nanoscale Ferroelectrics and Multiferroics: Key Processing and Characterization Issues, and Nanoscale Effects, 2 Volumes*; John Wiley & Sons, 2016; Vol. 2.
- (57) Nan, C.-W.; Bichurin, M.; Dong, S.; Viehland, D.; Srinivasan, G. *Journal of applied physics* **2008**, *103*, 1.
- (58) Eerenstein, W.; Mathur, N.; Scott, J. F. *nature* **2006**, *442*, 759.
- (59) Safi, R.; Shokrollahi, H. *Progress in Solid State Chemistry* **2012**, *40*, 6.
- (60) Ivicheva, S. N.; Kargin, Y. F.; Kutsev, S. V.; Ashmarin, A. A. *Russian Journal of Inorganic Chemistry* **2015**, *60*, 1317.

- (61) Yang, Y.; Ouyang, R.; Xu, L.; Guo, N.; Li, W.; Feng, K.; Ouyang, L.; Yang, Z.; Zhou, S.; Miao, Y. *Journal of Coordination Chemistry* **2015**, *68*, 379.
- (62) Snedden, A.; Lightfoot, P.; Dinges, T.; Islam, M. S. *Journal of Solid State Chemistry* **2004**, *177*, 3660.
- (63) Kwei, G. H., Lawson, A. C., Billinge, S. J. L., & Cheong, S. W. *The Journal of Physical Chemistry* **1993**, *97(10)*, 2368.
- (64) Slater, J. C. *Physical Review* **1950**, *78*, 748.
- (65) Liu, X.; Chu, P.; Ding, C. *Materials Science and Engineering: R: Reports* **2004**, *47*, 49.
- (66) Gultepe, E.; Nagesha, D.; Sridhar, S.; Amiji, M. *Advanced drug delivery reviews* **2010**, *62*, 305.
- (67) Fedje, K. S., NTNU, 2017.
- (68) Ciofani, G.; Danti, S.; D'Alessandro, D.; Moscato, S.; Petrini, M.; Menciasci, A. *Nanoscale research letters* **2010**, *5*, 1093.
- (69) Wang, J. *Multiferroic materials: properties, techniques, and applications*; CRC Press, 2016.
- (70) Khan, U. S.; Khattak, N. S.; Rahman, A.; Khan, F. *Journal of The Chemical Society Of Pakistan* **2011**, *33*, 793.
- (71) Bragg, W. *Nature* **1915**, *95*, 561.
- (72) Huheey, J. E.; Keiter, E. A.; Keiter, R. L.; Medhi, O. K. *Inorganic chemistry: principles of structure and reactivity*; Pearson Education India, 2006.
- (73) Holland, N. *Handbook of Magnetic Materials*, 1982.
- (74) Kolhatkar, A. G.; Jamison, A. C.; Litvinov, D.; Willson, R. C.; Lee, T. R. *International journal of molecular sciences* **2013**, *14*, 15977.
- (75) Amiri, S.; Shokrollahi, H. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications* **2013**, *33*, 1.
- (76) Soleimani, H.; Ahmad Latiff, N. R.; Zaid, H. M.; Yahya, N.; Sadrolhosseini, A. R.; Adil, M. *Journal of Physics: Conference Series* **2018**, *1123*, 012017.
- (77) Patra, J. K.; Das, G.; Fraceto, L. F.; Campos, E. V. R.; Rodriguez-Torres, M. D. P.; Acosta-Torres, L. S.; Diaz-Torres, L. A.; Grillo, R.; Swamy, M. K.; Sharma, S.; Habtemariam, S.; Shin, H. S. *Journal of nanobiotechnology* **2018**, *16*, 71.
- (78) Goetsch, A. T.; Moore, C. V.; Minnich, V. *Blood* **1946**, *1*, 129.
- (79) Pai, A. B. *Annals of the New York Academy of Sciences* **2017**, *1407*, 17.
- (80) Simonsen, L. O.; Harbak, H.; Bennekou, P. *The Science of the total environment* **2012**, *432*, 210.
- (81) Rissanen, I.; Laurson, L. *Journal of Physics D: Applied Physics* **2019**, *52*, 445002.
- (82) Abenojar, E. C.; Wickramasinghe, S.; Bas-Concepcion, J.; Samia, A. C. S. *Progress in Natural Science: Materials International* **2016**, *26*, 440.
- (83) Banobre-Lopez, M.; Teijeiro, A.; Rivas, J. *Reports of practical oncology and radiotherapy : journal of Greatpoland Cancer Center in Poznan and Polish Society of Radiation Oncology* **2013**, *18*, 397.
- (84) Hernández-Luis, F.; Centeno-Llano, S.; Bravo-Gómez, M. E.; Castañeda-López, P.; Mouret-Hernández, C.; Facultad de Química, UNAM: 2014, p 33.
- (85) Luo, J.; Solimini, N. L.; Elledge, S. J. *Cell* **2009**, *136*, 823.
- (86) Hanahan, D.; Weinberg, R. A. *Cell* **2011**, *144*, 646.
- (87) Danhier, F.; Feron, O.; Preat, V. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society* **2010**, *148*, 135.
- (88) Salehi, R.; Rasouli, S.; Hamishehkar, H. *International journal of pharmaceuticals* **2015**, *487*, 274.

- (89) Wike-Hooley, J.; Haveman, J.; Reinhold, H. *Radiotherapy and Oncology* **1984**, *2*, 343.
- (90) Tredan, O.; Galmarini, C. M.; Patel, K.; Tannock, I. F. *Journal of the National Cancer Institute* **2007**, *99*, 1441.
- (91) Espinosa, E.; Zamora, P.; Feliu, J.; González Barón, M. *Cancer Treatment Reviews* **2003**, *29*, 515.
- (92) Goodman, L. S. *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*; McGraw-Hill New York, 1996; Vol. 1549.
- (93) Tian, H., & Cronstein, B. N. *Bull NYU Hosp Jt Dis* **2007**.
- (94) Hagner, N.; Joerger, M. *Cancer management and research* **2010**, *2*, 293.
- (95) Singka, G. S.; Samah, N. A.; Zulfakar, M. H.; Yurdasiper, A.; Heard, C. M. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V* **2010**, *76*, 275.
- (96) Sudimack, J.; Lee, R. J. *Advanced drug delivery reviews* **2000**, *41*, 147.
- (97) Gaies, E.; Jebabli, N.; Trabelsi, S.; Salouage, I.; Charfi, R.; Lakhali, M.; Klouz, A. *J Drug Metab Toxicol* **2012**, *3*, 1.
- (98) Meriño, M.; Briones, L.; Palma, V.; Herlitz, K.; Escudero, C. *Endocrinología, Diabetes y Nutrición* **2017**, *64*, 317.
- (99) Davis, R. L.; Zhong, Y. *Neuron* **2017**, *95*, 490.
- (100) Cagan, R.; Meyer, P. *Disease models & mechanisms* **2017**, *10*, 349.
- (101) Magee, J. A.; Piskounova, E.; Morrison, S. J. *Cancer cell* **2012**, *21*, 283.
- (102) Khashan, S.; Dagher, S.; Tit, N.; Alazzam, A.; Obaidat, I. *Surface and Coatings Technology* **2017**, *322*, 92.
- (103) Lopez, J.; Espinoza-Beltran, F.; Zambrano, G.; Gómez, M.; Prieto, P. *Revista mexicana de física* **2012**, *58*, 293.
- (104) Corral-Flores, V.; Bueno-Baqués, D.; Ziolo, R. F. *Acta Materialia* **2010**, *58*, 764.
- (105) Purushotham, S.; Chang, P.; Rumpel, H.; Kee, I.; Ng, R.; Chow, P.; Tan, C.; Ramanujan, R. *Nanotechnology* **2009**, *20*, 305101.
- (106) Gandarilla, F. C.; Moreno, G. C.; Avilés, M. O. *Sociedad Mexicana de Cristalografía*. **2005**.
- (107) Avilés, L. S., Universidad Nacional de Ingeniería, 2010.
- (108) Kumar, A.; Yusuf, S. M. *Physics Reports* **2015**, *556*, 1.
- (109) Bain, G. A.; Berry, J. F. *Journal of Chemical Education* **2008**, *85*, 532.
- (110) Figueroa, P. A., Universidad Nacional Autónoma de México, 2017.
- (111) Zeta, P. *Zeta-Meter Inc.* **1997**.
- (112) Coates, J. *Encyclopedia of analytical chemistry: applications, theory and instrumentation* **2006**.
- (113) Mohamed, R. M.; Rashad, M. M.; Haraz, F. A.; Sigmund, W. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **2010**, *322*, 2058.
- (114) Mürbe, J.; Rechtenbach, A.; Töpfer, J. *Materials Chemistry and Physics* **2008**, *110*, 426.
- (115) FEUM; Secretaria de salud México: 2007.
- (116) Schild, H. G.; Tirrell, D. A. *Journal of Physical Chemistry* **1990**, *94(10)*, 4352.
- (117) Qiu, H.; Lv, L.; Pan, B.-c.; Zhang, Q.-j.; Zhang, W.-m.; Zhang, Q.-x. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE A* **2009**, *10*, 716.
- (118) Bonilla-Petriciolet, A.; Mendoza-Castillo, D. I.; Reynel-Ávila, H. E. *Adsorption processes for water treatment and purification.*; Berlin: Springer International Publishing., 2017.

- (119) Bruschi, M. L. In *Strategies to modify the drug release from pharmaceutical systems*; Publishing, W., Ed. 2015, p 63.
- (120) Daniel, W. W.; Hernández, F. L. *Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud*; Limusa México, 2002.
- (121) Li, Q.; Kartikowati, C. W.; Horie, S.; Ogi, T.; Iwaki, T.; Okuyama, K. *Scientific reports* **2017**, *7*, 9894.
- (122) Yuliantika, D.; Taufiq, A.; Hidayat, A.; Sunaryono; Hidayat, N.; Soontaranon, S. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* **2019**, *515*, 012047.
- (123) Barbosa, P. F.; Lagoeiro, L.; Scholz, R.; Graça, L. M.; Mohallem, N. *Mineralogy and Petrology* **2015**, *109*, 329.
- (124) Zhao, J.; Brugger, J.; Pring, A. *Geoscience Frontiers* **2019**, *10*, 29.
- (125) Andrés-Vergés, M.; del Puerto Morales, M.; Veintemillas-Verdaguer, S.; Palomares, F. J.; Serna, C. J. *Chemistry of Materials* **2012**, *24*, 319.
- (126) Huang, Y. H.; Zhang, T. C.; Shea, P. J.; Comfort, S. D. *Journal of Environmental Quality* **2003**, *32*, 1306.
- (127) Lenders, J. J.; Mirabello, G.; Sommerdijk, N. A. *Chemical science* **2016**, *7*, 5624.
- (128) Clegg, W. *X-Ray Crystallography*; Second Edition ed.; Oxford Press University: United Kingdom, 2015.
- (129) Vijatovic, M. M.; Bobic, J. D.; Stojanovic, B. D. *Science of Sintering* **2008**, *40*, 235.
- (130) Vijatović, M. M.; Stojanović, B. D.; Bobić, J. D.; Ramoska, T.; Bowen, P. *Ceramics International* **2010**, *36*, 1817.
- (131) Yang, H. G.; Zeng, H. C. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 270.
- (132) Rabanel, J. M.; Adibnia, V.; Tehrani, S. F.; Sanche, S.; Hildgen, P.; Banquy, X.; Ramassamy, C. *Nanoscale* **2019**, *11*, 383.
- (133) Langford, J. I.; Wilson, A. J. C. *Journal of applied crystallography* **1978**, *11*(2).
- (134) Ederer, C.; Spaldin, N. A. *Physical Review B* **2005**, *71*.
- (135) Kumar, R.; Kar, M. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **2016**, *413*, 335.
- (136) Dennis, C. L.; Ivkov, R. *International journal of hyperthermia : the official journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group* **2013**, *29*, 715.
- (137) Neuberger, T.; Schöpf, B.; Hofmann, H.; Hofmann, M.; von Rechenberg, B. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **2005**, *293*, 483.
- (138) Safi, R.; Ghasemi, A.; Shoja-Razavi, R.; Tavousi, M. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **2015**, *396*, 288.
- (139) Eisenmenger, J.; Schuller, I. K. *Nature materials* **2003**, *2*, 437.
- (140) Sechovský, V. **2001**.
- (141) Tauxe, L.; Mullender, T.; Pick, T. *Journal of Geophysical Research: Solid Earth* **1996**, *101*, 571.
- (142) Magno de Lima Alves, T.; Amorim, B. F.; Morales Torres, M. A.; Bezerra, C. G.; Nóbrega de Medeiros, S.; Gastelois, P. L.; Fernandez Outon, L. E.; Augusto de Almeida Macedo, W. *RSC Advances* **2017**, *7*, 22187.
- (143) Roberts, A. P.; Cui, Y.; Verosub, K. L. *Journal of Geophysical Research: Solid Earth* **1995**, *100*, 17909.
- (144) Özdemir, Ö.; Dunlop, D. J.; Berquó, T. S. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems* **2008**, *9*, n/a.
- (145) Pastor, J.; Pérez-Landazábal, J.; Gómez-Polo, C.; Recarte, V.; Larumbe, S.; Santamarta, R.; Fernandes Silva, M.; Gómez Pineda, E.; Winkler Hechenleitner, A.; Lima, M. *Applied Physics Letters* **2012**, *100*, 063102.

- (146) Pinol, R.; Brites, C. D.; Bustamante, R.; Martínez, A.; Silva, N. J.; Murillo, J. L.; Palacio, F. *ACS nano* **2015**, *9*, 3134.
- (147) Mohapatra, J.; Xing, M.; Liu, J. P. *Materials (Basel)* **2019**, *12*.
- (148) Brites, C. D.; Lima, P. P.; Silva, N. J.; Millán, A.; Amaral, V. S.; Palacio, F.; Carlos, L. D. *Nanoscale* **2012**, *4*, 4799.
- (149) Chang, D.; Lim, M.; Goos, J.; Qiao, R.; Ng, Y. Y.; Mansfeld, F. M.; Jackson, M.; Davis, T. P.; Kavallaris, M. *Frontiers in pharmacology* **2018**, *9*, 831.
- (150) Purushotham, S.; Ramanujan, R. *Acta biomaterialia* **2010**, *6*, 502.
- (151) Ashiri, R. *Vibrational Spectroscopy* **2013**, *66*, 24.
- (152) Arunan, E.; Desiraju, G. R.; Klein, R. A.; Sadlej, J.; Scheiner, S.; Alkorta, I.; Clary, D. C.; Crabtree, R. H.; Dannenberg, J. J.; Hobza, P. *Pure and Applied Chemistry* **2011**, *83*, 1619.
- (153) Koningsberger, D. C.; Ramaker, D. E. In *Handbook of Heterogeneous Catalysis: Online* 2008, p 774.
- (154) Honary, S.; Zahir, F. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* **2013**, *12*, 265.
- (155) Nandhakumar, S.; Dhanaraju, M. D.; Sundar, V. D.; Heera, B. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University* **2017**, *55*, 249.
- (156) Giles, C.; MacEwan, T.; Nakhwa, S.; Smith, D. *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1960**, 3973.
- (157) Foo, K. Y.; Hameed, B. H. *Chemical engineering journal* **2010**, *156*, 2.
- (158) Zhang, Y.; Huo, M.; Zhou, J.; Zou, A.; Li, W.; Yao, C.; Xie, S. *The AAPS journal* **2010**, *12*, 263.
- (159) Peppas, N. A.; Bures, P.; Leobandung, W. S.; Ichikawa, H. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics* **2000**, *50*, 27.
- (160) Mørup, S.; Hansen, M. F.; Frandsen, C. *Beilstein journal of nanotechnology* **2010**, *1*, 182.
- (161) Food; Administration, D.
- (162) Liu, C.; Ma, J.; Chen, H. *RSC advances* **2012**, 1009.
- (163) Lee, D. C.; Mikulec, F. V.; Pelaez, J. M.; Koo, B.; Korgel, B. A. *The Journal of Physical Chemistry B* **2006**, *110*, 11160.
- (164) Knobel, M.; Socolovsky, L.; Vargas, J. *Revista mexicana de física* **2004**, *50*, 8.
- (165) Tadyszak, K.; Kertmen, A.; Coy, E.; Andruszkiewicz, R.; Milewski, S.; Kardava, I.; Scheibe, B.; Jurga, S.; Chybczyńska, K. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **2017**, *433*, 254.
- (166) Schild, H. G. *Progress in polymer science* **1992**, *17*, 163.
- (167) Vol. 2020, p PubChem Identifier: CID 126941.