

UNIVERSIDAD DE SONORA

División de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Física

Posgrado en Nanotecnología

Tesis

**Nanoplataformas multifuncionales y su potencial
aplicación en la Ingeniería Biomédica**

Que para obtener el grado de:

Doctor en Nanotecnología

Presenta:

Pedro Amado Hernández Abril

Teniendo como Director a:

Dr. Reynaldo Esquivel González

Hermosillo, Sonora

Septiembre 2020

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

Dedicatoria

A Pedro Hernández y Juana Abril, mis Padres.

Sin ustedes nada, con ustedes todo mi amor.

Agradecimientos

El simple hecho de escribir los agradecimientos me hace sentir agradecido con la vida, no bastan las palabras para agradecer a todos los que hicieron posible culminar esta meta, pero comencare desde el inicio: gracias, madre y padre.

Tengo la fortuna de tener una familia que creyó en mí, gracias a todos: Mireida, Oscar e Iris. Gracias por su apoyo.

Gracias a mis amigos que nunca dudaron que podría lograrlo, soy muy afortunado por tenerlos en esta vida. Mario, Francisco y Gaspar.

Gracias Denisse por tus consejos y Raúl por apoyarme a culminar esta meta, soy consciente que realizaron mas que su trabajo, siempre estaré agradecido.

Agradezco al posgrado en Nanotecnología y al CONACYT por apoyar el futuro de quienes deseamos recorrer el camino de la ciencia. Sin su apoyo la realidad fuera otra.

Agradezco a mi amada esposa Nadia por tu ayuda incondicional. Tuve la fortuna de conocerte en el posgrado. Eres lo más valioso que obtuve de la Universidad. Te amo.

VOTOS APROBATORIOS

DR. MARIO ENRIQUE ÁLVAREZ RAMOS
Coordinador de Posgrado en Nanotecnología

Por medio de la presente, nos permitimos informarle que los miembros del Jurado designado para revisar la Tesis de Doctorado: "**Nanoplataformas multifuncionales y su potencial aplicación en la Ingeniería Biomédica**", presentada por:

Pedro Amado Hernández Abril

La han revisado y cada uno de los integrantes da su **VOTO APROBATORIO** ya que cumple con los requisitos para la obtención del Título de Doctorado en Nanotecnología:

DR. Lucero Acuña Jesús Armando

DR. Sánchez Zeferino Raúl

DRA. Alvarado Rivera Josefina

DR. Esquivel González Reynaldo

DR. Chapa González Christian
(EXTERNO)

Índice

AGRADECIMIENTOS	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
ÍNDICE	I
LISTA DE FIGURAS	III
LISTAS DE TABLAS	V
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. CÁNCER EN LA ACTUALIDAD	3
1.2. NANOCIENCIA Y NANOTECNOLOGÍA	4
1.2.1. Método “de arriba abajo”	6
1.2.2. Método “de abajo arriba”	7
1.3. NANOMATERIALES	8
1.3.1. Nanomateriales inorgánicos	9
1.3.1. Nanomateriales biológicos	10
1.3.2. Nanomateriales orgánicos basados en carbono	11
1.3.3. Nanomateriales poliméricos	11
1.3.4. Nanomateriales inteligentes	12
1.4. NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA	14
1.4.1. Propiedades magnéticas	15
1.4.2. Superparamagnetismo	15
1.4.3. Síntesis de NPs magnéticas	17
1.4.4. Aplicaciones de NPsFe ₃ O ₄ en la medicina	19
1.5. PNIPAM	20
1.5.1. Termodinámica de la LCST	22
1.5.2. Modificación de la LCST	23
1.5.3. Sistema PNIPAM-Quitosano	23
1.5.4. PNIPAM nanoporoso	24
1.5.5. Nanopartículas de PNIPAM (NPsPNIPAM)	26
1.5.6. Método de síntesis	27
1.6. MOTIVACIÓN	27
1.7. HIPÓTESIS	29
1.8. OBJETIVOS	30

1.8.1.	<i>Objetivo General</i>	30
1.8.2.	<i>Objetivos Particulares</i>	30
2.	MATERIALES Y MÉTODOS	31
2.1.	MATERIALES.....	31
2.2.	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	31
2.2.1.	<i>Modificación del quitosano con fluoresceína (QsF)</i>	31
2.2.2.	<i>Síntesis de hidrogeles</i>	32
2.2.3.	<i>Síntesis de NPsFe₃O₄</i>	32
2.2.4.	<i>Polimerización in situ NIPAM en NPsFe₃O₄(Fe₃O₄@PNIPAM)</i>	33
2.3.	CARACTERIZACIONES FISCOQUÍMICAS	34
2.3.1.	<i>Calorimetría diferencial de barrido</i>	34
2.3.2.	<i>Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)</i>	34
2.3.3.	<i>Caracterización óptica</i>	35
2.3.4.	<i>Estudio de cinética de carga y efecto del pH</i>	35
2.3.5.	<i>Modelado matemático de los hidrogeles</i>	36
2.3.6.	<i>Caracterización morfológica de los hidrogeles</i>	37
2.3.7.	<i>Caracterización morfológica de las nanoplataformas</i>	38
2.3.8.	<i>DLS y Potencial ζ</i>	38
2.3.9.	<i>UV-Vis</i>	39
2.3.10.	<i>Pruebas magnéticas</i>	39
2.3.11.	<i>Difracción de rayos X</i>	39
2.3.12.	<i>Ensayos de citotoxicidad</i>	40
	RESULTADOS Y DISCUSIONES	41
2.4.	HIDROGEL NANOPOROSO CON POTENCIAL APLICACIÓN BIOMÉDICA.....	41
2.4.1.	<i>Caracterización estructural de las plataformas de PNIPAM-Qs por FT-IR</i>	41
2.4.2.	<i>Fotoluminiscencia de hidrogel</i>	43
2.4.3.	<i>Estudio cinético del hinchamiento</i>	44
2.4.4.	<i>El efecto del pH en la hinchabilidad del hidrogel</i>	47
2.4.5.	<i>Evaluación de la LCST por DSC</i>	49
2.4.6.	<i>Morfología de los hidrogeles por microscopio electrónico de barrido (SEM)</i>	51
2.5.	NANOPLATAFORMA MAGNETITA@PNIPAM CON POTENCIAL APLICACIÓN BIOLÓGICA	53
2.5.1.	<i>Estructura cristalina y morfología de las NPsFe₃O₄</i>	53
2.5.2.	<i>Polimerización in situ de NIPAM en NPsFe₃O₄(Fe₃O₄@PNIPAM)</i>	55
2.5.3.	<i>Evaluación LCST para Fe₃O₄@PNIPAM</i>	59

2.5.4.	Análisis de la morfología de los sistemas $Fe_3O_4@PNIPAM$	61
2.5.5.	Propiedades magnéticas.....	63
2.5.6.	Ensayos de citotoxicidad de $Fe_3O_4@PNIPAM$	66
3.	CONCLUSIONES	68
3.1.	HIDROGEL NANOPOROSO CON POTENCIAL APLICACIÓN BIOMÉDICA.....	68
3.2.	NANOPLATAFORMA $Fe_3O_4@PNIPAM$ CON POTENCIAL APLICACIÓN BIOLÓGICA.....	68
4.	BIBLIOGRAFÍA	69
5.	PRODUCCIÓN CIENTÍFICA	86
5.1.1.	Artículo 1.....	86
5.1.2.	Artículo 2.....	87
5.1.3.	Proceeding 1.....	88
5.1.4.	Proceeding 2.....	89
5.1.5.	Solicitud de patente.....	90

Lista de figuras

FIGURA 1.	REPRESENTACIÓN DEL MÉTODO “DE ARRIBA ABAJO”.....	7
FIGURA 2.	REPRESENTACIÓN DEL MÉTODO BOTTOM-UP.....	8
FIGURA 3.	NPS Fe_3O_4 ANTES Y DESPUÉS DE INTERACTUAR CON UN CAMPO MAGNÉTICO.....	12
FIGURA 4.	REPRESENTACIÓN DE ESTÍMULOS-RESPUESTA DE LOS MATERIALES INTELIGENTES.....	13
FIGURA 5.	REPRESENTACIÓN DE RESPUESTA A ESTÍMULOS PARA LIBERACIÓN DE DROGAS EN NPS POLIMÉRICAS.....	14
FIGURA 6.	CURVA DE HISTÉRESIS DE MAGNETIZACIÓN.....	15
FIGURA 7.	REPRESENTACIÓN DE LA RELACIÓN ENTRE COERCITIVIDAD Y DIÁMETRO DE PARTÍCULA.....	16
FIGURA 8.	CURVA DE HISTÉRESIS CARACTERÍSTICA DE UN MATERIAL SUPERPARAMAGNÉTICO.....	17
FIGURA 9.	ESTRUCTURA QUÍMICA DEL PNIPAM.....	21
FIGURA 10.	REPRESENTACIÓN DEL COMPORTAMIENTO POR DEBAJO O ENCIMA DE LA LCST DEL PNIPAM.....	22
FIGURA 11.	COMPORTAMIENTO ANTE EL CAMBIO DE TEMPERATURA DE UN HIDROGEL DE PNIPAM.....	25
FIGURA 12.	ESPECTROS FT-IR DE LAS MUESTRAS PNIPAM (A), PC_0 (B), PC_1F (C), PC_2F (D) Y PC_3F (E), CH NATIVO (F) Y QSF (G).....	42
FIGURA 13.	ESPECTROS DE FLUORESCENCIA DE LAS MUESTRAS PC_1F , PC_2F Y PC_3F	43
FIGURA 14.	HINCHAMIENTO DE LAS MUESTRAS PC_0 (◆), PC_1F (■), PC_2F (▲) Y PC_3F (●).....	45

FIGURA 15. PERFILES DE HINCHAMIENTO EXPERIMENTALES Y TEÓRICOS PARA LOS DIFERENTES POLÍMEROS ANALIZADOS. (A) PC ₀ (◆), (B) PC ₁ F (■), (C) PC ₂ F (▲) Y (D) PC ₃ F (●). EN TODOS LOS ANÁLISIS, LA LÍNEA DE TRAZOS Y LA LÍNEA CONTINUA REPRESENTAN EL AJUSTE A LOS DATOS EXPERIMENTALES DEL MODELO 1 Y EL MODELO 2, RESPECTIVAMENTE.	46
FIGURA 16. VALORES DE PESO A DIFERENTES PH PARA MUESTRAS PC ₀ (Δ), PC ₁ F (▲), PC ₂ F (●) Y PC ₃ F (■).	48
FIGURA 17. DIAGRAMAS DE DSC DE LAS MUESTRAS PC ₀ , PC ₁ F, PC ₂ F Y PC ₃ F.	51
FIGURA 18. MICROGRAFÍAS DE SEM CORRESPONDIENTES A LAS MUESTRAS PC ₀ (A), PC ₁ F (B), PC ₂ F (CON INSERTO A ESCALA DE 1 μM) (C) Y PC ₃ F (D).	52
FIGURA 19. (A) PATRÓN DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE LAS NPSFe ₃ O ₄ Y (B) VALORES 2θ DE LA TARJETA CRISTALOGRÁFICA CORRESPONDIENTE CON Fe ₃ O ₄ (PDF # 75-0033).	54
FIGURA 20. MORFOLOGÍA DE LAS MUESTRAS NPSFe ₃ O ₄ RECUBIERTAS CON ÁCIDO OLEICO POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN.	54
FIGURA 21. (A) DLS Y (B) MEDICIONES DE POTENCIAL Z PARA LAS MUESTRAS NPSFe ₃ O ₄ , WX ₀ , WX ₁ , WX ₂ Y WX ₃ . LAS BARRAS SIMBOLIZAN LOS DIÁMETROS HIDRODINÁMICOS, Y LOS POTENCIALES Z ESTÁN REPRESENTADOS POR PUNTO. EVOLUCIÓN DEL PROMEDIO DE DIÁMETROS HIDRODINÁMICOS EN FUNCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE NPSFe ₃ O ₄	56
FIGURA 22. ESPECTROS FT-IR DE POLVO SECADO AL VACÍO DE (A) NPSFe ₃ O ₄ , (B) WX ₃ , (C) WX ₂ (D) WX ₁ Y (E) WX ₀ . RECOLECTADO SOBRE EL RANGO DE NÚMERO DE ONDA DE 4,000 A 500 CM ⁻¹	57
FIGURA 23. ESPECTROS DE UV-VIS DE LAS MUESTRAS (A) NPSFe ₃ O ₄ , (B) WX ₃ , (C) WX ₂ Y (D) WX ₁ . EFECTO DE CONCENTRACIÓN DE Fe ₃ O ₄ EN SÍNTESIS SOBRE LA ABSORBANCIA.	58
FIGURA 24. UNA CORRELACIÓN ENTRE LAS TEMPERATURAS Y LOS TAMAÑOS DE PARTÍCULA DE LAS MUESTRAS (A) WX ₀ , (B) WX ₁ , (C) WX ₂ Y (D) WX ₃ EN UNA SOLUCIÓN ACUOSA (0.002 P/V%), SEGÚN LO EXAMINADO POR DLS. LOS VALORES DE TEMPERATURA SE REFIEREN A LA TRANSICIÓN DE FASE DE VOLUMEN DURANTE EL CALENTAMIENTO. LA PEQUEÑA GRÁFICA REPRESENTA LA VARIACIÓN EN EL TAMAÑO EN RELACIÓN CON LA TEMPERATURA, EVIDENCIANDO LA LCST.	61
FIGURA 25. EVOLUCIÓN DEL TAMAÑO PROMEDIO EN FUNCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE NPSFe ₃ O ₄ . MICROGRAFÍAS OBTENIDAS POR SEM DE WX ₀ Y STEM PARA MUESTRAS WX ₁ , WX ₂ Y WX ₃ (BARRA DE ESCALA = 100 NM).	63
FIGURA 26. CURVAS MAGNÉTICAS A 300 K DE LAS MUESTRAS (A) NPSFe ₃ O ₄ , (B) WX ₁ , (C) WX ₂ Y (D) WX ₃ . LAS CURVAS DE HISTÉRESIS SE OBTUVIERON CON UN CAMPO MÁXIMO DE 7x10 ⁴ Oe. LAS MUESTRAS SE SECARON AL VACÍO PARA ANALIZARLAS.	64
FIGURA 27. MAGNETIZACIÓN FRENTE A TEMPERATURA MEDIDA A 10 Oe. CURVAS ZFC Y ZC PARA LAS MUESTRAS NPSFe ₃ O ₄ , WX ₁ , WX ₂ Y WX ₃ . LAS MUESTRAS SE SECARON AL VACÍO PARA ANALIZARLAS.	65
FIGURA 28. ENSAYOS MTT PARA MUESTRAS WX ₀ (8x10 ⁹ NPS / ML) Y WX ₂ A DIFERENTES CONCENTRACIONES (1, 2, 4 Y 8x10 ⁹ NPS / ML) PARA MDA-MB-231 Y HeLa. CADA EXPERIMENTO SE MIDió UTILIZANDO SEIS POCILLOS POR CONCENTRACIÓN. LOS RESULTADOS SON LA MEDIA ± DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CUATRO EXPERIMENTOS INDEPENDIENTES. LA VIABILIDAD DEL GRUPO DE TRATAMIENTO SE EXPRESÓ COMO UN PORCENTAJE DEL GRUPO DE CONTROL, QUE SE CONSIDERÓ 100%.	67

Listas de tablas

TABLA 1. DISEÑO EXPERIMENTAL PARA EL SISTEMA PNIPAM-QS.....	41
TABLA 2. PARÁMETROS DE HINCHAMIENTO DE LOS DIFERENTES POLÍMEROS ANALIZADOS. LOS PARÁMETROS FUERON DETERMINADOS Y UTILIZADOS EN EL DESARROLLO MATEMÁTICO DEL MODELO 1 Y EL MODELO 2.	47
TABLA 3. VALORES DE ΔS EN LAS TEMPERATURAS ANTES Y DESPUÉS DE LA TRANSICIÓN (LCST).....	50
TABLA 4. DISEÑO EXPERIMENTAL PARA EL SISTEMA PNIPAM-QS.....	53

Resumen

Las propiedades de los materiales inteligentes permiten el diseño de nanoplataformas funcionales con potencial aplicación biomédica. En este trabajo se presenta un estudio sistemático centrado en la evaluación de las propiedades fisicoquímicas multi-responsivas de dos sistemas basados en poli (N-isopropilacrilamida) (PNIPAM). En el primer sistema (sensible a pH y temperatura) se evaluó el efecto de la relación molar entre PNIPAM:Quitosano (49:1(PC₁F), 99:1(PC₂F) y 198:1(PC₃F)) a través de sus propiedades fisicoquímicas: Conformación estructural por medio de Espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier (FT-IR por sus siglas en inglés), temperatura crítica inferior de la solución (LCST por sus siglas en inglés) por calorimetría diferencial de barrido (DSC por sus siglas en inglés), sensibilidad al cambio de pH usando dos modelos matemáticos, morfología utilizando microscopía electrónica de barrido (SEM por sus siglas en inglés). Basándose en los resultados, las muestras exhiben características deseables para el uso potencial como un hidrogel de activación dual (termo-pH) en la liberación controlada de sustancias hidrofílicas. En el segundo trabajo de investigación realizamos una evaluación sistemática de los parámetros de síntesis de una nanoplataforma (Fe₃O₄@PNIPAM) sensible a temperatura y campo magnético. Se monitoreo el tamaño de partícula y la morfología del nanocompuesto por SEM, la evolución del potencial- ζ , la funcionalización de las nanopartículas (NPs) de Fe₃O₄ mediante las espectroscopias FT-IR y ultravioleta-visible (UV-Vis), la LCST por medio de dispersión dinámica de luz (DLS por sus siglas en inglés), el comportamiento magnético a través de un dispositivo superconductor de interferencia cuántica (SQUID por sus siglas en inglés). La plataforma mostró ser biocompatible en para las líneas celulares HeLa y MDA-MB-231 a concentraciones de 1, 2, 4×10⁹ NPs/ml mediante ensayos MTT. El sistema posee características prometedoras para continuar analizándose en sistemas más apegados al medio fisiológico que permitan un uso potencial en aplicaciones biológicas.

Abstract

The properties of smart materials allow the design of functional nanoplateforms with potential biomedical applications. In this work, we present a systematic study that focuses on the evaluation of the multi-responsive physicochemical properties of two poly (N-isopropylacrylamide) based systems (PNIPAM). In the first system (sensitive to pH and temperature) we evaluated the effect of the molar ratio between PNIPAM : Chitosan (49:1(PC₁F), 99:1(PC₂F) and 198:1(PC₃F)) through its physicochemical properties: Structural conformation by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR), lower critical solution temperature (LCST) by differential scanning calorimetry (DSC), sensitivity to pH change using two mathematical models, morphology using scanning electron microscopy (SEM). Based on the results, the samples exhibit desirable characteristics for potential use as a dual-activated (thermo-pH) hydrogel in the controlled release of hydrophilic substances. In the succeeding research work, we present a systematic evaluation of the synthesis parameters of a temperature and magnetic field sensitive nanoplateform (Fe₃O₄@PNIPAM). We monitored the particle size and morphology by SEM, the evolution of the potential- ζ , the functionalization of Fe₃O₄ nanoparticles (NPs) by FT-IR and ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis), the LCST by dynamic light scattering (DLS), the magnetic behavior by a superconducting quantum interference device (SQUID). We concluded the platform present biocompatible for HeLa and MDA-MB-231 cell lines at concentrations of 1, 2, 4 $\times 10^9$ NPs/ml by MTT assays. The system has promising characteristics for further analysis in systems more similar to the physiological environment that allow potential use in biological applications.

1. Introducción

1.1. Cáncer en la actualidad

El cáncer representa una problemática creciente a nivel mundial ya que es una de las principales diez causas de muerte en el mundo [1]. En México los tumores malignos representan la tercera causa de muerte [2]. En las mujeres el cáncer de mama es el más común; en México en el año 2014 se registraron 11,372 casos nuevos con una tasa de incidencia de 22.56 por 100,000 habitantes mayores de 10 años; siendo Sonora la entidad con mayor mortalidad (28.6) [3]. Por otra parte, el cáncer del cuello uterino es la segunda causa de muerte por cáncer en la mujer, anualmente se estima una ocurrencia de 13,960 casos, con una incidencia de 23.3 casos por 100,000 mujeres en México [4].

En la mayoría de los casos el diagnóstico se da en fases avanzadas de la enfermedad, el cual se trata de diferentes formas dependiendo de la fase en la que se encuentre el cáncer. Para el caso del cáncer no metastático se utiliza terapia local es decir la resección quirúrgica del tumor con la consideración de la radiación postoperatoria; también se utiliza la terapia sistémica es decir la quimioterapia la cual puede ser preoperatoria, postoperatoria o ambas [5].

La resección quirúrgica ha evolucionado considerablemente en los últimos decenios, con avances destinados a reducir al mínimo las secuelas cosméticas y funcionales a largo plazo de la terapia local [4]. En ocasiones después de la cirugía se irradia con rayos X lo cual reduce la tasa de recurrencia local en un 70-88%, también existe una reducción del 5,3% de la mortalidad. Sin embargo, se sospecha que la radioterapia auxiliar en la mama izquierda puede conducir a toxicidades cardíacas relevantes [6].

La quimioterapia se utiliza actualmente en tres entornos clínicos principales: 1) en tratamiento primario de inducción para la enfermedad avanzada o para los

cánceres para los que no hay otros enfoques de tratamiento eficaces, 2) en tratamiento coadyuvante para los pacientes que presentan una enfermedad localizada, para los que las formas locales de terapia, como la cirugía o la radioterapia, o ambas, son inadecuadas por sí mismas, 3) en tratamiento auxiliar de los métodos locales de tratamiento, incluida la cirugía, la radioterapia o ambas [7]. La quimioterapia se ha realizado ampliamente en la clínica debido a su proceso simple y conveniente. Sin embargo, todavía hay algunas limitaciones significativas en el tratamiento del cáncer que utiliza únicamente la quimioterapia. En primer lugar, las drogas quimioterapéuticas no están distribuidas específicamente en el cuerpo, inhibiendo ineficazmente el crecimiento del tumor, la metástasis y la recurrencia. Para superar estas limitaciones y lograr una mejor eficiencia terapéutica del cáncer, es necesario diseñar sistemas de administración de fármacos más efectivos y que a la vez combine la quimioterapia con otros tratamientos para cáncer. La teragnosis surge al intentar obtener un sistema que ofrezca las tareas simultáneas de diagnóstico y tratamiento. Dichas plataformas son desarrolladas mediante la aplicación de nanotecnología [8].

1.2. Nanociencia y nanotecnología

La nanociencia se encuentra en pleno auge, se ha posicionado como uno de los campos de la ciencia más multidisciplinarios [9]. El interés es amplio, no son pocas las ramas de la investigación que muestran un alto interés en los fenómenos que describe la nanociencia. Esto causa que la nanociencia aborde áreas del conocimiento tan variadas como la física [10]–[12] química [13]–[15] biología [16]–[18], economía [19], [20], ingenierías [21]–[25], medicina [26], ciencias de la computación [27]–[31], ciencias ambientales [32]–[34], entre otras [35].

Las aplicaciones y la explotación de los fenómenos nanométricos aportan a la nanotecnología un interés no solo de los investigadores, el público en general está expectante de las novedosas aplicaciones de los nanomateriales [11]. En la

ingeniería el uso de nanocompuestos para modificar las propiedades de los materiales en bulto, filtros nanoestructurados, vidrios que se limpian por sí mismos, pinturas que cambian de color con la temperatura, materiales super resistentes, entre otras aplicaciones. En la industria energética las nuevas generaciones de celdas solares, baterías, catalizadores y la conversión térmica de energía, son ejemplo de las aplicaciones de la nanotecnología que están teniendo un gran éxito [35]. En medicina los implantes ortopédicos [36], los sistemas de carga y liberación de drogas [37], la ingeniería molecular y nuevos métodos de diagnósticos[38], [39] son ejemplos claros de aplicaciones exitosas de la nanotecnología. En el área electrónica la optoelectrónica [40], [41], la nanofotónica [42], [43], la espintrónica [11], [12], [44] encontraron en la nanotecnología una herramienta para desarrollarse ampliamente.

El gran potencial de los nanomateriales es debido a sus propiedades las cuales no están presentes en los materiales en bulto. Estas propiedades son debido a dos razones principalmente. La primera razón es su área superficial. Una nanopartícula cuenta con un mayor porcentaje de su materia en su superficie, lo cual causa una mayor reactividad química, esto afecta la forma en la que la partícula se ve afectada por interacciones externas [45], [46]. La segunda razón es que en la escala nanométrica cobran relevancia los fenómenos cuánticos, esto permite comportamientos ópticos [47], eléctricos [48] y magnéticos únicos [49].

Se cataloga a un material como nanoestructurado si al menos una de sus tres dimensiones espaciales está restringida en la escala nanométrica. Hay materiales restringidos: en una dimensión como son las películas delgadas [50], [51], en dos dimensiones como los nanotubos [52] y nanohilos [53] o en tres dimensiones como los puntos cuánticos (QD por sus siglas en inglés) [54], [55]. No existe un consenso sobre la dimensión máxima o mínima de un nanomaterial. Un ejemplo de lo anterior lo vemos en la comparación de los QD y las NPs poliméricas; QD solo presentan el fenómeno de confinamiento cuántico en tamaños menores de 10 nm, por otro lado, las NPs poliméricas para carga y liberación, las características

deseadas para esta aplicación se encuentran en tamaños de 150 nm (por debajo de este tamaño las partículas no son tan eficientes en la carga de fármacos) hasta 450 nm (por encima de este tamaño las partículas requieren de un gasto energético para poder ser internalizadas en una célula). Podemos concluir que se considera un material como nanoestructurado cuando debido a la restricción dimensional en escala nanométrica este presenta fenómenos que no están presentes en el mismo material en bulto. Existen dos métodos generales para la producción de materiales nanoestructurados: “de arriba abajo “ y el “de abajo arriba” [56].

1.2.1. Método “de arriba abajo “

El enfoque “de arriba abajo” consiste en obtener nanomateriales partiendo de precursores en bulto, la transformación es por medio de aplicar energía al sistema. La idea general es remover del material en bulto lo que no es deseado, hasta llegar al tamaño y morfología esperada (Figura 1). Las principales técnicas son evaporación [57], pirolisis por láser [57], irradiación iónica/electrónica [57].

El método “de arriba abajo” es ampliamente utilizado en la industria de los semiconductores [58], el ejemplo más conocido es la fabricación de transistores de efecto de campo metal-óxido-semiconductor (MOSFET por sus siglas en inglés) por medio de una técnica fotolitográfica [59].

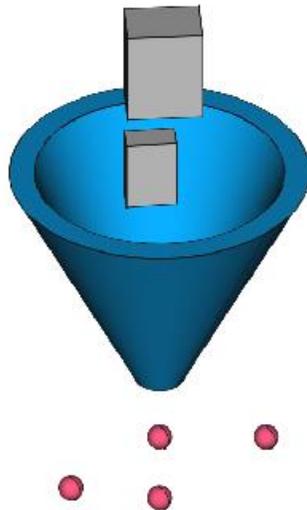


Figura 1. Representación del método “de arriba abajo”.

1.2.2. Método “de abajo arriba”

El método “de abajo arriba” consiste en obtener materiales nanoestructurados complejos a partir de la interacción de bloques unitarios simples (Figura 2). Este proceso no siempre es propiciado por el hombre, en la naturaleza los organismos macroscópicos nacen de subunidades que se interactúan entre ellas para auto ensamblarse y dar paso a un organismo vivo de gran complejidad.

Durante el proceso de autoensamblaje la entropía tiene un rol importante, las subunidades que conforman el sistema tenderán a buscar un estado energético menor. Entendemos por medio de la termodinámica que las subunidades busquen arreglos estructurales que les permita alcanzar ese estado. Las interacciones entre los bloques (átomos y moléculas) podrán ser: covalentes, metálicas, iónicas, puente de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals y enlaces coordinados. Las técnicas a utilizar dependerá del material precursor y del producto final que se esté buscando,

algunos de los métodos más usados son: Coprecipitación [60], sol-gel/gel-sol [61], reducción de sales metálicas [62], sonicación [63], extrusión [63] y polimerización por radicales libres [64].

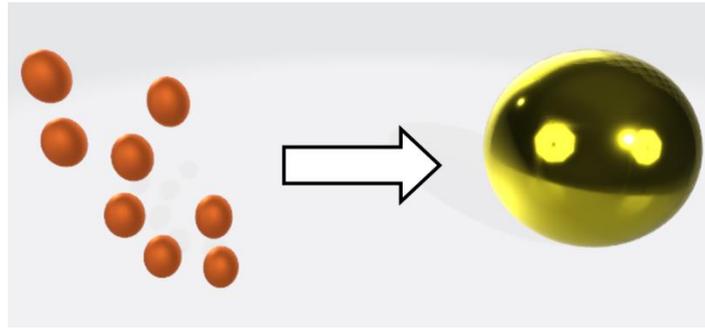


Figura 2. Representación del método bottom-up.

1.3. Nanomateriales

El 18 de octubre de 2011 la Unión Europea emitió una serie de recomendaciones definiendo un nanomaterial como “...*un material natural, secundario o fabricado que contenga partículas, sueltas o formando un agregado o aglomerado y en el que el 50 % o más de las partículas en la granulometría numérica presente una o más dimensiones externas en el intervalo de tamaños comprendido entre 1 nm y 100 nm*” [65].

Las NPs se pueden clasificar de varias maneras: morfología, tamaño, composición y por la forma en la que sus componentes interactúan entre ellos [66]. Una clasificación más sería por el tipo de material precursor de la nanopartícula, podemos distinguir tres grandes grupos; inorgánicos, biológicos y poliméricos/orgánicos [67]. Por último podríamos clasificar a los nanomateriales por

la forma en la que interactúan a estímulos externos, obteniendo materiales inteligentes y no inteligentes [68].

1.3.1. Nanomateriales inorgánicos

Los materiales más utilizados en la síntesis de NPs inorgánicas son metales nobles, metaloides, materiales cerámicos, óxidos de hierro [69]. Los más estudiados son NPs de metales nobles [70], [71], óxidos de hierro [72], [73], silicio [74], [75], nanoalambres [53], [76], QD [54], [55].

1.3.1.1. Nanopartículas metálicas

Los metales nobles como el Au, Pt y Pd y algunos metales semi nobles como la Ag y el Cu son ampliamente utilizados en la síntesis de NPs metálicas [77]. Las propiedades fisicoquímicas varían entre cada uno de los materiales y su respuesta óptica depende estrechamente de su tamaño (una partícula metálica más pequeña posee un plasmón de resonancia superficial más energético) [78], forma (la morfología tiene un impacto en la capacidad de internalizarse de la muestra y además en ocasiones confiere propiedades únicas, como las nanopartículas huecas de oro) [79], [80], composición (combinar distintos materiales da lugar a sistemas más complejos con propiedades especiales) [81] y medio circundante (en ocasiones un mismo sistema puede comportarse distinto si se varían propiedades del medio que contiene al sistema el pH y la temperatura son buenos ejemplos) [82], [83]. Tienen aplicaciones en la biomedicina (por su baja reactividad química [84], alta biocompatibilidad [85] y su plasmón de resonancia superficial localizado [86]), como conductores (por sus propiedades eléctricas [48]) y la industria (como agentes catalíticos [15]).

1.3.1.1. Puntos cuánticos

Los QD son partículas generalmente con un tamaño menor a 10 nm, son nanocristales semiconductores que cuentan con propiedades electro-ópticas causadas por los fenómenos de confinamiento cuántico. Tienen aplicaciones en dispositivos electroluminiscentes (QD de Sulfuro de Cadmio electroluminiscentes dopados con Cu [87]), celdas solares (QD de silicio para aumentar la eficiencia energética [55]), marcadores celulares (QD biocompatibles capaces de entrar al citoplasma y marcarlo [88]) entre otras.

1.3.1.2. Nanopartículas magnéticas

Los nanomateriales magnéticos, con sus propiedades únicas, tales como alta funcionalidad de superficie, fácil control de su tamaño. Además cuando los óxidos de hierro se encuentran en tamaño nanométrico presentan superparamagnetismo. Se estudian cada vez más en biomedicina como sistema de liberación controlada y dirigida de fármacos [89], como agentes de contraste en resonancia magnética e hipertermia [90][91]. También se explora su uso en dispositivos de almacenamiento de energía [92].

1.3.1. Nanomateriales biológicos

Existen tres principales grupos de nanomateriales biológicos: materiales sintetizados a partir de moléculas biológicas, materiales bioinspirados y por último los materiales biosintetizados.

Los materiales sintetizados a partir de moléculas biológicas más estudiados utilizan ácidos nucleicos o proteínas para sintetizar materiales más complejos, como nanopartículas sintetizadas a partir de polisacáridos o proteínas [93]. Los materiales bioinspirados intentan emular características observadas en la naturaleza, ejemplo de ello es una nanoestructura inorgánica basada en ZnO inspiradas en los ojos de las moscas con una extraordinaria respuesta a la luz visible [94]. Por último los materiales biosintetizados utilizan organismos vivos como plantas [95] o bacterias para sintetizar NPs [96].

1.3.2. Nanomateriales orgánicos basados en carbono

Existe una gran variedad de compuestos orgánicos basados en carbono. Esto gracias a que los átomos de carbono tienen tres orbitales híbridos diferentes, sp^3 , sp^2 y sp^1 . Se le conoce como la familia del carbono a el grafito, fullerenos, diamantes y carbinos [97]. Algunos ejemplos de aplicaciones tecnológicas de los nanomateriales basados en carbono son: los materiales lubricantes [98], nanoplataformas para la internalización y entrega de material genómico [99], sensores de contaminantes en alimentos [100], nanopartículas para control de plagas [101], que impactan en las industrias aeroespacial, médica, alimenticia y en la industria agrícola respectivamente.

1.3.3. Nanomateriales poliméricos

Las NPs poliméricas son partículas coloidales sólidas en un rango entre 1 y 1000 nm [102]. Las aplicaciones van desde la electrónica [103], fotónica [104], materiales conductores [105], hasta el control de contaminación [106]. En el área de la biomedicina las NPs poliméricas se aplican como vectores de transporte de

proteínas [107], péptidos [108] y drogas [109]. Ofrecen grandes posibilidades de modular sus características, ya sea por medio de los parámetros de síntesis como Anjali Pant et al. quienes propusieron una solución a la agregación de nanopartículas de Qs modificando las condiciones de reacción [110], utilizando un copolímero como Wen-Qin Chen et al. quienes lograron la modificación de la LCST y una morfología en forma de estrella al utilizar PLC como copolímero [111] o funcionalizando la superficie como Eduardo Zúñiga et al. quienes reportaron un sistema para carga y liberación de Rodamina basado un material termosensible con su superficie funcionalizada con silicio mesoporoso [112]. Esto permite la posibilidad de ofrecer una terapia dirigida[113] y/o específica [114].

1.3.4. Nanomateriales inteligentes

Un material inteligente es aquel que permite la alteración controlada de sus propiedades por estímulos externos como la temperatura [115], ultrasonido [116], pH [117] o campo eléctrico/magnético [118]. Uno de los materiales inteligentes más conocidos es la magnetita (Fe_3O_4) que en escala nanométrica muestra superparamagnetismo (Figura 3).

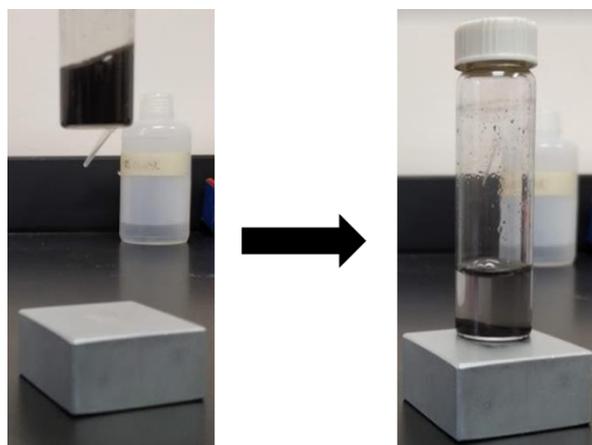


Figura 3. NPsFe_3O_4 antes y después de interactuar con un campo magnético.

Algunos de estos fenómenos se dan en el material en bulto como la termosensibilidad del PNIPAM en tamaños macroscópicos [119], otros solo se encuentran en la escala nanométrica como los óxidos de hierro que al llevarse a tamaños menores de 15 nm muestran superparamagnetismo [120]. Inclusive se puede aprovechar de fenómenos nanométricos en materiales que en bulto ya son sensibles a estímulos y de esa forma combinar las propiedades. Una característica importante de estos materiales es su capacidad de regresar a su estado original una vez que el estímulo es retirado. Los materiales inteligentes presentan respuestas tan variadas como los estímulos a los que son sensibles (Figura 4) [121] .

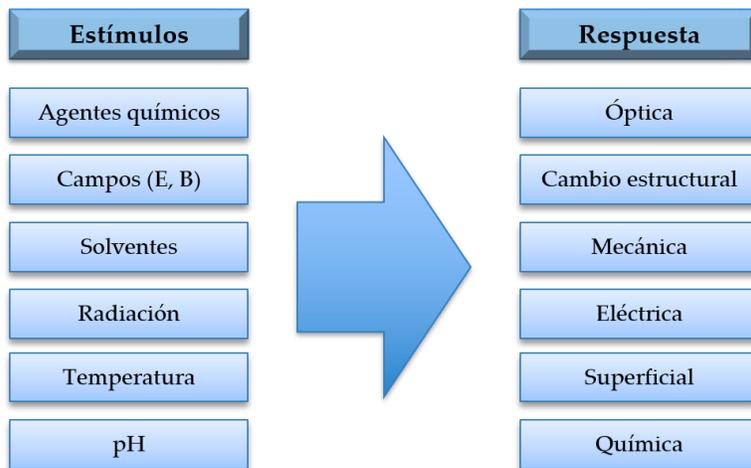


Figura 4. Representación de estímulos-respuesta de los materiales inteligentes.

Los materiales poliméricos inteligentes han sido investigados para carga y liberación de fármacos. El concepto general es una nanoplataforma que permita la liberación controlada bajo estímulos externos (Figura 5) [37]. Una ventaja de estos materiales es poder copolimerizar o crear nanocompuestos que den un carácter multiresponsivo aprovechando las ventajas de más de un material inteligente, dos ejemplos son: la combinación de magnetita, Qs y ácido fólico para lograr una plataforma sensible al pH y al campo magnético [122], y la funcionalización de

nanopartículas de oro y su posterior polimerización de polietilenglicol dando como resultado sensibilidad al pH, temperatura[123].

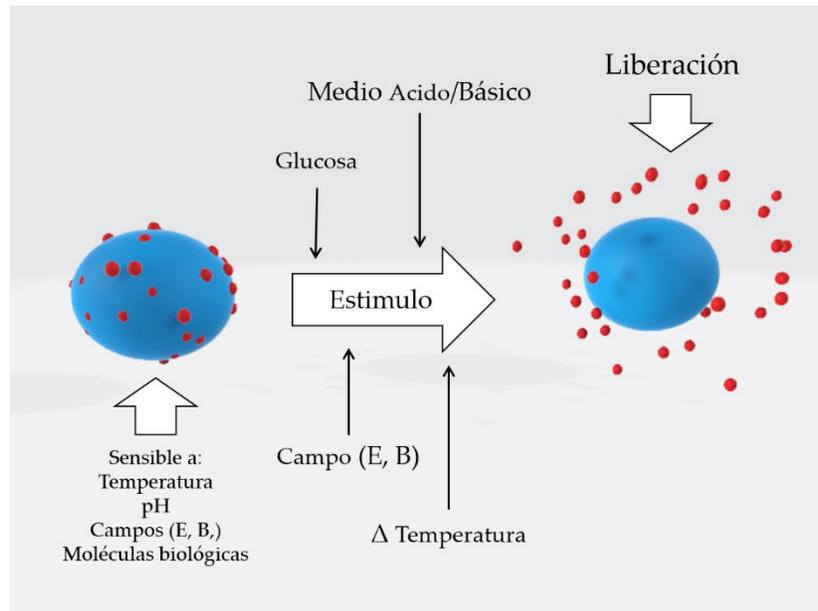


Figura 5. Representación de respuesta a estímulos para liberación de drogas en NPs poliméricas.

1.4. Nanopartículas de Magnetita

Cuando el tamaño de los óxidos de hierro como la Fe_3O_4 se lleva a una escala nanométrica, exhiben cambios dramáticos en la reactividad, un aumento en el área de superficie, y modificaciones en sus propiedades magnéticas, convirtiéndose en un material superparamagnético [124].

1.4.1. Propiedades magnéticas

Un material magnético está formado por dipolos magnéticos que se acoplan entre ellos. Este acoplamiento en presencia de un campo magnético (H) da lugar a un momento magnético neto que se denomina magnetización (M), esta característica es propia de los materiales ferromagnéticos y paramagnéticos. A los materiales que muestran una interacción repulsiva se les denomina diamagnéticos [125], [126]

Los materiales ferromagnéticos al interactuar con un H exhiben una M y cuando se retira el campo la M no vuelve a su valor inicial. Esta remanencia de M se llama histéresis y este fenómeno se puede seguir por medio de la curva de histéresis que grafica el valor del H contra la M [127]. En la Figura 6 se observa una curva de histéresis clásica de un material ferromagnético. Donde M_s es el valor de saturación magnética, M_r es la magnetización remanente y H_c es la fuerza necesaria para que la magnetización sea cero, también llamada coercitividad [128].

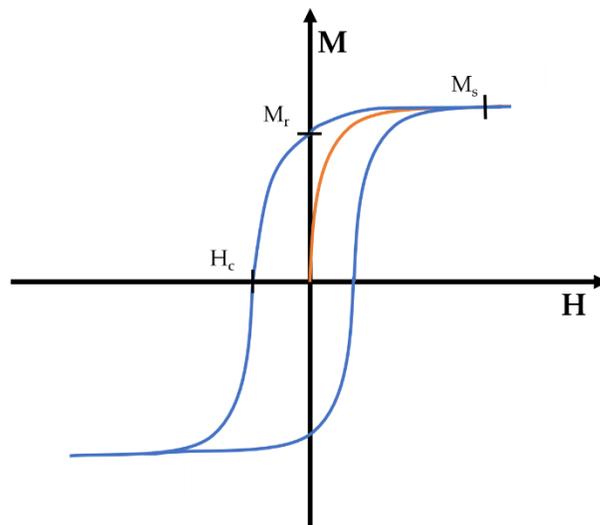


Figura 6. Curva de histéresis de magnetización.

1.4.2. Superparamagnetismo

Los dipolos de un material magnético se agrupan en dominios. Un dominio es una zona del material que tiene la misma magnetización, es magnéticamente isotrópico. La separación entre los dominios puede ser de dos tipos: paredes de Bloch y paredes de Néel. Las paredes de Bloch se presentan en materiales voluminosos y las de Néel en materiales delgados comparado con su longitud [125]. Por debajo de un tamaño crítico de partícula la formación de paredes es energéticamente desfavorable lo que causa que la partícula se comporte como un monodominio (Figura 7) [129].

En la Figura 7 podemos observar que a medida que se reduce el tamaño de partícula se encuentran en ella menos dominios. Cuando llegamos al tamaño crítico y obtenemos un monodominio, el sistema se comporta de forma superparamagnética y su coercitividad se reduce a cero. La coercitividad es directamente proporcional al tamaño de partícula [130].

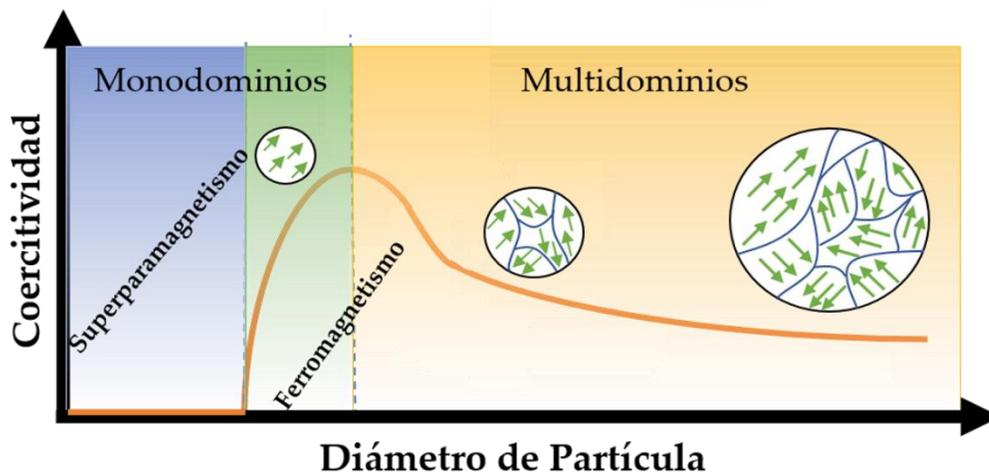


Figura 7. Representación de la relación entre coercitividad y diámetro de partícula.

Cuando la temperatura de un material ferromagnético o ferrimagnético es mayor que su temperatura de Curie se comporta como un material paramagnético [126].

Contrario a esto las NPs que presentan superparamagnetismo se encuentran por debajo de su temperatura de Curie. En estos casos la M_{total} del sistema es causada por el momento magnético resultante de la interacción de los momentos magnéticos de cada dipolo de la nanopartícula.

En las NPs que presentan superparamagnetismo en ausencia de un H externo el valor medido de M será cero. La explicación está en el tiempo de relajación de Néel [120], este es mucho menor que el intervalo de tiempo que le toma al equipo realizar la medición. Para cuando el equipo realice la medición la partícula rotará muchas veces y el valor medio medido será cero. En estos sistemas un H externo magnetiza el monodominio y este se comportará paramagnéticamente, pero el sistema muestra una respuesta en su M mayor. A lo anterior se le conoce como superparamagnetismo. Este comportamiento causará que el sistema no presente H_c . La alta susceptibilidad magnética y la ausencia de H_c se ven reflejada en su curva de histéresis característica de un material superparamagnético (Figura 8).

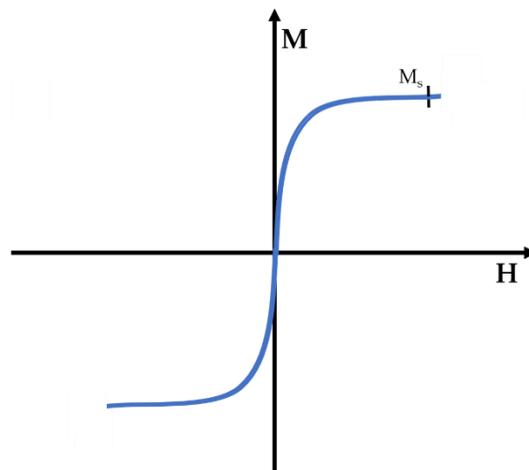


Figura 8. Curva de histéresis característica de un material superparamagnético.

1.4.3. Síntesis de NPs magnéticas

Se puede clasificar los métodos de síntesis de NPsFe₃O₄ en métodos físicos y métodos químicos [120]. Los métodos de condensación (vaporización por láser [131], vaporización térmica [132]) y nanodispersión de un material compacto (erosión electrolítica [132], generación electroquímica [133]) son los métodos físicos más usados. Del mismo modo los métodos de termólisis (deposición química de vapor (CVD por sus siglas en inglés) [134], ultrasonido [135], reducción de metales [136], reducción química asistida por radiación [137], síntesis en micelas inversas [138], sol-gel [139], síntesis en interfaz gas-líquido [139], y el método de coprecipitación el cual es un método sencillo que requiere equipo mínimo, los métodos anteriormente mencionados son los más reportados en la literatura.

1.4.3.1. Método de coprecipitación

El método de coprecipitación para la síntesis de NPs de óxido de hierro como la Fe₃O₄ y maghemita es el más utilizado en la actualidad. El método consiste en tener una disolución acuosa con sales de Fe (II)/Fe (III) a un pH básico. Desde el primer reporte en 1956 [140] se ha extendido el uso de la coprecipitación por su sencillez y fácil modificación. Las características fisicoquímicas de las NPs obtenidas por este método varían respecto a las sales empleadas, la relación molar Fe (II)/Fe (III), temperatura y pH de reacción.

El control del tamaño de partícula fue por un tiempo un punto débil de este método, pero el uso de estabilizadores para delimitar el crecimiento se ha vuelto una práctica común para contrarrestar esta desventaja. Se han utilizado desde estabilizadores como Qs [141], poli(láctico-co-glicólico) [142] y ácido oleico [143]. El estabilizador usado depende en gran medida de las características fisicoquímicas deseadas.

1.4.4. Aplicaciones de NPsFe_3O_4 en la medicina

Existen dos principales aplicaciones en la medicina para las NPsFe_3O_4 . Una es como agente de contraste en imagenología por resonancia magnética (MRI por sus siglas en inglés) y la segunda es como agente de terapia dirigida.

1.4.4.1. NPsFe_3O_4 como agente de contraste en MRI

La técnica MRI ofrece grandes ventajas sobre otras técnicas, no es invasiva, no es ionizante, inocua para los pacientes, las imágenes obtenidas son de alta resolución. Su principal desventaja es la baja sensibilidad en imagenología molecular. Las NPsFe_3O_4 pueden ser utilizadas como agente de contraste en MRI [141].

En la técnica de MRI la señal de radio frecuencia se emite en pulsaciones, y al concluir una pulsación los protones tenderán a volver a su estado original. Justo en el momento en el que la señal es retirada los protones mantienen una magnetización con componente longitudinal, pero sin componente transversal. El contraste en MRI es causado por el diferencial en la densidad de protones, T1 (tiempo de relajación longitudinal) y T2 (tiempo de relajación transversal) [144]. Las NPsFe_3O_4 superparamagnéticas modifican los valores de T2 de los protones de agua que rodean la NP. Las NPs en presencia de un campo magnético alinearan sus momentos magnéticos creando un gradiente de campo que permite la difusión de los protones del agua. El momento magnético del agua y de las NPsFe_3O_4 se acoplan comportándose como un dipolo, esto causa una disminución en T2 por el desfase de spin producido. Lo anterior causa en la técnica una disminución de la señal, lo que permite observar mejor los órganos blandos ya que las zonas donde hay NPsFe_3O_4 aparecerán oscuras [145].

1.4.4.2. NPs magnéticas como agente de terapia dirigida

Paul Ehrlich (1854-1915) Premio Nobel de Medicina en 1908. Fue la primera persona en proponer un agente selectivo y dirigido a un organismo causante de enfermedades, que atacara específicamente la causa de la enfermedad.

En 1960 Freeman fue el primero en proponer las NPs magnéticas como agente dirigidos a través del cuerpo por medio de un campo magnético [146]. Durante las próximas décadas se desarrollaron plataformas magnéticas en tamaño micrométrico, pero las primeras pruebas con NPs en animales fueron realizadas con en 1995 [147], al año siguiente el mismo equipo llevó a cabo el primer ensayo clínico de fase I, 14 pacientes con tumores sólidos cancerosos en etapa avanzada se les suministro 4'-Epidoxorubicina dirigida por un campo magnético concluyendo que fue posible dirigir hacia la zona tumoral la sustancia suministrada [148].

Muchos han sido los grupos que sintetizan vectores magnéticos con aplicaciones biomédicas potenciales [149]. En la actualidad las NPsFe_3O_4 se conjugan con drogas a la vez que se funcionaliza su superficie para potenciar su uso [150]–[152]. Un tema importante en esta área es la biodegradabilidad o excreción de las NPs magnéticas. Se considera que las NPsFe_3O_4 son biodegradables por medio de las rutas bioquímicas normales para metabolizar el Fe [153].

1.5. PNIPAM

El PNIPAM es un polimérico inteligente. Su sensibilidad a estímulos externos y estructura química le proporciona potenciales aplicaciones en la medicina,

remediación de agua [154], óptica [155], ingeniería de tejidos [154] y biosensores [156].

La estructura química del PNIPAM tiene grupos metilos en sus dos extremos, uno de los cuales es la sección polimérica conformada por una cadena hidrocarbonada (enmarcados en azul en la Figura 9), estos segmentos tienen un carácter hidrofóbico. El PNIPAM también presenta un grupo amida el cual es de carácter hidrofílico (enmarcado en verde en la Figura 9).

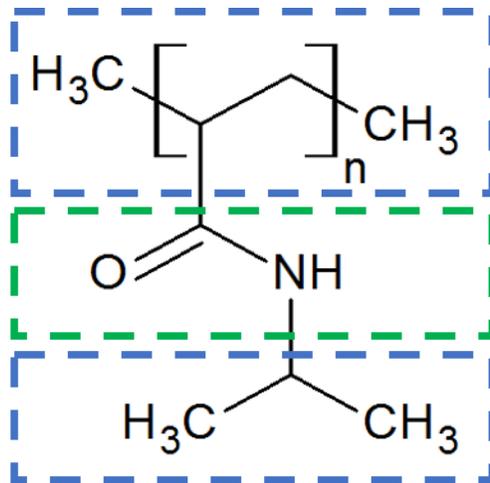


Figura 9. Estructura química del PNIPAM.

El PNIPAM es un polímero termosensible, tiene una temperatura crítica inferior de solución (LCST por sus siglas en inglés) cercana a los 32 °C [157]. Si la temperatura se encuentra por debajo de la LCST el PNIPAM tiene un carácter hidrofílico. Si se aumenta la temperatura, se presenta un cambio conformacional del material, por encima de la LCST el material no es soluble en un medio acuoso, presentando un carácter hidrofóbico. Este fenómeno se explica por los cambios de entropía y entalpia respecto a la variación de temperatura de su entorno.

La LCST del PNIPAM está estrechamente relacionada con la relación de grupos hidrofóbicos e hidrofílicos en su estructura. Si la temperatura está por debajo de la LCST los grupos aminos interactuarán con las moléculas de agua formando puentes de hidrógeno. Al aumentar la temperatura el aporte energético en forma de calor romperá los puentes de hidrógeno. Por encima de la LCST, para la estructura no es energéticamente favorable crear puentes de hidrógeno, por lo que presenta un carácter hidrofóbico. Por esta razón un hidrogel de PNIPAM debajo de la LCST captará una gran cantidad de agua, mientras que a medida que aumente la temperatura la expulsará (Figura 10) [115], [158].

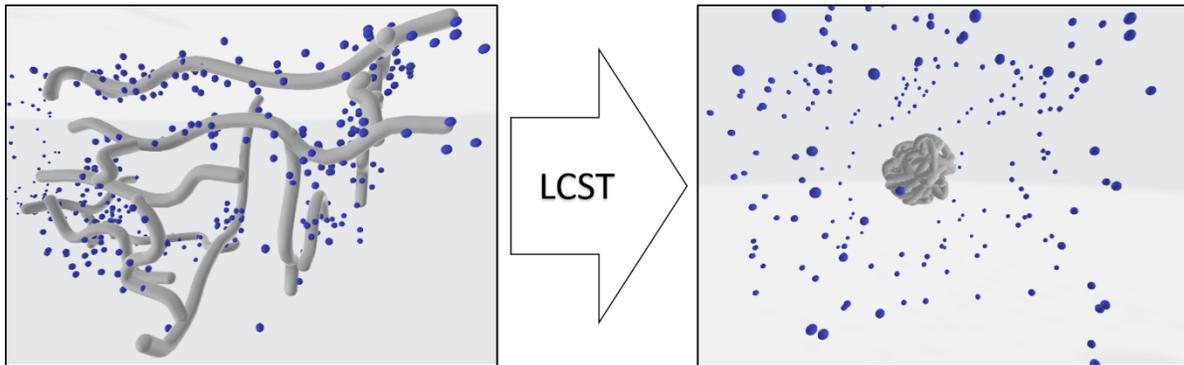


Figura 10. Representación del comportamiento por debajo o encima de la LCST del PNIPAM.

1.5.1. Termodinámica de la LCST

La energía libre de Gibbs (ΔG) nos permite conocer si un proceso es espontáneo o no. Si ΔG es negativo ($\Delta G < 0$) se trata de un proceso espontáneo, en caso de un ΔG positivo ($\Delta G > 0$) el proceso no lo es. La entalpía (ΔH) es la energía que un

sistema es capaz de transmitir a su entorno, un ΔH negativo ($\Delta H < 0$) significa que es un proceso exotérmico, mientras que un ΔH positivo ($\Delta H > 0$) significa que el proceso es endotérmico. La relación entre estas propiedades está plasmada en la ecuación $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$.

Por debajo de la LCST del PNIPAM el $\Delta G < 0$ lo que nos dice que el proceso de solubilidad (formación de puentes de hidrógeno) es espontáneo. Por encima de la LCST el $\Delta G > 0$ lo que la formación de puentes de hidrógeno no se ve favorecida, dando como resultado la insolubilidad del PNIPAM en el medio acuoso.

1.5.2. Modificación de la LCST

La LCST es dependiente de la relación de segmentos hidrofílicos-hidrofóbicos de un polímero, tal manera que si esta relación aumentará en favor de los grupos hidrofóbicos la LCST bajaría, pues se necesitaría una cantidad de energía menor para modificar el comportamiento del polímero [159]. Por otro lado, si se adicionan grupos hidrofílicos la LCST aumenta, esto es debido a que existe un mayor número de puentes de hidrogeno que necesitan ser rotos para que el balance (hidrofílicos-hidrofóbicos) favorezca un carácter hidrofóbico [160].

La temperatura fisiológica ronda los 36 °C, por lo que una aplicación biomédica requiere el aumento de la LCST del PNIPAM. Se han utilizado diversos polímeros hidrofílicos como el Qs para recorrer la LCST en polímeros inteligentes [161], N,N-dimetilacrilamida [162], alginato [160], poli[N-(4-vinilbenzoico)-N,N-dietilamina] [163], entre otros.

1.5.3. Sistema PNIPAM-Quitosano

Fue en 1859 que se reportó por primera vez el Qs como polímero semi sintético [164]. En las últimas décadas el Qs ha cobrado relevancia en las investigaciones del área farmacéutica [165]. Su alta biocompatibilidad, facilidad de modificación química y su biodegradabilidad lo vuelven ideal como material base para diseñar plataformas biomédicas [166]–[170]. El Qs es un polímero sensible al pH, esto debido a que su amina se protona a pH ácido y se desprotona en pH básico causando su precipitación. El Qs proviene de someter a la quitina a un proceso de desacetilación parcial. La quitina se obtiene del exoesqueleto de crustáceos e insectos, así como de la pared celular de algunos hongos.

El Qs es un biopolímero utilizado en la modificación de la LCST del PNIPAM. Diversos trabajos sobre la síntesis de una matriz polimérica completamente interpenetrado de PNIPAM-Qs [161]. El Qs aporta sensibilidad al pH al sistema, permitiendo una sensibilidad dual (pH y termosensible), por su carácter hidrofílico aumenta la LCST de la matriz [171]. Otra ventaja que aporta el Qs es la biodegradabilidad, pues al degradarse el Qs permite el fraccionamiento polimérico de la matriz.

1.5.4. PNIPAM nanoporoso

Se han investigado hidrogeles nanoporosos de PNIPAM como agentes antimicrobianos [172], agentes de liberación [161], como potenciadores de luminiscencia de tierras raras [173], como andamiaje celular en la ingeniería tisular [174], todo esto debido a sus propiedades fisicoquímicas.

El funcionamiento básico de un hidrogel termosensible de PNIPAM es que debajo de la LCST capta agua y por encima la expulsa (Figura 11). Este comportamiento permite que cualquier sustancia de carácter hidrofílico pueda ser captado por la red polimérica. Un control de la LCST, tamaño de poro puede ser desembocar en una plataforma para liberación de sustancias hidrofílicas controlada por temperatura.

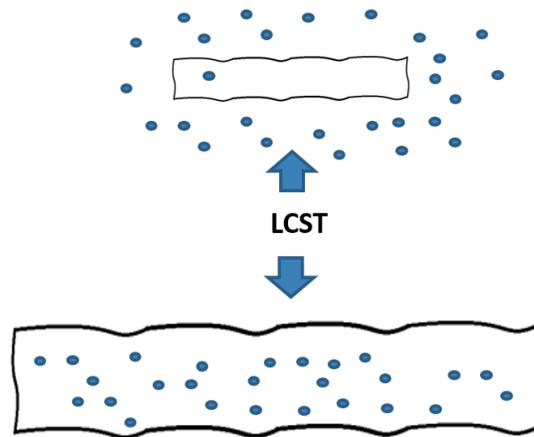


Figura 11. Comportamiento ante el cambio de temperatura de un hidrogel de PNIPAM.

Se han reportado copolimerizaciones con el fin de modificar sus propiedades, otro camino explorado es la semi [175] y completa [176] interpenetración de otro polímero. A pesar de contar con propiedades mecánicas poco deseables a lo largo de los años se fueron mejorando por los dos enfoques mencionados [177].

Otra característica es la morfología, reportes de tamaño de poro permitieron vislumbrar las aplicaciones para un hidrogel termosensible con tamaño de poro micrométrico [175]. Un tamaño de cientos de nanómetros aumenta el área superficial, permitiendo una mayor captación de moléculas hidrofílicas en su matriz. Una matriz nanoporosa permite la funcionalización por NPs de forma eficiente en

sus poros. Aunque se estudia la morfología de poro y su tamaño aún no se logra un control adecuado en base a los parámetros de síntesis.

1.5.5. Nanopartículas de PNIPAM (NPsPNIPAM)

Las NPsPNIPAM han sido ampliamente estudiadas como potenciales acarreadores de drogas [178] y terapia dirigida [64]. Sus propiedades fisicoquímicas (tamaño, carga superficial y morfología) pueden ser controlada al modificar los parámetros de síntesis o al copolimerizarse con otro material [163], [179]–[182]. Son fácilmente funcionalizables, en su matriz se pueden encapsular sustancias hidrofílicas, sus grupos amidas permiten interactuar con superficies metálicas. Además, cuenta con propiedades ópticas que lo vuelven prometedor en el área de fabricación de dispositivos opto eléctricos [173]. Se intenta por medio de combinar con otros materiales paliar desventajas como la biodegradabilidad.

Las NPsPNIPAM para su uso potencial en aplicaciones biomédicas tiene que contar con ciertas características fisicoquímicas. Su carga superficial es cero o levemente negativa, esto puede modularse acorde a la aplicación. se reportan cambios sustanciales de potencial- ζ de carácter positivo[183] y negativo[64] según el material con el que se combine. Otra característica clave en el uso biomédico de las NPsPNIPAM es el tamaño de partícula. Se reportan caso de internalización celular con partículas de hasta 500 nm con rutas que implican un gasto energético [184], pero partículas de tamaño menor pueden ser endocitadas de forma pasiva. Si la aplicación es carga y liberación de drogas es necesario un tamaño que permita la internalización pasiva y al mismo tiempo sea adecuado para retener una cantidad optima de la sustancia a transportar el cual se encuentra entre 100 a 400 nm, al mismo tiempo un potencial- ζ positivo podría ayudar a la internalización debido a la interacción electroestática de la superficie de la partícula con la membrana celular, una morfología esférica permite una mejor internalización.

1.5.6. Método de síntesis

La precipitación polimérica por radicales libres es la síntesis más utilizada en la obtención de polímeros de PNIPAM. Este método permite de forma sencilla la copolimerización, el efecto de los parámetros se encuentra bien establecido lo cual permite una gran modulación de la síntesis [159], [185].

La síntesis parte de tener una solución acuosa del monómero NIPAM y el entrecruzante N,N'-Metilbisacrilamida (Bis). El Persulfato de Amonio (APS) al contacto con el agua se solvata, para después por hidrólisis dar paso a la formación de dos moles de un radical libre. El radical libre atacara a un monómero de NIPAM para estabilizarse, dando lugar a un radical de cadena más grande. Dicho nuevo radical atacará a otro monómero hasta que la polimerización termine, ya sea porque no quedan más monómeros o dos cadenas de radicales se estabilizan entre sí. El Bis está en una concentración muy baja, por lo que no predomina su carácter fisicoquímico, pero cumple con su función de entrecruzante al poderse polimerizar a dos cadenas de PNIPAM, dando como resultado una red polimérica [62].

Algunos estudios reportan el uso de TEMED como regulador de la polimerización y obtención de materiales porosos [186]. Si lo que se busca es partículas de tamaño micro o nanométrico es necesario detener la polimerización cuando el tamaño deseado sea alcanzado, esto se logra con la adición de un surfactante como el Dodecil Sulfato de Sodio (SDS) [187]–[189].

1.6. Motivación

Los materiales sensibles a estímulos o materiales inteligentes han ganado una atención significativa por parte de la comunidad científica debido a sus propiedades físicas, su reactividad química y su capacidad de respuesta conformacional. La medicina moderna en su batalla contra enfermedades como el cáncer necesita materiales innovadores que cumplan con los requisitos de los desafíos que enfrenta. Los materiales inteligentes nanoestructurados prometen innovadoras aplicaciones en la biomedicina como agentes de carga y liberación controlada de fármacos en quimioterapia, agentes de contraste en resonancia magnética, hipertermia, entre otras. Materiales inteligentes multisensibles como el PNIPAM, Qs y la Fe_3O_4 han sido estudiados y muestran potenciales aplicaciones en la biomedicina. A pesar de lo anterior, en la actualidad hacen falta estudios que permitan determinar las condiciones óptimas de síntesis para la obtención de nanoplataformas inteligentes que cumplan con las condiciones fisicoquímicas adecuadas deseables según las funciones de la nanoestructura.

Lo anterior nos alienta a investigar la optimización de las propiedades fisicoquímicas de las nanoplataformas (tamaño, morfología bien definida y alta estabilidad), intentando dilucidar las condiciones de síntesis óptimas que permitan la modulación de sus propiedades según la potencial aplicación.

1.7. Hipótesis

Es posible la síntesis de un hidrogel nanoporoso de PNIPAM con una LCST modulable por medio de la interpenetración de Qs en su red. Obteniendo un hidrogel multiresponsivo (pH y temperatura) el cual pueda ser utilizado como plataforma de carga y liberación controlada.

Es posible la mejora de los protocolos de síntesis de un nanocompuesto multiresponsivo (temperatura y campo magnético) de Fe_3O_4 recubierto de PNIPAM ($\text{Fe}_3\text{O}_4@$ PNIPAM), que permita modular sus propiedades fisicoquímicas (carga superficial, morfología, tamaño y responsividad a estímulos externos) y biocompatibles a las necesidades de la aplicación.

1.8. Objetivos

1.8.1. Objetivo General

Dilucidar los parámetros óptimos de síntesis de nanoplataformas inteligentes (PNIPAM-Qs y $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ PNIPAM), para sus potenciales aplicaciones como agentes dirigidos de carga y liberación controlada de fármacos aprovechando sus propiedades multiresponsivas (temperatura-pH y temperatura-campo magnético).

1.8.2. Objetivos Particulares

- Síntesis de hidrogeles nanoporosos de PNIPAM-Qs.
 - Caracterización fisicoquímica de las nanoplataformas obtenidas (morfología, tamaño de poro, determinación de la LCST, estructura química, propiedades luminiscentes).
 - Obtención de las cinéticas de carga y su modelado matemático.
 - Determinar el efecto del pH en la capacidad de carga de los hidrogeles.

- Síntesis de NPs con estructura $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ PNIPAM.
 - Caracterización fisicoquímica de las nanoplataformas obtenidas (morfología, estructura cristalográfica, determinación de la LCST, estructura química, carga superficial, propiedades ópticas, propiedades magnéticas).
 - Evaluar la citotoxicidad de la nanoplataforma.

2. Materiales y Métodos

2.1. Materiales

Qs de bajo peso molecular (100.000 g/mol) con un grado de desacetilación (70-80%) y una viscosidad de 20-300 cp, N,N'-metilenebisacrilamida ($C_7H_{10}N_2O$) 154,17 g/mol (99,5%), N-isopropilacrilamida (NIPAM) ($C_6H_{11}NO$) 113,16 g/mol (98%), tetrametiletilendiamina ($C_6H_{16}N_2$) 116,9 g/mol (99%), persulfato de amonio ($(NH_4)_2S_2O_8$) 228,20 g/mol (98%), cloruro de hierro ($FeCl_3$) (III) (97%), ácido oleico ($C_{18}H_{34}O_2$) ($\geq 99\%$), cloruro de hierro (II) ($FeCl_2$), hidróxido de sodio (NaOH) ($\geq 98\%$), isotiocianato de fluoresceína ($C_{21}H_{11}NO_5S$) 389,38 g/mol ($\geq 98\%$), metanol (CH_3OH) 32 g/mol ($\geq 99,8\%$), hidróxido de sodio (NaOH) 40 g/mol ($\geq 98\%$). Se usó agua desionizada ultrapura (18.25 M Ω) en todos los experimentos, todos los reactivos químicos se obtuvieron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.). El gas nitrógeno se obtuvo de un proveedor local.

2.2. Metodología experimental

2.2.1. Modificación del quitosano con fluoresceína (QsF)

La modificación del Qs se realizó con una adaptación del método de Huang et al. [167], [190]. Se disolvieron tres μ moles de Qs en 200 ml de una solución de ácido acético 0,1 M. A continuación, se añadieron a la mezcla 100 ml de metanol y 10 ml de solución de fluoresceína de 2 mg/ml. La solución se dejó reaccionar durante 24 horas con agitación magnética (150 rpm) a 70 °C en la oscuridad. El producto final se precipitó al agregar una solución de 1 N de NaOH. Finalmente, los precipitados

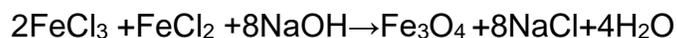
se purificaron con agua durante tres días por diálisis, se utilizó en membrana de 15.000 MWCO. El producto se liofilizó y almaceno para su posterior uso.

2.2.2. Síntesis de hidrogeles

Se evaluaron diferentes relaciones molares entre el NIPAM - QsF [49:1(PC₁F), 49:2(PC₂F) y 49:4(PC₃F)]. Se prepararon las soluciones correspondientes de QsF y de NIPAM en 50 ml de una solución de ácido acético de 0,1 m. A continuación, se añadieron 3,0 mmol de la solución QsF-NIPAM y 65,0 μmol de BIS bajo agitación magnética en la oscuridad. El sistema se mantuvo a un flujo constante de nitrógeno. Treinta minutos después, se añadieron a la solución 0,1 ml de solución de APS de 60,0 mM y 0,2 ml de una solución de TEMED 64,0 mM. Después de 24 h de reacción, los hidrogeles fueron dializados durante 2 días con agua pura antes de ser liofilizados.

2.2.3. Síntesis de NPsFe₃O₄

Las NPsFe₃O₄ se sintetizaron mediante el método de coprecipitación de sales de hierro con algunas modificaciones, mediante la adición de hidróxido de sodio (NaOH) en condiciones libres de oxígeno, para completar la siguiente reacción global [191]:



Se colocó una mezcla de cloruro férrico (FeCl₃) y cloruro ferroso (FeCl₂) en 50 ml de agua desionizada (18,3 MΩ) en una relación molar de 2:1, respectivamente. La solución de reacción se agitó mecánicamente a 700 rpm mientras que el nitrógeno

gaseoso fluyó dentro del matraz durante 30 minutos dando como resultado el desplazamiento del oxígeno. La mezcla se calentó a 70 °C durante 15 minutos; se observó un cambio en el color de la solución de amarillo a rojo vino. Se añadieron 10 ml de hidróxido de sodio (30%) y se observó un cambio en el color de la solución de rojo vino a negro, lo que indica la formación de NPsFe_3O_4 . Posteriormente, se añadió ácido oleico a la reacción en una relación molar 1: 1,5 (FeCl_3 : ácido oleico), correspondientemente. El ácido oleico se expuso a las NPs durante 15 minutos para lograr su estabilización. Finalmente, las NPs sintetizadas se separaron de la solución usando un imán de neodimio, la solución se decantó y se realizó un ciclo de lavado; primero con etanol puro, luego con una mezcla de 50% de etanol y finalmente con agua pura, dando como resultado un producto negro brillante.

2.2.4. Polimerización in situ NIPAM en NPsFe_3O_4 (Fe_3O_4 @PNIPAM)

La polimerización por radicales libres se realizó con modificaciones menores [192]. Se añadieron 170 mmoles de NIPAM a un matraz de fondo redondo de tres cuellos y luego se disolvieron en 10 ml de agua ultrapura. Posteriormente, se añadieron 15 mmol de BIS y 25 mmol de SDS. Durante la fase de nucleación, el papel del tensoactivo era mejorar la estabilidad coloidal de las NPs. La suspensión coloidal de NPsFe_3O_4 se incorporó luego a la solución en relaciones de volumen de 8:0 (WX_0), 8:1 (WX_1), 8:2 (WX_2) Y 8:4 (WX_3) gota a gota y se agitó mecánicamente a 1000 rpm por 3 horas, después de las cuales fluyó gas nitrógeno en el matraz durante 30 minutos, produciendo un desplazamiento del oxígeno. La solución resultante se calentó a 70 °C usando un baño de aceite. Finalmente, se añadió lentamente 1 ml de APS 5 mM. El flujo de nitrógeno y las condiciones magnéticas de agitación se mantuvieron durante 1 hora a 70 °C. Observamos una solución opalescente sin agregados de polímeros. Las soluciones resultantes se centrifugaron fraccionalmente, primero 4000 RPM durante 30 minutos (separando las NPsFe_3O_4 que no estaban recubiertos), luego el sobrenadante resultante a 6000

RPM durante 30 minutos las estructuras núcleo-coraza ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PNIPAM}$). El sedimento resultante se resuspendió en agua ultrapura para su posterior análisis.

2.3. Caracterizaciones fisicoquímicas

2.3.1. Calorimetría diferencial de barrido

Los valores de LCST se obtuvieron utilizando un equipo de doble horno DSC modelo 8500 (Perkin Elmer, Inc., Waltham, MA, EE. UU.), Con un rango de temperatura operativa de $-180\text{ }^\circ\text{C}$ a $750\text{ }^\circ\text{C}$, y tasas de lectura de datos de 100 puntos/s.

Los resultados obtenidos por el software se muestran como una curva de flujo de calor frente a temperatura donde los picos de datos representan cambios estructurales. Los picos positivos representan una reacción exotérmica, mientras que los picos negativos muestran reacciones endotérmicas. La curva se puede usar para mostrar la LCST en la que el hidrogel rompe sus enlaces de hidrógeno, expulsando agua a su entorno y colapsando.

Las muestras de hidrogel analizadas se sumergieron en agua durante al menos 48 h hasta alcanzar el equilibrio. El análisis térmico se realizó con muestras de hidrogel hinchado (10-20 mg) a una velocidad de calentamiento de $5\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ con un rango de temperatura de $20\text{-}45\text{ }^\circ\text{C}$, utilizando nitrógeno como purga a $20\text{ ml}/\text{min}$.

2.3.2. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)

Los espectros FT-IR se obtuvieron de un espectrómetro Spectrum (Perkin Elmer, Inc., Waltham, MA, EE. UU.) equipado con un diamante de reflectancia total atenuada (ATR por sus siglas en inglés) con un rango de 8300-350 cm^{-1} y un haz IR variable de 2 a 11 mm de diámetro. Los espectros IR se recogieron 16 veces (resolución espectral 4 cm^{-1}) y se analizaron usando el software Spectrum.

2.3.3. Caracterización óptica

Las mediciones de fluorescencia se realizaron en el espectrómetro de fluorescencia LS55 (Perkin Elmer, Inc., Waltham, MA, EE. UU.) Con una lámpara de xenón pulsado como la fuente, con 20 kW durante 8 μs de duración y el ancho del pulso a media altura < 10 μs . Se prepararon soluciones con concentraciones de 0.1 M en agua ultrapura. Los espectros se analizaron con una longitud de onda de excitación de 450 nm.

2.3.4. Estudio de cinética de carga y efecto del pH

Las muestras deshidratadas se sometieron a un proceso de rehidratación hasta que la curva cinética mostró un comportamiento constante y se observó un cambio no significativo en la masa de la muestra. Se consideró que se había alcanzado el equilibrio.

Diez miligramos de cada muestra se sumergieron en 20 ml de agua pura a una temperatura constante de 25 ° C hasta alcanzar el equilibrio. Se realizaron mediciones gravimétricas a distintos tiempos hasta el equilibrio. Así mismo las muestras deshidratadas se sometieron a un proceso de rehidratación en 20 ml de soluciones con diferente pH a 25 °C durante 24 horas. En esta ocasión solo se tomó

el valor final. Antes de las mediciones, la muestra se puso sobre una superficie absorbente para eliminar el agua de la superficie del hidrogel.

2.3.5. Modelado matemático de los hidrogeles

El método gravimétrico se usó para determinar la captación de agua del hidrogel considerando el peso en un momento inicial (M_0) y un tiempo determinado (M_t). El porcentaje de cambio de masa se obtuvo utilizando la siguiente ecuación:

$$\%Hinchamiento = \frac{(M_t - M_0)}{M_0} \times 100 \quad (1)$$

La ecuación de la ley de potencia empírica (Modelo 1) se utilizó para determinar el mecanismo de difusión del agua en las redes poliméricas. Esta ecuación fue diseñada teniendo en cuenta el perfecto estado del sumidero y la difusión solo en una dimensión (34). Se escribe como:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_1 t^n \quad (2)$$

Donde M_∞ representa la ingesta de agua en el momento de equilibrio. La constante k_1 es el factor frontal de la relación de hinchamiento. Finalmente, n es el exponente de hinchamiento relacionado con el mecanismo de sorción de agua. Cuando se obtienen valores de $n \leq 0.5$, el mecanismo de transporte que limita la sorción es de tipo Fickiano. Por otro lado, un rango $0.5 < n < 1.0$ indica que la difusión no es Fickiana. El paso limitante depende de la relajación de las cadenas poliméricas del

hidrogel (35). La ecuación de la ley de potencia representa válidamente el 60% de la ingesta de agua. Sin embargo, no ofrece un análisis preciso si $M_t / M_\infty \geq 0.60$ (36, 37). Para obtener una mejor descripción de los fenómenos de sorción por encima del valor de 0.6, de la relajación de las cadenas poliméricas del hidrogel se considera la ecuación diferencial de Berens-Hopfenberg (38):

$$\frac{dM_t}{dt} = k_2(M_\infty - M_t) \quad (3)$$

k_2 (min^{-1}) es la constante de velocidad de relajación. La solución de la ecuación (3) resulta en el Modelo 2, donde A es una constante:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - A \cdot \exp(-k_2 t) \quad (4)$$

Tanto el Modelo 1 como el Modelo 2 (ecuación (2) y ecuación (4), respectivamente) se determinaron ajustándose a los datos experimentales utilizando un algoritmo de mínimos cuadrados no lineales en el software MATLAB® (MathWorks, EE. UU.). Esto se hizo para obtener los parámetros respectivos.

2.3.6. Caracterización morfológica de los hidrogeles

La morfología de los hidrogeles se evaluó con un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (JEOL JSM-7800F, Pleasanton, CA, EE. UU.). Todas las muestras se secaron por liofilización y se analizaron inmediatamente. El diámetro y

la circularidad promedio de las imágenes SEM se determinaron utilizando las herramientas de medición del software ImageJ (versión 1.51J).

2.3.7. Caracterización morfológica de las nanoplataformas

La morfología de las NPsFe_3O_4 se determinó mediante un microscopio electrónico de transmisión (TEM) (PhillipsCM-12). La muestra se preparó utilizando rejillas de cobre recubiertas de carbono y se secó al aire durante varios minutos. Se diluyó de 1 a 30 antes de depositarse sobre la película. La morfología de la muestra WX_0 se evaluó con el microscopio electrónico de barrido (SEM) (JEOL JSM-7800F, Pleasanton, CA, EE. UU.). Se utilizó el mismo instrumento (en modo STEM) para evaluar la morfología de las muestras con una estructura de núcleo-coraza (WX_1 , WX_2 y WX_3). Las muestras se diluyeron de 1 a 15 antes de depositarse en la película. Las muestras fueron preparadas usando una película de formvar-carbon y secada al aire durante varios minutos. Las muestras fueron analizadas inmediatamente.

2.3.8. DLS y Potencial ζ

Las distribuciones de tamaños de las muestras nanométricas fueron obtenidas utilizando un Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Reino Unido). Las muestras se diluyeron 1 a 10 en agua ultrapura, las mediciones se realizaron en equilibrio térmico por 5 minutos en la temperatura deseada y se realizaron por triplicado. El potencial ζ de todas las muestras se determinó utilizando el mismo equipo.

2.3.9. UV-Vis

La absorción de NPsFe_3O_4 , WX_1 , WX_2 y WX_3 se realizó mediante un espectrofotómetro UV-visible (Agilent 8453, EE. UU.) equipado con un detector de matriz de diodos, con un rango espectrofotométrico de 300 a 1000 nm. Las muestras se diluyeron 10:1 antes de depositarse en una celda de cuarzo para su análisis, y se utilizó agua desionizada ultrapura como referencia.

2.3.10. Pruebas magnéticas

Las propiedades de magnetización de las muestras se llevaron a cabo a 300 K usando un magnetómetro de muestra vibrante (PPMS-VSM, diseño cuántico). La magnetización de saturación (M_s), magnetización remanente (M_r) y la coercitividad (H_c) de las muestras se midieron con un campo magnético aplicado máximo de 70,000 Oe. Las muestras se liofilizaron previamente.

En el protocolo para la obtención de las curvas enfriadas a campo cero (ZFC por sus siglas en inglés), primero se disminuye la temperatura por debajo de la temperatura ambiente al mínimo posible (2 K), luego se midió el momento magnético con el aumento de la temperatura sin la presencia de un campo. Por otro lado, en el protocolo de las curvas enfriadas (FC por sus siglas en inglés), la muestra se somete a un campo y la temperatura se reduce al mínimo posible, después de lo cual el momento magnético se medirá de nuevo en función del aumento de la temperatura.

2.3.11. Difracción de rayos X

Los experimentos de Difracción de rayos X de la fase cristalina de las NPsFe₃O₄ se realizaron utilizando un difractómetro n-ray (Siemens D5005) y Cu-K_α ($\lambda = 1.5418$ Å). Los parámetros de las lecturas fueron: 40 kV y 30 mA con un rango de variación angular de 10 a 80° en 0.05° pasos/10 s.

2.3.12. Ensayos de citotoxicidad

El ensayo MTT es un ensayo colorimétrico para medir la actividad metabólica de las células. Se basa en la capacidad de las enzimas oxidoreductasas celulares para reducir el colorante MTT a su formazán, que tiene un color púrpura. Este ensayo, por lo tanto, mide la viabilidad celular en términos de actividad reductora como la conversión enzimática del compuesto de tetrazolio en cristales de formazán por las deshidrogenasas que se producen en las mitocondrias de las células vivas. Posteriormente se mide la absorbancia de este compuesto a 570 nm con un espectrofotómetro.

Las líneas celulares MDA-MB-231 y HeLa se usaron para los ensayos de citotoxicidad. Cada línea celular se sembró en placas de 96 pozos (Costar), se cultivó en medio DMEM (MDA-MB-231) y RPMI 1640 (HeLa) suplementado con suero fetal bovino al 10% junto con penicilina/estreptomicina al 1%, para crecer a 37 °C. C y 5% de CO₂. Una vez que las células alcanzaron la confluencia, se retiró el medio y se añadió medio nuevo. En cada prueba se añadió una de las siguientes concentraciones WX₀ (8×10⁹ NPs/ml) y WX₂ (1, 2, 4, 8×10⁹ NPs/ml). Los tiempos de exposición a los tratamientos fueron de 24 horas, y una vez transcurrido el tiempo de incubación, se evaluó el efecto citotóxico con el kit MTT (Sigma Aldrich).

Resultados y discusiones

2.4. Hidrogel nanoporoso con potencial aplicación biomédica

Muestra	PNIPAM	Quitosano
PC ₀	-	-
PC ₁ F	49	1
PC ₂ F	49	2
PC ₃ F	49	4

Tabla 1. Diseño experimental para el sistema PNIPAM-Qs

2.4.1. Caracterización estructural de las plataformas de PNIPAM-Qs por FT-IR

La Figura 12 muestra los espectros FT-IR de NIPAM nativo (A) y los hidrogeles PNIPAM (PC₀) (B). Los espectros manifestaron el éxito de la reticulación en la polimerización de NIPAM y Qs usando el método de los radicales libres. Se observó una banda de absorción cercana a 1640 cm⁻¹ correlacionada con la vibración de un carbonilo asociado al grupo amida del PNIPAM. Cerca de 3290 cm⁻¹ está presente una banda que se relaciona con los grupos amidas [193]. Alrededor de 1370 cm⁻¹ y 1390 cm⁻¹ es visible un doble pico relacionado con el grupo isopropilo del PNIPAM. También se observa un pico de 1450 cm⁻¹ relacionado con la flexión del grupo metilo (-CH₃). Alrededor de 1050 cm⁻¹ hay dos picos que corresponden a la flexión del (-CH₂) en la sección polimérica [194]. En la Figura 12 se pueden observar los espectros PC₁F(C), PC₂F (D) y PC₃F (E). El estiramiento del anillo de piranosa (-COC-) es el responsable del pico que se observa cerca de 1074 cm⁻¹ [195]. Este

pico está presente en muestras PC_1F , PC_2F y PC_3F . Este pico mostró que su intensidad era directamente proporcional a la cantidad de Qs que se utilizó en las muestras. Los espectros pusieron de manifiesto el éxito del proceso de reticulación en la polimerización de NIPAM y Qs mediante el método de los radicales libres. Además, en la Figura 12 se pueden observar los espectros del Qs modificado con isotiocianato de fluoresceína (G) y del nativo (F). Hay picos peculiares de piranosa, como el próximo a los 1085 cm^{-1} [195]. Sin embargo, los picos que pueden confirmar la presencia de fluoresceína fueron los cercanos a 1576 cm^{-1} y 1423 cm^{-1} , que están relacionados a los estiramientos del grupo carbonilo y con los anillos aromáticos C-C, pertenecientes a la estructura de la fluoresceína [194].

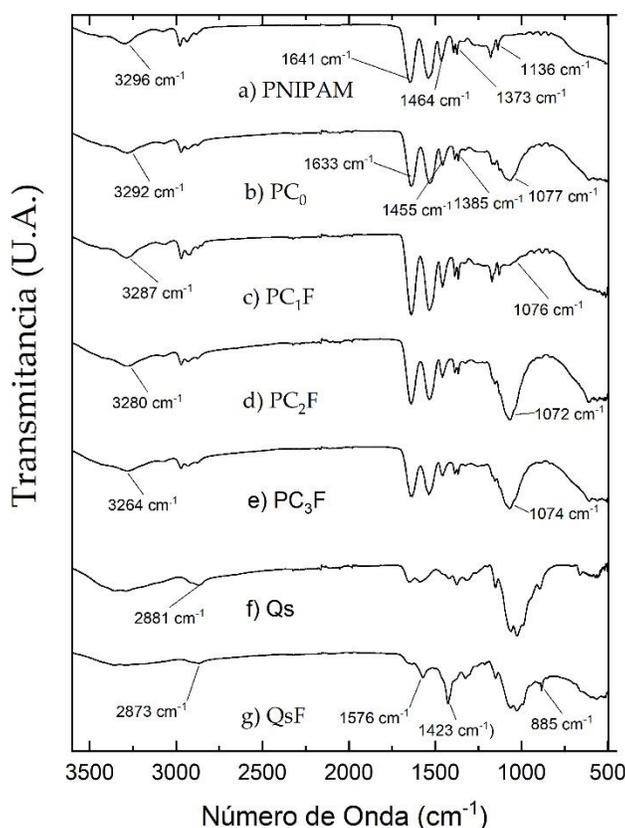


Figura 12. Espectros FT-IR de las muestras PNIPAM (A), PC_0 (B), PC_1F (C), PC_2F (D) y PC_3F (E), Ch nativo (F) y QsF (G).

2.4.2. Fotoluminiscencia de hidrogel

Los espectros de fluorescencia se presentan en la Figura 13. Todas las muestras de PNIPAM con QsF exhiben fluorescencia verdosa intensa alrededor de 530 nm bajo excitación a 450 nm. La fluorescencia máxima correspondió a la emisión de isotiocianato de fluoresceína en todas las muestras. La emisión debido a la fluoresceína aumenta de forma directa a la concentración de QsF usado en cada muestra, esto es un indicio de una correcta interpenetración del Qs en la matriz de PNIPAM.

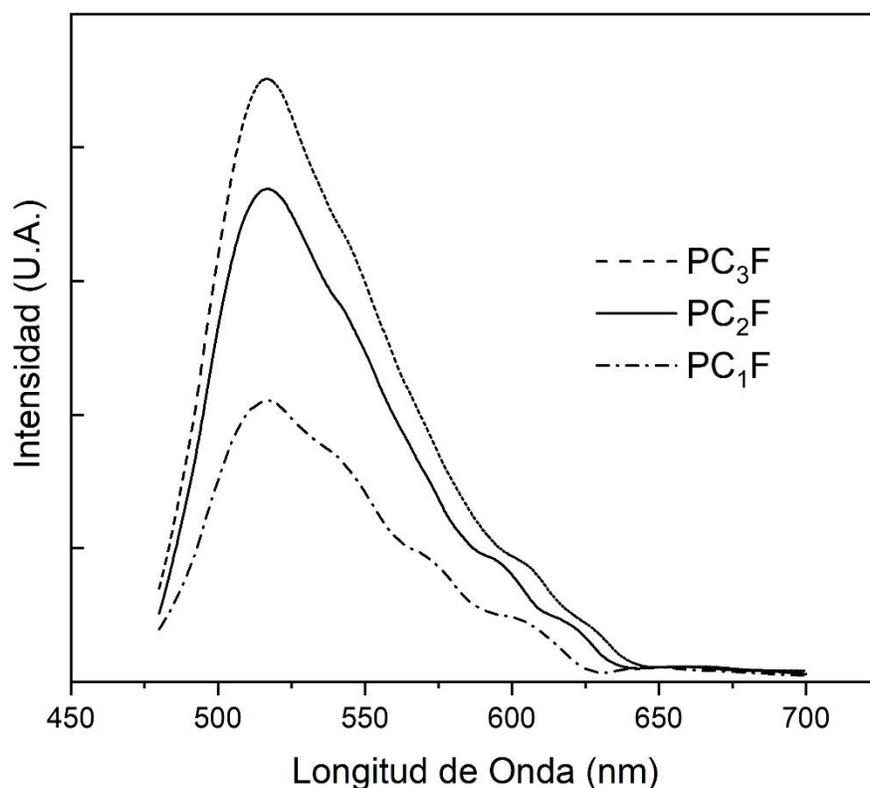


Figura 13. Espectros de fluorescencia de las muestras PC₁F, PC₂F y PC₃F.

2.4.3. Estudio cinético del hinchamiento

La Figura 14 muestra la cinética de hinchamiento en las muestras PC₁F, PC₂F y PC₃F al ser sumergidas en agua ultrapura a 25 °C. El porcentaje de hinchamiento aumenta con el tiempo hasta que se alcanza el valor límite. Este comportamiento fue causado por las bajas temperaturas (debajo de la LCST) presentadas en grupos hidrófilos (N-H y C=O) del PNIPAM. Esto permitió la formación de enlaces de hidrógeno con moléculas de agua que contribuyeron favorablemente para que la energía libre de mezcla fuera negativa ($\Delta G_{mix} < 0$).

Se pudo observar que la hinchabilidad aumentó con el incremento de la relación molar a favor del Qs. Esto reveló un máximo en la muestra PC₃F al alcanzar el 714% de incremento en el peso de la muestra. A medida que la relación molar aumentaba a favor del Qs, el número de grupos de NH₂ en la muestra aumentaba. Los grupos hidrófilos que aumentaron el número de moléculas de agua fueron capturados por el hidrogel. Aunque para la muestra PC₀, el hinchamiento aumentó hasta el 436%. Esto confirmó la importante contribución del NH₂ de las cadenas de Qs. Los grupos NH₂ son susceptibles de cambiar a su forma protonada (-NH₃) en condiciones ácidas. Este cambio aumentó su capacidad de retener agua mediante la formación de puentes de hidrógeno ya que existe un mayor número de sitios disponibles para interactuar con las partículas de agua del medio.

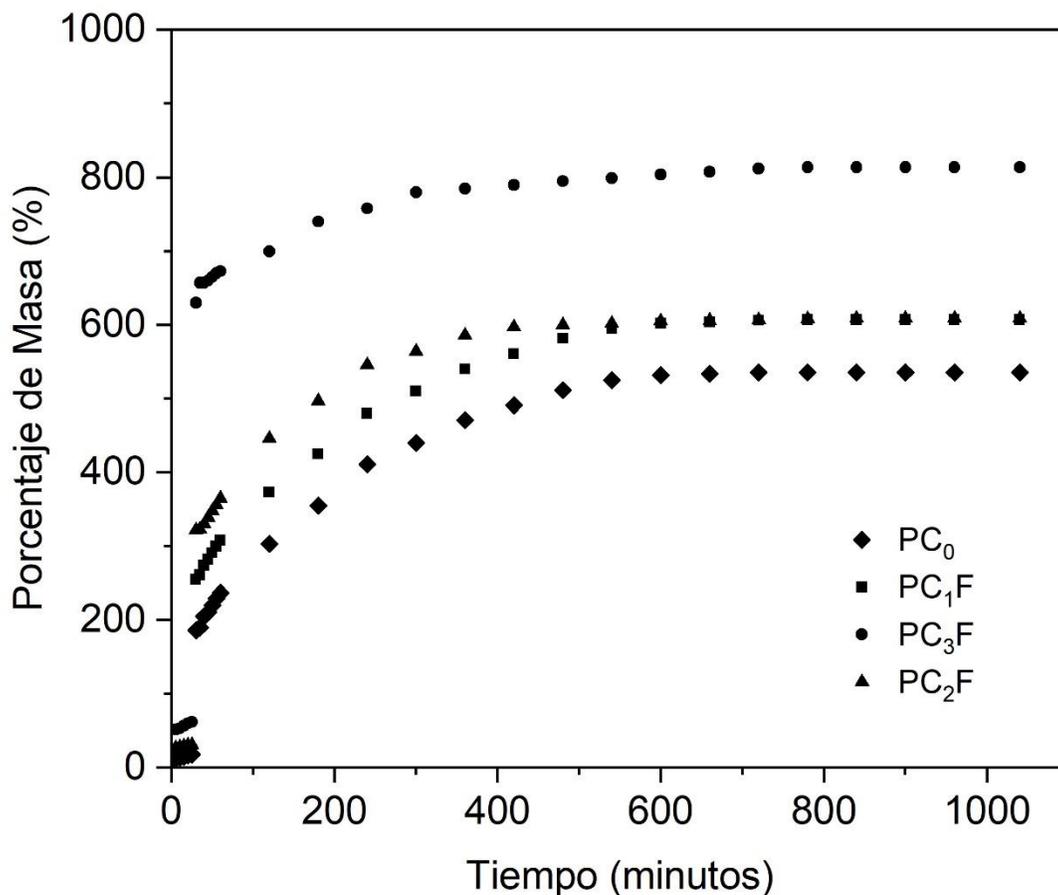


Figura 14. Hinchamiento de las muestras PC₀ (◆), PC₁F (■), PC₂F (▲) y PC₃F (●).

El análisis cinético de hinchamiento se llevó a cabo utilizando dos modelos para determinar el mecanismo de absorción de agua en el hidrogel polimérico. En la Figura 15 (a-c) se puede observar la ecuación de la ley de potencia (Modelo 1) sobre datos experimentales. Se observa que la ecuación describe bastante bien la cinética de hinchamiento para valores de $M_t/M_\infty < 0.60$. Sin embargo, no se logró una buena correspondencia con valores mayores. Aunque en la Figura 15 parte (d), donde el perfil de hinchamiento experimental correspondía al sistema polimérico con mayor absorción de agua, se puede observar una buena correlación del Modelo 1. Este resultado podría deberse a la rápida absorción de agua en comparación con los otros sistemas poliméricos analizados, que alcanzan alrededor del 80% de hinchamiento en los primeros 40 min.

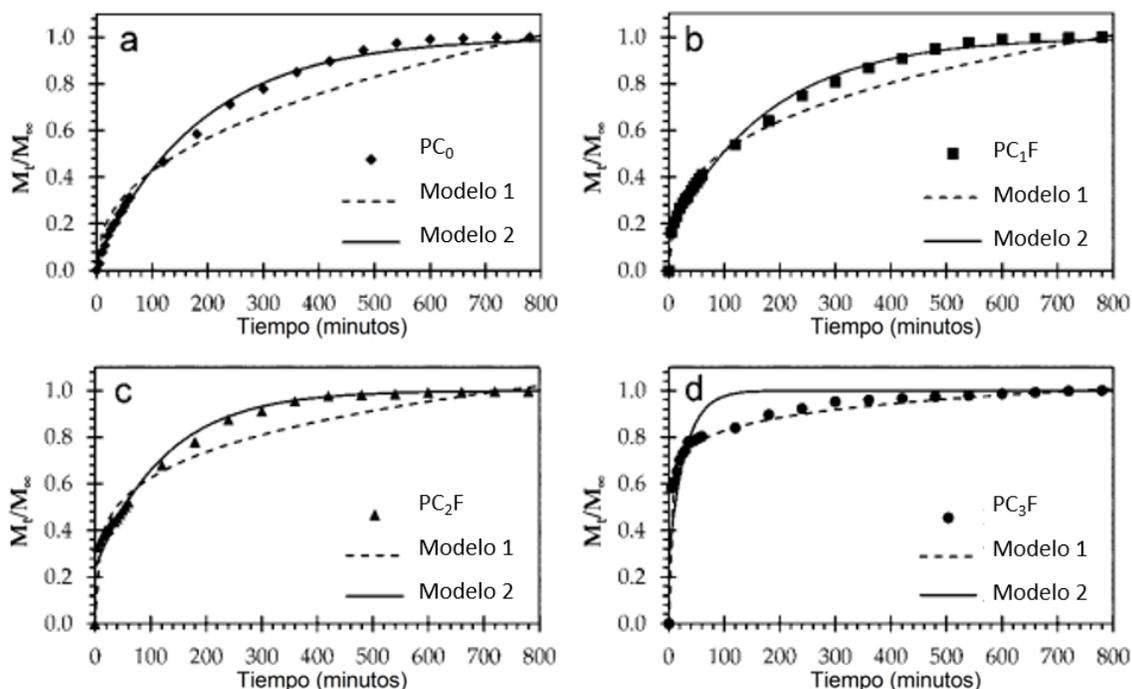


Figura 15. Perfiles de hinchamiento experimentales y teóricos para los diferentes polímeros analizados. (a) PC_0 (◆), (b) PC_1F (■), (c) PC_2F (▲) y (d) PC_3F (●). En todos los análisis, la línea de trazos y la línea continua representan el ajuste a los datos experimentales del Modelo 1 y el Modelo 2, respectivamente.

En la Tabla 2 se presentan los valores de los parámetros del Modelo 1, donde se observa un aumento del factor frontal de la proporción de hinchamiento en función de la relación molar de Qs en el hidrogel. El exponente de hinchamiento n para todos los hidrogeles sigue una tendencia a disminuir a medida que la proporción molar de Qs aumenta en el hidrogel. Los valores n obtenidos de la adaptación del Modelo 1 fueron inferiores a 0.5. Esto podría significar que la tasa de penetración de agua estaba por debajo de la tasa de relajación de la cadena de polímeros [196], [197]. La solución de la ecuación diferencial de Berens-Hopfen-berg (Modelo 2) se utilizó para mejorar los coeficientes de determinación del Modelo 1, especialmente para las muestras de PC_0 , PC_1F , y PC_2F . El modelo 2 considera la relajación de las

cadena polimérica del hidrogel. Como resultado, se logró una buena correspondencia con los datos, como se puede observar en la Figura 15 (a-c). En la Figura 15 (d), se observó una mala correspondencia con los datos experimentales, que podría deberse a la misma rápida absorción de agua descrita anteriormente en el Modelo 1. En la tabla 1 se observa que la constante A disminuye y la tasa de relajación crece a un ritmo constante de k_2 a medida que aumenta la proporción molar del Qs. Estos resultados significan que la tasa de relajación del hidrogel aumentó con la cantidad de Qs acoplado al PNIPAM.

Tabla 2. Parámetros de hinchamiento de los diferentes polímeros analizados. Los parámetros fueron determinados y utilizados en el desarrollo matemático del modelo 1 y el modelo 2.

Muestra	Modelo 1			Modelo 2		
	k_1 (min ⁻¹)	n	R^2	A	k_2 (min ⁻¹)	R^2
PC ₀	0.0636	0.4134	0.9748	0.9635	0.0053	0.9986
PC ₁ F	0.1140	0.3259	0.9838	0.8498	0.0055	0.9948
PC ₂ F	0.2115	0.2353	0.9790	0.7617	0.0080	0.9854
PC ₃ F	0.5357	0.0944	0.9931	0.7177	0.0337	0.9092

2.4.4. El efecto del pH en la hinchabilidad del hidrogel

Para examinar la respuesta del pH de estos hidrogeles, el grado de hinchamiento se obtuvo a valores de pH de 3, 4, 5, 6 y 7 (Figura 16). A partir de los valores de hinchamiento, se puede ver que la concentración de Qs influyó en la respuesta del pH. El valor del grado de hinchamiento disminuyó considerablemente al pH básico y aumentó al pH ácido. Los resultados muestran que a pH 3 todos los hidrogeles que

contienen Qs exhibieron altos valores de porcentaje de hinchamiento en comparación con aquellos con pH 6 y pH 7. Podría considerarse que la alta sensibilidad del pH fue inducida principalmente por el Qs, e cual es una base débil con un pK_a intrínseco de 6.5 [198], lo que significa que las redes poliméricas se hincharon con valores de pH bajos debido a la protonación de los grupos amina. Esta protonación dio un incremento en la repulsión electrostática entre las cadenas y produciendo a la vez un mayor hinchamiento del material. Cuando el nivel de pH aumento, el grupo amino se desprotonó. La repulsión de las cadenas poliméricas disminuyó lo que permitió una contracción neta. Por otro lado, la muestra de PNIPAM puro muestra una importante disminución de la hinchabilidad asociada a la falta de grupos hidrofílicos como los grupos aminos (NH_2). Por lo anterior se confirmó la influencia de los grupos hidrofílicos en los casos de las muestras PC_1F , PC_2F y PC_3F , en las que se observó un aumento significativo de la hinchabilidad.

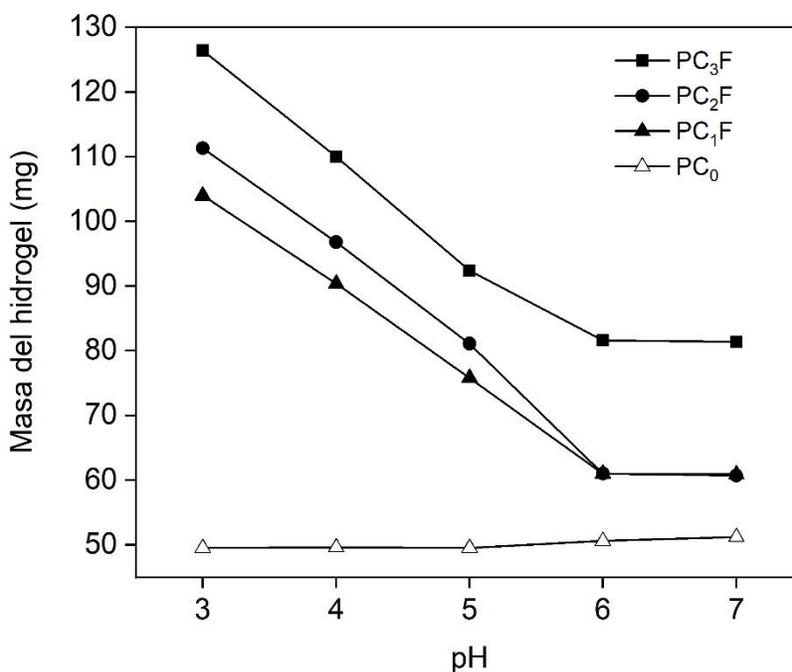


Figura 16. Valores de peso a diferentes pH para muestras PC_0 (Δ), PC_1F (\blacktriangle), PC_2F (\bullet) y PC_3F (\blacksquare).

2.4.5. Evaluación de la LCST por DSC

En la Figura 17, se muestran los termogramas de calentamiento obtenidos por DSC de todas las muestras (PC_0 , PC_{1F} , PC_{2F} y PC_{3F}) hinchadas en agua ultrapura durante 48 horas. La LCST se determinó por el punto máximo de la curva en comparación con la línea base en el rango de transición [199], [200]. El análisis de DSC que corresponde a la muestra PC_0 exhibió un pico endotérmico de alrededor de 33 °C. Esta transición fue causada por la ruptura de los enlaces de hidrógeno entre los grupos (C=O) y (-NH) del PNIPAM y las moléculas de agua de los alrededores [201]. Los valores reportados de la LCST de PNIPAM [83], [202] y el valor experimental de LCST coinciden alrededor de 33 °C. Se puede observar una transición endotérmica causada por grupos carbonilo y amina al romper los puentes de hidrógeno con el agua para la muestra de PNIPAM nativo (PC_0). Los datos de DSC para las muestras PC_{1F} , PC_{2F} y PC_{3F} se muestran en la Figura 17. Para las muestras PC_{2F} y PC_{3F} , notamos que el valor de LCST no se modificó para estas concentraciones de Qs. Mientras tanto, el valor de la LCST cambió en la muestra PC_{1F} con una temperatura de 34 °C para la transición hinchado / colapsado. Esta modificación (en PC_{1F}) se asoció con los grupos de aminas (NH_2) aportados por el Qs. Estos grupos interactúan con el agua a través de enlaces de hidrógeno, por lo que se necesita un mayor suministro de energía para romper estos enlaces de hidrógeno. Por otro lado, la no modificación de la LCST en las muestras PC_{2F} y PC_{3F} se asoció con el hecho de que la relación molar era muy alta a favor del Qs. Esto resultó en un comportamiento de Qs predominante sobre el PNIPAM. Varios autores informaron la copolimerización de N-isopropilacrilamida y reactivo reticulante como N, N-Bisacrilamida dentro de una matriz polimérica, que da como resultado una copolimerización de interpenetración completa cerca de las cadenas de Qs [203][192].

Al calcular los valores para ΔS en las temperaturas donde inicia y termina la transición (ΔS_{T1} y ΔS_{T2}) observamos que los valores después de la transición son

menores, esto se atribuye a un acomodo más ordenado de las cadenas poliméricas que intentan no tener contacto con el medio acuoso. Si comparamos PC₀ con PC₁F observamos que ΔH aumenta, esto debido al aporte de grupos hidrofílicos causado por el Qs. Se requiere una cantidad mayor de calor para romper una mayor cantidad de puentes de hidrogeno. Este comportamiento se mantiene en PC₂F el cual también aumenta su ΔH en respuesta a una mayor cantidad de Qs en el sistema. Al analizar PC₃F no observamos el mismo efecto, su ΔH decrece, esto refuerza la hipótesis de que el Qs no se interpenetró completamente en la red polimérica causando agregados de Qs que no contribuyeron a la modificación de la LCST del PNIPAM. Con esto en mente, se sugiere un barrido entre las concentraciones molares utilizadas en PC₁F y PC₂F para lograr un aumento de LCST por encima de 34 °C.

Muestra	ΔS_{T1} (J/°C)	ΔS_{T2} (J/°C)
PC ₃ F	0.104	0.09
PC ₂ F	0.67	0.59
PC ₁ F	0.62	0.55
PC ₀	0.36	0.326

Tabla 3. Valores de ΔS en las temperaturas antes y después de la transición (LCST).

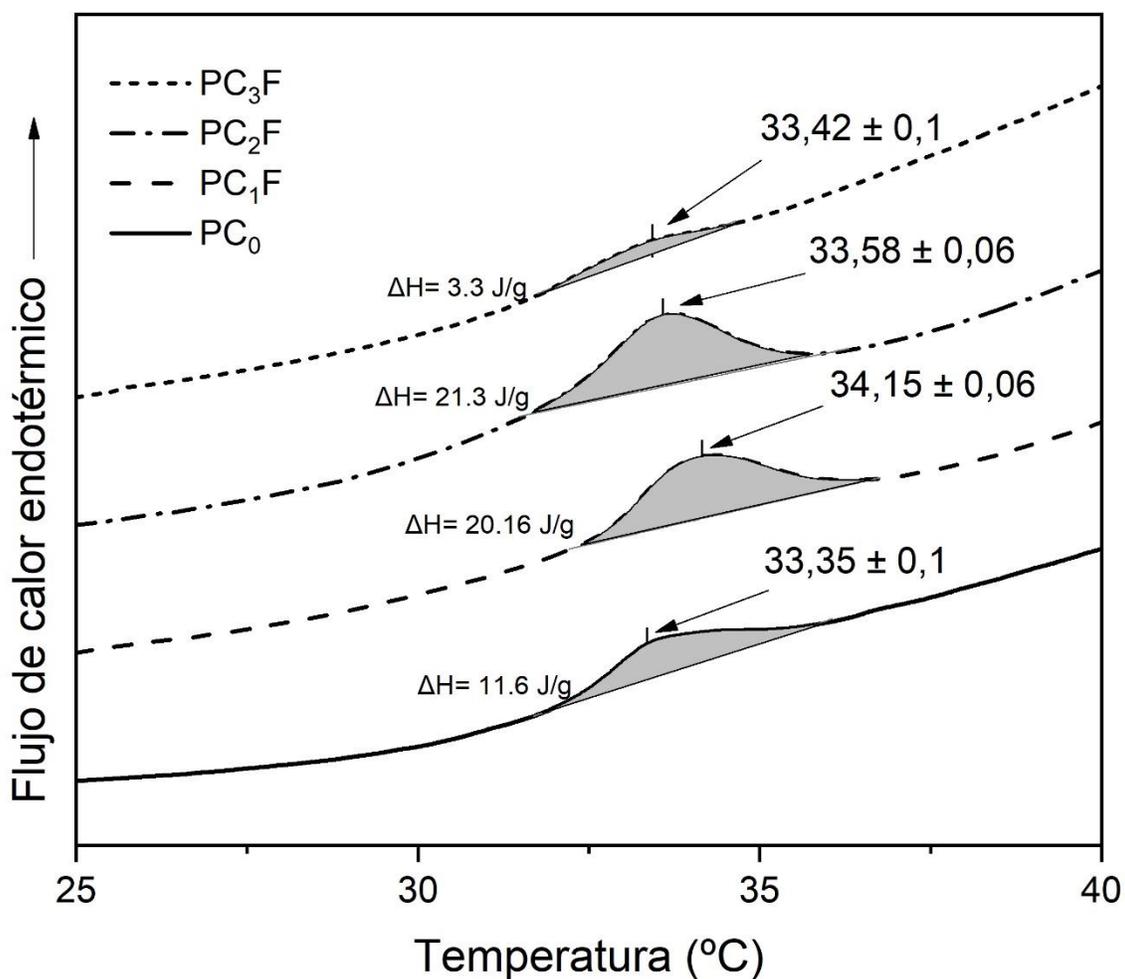


Figura 17. Diagramas de DSC de las muestras PC₀, PC₁F, PC₂F y PC₃F.

2.4.6. Morfología de los hidrogeles por microscopio electrónico de barrido (SEM)

La Figura 18 muestra las microfografías obtenidas por SEM para las muestras PC₀ (a), PC₁F (b), PC₂F (c) y PC₃F (d). La muestra PC₀ presenta poros un diámetro de $14.6 \pm 2.2 \mu\text{m}$. Se observa que un incremento en la relación molar a favor del Qs lleva a una disminución del tamaño de poro de los hidrogeles, obteniendo valores de tamaño de poro de $10.89 \pm 1.5 \mu\text{m}$ y $600 \text{ nm} \pm 100 \text{ nm}$, para las muestras PC₁F y PC₂F, respectivamente. Aunque la muestra PC₃F, que contiene la mayor cantidad

de Qs en la matriz de PNIPAM, presenta un diámetro medio poro de $27.1 \pm 1.9 \mu\text{m}$. Cabe señalar que el diámetro de los poros de los hidrogeles disminuye al aumentar el Qs que se encuentra completamente interpenetrado, esto hasta cierto límite cuando el resultado es contrario, aumentando el diámetro de los poros. Entonces, dentro del rango de proporciones molares evaluadas para NIPAM:Qs, la cantidad de Qs completamente interpenetrado podría ayudar a controlar el tamaño de poro del hidrogel. Se observa un aumento en la circularidad de las muestras de PNIPAM, PC_1F y PC_2F al aumentar la cantidad de Qs completamente interpenetrado, con valores de circularidad de 0.77 ± 0.03 , 0.85 ± 0.02 , 0.89 ± 0.03 , respectivamente. Por otra parte, la muestra PC_3F muestra un efecto contrario, al disminuir la circularidad a 0.79 ± 0.03 . Este efecto podría estar relacionado con el aumento del diámetro de sus poros.

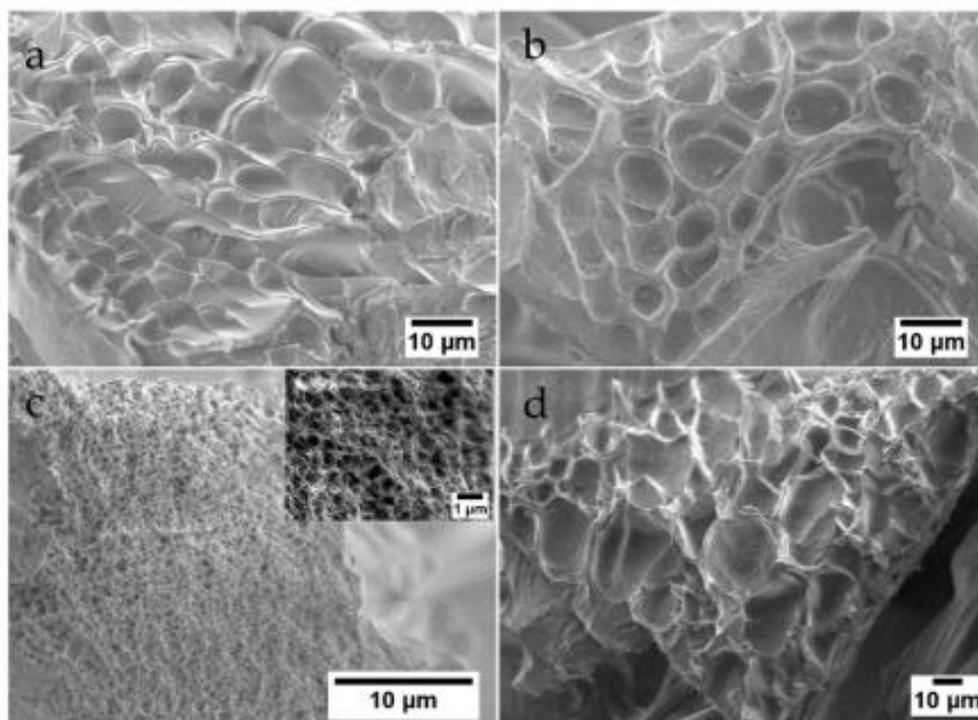


Figura 18. Micrografías de SEM correspondientes a las muestras PC_0 (a), PC_1F (b), PC_2F (con inserto a escala de $1 \mu\text{m}$) (c) y PC_3F (d).

2.5. Nanoplateforma Magnetita@PNIPAM con potencial aplicación biológica

Muestra	NIPAM	NPsFe ₃ O ₄
NPsFe ₃ O ₄	-	-
W _{X0}	8	0
W _{X1}	8	1
W _{X2}	8	2
W _{X3}	8	4

Tabla 4. Diseño experimental para el sistema PNIPAM-Qs

2.5.1. Estructura cristalina y morfología de las NPsFe₃O₄

El patrón de Difracción de rayos X de las NPsFe₃O₄ sintetizadas se muestran en la Figura 19 (A) coincide con los valores 2θ y el plano preferencial de crecimiento, como la tarjeta cristalográfica correspondiente con Fe₃O₄ (PDF # 75-0033) (Figura 19 (B)). La morfología de los NPsFe₃O₄ recubiertos con ácido oleico se observa mediante una micrografía TEM en la Figura 20, que revela un ligero indicio de agregación de las NPsFe₃O₄ individuales. La agregación aparece debido a sus propiedades magnéticas intrínsecas. La micrografía muestra evidencia de formas semicúbicas con un tamaño promedio de menos de 9 nm. Su superficie hidrofóbica y su pequeño tamaño son características esenciales que benefician su incorporación a una matriz PNIPAM. El tamaño de la nanoplateforma es un atributo importante, ya que existen correlaciones de tamaño y potencial de calentamiento en las NPs de óxido de hierro; una baja aglomeración y un tamaño de partícula más pequeño aumentan sus características magnéticas[204].

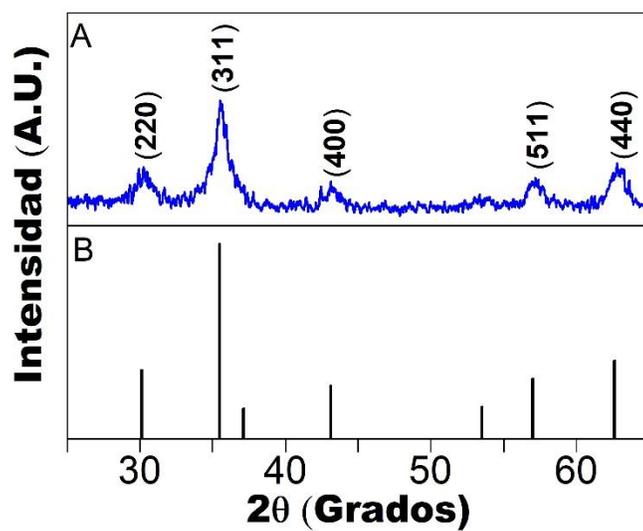


Figura 19. (A) Patrón de Difracción de rayos X de las NPsFe_3O_4 y (B) valores 2θ de la tarjeta cristalográfica correspondiente con Fe_3O_4 (PDF # 75-0033).

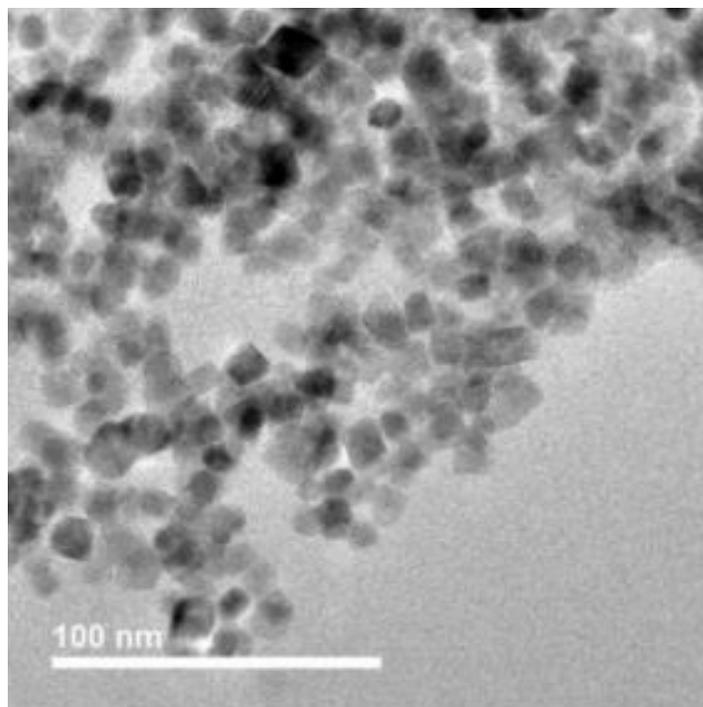


Figura 20. Morfología de las muestras NPsFe_3O_4 recubiertas con ácido oleico por microscopía electrónica de transmisión.

2.5.2. Polimerización in situ de NIPAM en NPsFe₃O₄(Fe₃O₄@PNIPAM)

El potencial ζ de las NPsFe₃O₄ después del proceso de funcionalización es de alrededor de -33 mV (Figura 21 (A)). El potencial ζ negativo se debe a los grupos carboxilos presentes en el ácido oleico; esto coincide con trabajos anteriores [205], [206]. El FT-IR corrobora la presencia de un ácido carboxílico; se observa el típico estiramiento del C=O, situado alrededor de 1560 cm⁻¹. El espectro también confirmó la presencia de las bandas de ácido oleico más representativas (Figura 22 (A)). Las bandas características del C-H₂ de la cadena de ácido oleico hidrofóbico aparecen en 2916 cm⁻¹, 2850 cm⁻¹ y 721 cm⁻¹ asociadas con su estiramiento asimétrico, su estiramiento simétrico y su balanceo, respectivamente. Así mismo, en la vecindad de 3000 cm⁻¹ aparece un pico relacionado con el estiramiento de C-H. El espectro muestra las bandas de absorción cercanas a 550 cm⁻¹ que están asignadas al modo de estiramiento del Fe-O (Figura 22 (A)), y el espectro UV- Vis muestra una absorción a 380 nm (Figura 23 (A)), que ha sido asociada con las NPsFe₃O₄ en trabajos anteriores [207], [208]. Los datos anteriores confirman la correcta incorporación superficial del ácido oleico en la superficie de la Fe₃O₄. Gracias a la estabilización del ácido oleico, la plataforma puede utilizarse ampliamente como portador de medicamentos biocompatibles o como precursor de nanomateriales de múltiples componentes [209], [210].

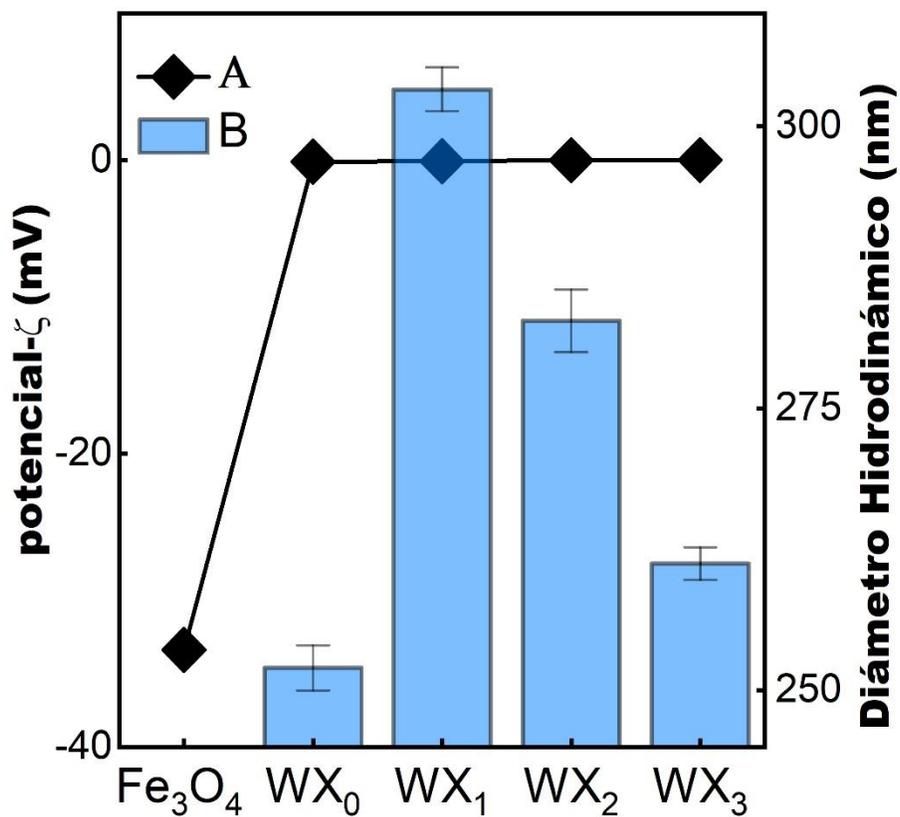


Figura 21. (A) DLS y (B) mediciones de potencial ζ para las muestras NPsFe_3O_4 , WX_0 , WX_1 , WX_2 y WX_3 . Las barras simbolizan los diámetros hidrodinámicos, y los potenciales ζ están representados por punto. Evolución del promedio de diámetros hidrodinámicos en función de la concentración de NPsFe_3O_4 .

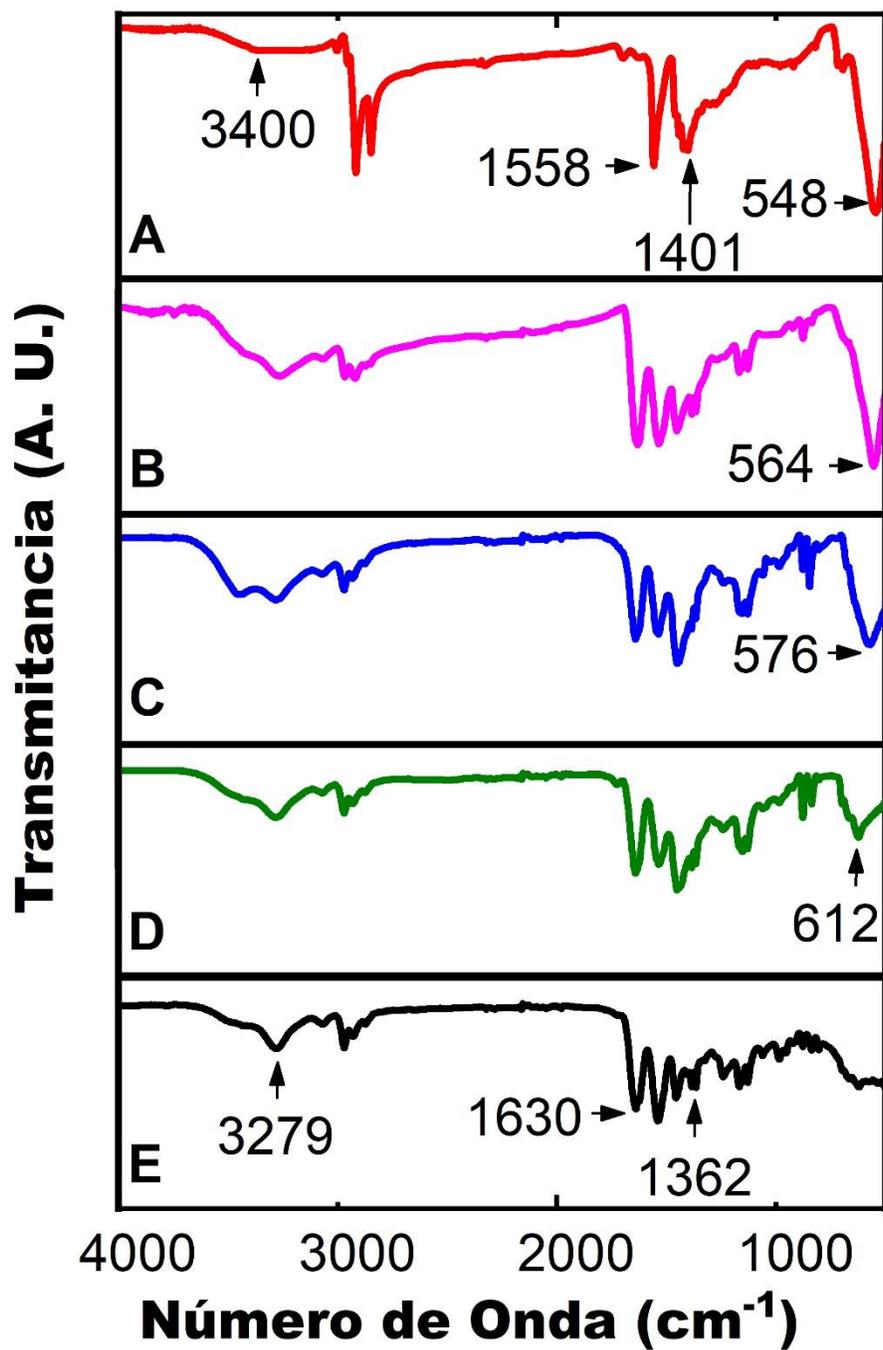


Figura 22. Espectros FT-IR de polvo secado al vacío de (A) NPsFe₃O₄, (B) WX₃, (C) WX₂ (D) WX₁ y (E) WX₀. Recolectado sobre el rango de número de onda de 4,000 a 500 cm⁻¹.

Los espectros de FT-IR demostraron el éxito de la reticulación en la polimerización de la NIPAM utilizando el método de los radicales libres (Figura 22 (E)). Se observó una banda de absorción de alrededor de 1630 cm^{-1} , que se correlaciona con la vibración de un grupo carbonilo asociado al grupo amida del PNIPAM. Cerca de 3280 cm^{-1} , una banda relacionada con el estiramiento N-H está presente. En las proximidades de 1360 cm^{-1} y 1380 cm^{-1} , se observó un doble pico asociado al grupo isopropilo del PNIPAM. También se observó una señal a 1450 cm^{-1} asociada a la flexión del grupo metilo ($-\text{CH}_3$) del PNIPAM (Figura 22 (E)). Seguimos la banda de estiramiento del Fe-O en las muestras WX_1 , WX_2 y WX_3 (Figs. 4(B-D)), si se realiza una comparación entre las intensidades relativas de las bandas provenientes del PNIPAM y la banda del Fe-O podemos concluir que existe un aumento en su intensidad relativa directamente proporcional a la cantidad de NPsFe_3O_4 con respecto al PNIPAM. Del mismo modo, el espectro de absorción de las muestras WX_1 , WX_2 y WX_3 mostró la absorción observada previamente en las NPsFe_3O_4 , pero con una relación directa con la proporción Fe_3O_4 :NIPAM. Lo anterior es una prueba de que al añadir más NPsFe_3O_4 , se incorporan correctamente a la plataforma y no causan agregaciones de Fe_3O_4 en las muestras.

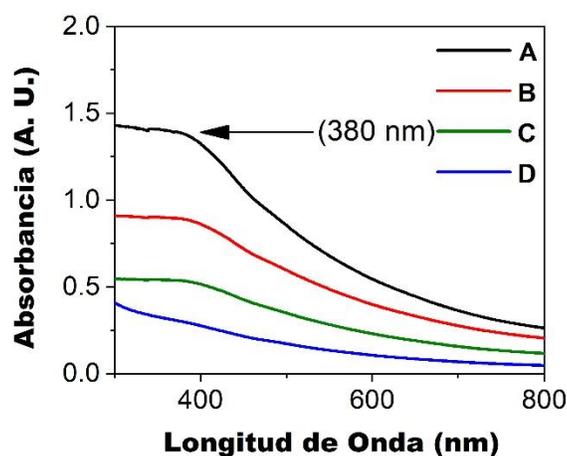


Figura 23. Espectros de UV-Vis de las muestras (A) NPsFe_3O_4 , (B) WX_3 , (C) WX_2 y (D) WX_1 . Efecto de concentración de Fe_3O_4 en síntesis sobre la absorbancia.

Realizamos un estudio sistemático de la evolución del potencial ζ de diferentes concentraciones de NPsFe_3O_4 para determinar si el PNIPAM influye en la carga superficial. Este estudio revela que la adición de PNIPAM a las NPsFe_3O_4 indujo un cambio dramático en el potencial ζ . Las mediciones del potencial ζ de las muestras WX_0 , WX_1 , WX_2 , y WX_3 mostradas en la Figura 21 (A) exhiben valores cercanos al punto isoeléctrico, no se observó ninguna precipitación o agregación incluso ocho semanas después de la preparación. Este resultado podría deberse a los efectos estéricos de las cadenas de polímeros PNIPAM. Bradley y García-Riseño sintetizaron el PNIPAM-co-DMAPMA@AuNps, informando de un potencial- ζ similar cercano a cero para un valor de pH de 6 [211]. Hubo una variación significativa en la carga superficial en todas las muestras de Fe_3O_4 @PNIPAM (WX_1 , WX_2 , y WX_3) sin diferencias significativas entre ellas. Al combinar los resultados de potencial- ζ con los de FTIR se puede asociar esta variación con una exitosa funcionalización del PNIPAM en la superficie de la Fe_3O_4 . El diámetro hidrodinámico de las muestras muestra un aumento inversamente proporcional a la concentración de Fe_3O_4 (Figura 21 (B)). Asimismo, la plataforma WX_2 presenta un DH de 283 ± 5 (Figura 21), comparado con la nanoplataforma reportada por Laurenti et al. que obtuvieron tamaños superiores a 600 nm [212]. La muestra WX_2 presenta claras ventajas por su potencial uso como vector de internalización celular de fármacos.

2.5.3. Evaluación LCST para Fe_3O_4 @PNIPAM

Para monitorizar la transición de las nanoplataformas inducida por la temperatura, establecimos una ventana de temperatura de 21 °C a 41 °C. El DLS midió el cambio de tamaño de las partículas. Todas las muestras mostraron una transición de fase discontinua sensible a la temperatura. A 21 °C, observamos tamaños promedio iniciales de 257, 295, 300 y 325 nm correspondientes a las muestras WX_0 , WX_1 , WX_2 y WX_3 respectivamente; este primer estado sugiere una estructura expandida debido a los enlaces de hidrógeno con las moléculas de agua (Figura 24). La

diferencia en el tamaño de las muestras corresponde al aumento de la concentración de NPsFe₃O₄. En este caso, es probable que el tamaño del núcleo de Fe₃O₄ aumento debido a una mayor disponibilidad de esta, manteniendo constante la concentración de NIPAM. El aumento de la temperatura provocó una disminución significativa del diámetro de las partículas cuando la temperatura estaba cerca de la LCST. Conforme la temperatura aumenta superando la LCST prevalece las interacciones hidrofóbicas, lo que conduce a una disposición más compacta. A 41 °C, las partículas exhibieron tamaños de 104, 113, 114 y 118 nm para WX₀, WX₁ WX₂ y WX₃ respectivamente. La temperatura del LCST fue de 33 °C para la muestra WX₀, lo que corresponde a trabajos anteriores [213], [214]. Sin embargo, todas las muestras con un núcleo de Fe₃O₄ muestran un cambio en su LCST a 31 °C. Atribuimos este cambio al hecho de que los segmentos hidrofóbicos pertenecientes al ácido oleico modifican la superficie de las NPs. Ya existen múltiples estudios sobre el desplazamiento del LCST por el anclaje de los grupos hidrofóbicos [215], [216].

Tomando en cuenta que la disminución en el diámetro hidrodinámico es debido al rompimiento de puentes de hidrogeno y por ende a un proceso endotérmico, proponemos que si calculamos el área bajo la curva de la grafica que representa la derivada del barrido de temperatura podemos obtener una comparación cualitativa de la ΔH que se da en la transición. Esto debido a que un mayor cambio de diámetro hidrodinámico significa un mayor rompimiento de puentes de hidrogeno, lo cual requiere una mayor cantidad de calor. Los valores obtenidos para las muestras WX₁ WX₂ y WX₃ muestran una tendencia a disminuir en función de la cantidad de NPsFe₃O₄ en la muestra, estos resultados nos permiten proponer que el AO con carácter hidrofóbico propician un arreglo más ordenado y por ende mas compacto que a su vez sea energéticamente mas estable. Esto concuerda tanto con las áreas bajo la curva y con los valores de DLS obtenidos, ya que una menor área bajo la curva significa una menor ΔH en el proceso.

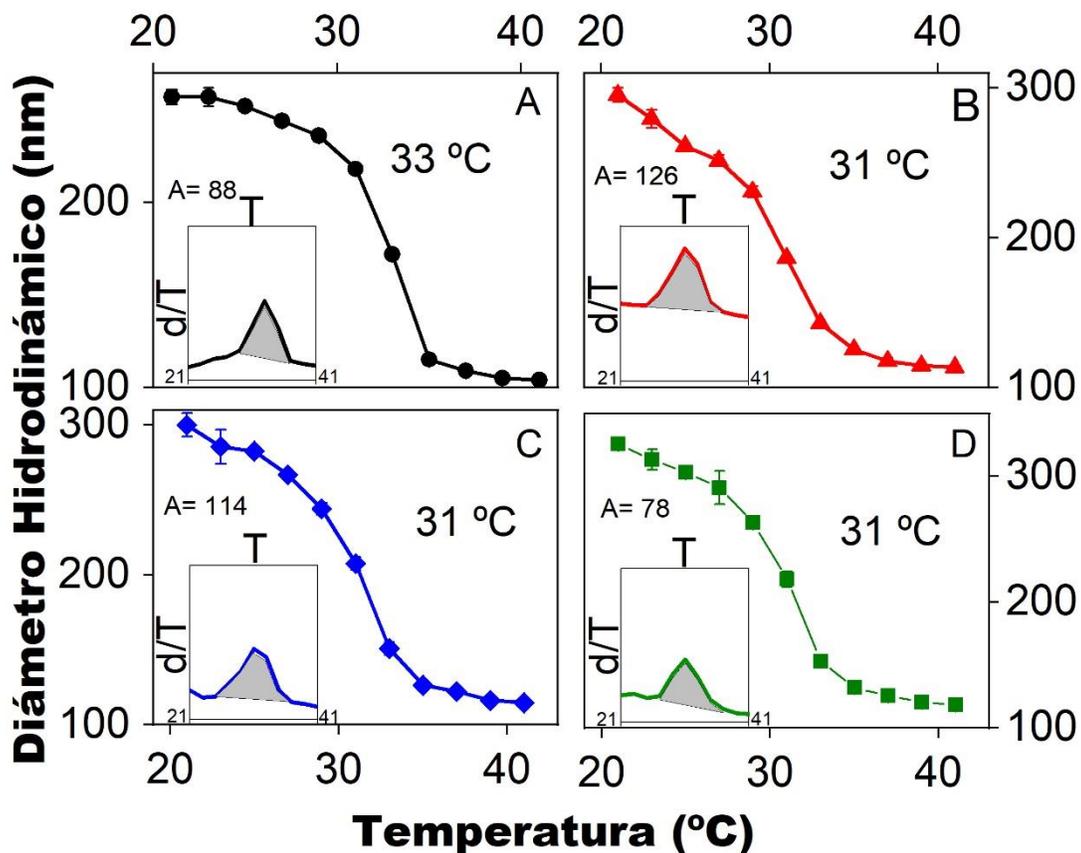


Figura 24. Una correlación entre las temperaturas y los tamaños de partícula de las muestras (A) WX₀, (B) WX₁, (C) WX₂ y (D) WX₃ en una solución acuosa (0.002 p/v%), según lo examinado por DLS. Los valores de temperatura se refieren a la transición de fase de volumen durante el calentamiento. La pequeña gráfica representa la variación en el tamaño en relación con la temperatura, evidenciando la LCST.

2.5.4. Análisis de la morfología de los sistemas Fe₃O₄@PNIPAM

Para analizar la forma y el tamaño de los nanocompuestos Fe₃O₄@PNIPAM se utilizó STEM. La Figura 25 ilustra que el sistema PNIPAM tienen un tamaño de alrededor de 220 nm y una morfología semi esférica. La micrografía también muestra que todos los nanocompuestos generalmente exhiben una forma

predominante similar a la estructura de los NPsPNIPAM. Se observa una estructura de núcleo que confirma lo que ya han sugerido las caracterizaciones anteriores. Las imágenes SEM revelan un núcleo de Fe_3O_4 y una envoltura de PNIPAM. La Figura 25 presenta el tamaño del núcleo, estas dimensiones sugieren que múltiples NPsFe_3O_4 se unen para formar una partícula más grande debido a las interacciones de la superficie y las condiciones de reacción durante la polimerización. A pesar de las similitudes morfológicas, hay una clara influencia en el tamaño de la concentración de NPsFe_3O_4 ; la concentración afectó al tamaño del núcleo. A pesar de este aumento se observó una correcta cobertura de la superficie, lo que se observó en las mediciones del potencial ζ . Los tamaños de la plataforma fueron de 58, 65 y 69 nm para WX_1 , WX_2 y WX_3 respectivamente. El menor tamaño en comparación con las partículas sin Fe_3O_4 se atribuye a la contracción de los grupos hidrofóbicos de ácido oleico que provoca variaciones en la tensión superficial y reduce la concentración crítica de micelar, lo que da lugar a que el Dodecil sulfato de sodio limite el crecimiento a un tamaño más pequeño. La muestra de WX_2 tiene una morfología bien definida, así como una capa polimérica claramente definida, que es una característica deseada en un uso potencial como vector de drogas. En comparación con el sistema planteado por Laurenti et al., que obtuvieron más núcleos dispersos [212], los núcleos de partículas en este estudio muestran una morfología más definida, causada por la mayor eficiencia de la coalescencia de las NPsFe_3O_4 . Además, el tamaño final de la partícula era más controlable (baja polidispersidad) y ajustable, debido al uso de SDS como surfactante.

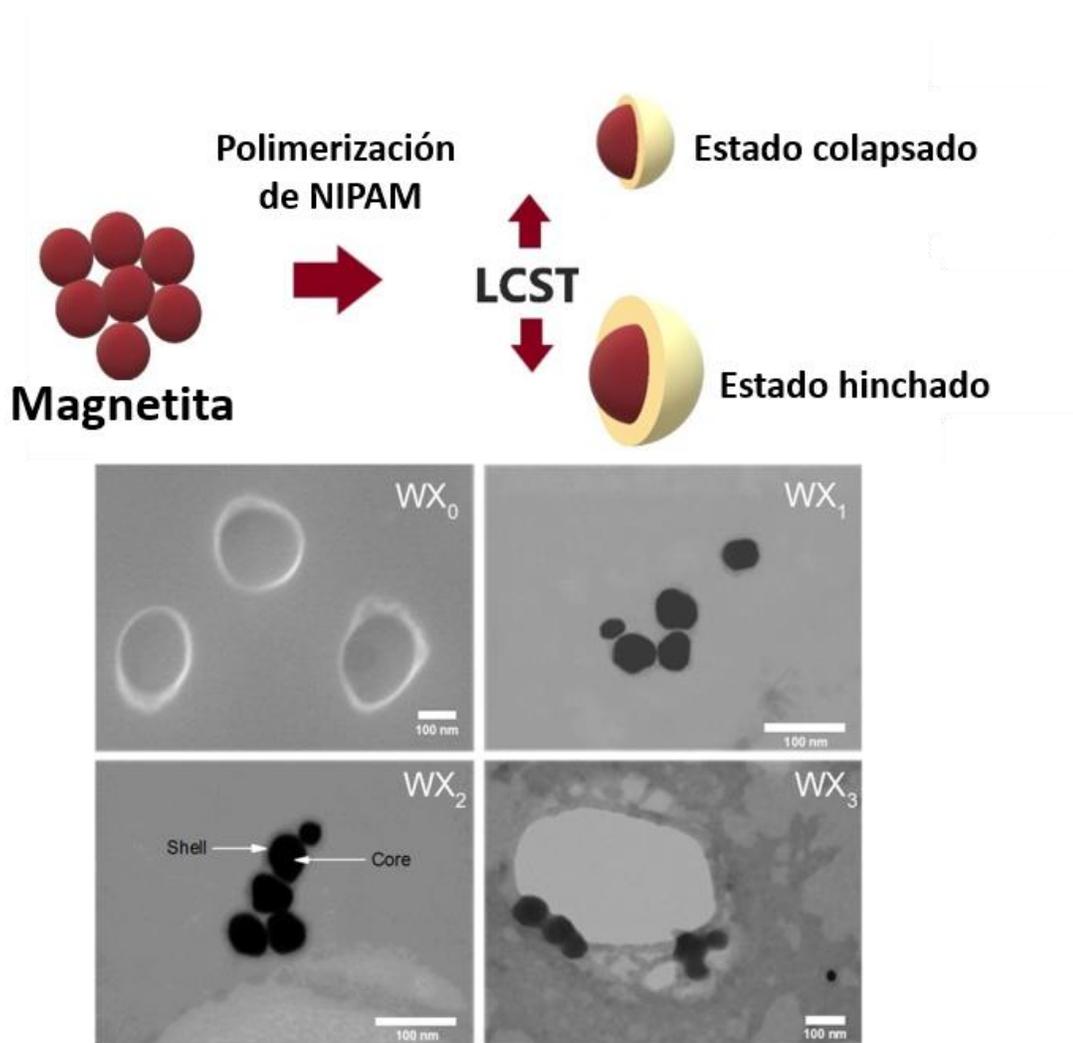


Figura 25. Evolución del tamaño promedio en función de la concentración de NPsFe_3O_4 . Micrografías obtenidas por SEM de WX_0 y STEM para muestras WX_1 , WX_2 y WX_3 (barra de escala = 100 nm).

2.5.5. Propiedades magnéticas

La Figura 26 presenta los bucles de histéresis de NPsFe_3O_4 , WX_1 , WX_2 , y WX_3 a 300 K. Está bien establecido que las propiedades magnéticas están fuertemente correlacionadas con el tamaño de las partículas [217], frecuentemente el

comportamiento superparamagnético se observa en partículas de alrededor de 10 nm [218].

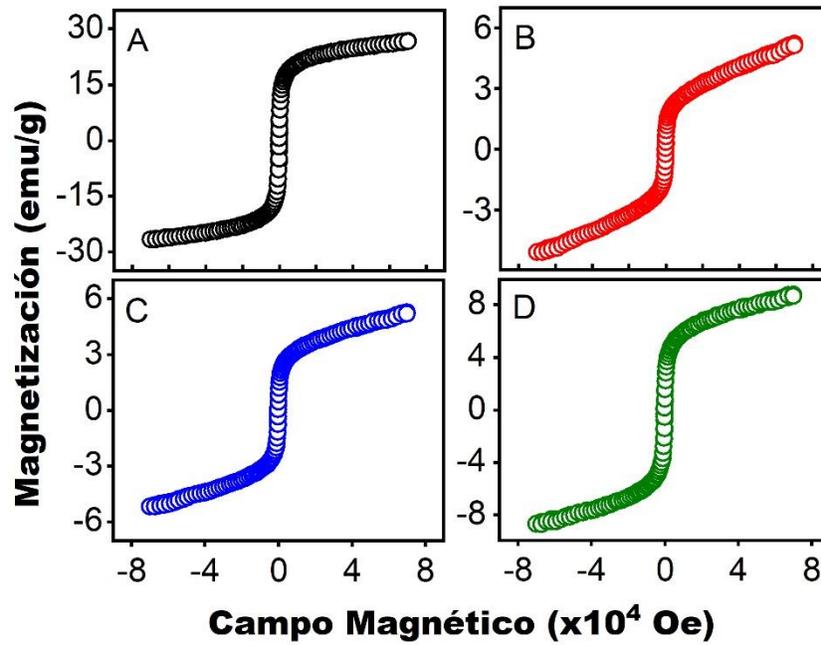


Figura 26. Curvas magnéticas a 300 K de las muestras (A) NPsFe_3O_4 , (B) WX_1 , (C) WX_2 y (D) WX_3 . Las curvas de histéresis se obtuvieron con un campo máximo de 7×10^4 Oe. Las muestras se secaron al vacío para analizarlas.

La Figura 27 muestra las curvas de enfriamiento campo cero y de enfriamiento a campo aplicado (ZFC y FC por sus siglas en inglés) de la magnetización en función de la temperatura de la apertura a un campo magnético constante de 100 Oe. La curva ZFC muestra un aumento en la magnitud de la magnetización a medida que la temperatura aumenta hasta un máximo, y luego comienza a disminuir. En la dirección favorable energéticamente, notamos un bloqueo de los espines, a temperaturas más bajas. Por lo tanto, el aumento progresivo de la magnetización en la curva ZFC corresponde a la relajación de los espines de las NPs sobre su barrera energética, la cual, en promedio, es superada por todos los giros del sistema magnético a la temperatura en la que la curva ZFC exhibe su máxima imantación

[219]. Hay irreversibilidad entre las curvas ZFC y FC, donde se observa un aumento de la magnetización de la curva FC hacia valores superiores al máximo de la curva ZFC. La irreversibilidad tiene lugar a partir de un valor aproximado de 270 K. Por lo tanto, dado el tamaño de partícula obtenido, se esperaba un comportamiento superparamagnético, el cual se observa claramente en la muestra de NPsFe_3O_4 , ya que no hay coercitividad, y a pesar del aumento de tamaño en las muestras WX_1 , WX_2 y WX_3 , se observa el mismo comportamiento. De estos resultados podemos concluir que el PNIPAM no afecta a las propiedades superparamagnéticas de las partículas de Fe_3O_4 . Este fenómeno permite concluir que era posible obtener nanocompuestos de Fe_3O_4 con matriz de PNIPAM mediante coprecipitación in situ, obteniendo así materiales multiresponsivo (campo magnético y temperatura) para posibles aplicaciones potenciales en el área biomédica.

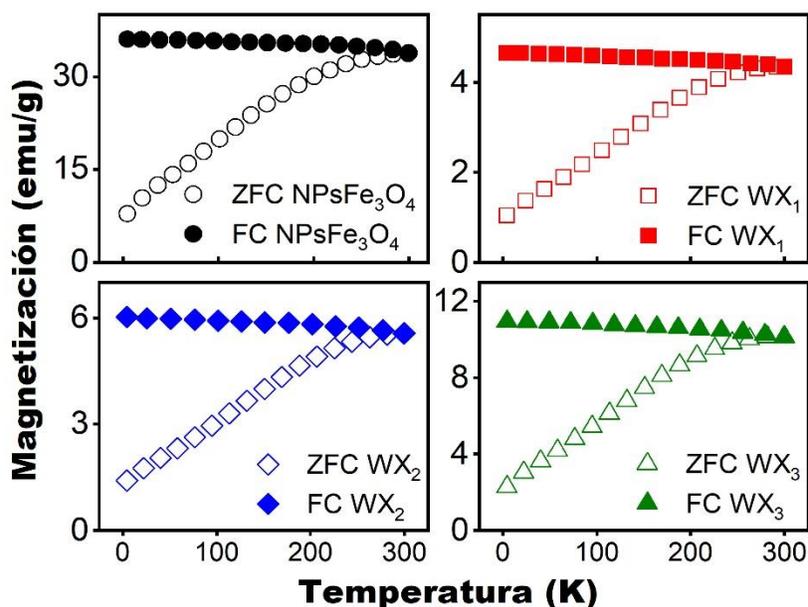


Figura 27. Magnetización frente a temperatura medida a 10 Oe. Curvas ZFC y ZC para las muestras NPsFe_3O_4 , WX_1 , WX_2 y WX_3 . Las muestras se secaron al vacío para analizarlas.

2.5.6. Ensayos de citotoxicidad de Fe₃O₄@PNIPAM

El ensayo biológico empleó dos líneas celulares diferentes (MDA- MB-231 y HeLa). Se utilizó una concentración de 8×10^9 NPs/ml de la muestra WX₀ y el ensayo MTT reveló una citotoxicidad no significativa para ambas líneas celulares. El conjunto de resultados indica una población saludable de células viables (Figura 28).

La ausencia de citotoxicidad de la matriz de polimérica es una propiedad deseable en las aplicaciones biomédicas, y estos resultados son coherentes con los informes anteriores que destacan la biocompatibilidad del PNIPAM [220]. En el presente estudio, seleccionamos la muestra WX₂ con estructura Fe₃O₄@PNIPAM. Aunque todas las muestras mostraron características deseables como morfología semi esférica, superparamagnetismo y un tamaño menor a 350 nm, la muestra WX₂ presenta una morfología bien definida en términos de su capa polimérica y una fuerte respuesta magnética, a pesar de no tener una alta cantidad de Fe₃O₄. Se utilizaron cuatro concentraciones de WX₂ (1, 2, 4 y 8×10^9 NPs/ml) para evaluar sus posibles efectos citotóxicos en las dos líneas celulares. La concentración máxima es la concentración a la que los NPs de PNIPAM no demostraron ninguna citotoxicidad (Fig. 10).

La norma ISO10993-5:2009 y la FDA indican que con una disminución de la viabilidad celular en un 30% (es decir, si la viabilidad celular es inferior al 70%) el material debe considerarse tóxico y, por lo tanto, no biocompatible [221], [222]. La concentración 8×10^9 NPs/ml de WX₂ debe considerarse tóxica para ambas líneas celulares teniendo en cuenta el error estadístico del análisis. En cambio, las concentraciones 1, 2, 4×10^9 NPs/ml de WX₂ muestran una viabilidad celular de ambas líneas celulares, que hace que las plataformas se consideren biocompatibles en dichas concentraciones.

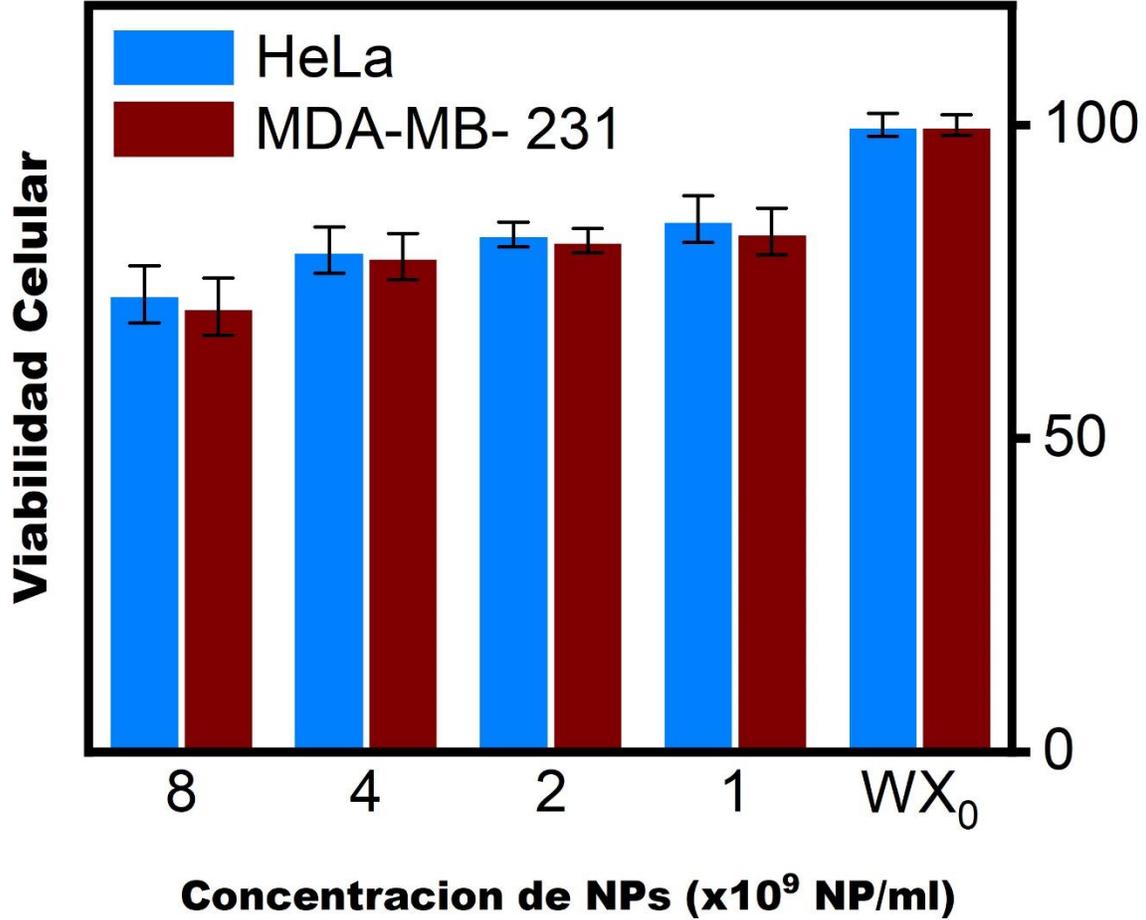


Figura 28. Ensayos MTT para muestras WX₀ (8×10^9 NPs / ml) y WX₂ a diferentes concentraciones (1, 2, 4 y 8×10^9 NPs / ml) para MDA-MB-231 y HeLa. Cada experimento se midió utilizando seis pocillos por concentración. Los resultados son la media \pm desviación estándar de cuatro experimentos independientes. La viabilidad del grupo de tratamiento se expresó como un porcentaje del grupo de control, que se consideró 100%.

3. Conclusiones

3.1. Hidrogel nanoporoso con potencial aplicación biomédica

Se evaluaron los efectos de las variaciones de la proporción molar del Qs-NIPAM en las propiedades del polímero PNIPAM-Qs-fluoresceína (pH y temperatura). Se demostró que el Qs estaba completamente interpenetrado en la matriz polimérica de PNIPAM. Por otra parte, se encontró una fuerte correlación de la cantidad de Qs en el polímero con respecto a la capacidad de hinchamiento. Esto se atribuye al aumento de las cadenas hidrofílicas de Qs en el sistema.

El Modelo 1 sugiere que la tasa de penetración del agua del hidrogel fue inferior a la tasa de relajación de la cadena del polímero, mientras que el Modelo 2 muestra que la tasa de relajación del hidrogel aumentó con la cantidad de Qs interpenetrado en la red de PNIPAM. Las redes poliméricas de Qs se hidrataron en los valores bajos de pH debido a la protonación de los grupos amina, promoviendo la absorción de agua en los sistemas poliméricos de PNIPAM-Qs.

El Qs completamente interpenetrado en las cadenas de PNIPAM puede modificar el LCST de los sistemas poliméricos. Se obtuvieron sistemas poliméricos con diferentes diámetros en sus poros, observando que la cantidad de Qs completamente interpenetrado podría ayudar a controlar el tamaño de poro hasta llegar a tamaños nanométricos.

Las propiedades intrínsecas de estos sistemas poliméricos y su capacidad para ser funcionalizadas según los requisitos específicos indican su gran potencial para ser utilizados como portadores de diferentes compuestos, como fármacos hidrofílicos o como matriz para embeber NPs con potenciales aplicaciones biomédicas.

3.2. Nanoplateforma Fe₃O₄@PNIPAM con potencial aplicación biológica

En esta investigación, contribuimos con una evaluación sistemática de los parámetros de síntesis de los nanocompuestos de Fe₃O₄@PNIPAM. Se ha logrado una comprensión más clara del papel que desempeñan los parámetros de síntesis en esta plataforma.

Las interacciones electrostáticas entre el monómero de NIPAM y la capa de ácido oleico permitieron que la superficie pudiera ser funcionalizada con el monómero y ser polimerizado y actuando como centros de nucleación. La polimerización del PNIPAM condujo a un importante cambio de tamaño y de potencial- ζ de las partículas. En los espectros de FTIR podemos seguir el aumento de la concentración de NPsFe₃O₄. De esta manera, confirmamos la funcionalización de la superficie de las NPsFe₃O₄ con PNIPAM. El análisis morfológico reveló una estructura del núcleo-coraza. Los sistemas de Fe₃O₄@PNIPAM desarrollados responden a estímulos magnéticos y de temperatura. Con una morfología esférica y un tamaño de 65 nm en estado deshidratado, la muestra WX₂ demuestra una respuesta magnética y térmica deseada. El cambio en su radio hidrodinámico indica la enorme capacidad de la muestra para transportar y liberar moléculas hidrófilas. Esta muestra tiene una capa de polímero bien definida, lo que permite su uso potencial como plataforma de carga y liberación de sistemas hidrófilos.

El comportamiento superparamagnético de las muestras, junto con su sensibilidad a la temperatura, indica que la plataforma puede ser dirigida y así realizar una liberación localizada. Se demostró que la muestra WX₂ en concentraciones de 1, 2 y 4×10⁹ NPs/ml es biocompatible, lo que confiere a la plataforma una característica necesaria para su posible uso como agente farmacológico. Las propiedades intrínsecas de los nanocompuestos sintetizados y su capacidad para ser personalizados de acuerdo con requisitos específicos indican un alto potencial para su uso como vehículos dirigidos de diferentes moléculas.

4. Bibliografía

-] Organización Mundial de la Salud, “Las 10 principales causas de defunción,” 2018. .
- [2] INEGI Instituto Nacional de Estadística y Geografía, “Características De Las Defunciones Registradas En México Durante 2017,” *Comun. Prensa Núm.* 525/18, pp. 1–60, 2018.
- [3] Centro Nacional de Equidad de Género y Salud Reproductiva, “Información Estadística Cáncer de Mama | Centro Nacional de Equidad de Género y Salud Reproductiva | Gobierno | gob.mx,” 2016. .
- [4] A. G. Waks and E. P. Winer, “Breast Cancer Treatment: A Review,” *JAMA - J. Am. Med. Assoc.*, vol. 321, no. 3, pp. 288–300, 2019, doi: 10.1001/jama.2018.19323.
- [5] Organización Mundial de la Salud, “Cáncer de mama: prevención y control,” *Organ. Mund. la Salud*, pp. 12–14, 2014.
- [6] M. D. Piroth *et al.*, “Heart toxicity from breast cancer radiotherapy: Current findings, assessment, and prevention,” *Strahlentherapie und Onkologie*, vol. 195, no. 1. Urban und Vogel GmbH, p. 1, Jan. 2019, doi: 10.1007/s00066-018-1378-z.
- [7] E. Chu and A. C. Sartorelli, “Cancer chemotherapy,” *Basic Clin. Pharmacol.*, vol. 10, pp. 878–907, 2004.
- [8] C. Zhao, R. Cheng, Z. Yang, and Z. Tian, “Nanotechnology for Cancer Therapy Based on Chemotherapy,” *Molecules*, 2018, doi: 10.3390/molecules23040826.
- [9] S. Mobasser and A. A. Firoozi, “Review of Nanotechnology Applications in Science and Engineering,” *J. Civ. Eng. Urban.*, vol. 6, no. 4, pp. 84–93, 2016.
- [10] K. Jensen, K. Kim, and A. Zettl, “An atomic-resolution nanomechanical mass sensor,” *Nat. Nanotechnol.*, vol. 3, no. 9, pp. 533–537, 2008, doi: 10.1038/nnano.2008.200.
- [11] L. Bassett, “Quantum Mechanics with Applications to Nanotechnology and Information ScienceQuantum Mechanics with Applications to Nanotechnology and Information Science , Yehuda B. Band and Yshai Avishai, Academic Press, 2013. \$126.00 (971 pp.). ISBN 978-0-444-53786-7 ,” *Phys. Today*, vol. 67, no. 7, pp. 50–50, 2014, doi: 10.1063/pt.3.2451.
- [12] P. Di Sia, *Mathematics and Physics for Nanotechnology*, no. April. 2019.
- [13] D. V. Talapin and E. V. Shevchenko, “Introduction: Nanoparticle chemistry,” *Chem. Rev.*, vol. 116, no. 18, pp. 10343–10345, 2016, doi: 10.1021/acs.chemrev.6b00566.
- [14] M. Madsen and K. V. Gothelf, “Chemistries for DNA Nanotechnology,” *Chem. Rev.*, vol. 119, pp. 6384–6458, 2019, doi: 10.1021/acs.chemrev.8b00570.
- [15] D. Astruc, “Introduction: Nanoparticles in Catalysis,” *Chem. Rev.*, vol. 120, no. 2, pp. 461–463, 2020, doi: 10.1021/acs.chemrev.8b00696.
- [16] M. G. De Moraes, V. G. Martins, D. Steffens, P. Pranke, and J. A. V. Da Costa, “Biological applications of nanobiotechnology,” *J. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 14, no. 1, pp. 1007–1017, 2014, doi: 10.1166/jnn.2014.8748.
- [17] O. V. Salata, “Applications of nanoparticles in biology and medicine,” *J. Nanobiotechnology*, vol. 2, pp. 1–6, 2004, doi: 10.1186/1477-3155-2-3.
- [18] X. Q. Liu and R. Z. Tang, “Biological responses to nanomaterials: understanding nano-bio effects on cell behaviors,” *Drug Deliv.*, vol. 24, no. 0,

- pp. 1–15, 2017, doi: 10.1080/10717544.2017.1375577.
- [19] I. Iavicoli, V. Leso, W. Ricciardi, L. L. Hodson, and M. D. Hoover, “Opportunities and challenges of nanotechnology in the green economy,” *Environ. Heal. A Glob. Access Sci. Source*, vol. 13, no. 1, pp. 1–11, 2014, doi: 10.1186/1476-069X-13-78.
- [20] V. A. Basiuk and E. V. Basiuk, “Green processes for nanotechnology: From inorganic to bioinspired nanomaterials,” *Green Process. Nanotechnol. From Inorg. to Bioinspired Nanomater.*, no. January, pp. 1–446, 2015, doi: 10.1007/978-3-319-15461-9.
- [21] M. T. Barako, V. Gambin, and J. Tice, “Integrated nanomaterials for extreme thermal management: A perspective for aerospace applications,” *Nanotechnology*, vol. 29, no. 15, 2018, doi: 10.1088/1361-6528/aaabe1.
- [22] J. A. Samareh and E. J. Siochi, “Systems analysis of carbon nanotubes: Opportunities and challenges for space applications,” *Nanotechnology*, vol. 28, no. 37, 2017, doi: 10.1088/1361-6528/aa7c5a.
- [23] M. Imran *et al.*, “Active food packaging evolution: Transformation from micro- to nanotechnology,” *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 50, no. 9, pp. 799–821, 2010, doi: 10.1080/10408398.2010.503694.
- [24] V. D. Krishna, K. Wu, D. Su, M. C. J. Cheeran, J. P. Wang, and A. Perez, “Nanotechnology: Review of concepts and potential application of sensing platforms in food safety,” *Food Microbiol.*, vol. 75, pp. 47–54, 2018, doi: 10.1016/j.fm.2018.01.025.
- [25] J. U. Okoli, T. A. Briggs, and I. E. Major, “Application of Nanotechnology in the Manufacturing Sector: a Review,” *Niger. J. Technol.*, vol. 32, no. 3, pp. 379–385, 2013.
- [26] I. Y. Wong, S. N. Bhatia, and M. Toner, “Nanotechnology: Emerging tools for biology and medicine,” *Genes Dev.*, vol. 27, no. 22, pp. 2397–2408, 2013, doi: 10.1101/gad.226837.113.
- [27] M. S. Ansari and P. Gupta, “Nano Technology for Computer Science: Scope and Opportunities,” *Int. J. Electornic Electr. Eng.*, vol. 7, no. 3, pp. 213–218, 2014.
- [28] L. S. Chaudhary, P. R. Ghatmale, and S. S. Chavan, “Review On: Application of Nanotechnology in Computer Science,” *Int. J. Sci. Res.*, vol. 5, no. 2, pp. 1542–1545, 2016, doi: 10.21275/v5i2.nov161529.
- [29] S. S. Jadhav and S. V. Jadhav, “Application of Nanotechnology in Modern Computers,” *2018 Int. Conf. Circuits Syst. Digit. Enterp. Technol. ICCSDET 2018*, pp. 1–6, 2018, doi: 10.1109/ICCSDET.2018.8821086.
- [30] B. Kaewkamnerdpong and P. Bentley, “Computer science for nanotechnology: Needs and opportunities,” *Proc. Fifth ...*, 2005, [Online]. Available: <http://www0.cs.ucl.ac.uk/staff/b.kaewkamnerdpong/bkpb-ipmm05.pdf>.
- [31] B. Kaewkamnerdpong, P. J. Bentley, and N. Bhalla, “Programming Nanotechnology: Learning from Nature,” *Adv. Comput.*, vol. 71, pp. 1–37, 2007, doi: 10.1016/S0065-2458(06)71001-4.
- [32] X. Huang *et al.*, “Photo-production of reactive oxygen species and degradation of dissolved organic matter by hematite nanoplates functionalized by adsorbed oxalate,” *Environ. Sci. Nano*, vol. 14, no. 2, pp. 73–74, 2020, doi: 10.1039/D0EN00365D.

- [33] X. Tan *et al.*, "Transition metal-Modified Ga₂O₃ Hierarchical Nanosheets as Efficient Photocatalysts for Degradation of Perfluorooctanoic Acid," *Environ. Sci. Nano*, 2020, doi: 10.1039/d0en00259c.
- [34] T. Lammel *et al.*, "Trophic transfer of CuO NPs from sediment to worms (*Tubifex tubifex*) to fish (*Gasterosteus aculeatus*): A comparative study of dissolved Cu and NPs enriched with a stable isotope tracer (⁶⁵Cu)," *Environ. Sci. Nano*, 2020, doi: 10.1039/d0en00227e.
- [35] O. P. Vilela Neto, "Intelligent computational nanotechnology: The role of computational intelligence in the development of nanoscience and nanotechnology," *J. Comput. Theor. Nanosci.*, vol. 11, no. 4, pp. 928–944, 2014, doi: 10.1166/jctn.2014.3446.
- [36] W. R. Smith, P. W. Hudson, B. A. Ponce, and S. R. Rajaram Manoharan, "Nanotechnology in orthopedics: A clinically oriented review," *BMC Musculoskelet. Disord.*, vol. 19, no. 1, pp. 1–10, 2018, doi: 10.1186/s12891-018-1990-1.
- [37] H. Priya James, R. John, A. Alex, and K. R. Anoop, "Smart polymers for the controlled delivery of drugs – a concise overview," *Acta Pharm. Sin. B*, vol. 4, no. 2, pp. 120–127, 2014, doi: 10.1016/j.apsb.2014.02.005.
- [38] D.-E. Lee, H. Koo, I.-C. Sun, J. H. Ryu, K. Kim, and I. C. Kwon, "Multifunctional nanoparticles for multimodal imaging and theragnosis," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 41, no. 7, pp. 2656–2672, 2012, doi: 10.1039/C2CS15261D.
- [39] J. U. Menon, P. Jadeja, P. Tambe, K. Vu, B. Yuan, and K. T. Nguyen, "Nanomaterials for photo-based diagnostic and therapeutic applications," *Theranostics*, vol. 3, no. 3, pp. 152–166, 2013, doi: 10.7150/thno.5327.
- [40] H.-J. Choi, "Semiconductor Nanostructures for Optoelectronic Devices," 2012, doi: 10.1007/978-3-642-22480-5.
- [41] G. C. Yi, *Semiconductor Nanostructures for Optoelectronic Devices: Processing, Characterization and Applications*, vol. 58. 2012.
- [42] H. Xu *et al.*, "Synthesis of high-purity silver nanorods with tunable plasmonic properties and sensor behavior," *Photonics Res.*, vol. 5, no. 1, p. 27, 2017, doi: 10.1364/PRJ.5.000027.
- [43] N. Pornsuwancharoen, P. Kittisut, N. Kitcharoen, and P. P. Yupapin, "Quantum memory using the multi-single-photons storage within a micro-waveguide system for security camera use," *Procedia Eng.*, vol. 8, pp. 200–206, 2011, doi: 10.1016/j.proeng.2011.03.037.
- [44] A. Ali *et al.*, "Synthesis, characterization, applications, and challenges of iron oxide nanoparticles," *Nanotechnol. Sci. Appl.*, vol. 9, pp. 49–67, 2016, doi: 10.2147/NSA.S99986.
- [45] D. Myers, *Surfaces, Interfaces, and Colloids*, vol. 4. 2003.
- [46] K. Alaqad and T. A. Saleh, "Gold and Silver Nanoparticles: Synthesis Methods, Characterization Routes and Applications towards Drugs," *J. Environ. Anal. Toxicol.*, vol. 6, no. 4, 2016, doi: 10.4172/2161-0525.1000384.
- [47] T. Klar, M. Perner, S. Grosse, G. von Plessen, W. Spirkl, and J. Feldmann, "Surface-plasmon resonances in single metallic nanoparticles," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 80, no. 19, pp. 4249–4252, 1998, doi: 10.1103/PhysRevLett.80.4249.
- [48] B. Reiser, L. González-García, I. Kanelidis, J. H. M. Maurer, and T. Kraus,

- “Gold nanorods with conjugated polymer ligands: Sintering-free conductive inks for printed electronics,” *Chem. Sci.*, vol. 7, no. 7, pp. 4190–4196, 2016, doi: 10.1039/c6sc00142d.
- [49] C. A. Quinto, P. Mohindra, S. Tong, and G. Bao, “Multifunctional superparamagnetic iron oxide nanoparticles for combined chemotherapy and hyperthermia cancer treatment,” *Nanoscale*, vol. 7, no. 29, pp. 12728–12736, 2015, doi: 10.1039/c5nr02718g.
- [50] K. T. Chaudhary, R. Qindeel, Saktioto, M. S. Hussain, J. Ali, and P. P. Yupapin, “Graphite thin film deposition using laser induced plasma,” *Procedia Eng.*, vol. 8, pp. 423–427, 2011, doi: 10.1016/j.proeng.2011.03.077.
- [51] J. Foggiano, “Chemical Vapor Deposition of Silicon Dioxide Films,” *Handb. Thin Film Depos. Process. Tech.*, pp. 111–150, 2009, doi: 10.1016/b978-081551442-8.50008-0.
- [52] S. V. Ahir, Y. Y. Huang, and E. M. Terentjev, “Polymers with aligned carbon nanotubes: Active composite materials,” *Polymer (Guildf.)*, vol. 49, no. 18, pp. 3841–3854, 2008, doi: 10.1016/j.polymer.2008.05.005.
- [53] T. Berthing, C. B. Sørensen, J. Nygård, and K. L. Martinez, “Applications of Nanowire Arrays in Nanomedicine,” *J. Nanoneurosci.*, vol. 1, no. 1, pp. 3–9, 2009, doi: 10.1166/jns.2009.001.
- [54] H. J. Higuera-Valenzuela *et al.*, “Novel two-stage method for the synthesis of silicon quantum dots embedded on ZnO matrix,” *Mater. Lett.*, vol. 228, pp. 157–159, 2018, doi: 10.1016/j.matlet.2018.05.115.
- [55] R. Lopez-Delgado *et al.*, “Solar cell efficiency improvement employing down-shifting silicon quantum dots,” *Microsyst. Technol.*, vol. 24, no. 1, pp. 495–502, 2018, doi: 10.1007/s00542-017-3405-x.
- [56] S. L. Yoon, “SELF-ASSEMBLY AND NANOTECHNOLOGY SELF-ASSEMBLY AND A Force Balance,” *Sensors (Peterborough, NH)*, pp. 50–225, 2008.
- [57] X. Ma and M. Shi, “Thermal Evaporation Deposition of Few-layer MoS₂ Films,” *Nano-Micro Lett.*, vol. 5, no. 2, pp. 135–139, 2013, doi: 10.1007/bf03353741.
- [58] J. F. Ashley, N. B. Cramer, R. H. Davis, and C. N. Bowman, “Soft-lithography fabrication of microfluidic features using thiol-ene formulations,” *Lab Chip*, vol. 11, no. 16, pp. 2772–2778, 2011, doi: 10.1039/c1lc20189a.
- [59] P. Iqbal, J. A. Preece, and P. M. Mendes, “Nanotechnology: The ‘Top-Down’ and ‘Bottom-Up’ Approaches,” *Supramol. Chem.*, 2012, doi: 10.1002/9780470661345.smc195.
- [60] T. Xia *et al.*, “Novel complex-coprecipitation route to form high quality triethanolamine-coated Fe₃O₄ nanocrystals: Their high saturation magnetizations and excellent water treatment properties,” *CrystEngComm*, vol. 14, no. 18, pp. 5741–5744, 2012, doi: 10.1039/c2ce25813g.
- [61] O. Tanomkiat, C. Kahattha, W. Pecharapa, and W. Techitdheera, “Sol-gel based deposition of TixV1-xO films for thermally controlled optical switching applications,” *Procedia Eng.*, vol. 8, pp. 232–236, 2011, doi: 10.1016/j.proeng.2011.03.043.
- [62] R. Esquivel *et al.*, “Poly(N-isopropylacrylamide)-coated gold nanorods mediated by thiolated chitosan layer: Thermo-pH responsiveness and optical properties,” *E-Polymers*, vol. 18, no. 2, pp. 163–174, 2018, doi: 10.1515/epoly-

- 2017-0135.
- [63] C. M. Patel, M. Chakraborty, and Z. V. P. Murthy, "Preparation of fenofibrate nanoparticles by combined stirred media milling and ultrasonication method," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 21, no. 3, pp. 1100–1107, 2014, doi: 10.1016/j.ultsonch.2013.12.001.
- [64] N. Ahmad, I. Ahmad, S. Umar, Z. Iqbal, M. Samim, and F. J. Ahmad, "PNIPAM nanoparticles for targeted and enhanced nose-to-brain delivery of curcuminoids: UPLC/ESI-Q-ToF-MS/MS-based pharmacokinetics and pharmacodynamic evaluation in cerebral ischemia model," *Drug Deliv.*, vol. 7544, pp. 1–20, 2014, doi: 10.3109/10717544.2014.941076.
- [65] Comisión Europea, "Recomendación de la Comisión de 18 de Octubre de 2011 relativa a la definición de nanomaterial," *D. Of. la Unión Eur.*, vol. 696/EU, no. 2005, pp. 275/38-275/40, 2011.
- [66] C. Buzea, I. I. Pacheco, and K. Robbie, "Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity," *Biointerphases*, vol. 2, no. 4, pp. MR17–MR71, 2007, doi: 10.1116/1.2815690.
- [67] G. Cao, *NANOSTRUCTURES AND NANOMATERIALS - Synthesis, Properties and Applications*. London: Imperial college press, 2010.
- [68] A. Bhatnagar, S. Wagh, B. Singh, A. Rr, and F. Khan, "Smart Materials – a Review," *Ann. Dent. Spec.*, vol. 4, no. 1, pp. 10–12, 2016.
- [69] C. N. R. Rao, H. S. S. Ramakrishna Matte, R. Voggu, and A. Govindaraj, "Recent progress in the synthesis of inorganic nanoparticles," *Dalt. Trans.*, vol. 41, no. 17, pp. 5089–5120, 2012, doi: 10.1039/c2dt12266a.
- [70] A. Nanda and M. Saravanan, "Biosynthesis of silver nanoparticles from *Staphylococcus aureus* and its antimicrobial activity against MRSA and MRSE," *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.*, vol. 5, no. 4, pp. 452–456, 2009, doi: 10.1016/j.nano.2009.01.012.
- [71] J. Neng, M. H. Harpster, W. C. Wilson, and P. A. Johnson, "Surface-enhanced Raman scattering (SERS) detection of multiple viral antigens using magnetic capture of SERS-active nanoparticles," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 41, no. 1, pp. 316–321, 2013, doi: 10.1016/j.bios.2012.08.048.
- [72] J. Xu *et al.*, "Preparation and magnetic properties of magnetite nanoparticles by sol-gel method," *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 309, no. 2, pp. 307–311, 2007, doi: 10.1016/j.jmmm.2006.07.037.
- [73] J. Ibarra *et al.*, "Synthesis and characterization of magnetite/PLGA/chitosan nanoparticles," *Mater. Res. Express*, vol. 2, no. 9, 2015, doi: 10.1088/2053-1591/2/9/095010.
- [74] W. T. Liu *et al.*, "Facile and simple preparation of pH-sensitive chitosan-mesoporous silica nanoparticles for future breast cancer treatment," *Express Polym. Lett.*, vol. 9, no. 12, pp. 1068–1075, 2015, doi: 10.3144/expresspolymlett.2015.96.
- [75] Y. Wang *et al.*, "Mesoporous silica nanoparticles in drug delivery and biomedical applications," *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.*, vol. 11, no. 2, pp. 313–327, 2015, doi: 10.1016/j.nano.2014.09.014.
- [76] L. Castro, M. L. Blázquez, J. A. Muñoz, F. González, C. García-Balboa, and A. Ballester, "Biosynthesis of gold nanowires using sugar beet pulp," *Process Biochem.*, vol. 46, no. 5, pp. 1076–1082, May 2011, doi:

- 10.1016/j.procbio.2011.01.025.
- [77] P. K. Jain, X. Huang, I. H. El-Sayed, and M. A. El-Sayed, "Noble metals on the nanoscale: Optical and photothermal properties and some applications in imaging, sensing, biology, and medicine," *Acc. Chem. Res.*, vol. 41, no. 12, pp. 1578–1586, 2008, doi: 10.1021/ar7002804.
- [78] Q. Xia, H. Li, Y. Liu, S. Zhang, Q. Feng, and K. Xiao, "The effect of particle size on the genotoxicity of gold nanoparticles," *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*, vol. 105, no. 3, pp. 710–719, 2017, doi: 10.1002/jbm.a.35944.
- [79] X. Xie, J. Liao, X. Shao, Q. Li, and Y. Lin, "The Effect of shape on Cellular Uptake of Gold Nanoparticles in the forms of Stars, Rods, and Triangles," *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 1, 2017, doi: 10.1038/s41598-017-04229-z.
- [80] M. A. Mahmoud, B. Snyder, and M. A. El-Sayed, "Surface plasmon fields and coupling in the hollow gold nanoparticles and surface-enhanced Raman spectroscopy. theory and experiment," *J. Phys. Chem. C*, vol. 114, no. 16, pp. 7436–7443, 2010, doi: 10.1021/jp9109018.
- [81] M. B. Gawande *et al.*, "Core-shell nanoparticles: synthesis and applications in catalysis and electrocatalysis," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 44, no. 21, pp. 7540–7590, 2015, doi: 10.1039/C5CS00343A.
- [82] D. Gao *et al.*, "PH effect on electrocatalytic reduction of CO₂ over Pd and Pt nanoparticles," *Electrochem. commun.*, vol. 55, pp. 1–5, 2015, doi: 10.1016/j.elecom.2015.03.008.
- [83] P. M. Reddy and P. Venkatesu, "Ionic liquid modifies the lower critical solution temperature (LCST) of poly(N-isopropylacrylamide) in aqueous solution," *J. Phys. Chem. B*, vol. 115, no. 16, pp. 4752–4757, 2011, doi: 10.1021/jp201826v.
- [84] G. Doria *et al.*, "Noble metal nanoparticles for biosensing applications," *Sensors*, vol. 12, no. 2, pp. 1657–1687, 2012, doi: 10.3390/s120201657.
- [85] X. Huang, S. Neretina, and M. A. El-Sayed, "Gold nanorods: From synthesis and properties to biological and biomedical applications," *Adv. Mater.*, vol. 21, no. 48, pp. 4880–4910, 2009, doi: 10.1002/adma.200802789.
- [86] J. A. Scholl, A. L. Koh, and J. A. Dionne, "Quantum plasmon resonances of individual metallic nanoparticles," *Nature*, vol. 483, no. 7390, pp. 421–427, 2012, doi: 10.1038/nature10904.
- [87] J. W. Stouwdam and R. A. J. Janssen, "Electroluminescent Cu-doped CdS quantum dots," *Adv. Mater.*, vol. 21, no. 28, pp. 2916–2920, 2009, doi: 10.1002/adma.200803223.
- [88] J. Wang, D. X. Ye, G. H. Liang, J. Chang, J. L. Kong, and J. Y. Chen, "One-step synthesis of water-dispersible silicon nanoparticles and their use in fluorescence lifetime imaging of living cells," *J. Mater. Chem. B*, vol. 2, no. 27, pp. 4338–4345, 2014, doi: 10.1039/c4tb00366g.
- [89] N. W. Bolden, V. K. Rangari, S. Jeelani, S. Boyoglu, and S. R. Singh, "Synthesis and Evaluation of Magnetic Nanoparticles for Biomedical Applications," *J. Nanoparticles*, vol. 2013, pp. 1–9, 2013, doi: 10.1155/2013/370812.
- [90] S. M. Vithanarachchi and M. J. Allen, "Strategies for Target-Specific Contrast Agents for Magnetic Resonance Imaging," *Curr. Mol. Imaging*, vol. 1, pp. 12–25, 2012, doi: 10.2174/2211555211201010012.

- [91] L. B. de Mello, L. C. Varanda, F. A. Sigoli, and I. O. Mazali, "Co-precipitation synthesis of (Zn-Mn)-co-doped magnetite nanoparticles and their application in magnetic hyperthermia," *J. Alloys Compd.*, vol. 779, pp. 698–705, 2019, doi: 10.1016/j.jallcom.2018.11.280.
- [92] B. Ballarin *et al.*, "PANI/Au/Fe₃O₄ nanocomposite materials for high performance energy storage," *Electrochim. Acta*, vol. 322, p. 134707, 2019, doi: 10.1016/j.electacta.2019.134707.
- [93] N. Doshi and S. Mitragotri, "Designer biomaterials for nanomedicine," *Adv. Funct. Mater.*, vol. 19, no. 24, pp. 3843–3854, 2009, doi: 10.1002/adfm.200901538.
- [94] Z. Sun, T. Liao, L. Sheng, J. H. Kim, S. X. Dou, and J. Bell, "Fly compound-eye inspired inorganic nanostructures with extraordinary visible-light responses," *Mater. Today Chem.*, vol. 1–2, pp. 84–89, 2016, doi: 10.1016/j.mtchem.2016.11.001.
- [95] E. C. Communications, S. Sarli, and N. Ghasemi, "Optimization of biosynthesized Zn nanoparticles by poisonous *Taxus baccata* leaves extract and evaluation of their effect on the bacterias and MCF-7 cancer cells," *Eurasian Chem. Commun.*, vol. 2, no. 3, pp. 302–318, 2020, doi: 10.33945/sami/ecc.2020.3.2.
- [96] P. Pourali and B. Yahyaei, "Biological production of silver nanoparticles by soil isolated bacteria and preliminary study of their cytotoxicity and cutaneous wound healing efficiency in rat," *J. Trace Elem. Med. Biol.*, vol. 34, pp. 22–31, 2016, doi: 10.1016/j.jtemb.2015.11.004.
- [97] W. M. S. and N. B. Aslinda Hassan, Siah Bing Sheng, "Chapter 1 Introduction," *An Autom. Irrig. Syst. Using Arduino Microcontroller*, vol. 1908, no. January, pp. 2–6, 2019.
- [98] K. W. Street, K. Miyoshi, and R. L. Vander Wal, "Application of carbon based nano-materials to aeronautics and space lubrication," *Superlubricity*, pp. 311–340, 2007, doi: 10.1016/B978-044452772-1/50050-0.
- [99] S. C. Ray and N. R. Jana, *Application of Carbon-Based Nanomaterials as Drug and Gene Delivery Carrier*. 2017.
- [100] R. Sharma and K. S. M. S. Raghavarao, *Nanoparticle-Based Aptasensors for Food Contaminant Detection*. Elsevier Inc., 2018.
- [101] T. R. Shojaei *et al.*, *Applications of nanotechnology and carbon nanoparticles in agriculture*. Elsevier Inc., 2018.
- [102] N. Jawahar and S. Meyyanathan, "Polymeric nanoparticles for drug delivery and targeting: A comprehensive review," *Int. J. Heal. Allied Sci.*, vol. 1, no. 4, p. 217, 2012, doi: 10.4103/2278-344x.107832.
- [103] J. Wen, Y. Jiang, Y. Yang, J. Yu, and J. Xu, "Self-assembled of conducting polymeric nanoparticles and its application for OLED hole injection layer," *Energy Procedia*, vol. 12, pp. 609–614, 2011, doi: 10.1016/j.egypro.2011.10.082.
- [104] B. V. N. Nagavarma, H. K. S. Yadav, A. Ayaz, L. S. Vasudha, and H. G. Shivakumar, "Different techniques for preparation of polymeric nanoparticles-A review," *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, vol. 5, no. SUPPL. 3, pp. 16–23, 2012.
- [105] T. Cantu *et al.*, "Conductive polymer-based nanoparticles for laser-mediated photothermal ablation of cancer: Synthesis, characterization, and in vitro

- evaluation," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 12, pp. 615–632, 2017, doi: 10.2147/IJN.S116583.
- [106] A. Wu, J. Jia, and S. Luan, "Amphiphilic PMMA/PEI core-shell nanoparticles as polymeric adsorbents to remove heavy metal pollutants," *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 384, no. 1–3, pp. 180–185, 2011, doi: 10.1016/j.colsurfa.2011.03.060.
- [107] L. Hasadsri, J. Kreuter, H. Hattori, T. Iwasaki, and J. M. George, "Functional protein delivery into neurons using polymeric nanoparticles," *J. Biol. Chem.*, vol. 284, no. 11, pp. 6972–6981, 2009, doi: 10.1074/jbc.M805956200.
- [108] B. C. Evans *et al.*, "An anionic, endosome-escaping polymer to potentiate intracellular delivery of cationic peptides, biomacromolecules, and nanoparticles," *Nat. Commun.*, vol. 10, no. 1, 2019, doi: 10.1038/s41467-019-12906-y.
- [109] S. Rodrigues, M. Dionísio, C. R. López, and A. Grenha, "Biocompatibility of Chitosan Carriers with Application in Drug Delivery," *J. Funct. Biomater.*, vol. 3, no. 4, pp. 615–641, 2012, doi: 10.3390/jfb3030615.
- [110] A. Pant and J. S. Negi, "Novel controlled ionic gelation strategy for chitosan nanoparticles preparation using TPP- β -CD inclusion complex," *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 112, no. 1, pp. 180–185, 2018, doi: 10.1016/j.ejps.2017.11.020.
- [111] W. Q. Chen *et al.*, "Fabrication of star-shaped, thermo-sensitive poly(N-isopropylacrylamide)-cholic acid-poly(ϵ -caprolactone) copolymers and their self-assembled micelles as drug carriers," *Polymer (Guildf.)*, vol. 49, no. 18, pp. 3965–3972, 2008, doi: 10.1016/j.polymer.2008.06.056.
- [112] E. Zúñiga *et al.*, "Rhodamine-loaded surface modified mesoporous silica particles embedded into a thermoresponsive composite hydrogel for prolonged release," *Eur. Polym. J.*, vol. 95, no. August, pp. 358–367, 2017, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2017.08.018.
- [113] Q. Liu *et al.*, "Use of Polymeric Nanoparticle Platform Targeting the Liver To Induce Treg-Mediated Antigen-Specific Immune Tolerance in a Pulmonary Allergen Sensitization Model," *ACS Nano*, vol. 13, no. 4, pp. 4778–4794, Apr. 2019, doi: 10.1021/acsnano.9b01444.
- [114] P. Ray *et al.*, "Size-Transformable, Multifunctional Nanoparticles from Hyperbranched Polymers for Environment-Specific Therapeutic Delivery," *ACS Biomater. Sci. Eng.*, vol. 5, no. 3, pp. 1354–1365, 2019, doi: 10.1021/acsbmaterials.8b01608.
- [115] H. Alem, A. Schejn, T. Roques-Carmes, J. Ghanbaja, and R. Schneider, "Thermo-responsive and aqueous dispersible ZnO/PNIPAM core/shell nanoparticles," *Nanotechnology*, vol. 26, no. 33, p. 335605, Aug. 2015, doi: 10.1088/0957-4484/26/33/335605.
- [116] J. L. Paris and M. Vallet-Regí, "Ultrasound-activated nanomaterials for therapeutics," *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, vol. 93, no. 2, pp. 220–229, 2020, doi: 10.1246/BCSJ.20190346.
- [117] A. Pourjavadi, M. Kohestanian, and M. Shirzad, "Synthesis and characterization of magnetic hybrid nanomaterials via RAFT polymerization: A pH sensitive drug delivery system," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 174, pp. 153–160, 2019, doi: 10.1016/j.colsurfb.2018.11.006.
- [118] C. Han, D. Zhu, H. Wu, Y. Li, L. Cheng, and K. Hu, "TEA controllable

- preparation of magnetite nanoparticles (Fe₃O₄ NPs) with excellent magnetic properties,” *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 408, pp. 213–216, 2016, doi: 10.1016/j.jmmm.2016.02.060.
- [119] M. Lehmann, P. Krause, V. Miruchna, and R. von Klitzing, “Tailoring PNIPAM hydrogels for large temperature-triggered changes in mechanical properties,” *Colloid Polym. Sci.*, vol. 297, no. 4, pp. 633–640, 2019, doi: 10.1007/s00396-019-04470-0.
- [120] Y. Xiao and J. Du, “Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications,” *J. Mater. Chem. B*, vol. 8, no. 3, pp. 354–367, 2020, doi: 10.1039/c9tb01955c.
- [121] J. F. McCabe, Z. Yan, O. T. Al Naimi, G. Mahmoud, and S. L. Rolland, “Smart materials in dentistry - Future prospects,” *Dent. Mater. J.*, vol. 28, no. 1, pp. 37–43, 2009, doi: 10.4012/dmj.28.37.
- [122] D. Xu *et al.*, “Combination therapeutics of doxorubicin with Fe₃O₄@chitosan@phytic acid nanoparticles for multi-responsive drug delivery,” *RSC Adv.*, vol. 6, no. 91, pp. 88248–88254, 2016, doi: 10.1039/c6ra21431b.
- [123] M. S. Strozyk, M. Chanana, I. Pastoriza-Santos, J. Pérez-Juste, and L. M. Liz-Marzán, “Protein/polymer-based dual-responsive gold nanoparticles with pH-dependent thermal sensitivity,” *Adv. Funct. Mater.*, vol. 22, no. 7, pp. 1436–1444, 2012, doi: 10.1002/adfm.201102471.
- [124] R. Asmatulu, M. A. Zalich, R. O. Claus, and J. S. Riffle, “Synthesis, characterization and targeting of biodegradable magnetic nanocomposite particles by external magnetic fields,” *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 292, no. 2005, pp. 108–119, 2005, doi: 10.1016/j.jmmm.2004.10.103.
- [125] J. M. D. Coey, *Micromagnetism, domains and hysteresis*. 2012.
- [126] J. M. D. Coey, “Magnetism of electrons,” in *Magnetism and Magnetic Materials*, Cambridge University Press, 2001, pp. 62–96.
- [127] S. P. Gubin, Y. A. Koksharov, G. B. Khomutov, and G. Y. Yurkov, “Magnetic nanoparticles: Preparation, structure and properties,” *Russ. Chem. Rev.*, vol. 74, no. 6, pp. 539–574, 2005, doi: 10.1070/rc2005v074n06abeh000897.
- [128] Coey, “Magnetostatics,” in *Magnetism and Magnetic Materials*, Cambridge University Press, 2001, pp. 24–61.
- [129] M. J. O’Shea and P. Perera, “Influence of nanostructure (layers and particles) on the magnetism of rare-earth materials,” *J. Appl. Phys.*, vol. 85, no. 8, pp. 4322–4324, 1999, doi: 10.1063/1.370356.
- [130] V. V Mody, A. Singh, and B. Wesley, “Basics of magnetic nanoparticles for their application in the field of magnetic fluid hyperthermia,” *Eur. J. Nanomedicine*, vol. 5, no. 1, pp. 11–21, 2013, doi: <https://doi.org/10.1515/ejnm-2012-0008>.
- [131] W. R. Hosford, “Magnetic Behavior,” *Elem. Mater. Sci.*, vol. 32, no. 11, pp. 51–58, 2020, doi: 10.31399/asm.tb.ems.t53730051.
- [132] Y. I. Petrov, E. A. Shafranovskij, Y. F. Krupyanskij, and S. V. Esin, “Peculiarities on the structure and local magnetic order in nanoparticles of Fe-Cr alloy,” *Dokl. Akad. Nauk*, vol. 379, no. 3, pp. 357–362, 2001.
- [133] J. A. Becker *et al.*, “Magnetic properties of cobalt-cluster dispersions generated in an electrochemical cell,” *Surf. Rev. Lett.*, vol. 3, no. 1, pp. 1121–

- 1126, Feb. 1996, doi: 10.1142/S0218625X9600200X.
- [134] S. Mathur *et al.*, "Phase Selective Deposition and Microstructure Control in Iron Oxide Films Obtained by Single-Source CVD.," *ChemInform*, vol. 34, no. 9, pp. 277–283, 2003, doi: 10.1002/chin.200309016.
- [135] J. S. Yin and Z. L. Wang, "Preparation of self-assembled cobalt nanocrystal arrays," *Nanostructured Mater.*, vol. 11, no. 7, pp. 845–852, 1999, doi: 10.1016/S0965-9773(99)00375-X.
- [136] S. Sun and C. B. Murray, "Synthesis of monodisperse cobalt nanocrystals and their assembly into magnetic superlattices (invited)," *J. Appl. Phys.*, vol. 85, no. 8 II A, pp. 4325–4330, 1999, doi: 10.1063/1.370357.
- [137] B. G. Ershov, "Metal nanoparticles in aqueous solutions: electronic, optical, and catalytic properties," *Ross. Khim. Zh.*, vol. 45, no. 3, pp. 20–30, 2001.
- [138] C. Petit, A. Taleb, and M. P. Pileni, "Cobalt nanosized particles organized in a 2D superlattice: Synthesis, characterization, and magnetic properties," *J. Phys. Chem. B*, vol. 103, no. 11, pp. 1805–1810, 1999, doi: 10.1021/jp982755m.
- [139] P. Bose, S. Bid, S. K. Pradhan, M. Pal, and D. Chakravorty, "X-ray characterization of nanocrystalline Ni₃Fe," *J. Alloys Compd.*, vol. 343, no. 1–2, pp. 192–198, 2002, doi: 10.1016/S0925-8388(02)00136-6.
- [140] I. David and A. J. E. Welch, "The oxidation of magnetite and related spinels: Constitution of gamma ferric oxide," *Trans. Faraday Soc.*, vol. 52, no. 1642, pp. 1642–1650, 1956, doi: 10.1039/tf9565201642.
- [141] C. Sanjai, S. Kothan, P. Gonil, S. Saesoo, and W. Sajomsang, "Chitosan-triphosphate nanoparticles for encapsulation of super-paramagnetic iron oxide as an MRI contrast agent," *Carbohydr. Polym.*, vol. 104, no. 1, pp. 231–237, 2014, doi: 10.1016/j.carbpol.2014.01.012.
- [142] J. Ibarra *et al.*, "Synthesis and characterization of magnetite/PLGA/chitosan nanoparticles," *Mater. Res. Express*, vol. 2, no. 9, p. 095010, 2015, doi: 10.1088/2053-1591/2/9/095010.
- [143] P. C. Papaphilippou *et al.*, "Fabrication and characterization of superparamagnetic and thermoresponsive hydrogels based on oleic-acid-coated Fe₃O₄ nanoparticles, hexa(ethylene glycol) methyl ether methacrylate and 2-(acetoacetoxy)ethyl methacrylate," *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 323, no. 5, pp. 557–563, 2011, doi: 10.1016/j.jmmm.2010.10.009.
- [144] A. B. Elizabeth Berry, "Fundamentals of MRI: An Interactive Learning Approach, Series in Medical Physics and Biomedical Engineering." p. 320, 2008, [Online]. Available: https://books.google.com.my/books?id=oLPNBQAAQBAJ&source=gbs_navlinks_s.
- [145] Z. R. Stephen, F. M. Kievit, and M. Zhang, "Magnetite nanoparticles for medical MR imaging," *Mater. Today*, vol. 14, no. 7–8, pp. 330–338, Jul. 2011, doi: 10.1016/S1369-7021(11)70163-8.
- [146] M. Arruebo, R. Fernández-Pacheco, M. R. Ibarra, and J. Santamaría, "Magnetic nanoparticles for drug delivery The potential of magnetic NPs stems from the intrinsic properties of their magnetic cores combined with their drug loading capability and the biochemical properties that can be bestowed on them by means of a suitab," vol. 2, no. 3, pp. 22–32, 2007, [Online]. Available:

<https://pdfs.semanticscholar.org/1844/8eb43dc235f82cb591983bc8df5ed799984c.pdf>.

- [147] U. O. Häfeli, S. M. Sweeney, B. A. Beresford, J. L. Humm, and R. M. Macklis, "Effective targeting of magnetic radioactive⁹⁰Y-microspheres to tumor cells by an externally applied magnetic field. Preliminary in vitro and in vivo results," *Nucl. Med. Biol.*, vol. 22, no. 2, pp. 147–155, 1995, doi: 10.1016/0969-8051(94)00124-3.
- [148] A. S. Lübbe *et al.*, "Clinical experiences with magnetic drug targeting: A phase I study with 4'-epidoxorubicin in 14 patients with advanced solid tumors," *Cancer Res.*, vol. 56, no. 20, pp. 4686–4693, 1996.
- [149] V. V. Mody, A. Cox, S. Shah, A. Singh, W. Bevins, and H. Parihar, "Magnetic nanoparticle drug delivery systems for targeting tumor," *Appl. Nanosci.*, vol. 4, no. 4, pp. 385–392, 2014, doi: 10.1007/s13204-013-0216-y.
- [150] B. Li, D. Jia, Y. Zhou, Q. Hu, and W. Cai, "In situ hybridization to chitosan/magnetite nanocomposite induced by the magnetic field," *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 306, no. 2, pp. 223–227, 2006, doi: 10.1016/j.jmmm.2006.01.250.
- [151] S. Sadighian, K. Rostamizadeh, H. Hosseini-Monfared, and M. Hamidi, "Doxorubicin-conjugated core-shell magnetite nanoparticles as dual-targeting carriers for anticancer drug delivery," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 117, pp. 406–413, 2014, doi: 10.1016/j.colsurfb.2014.03.001.
- [152] Q. Yuan, R. Venkatasubramanian, S. Hein, and R. D. K. Misra, "A stimulus-responsive magnetic nanoparticle drug carrier: Magnetite encapsulated by chitosan-grafted-copolymer," *Acta Biomater.*, vol. 4, no. 4, pp. 1024–1037, 2008, doi: 10.1016/j.actbio.2008.02.002.
- [153] J. W. M. Bulte and D. L. Kraitchman, "Iron oxide MR contrast agents for molecular and cellular imaging," *NMR Biomed.*, vol. 17, no. 7, pp. 484–499, 2004, doi: 10.1002/nbm.924.
- [154] D. Parasuraman and M. J. Serpe, "Poly (N-isopropylacrylamide) microgels for organic dye removal from water," *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 3, no. 7, pp. 2732–2737, 2011, doi: 10.1021/am2005288.
- [155] W. Yin, M. Chen, T. Lu, M. Akashi, and X. Huang, "Properties of complex of Tb(III) and poly(N-isopropylacrylamide)-g-poly(N-isopropylacrylamide-co-styrene) core-shell nanoparticles," *J. Alloys Compd.*, vol. 432, no. 1–2, pp. 18–21, 2007, doi: 10.1016/j.jallcom.2006.06.017.
- [156] G. Zhang, N. Yang, Y. Ni, J. Shen, W. Zhao, and X. Huang, "A H₂O₂ electrochemical biosensor based on biocompatible PNIPAM-g-P (NIPAM-co-St) nanoparticles and multi-walled carbon nanotubes modified glass carbon electrode," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 158, no. 1, pp. 130–137, 2011, doi: 10.1016/j.snb.2011.05.055.
- [157] K. Jain, R. Vedarajan, M. Watanabe, M. Ishikiriyama, and N. Matsumi, "Tunable LCST behavior of poly(N-isopropylacrylamide/ionic liquid) copolymers," *Polym. Chem.*, vol. 6, no. 38, pp. 6819–6825, 2015, doi: 10.1039/C5PY00998G.
- [158] M. I. Aslam, R. K. Verma, R. Roy, and S. P. . Roy, "Effect of Poly (N-Isopropylacrylamide) 'PNIPAM' on Hepatic Cells of Swiss Albino Mice, MUS MUSCULUS," *Int. J. Appl. Sci. Biotechnol.*, vol. 1, no. 4, pp. 208–213, 2013,

doi: 10.3126/ijasbt.v1i4.

- [159] K. Jain, R. Vedarajan, M. Watanabe, M. Ishikiriya, and N. Matsumi, "Tunable LCST behavior of poly(N-isopropylacrylamide/ionic liquid) copolymers," *Polym. Chem.*, vol. 6, no. 38, pp. 6819–6825, 2015, doi: 10.1039/c5py00998g.
- [160] W. J. Zheng, N. An, J. H. Yang, J. Zhou, and Y. M. Chen, "Tough Alginate/Poly(N-isopropylacrylamide) hydrogel with tunable LCST for soft robotics," *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 7, no. 3, pp. 1758–1764, 2015, doi: 10.1021/am507339r.
- [161] M. Wang, Y. Fang, and D. Hu, "Preparation and properties of chitosan-poly(N-isopropylacrylamide) full-IPN hydrogels," *React. Funct. Polym.*, vol. 48, no. 1–3, pp. 215–221, 2001, doi: 10.1016/S1381-5148(01)00057-8.
- [162] Y. Maeda and M. Yamabe, "A unique phase behavior of random copolymer of N-isopropylacrylamide and N,N-diethylacrylamide in water," *Polymer (Guildf.)*, vol. 50, no. 2, pp. 519–523, 2009, doi: 10.1016/j.polymer.2008.11.032.
- [163] S. Li, Y. Su, M. Dan, and W. Zhang, "Thermo-responsive ABA triblock copolymer of PVEA-b-PNIPAM-b-PVEA showing solvent-tunable LCST in a methanol-water mixture," *Polym. Chem.*, vol. 5, no. 4, pp. 1219–1228, 2014, doi: 10.1039/c3py01219k.
- [164] D. Raafat and H. G. Sahl, "Chitosan and its antimicrobial potential - A critical literature survey," *Microb. Biotechnol.*, vol. 2, no. 2 SPEC. ISS., pp. 186–201, 2009, doi: 10.1111/j.1751-7915.2008.00080.x.
- [165] A. Ali and S. Ahmed, "A review on chitosan and its nanocomposites in drug delivery," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 109, pp. 273–286, 2018, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.12.078.
- [166] O. Felt, P. Buri, and R. Gurny, "Chitosan: A unique polysaccharide for drug delivery," *Drug Dev. Ind. Pharm.*, vol. 24, no. 11, pp. 979–993, 1998, doi: 10.3109/03639049809089942.
- [167] M. Huang, E. Khor, and L.-Y. Lim, "Uptake and cytotoxicity of chitosan molecules and nanoparticles: effects of molecular weight and degree of deacetylation," *Pharm. Res.*, vol. 21, no. 2, pp. 344–53, 2004, doi: 10.1023/B:PHAM.0000016249.52831.a5.
- [168] H. Yilmaz Atay, "Antibacterial Activity of Chitosan-Based Systems," in *Functional Chitosan*, Singapore: Springer Singapore, 2019, pp. 457–489.
- [169] A. R. Dudhani and S. L. Kosaraju, "Bioadhesive chitosan nanoparticles: Preparation and characterization," *Carbohydr. Polym.*, vol. 81, no. 2, pp. 243–251, 2010, doi: 10.1016/j.carbpol.2010.02.026.
- [170] C. K. S. Pillai, W. Paul, and C. P. Sharma, "Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 34, no. 7, pp. 641–678, 2009, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2009.04.001.
- [171] S. Z. M. Rasib *et al.*, "Synthesis and evaluation on pH- and temperature-responsive chitosan-p(MAA-co-NIPAM) hydrogels," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 108, pp. 367–375, 2018, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.12.021.
- [172] T. Jayaramudu, K. Varaprasad, E. R. Sadiku, and J. Amalraj, "Temperature-sensitive semi-IPN composite hydrogels for antibacterial applications," *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 572, no. December 2018, pp. 307–316, 2019, doi: 10.1016/j.colsurfa.2019.04.012.

- [173] W. Yin, M. Chen, T. Lu, M. Akashi, and X. Huang, "Study on interaction between Tb(III) and poly(N-isopropylacrylamide)," *Eur. Polym. J.*, vol. 42, no. 6, pp. 1305–1312, 2006, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2005.12.014.
- [174] C. A. Ribeiro, M. V. S. Martins, A. H. Bressiani, J. C. Bressiani, M. E. Leyva, and A. A. A. de Queiroz, "Electrochemical preparation and characterization of PNIPAM-HAp scaffolds for bone tissue engineering," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 81, pp. 156–166, 2017, doi: 10.1016/j.msec.2017.07.048.
- [175] S. Jin, F. Bian, M. Liu, S. Chen, and H. Liu, "Swelling mechanism of porous P(VP-co-MAA)/PNIPAM semi-IPN hydrogels with various pore sizes prepared by a freeze treatment," *Polym. Int.*, vol. 58, no. 2, pp. 142–148, 2009, doi: 10.1002/pi.2504.
- [176] S. Ekici, "Intelligent poly(N-isopropylacrylamide)-carboxymethyl cellulose full interpenetrating polymeric networks for protein adsorption studies," *J. Mater. Sci.*, vol. 46, no. 9, pp. 2843–2850, 2011, doi: 10.1007/s10853-010-5158-0.
- [177] M. A. Haq, Y. Su, and D. Wang, "Mechanical properties of PNIPAM based hydrogels: A review," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 70, pp. 842–855, 2017, doi: 10.1016/j.msec.2016.09.081.
- [178] N. Ahmad *et al.*, "A comparative study of PNIPAM nanoparticles of curcumin, demethoxycurcumin, and bisdemethoxycurcumin and their effects on oxidative stress markers in experimental stroke," *Protoplasma*, vol. 250, no. 6, pp. 1327–1338, 2013, doi: 10.1007/s00709-013-0516-9.
- [179] S. Deshpande, S. Sharma, V. Koul, and N. Singh, "Core – Shell Nanoparticles as an Efficient, Sustained, and Triggered Drug-Delivery System," 2017, doi: 10.1021/acsomega.7b01016.
- [180] R. R. Kokardekar, V. K. Shah, and H. R. Mody, "PNIPAM Poly (N-isopropylacrylamide): A Thermoresponsive 'Smart' Polymer in Novel Drug Delivery System," *Med. Updat.*, vol. 7, no. 2, pp. 60–63, 2012.
- [181] T. R. Hoare and D. S. Kohane, "Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges," *Polymer (Guildf.)*, vol. 49, no. 8, pp. 1993–2007, 2008, doi: 10.1016/j.polymer.2008.01.027.
- [182] T. Basu, B. Pal, and S. Singh, "Fabrication of core–shell PLGA/PLA–pNIPAM nanocomposites for improved entrapment and release kinetics of antihypertensive drugs," *Particuology*, vol. 40, pp. 169–176, 2018, doi: 10.1016/j.partic.2017.10.002.
- [183] D. Fernández-quiros *et al.*, "Conformational study on the thermal transition of chitosan-g-poly (N-vinylcaprolactam) in aqueous solution," *Colloid Polym Sci*, 2015, doi: <https://doi.org/10.1007/s00396-015-3816-0>.
- [184] H. Hess and Y. Tseng, "Active intracellular transport of nanoparticles: Opportunity or threat?," *ACS Nano*, vol. 1, no. 5, pp. 390–392, 2007, doi: 10.1021/nn700407v.
- [185] C. Poncet-Legrand and F. M. Winnik, "Solution properties of hydrophobically-modified copolymers of N-isopropylacrylamide and N-L-valine acrylamide. A study by fluorescence spectroscopy and microcalorimetry," *Polymer Journal*, vol. 33, no. 3, pp. 277–283, 2001, doi: 10.1295/polymj.33.277.
- [186] J. Gao and B. J. Frisken, "Cross-linker-free N-isopropylacrylamide gel nanospheres," *Langmuir*, vol. 19, no. 13, pp. 5212–5216, 2003, doi: 10.1021/la0269762.

- [187] R. Pelton, "Poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAM) is never hydrophobic," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 348, no. 2, pp. 673–674, Aug. 2010, doi: 10.1016/j.jcis.2010.05.034.
- [188] S. Murphy, S. Jaber, C. Ritchie, M. Karg, and P. Mulvaney, "Laser Flash Photolysis of Au-PNIPAM Core-Shell Nanoparticles: Dynamics of the Shell Response," *Langmuir*, vol. 32, no. 47, pp. 12497–12503, 2016, doi: 10.1021/acs.langmuir.6b02781.
- [189] A. Gandhi, A. Paul, S. O. Sen, and K. K. Sen, "Studies on thermoresponsive polymers: Phase behaviour, drug delivery and biomedical applications," *Asian J. Pharm. Sci.*, vol. 10, no. 2, pp. 99–107, 2015, doi: 10.1016/j.ajps.2014.08.010.
- [190] M. Huang, Z. Ma, E. Khor, and L. Y. Lim, "Uptake of FITC-chitosan nanoparticles by A549 cells," *Pharm. Res.*, vol. 19, no. 10, pp. 1488–1494, 2002, doi: 10.1023/A:1020404615898.
- [191] D. E. Creang and V. Blvd, "Synthesis and rheological properties of an aqueous ferrofluid," *Journal Optoelectron. Adv. Mater.*, vol. 7, no. 6, pp. 2859–2864, 2005.
- [192] X. Hu, Z. Tong, and L. A. Lyon, "Control of poly(N-isopropylacrylamide) microgel network structure by precipitation polymerization near the lower critical solution temperature," *Langmuir*, vol. 27, no. 7, pp. 4142–4148, Apr. 2011, doi: 10.1021/la200114s.
- [193] Z. Yu *et al.*, "Fabrication of thermo responsive fibrous ZnO/PNIPAM nanocomposites with switchable photocatalytic activity," *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 471, pp. 117–123, Apr. 2015, doi: 10.1016/j.colsurfa.2015.02.023.
- [194] B.I., "Spectrometric identification of organic compounds, 3rd edition," *Journal of Molecular Structure*, vol. 30, no. 2, pp. 424–425, 2002, doi: 10.1016/0022-2860(76)87024-x.
- [195] R. Esquivel, J. Juárez, M. Almada, J. Ibarra, and M. A. Valdez, "Synthesis and characterization of new thiolated chitosan nanoparticles obtained by ionic gelation method," *Int. J. Polym. Sci.*, vol. 2015, 2015, doi: 10.1155/2015/502058.
- [196] F. Ganji, S. Vasheghani-Farahani, and E. Vasheghani-Farahani, "Theoretical description of hydrogel swelling: A review," *Iran. Polym. J. (English Ed.)*, vol. 19, no. 5, pp. 375–398, 2010.
- [197] J. Wang, W. Wu, and Z. Lin, "Kinetics and thermodynamics of the water sorption of 2-hydroxyethyl methacrylate/styrene copolymer hydrogels," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 109, no. 5, pp. 3018–3023, 2008, doi: 10.1002/app.28403.
- [198] R. A. A. MUZZARELLI, *Chitin Chemistry*. 2013.
- [199] L. Wang and Y. Ding, "Creating micro-structured hydrogel-forming polymer films by photopolymerization in an evaporating solvent: Compositional and morphological evolutions," *Eur. Polym. J.*, vol. 66, pp. 99–107, 2015, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2015.01.048.
- [200] T. Trongsatitkul and B. M. Budhlall, "Synthesis of Thermoresponsive Copolymers of Poly(ethylene glycol) and Poly(N-isopropyl acrylamide) for Cell Encapsulation," *Symp. BB – Polym. Smart Mater. Prop. Appl.*, 2008, [Online].

Available: http://journals.cambridge.org/article_S1946427400024349.

- [201] M. Prevot, C. Déjugnat, H. Möhwald, and G. B. Sukhorukov, "Behavior of temperature-sensitive PNIPAM confined in polyelectrolyte capsules," *ChemPhysChem*, vol. 7, no. 12, pp. 2497–2502, 2006, doi: 10.1002/cphc.200600167.
- [202] R. Umapathi, P. M. Reddy, A. Kumar, P. Venkatesu, and C. J. Chang, "The biological stimuli for governing the phase transition temperature of the 'smart' polymer PNIPAM in water," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 135, pp. 588–595, Aug. 2015, doi: 10.1016/j.colsurfb.2015.08.020.
- [203] M. I. Aslam, R. K. Verma, R. Roy, and S. P. Roy, "Effect of Poly (N-IsoPropylAcrylamide) 'PNIPAM' on Hepatic Cells of Swiss Albino Mice, *Mus musculus*," *Int. J. Appl. Sci. Biotechnol.*, vol. 1, no. 4, pp. 208–213, 2013, doi: 10.3126/ijasbt.v1i4.9104.
- [204] S. Tong, C. A. Quinto, L. Zhang, P. Mohindra, and G. Bao, "Size-Dependent Heating of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles," *ACS Nano*, vol. 11, no. 7, pp. 6808–6816, 2017, doi: 10.1021/acsnano.7b01762.
- [205] P. B. Shete, R. M. Patil, B. M. Tiwale, and S. H. Pawar, "Water dispersible oleic acid-coated Fe₃O₄ nanoparticles for biomedical applications," *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 377, no. April, pp. 406–410, 2015, doi: 10.1016/j.jmmm.2014.10.137.
- [206] P. Soares *et al.*, *Iron oxide nanoparticles stabilized with a bilayer of oleic acid for magnetic hyperthermia and MRI applications*, vol. 383. 2016.
- [207] S. A. Kulkarni, P. S. Sawadh, P. K. Palei, and K. K. Kokate, "Effect of synthesis route on the structural, optical and magnetic properties of Fe₃O₄ nanoparticles," *Ceram. Int.*, vol. 40, no. 1 PART B, pp. 1945–1949, 2014, doi: 10.1016/j.ceramint.2013.07.103.
- [208] H. Boppart, A. Schlegel, and P. Wachter, "Optical properties of magnetite fe₃o₄," *Philos. Mag. B Phys. Condens. Matter; Stat. Mech. Electron. Opt. Magn. Prop.*, vol. 42, no. 3, pp. 431–432, 1980, doi: 10.1080/01418638008221885.
- [209] X. He, F. Liu, L. Liu, T. Duan, H. Zhang, and Z. Wang, "Lectin-conjugated Fe₂O₃@Au core@shell nanoparticles as dual mode contrast agents for in vivo detection of tumor," *Mol. Pharm.*, vol. 11, no. 3, pp. 738–745, 2014, doi: 10.1021/mp400456j.
- [210] M. Ravichandran *et al.*, "Cobalt ferrite nanowhiskers as T₂ MRI contrast agent," *RSC Adv.*, vol. 5, no. 22, pp. 17223–17227, 2015, doi: 10.1039/c4ra11934g.
- [211] M. Bradley and B. S. Garcia-risueño, "Journal of Colloid and Interface Science Symmetric and asymmetric adsorption of pH-responsive gold nanoparticles onto microgel particles and dispersion characterisation," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 355, no. 2, pp. 321–327, 2011, doi: 10.1016/j.jcis.2010.12.027.
- [212] M. Laurenti *et al.*, "Synthesis of thermosensitive microgels with a tunable magnetic core," *Langmuir*, vol. 27, no. 17, pp. 10484–10491, 2011, doi: 10.1021/la201723a.
- [213] R. Contreras-Cáceres *et al.*, "Encapsulation and Growth of Gold Nanoparticles in Thermoresponsive Microgels," *Adv. Mater.*, vol. 20, no. 9, pp. 1666–1670, 2008, doi: 10.1002/adma.200800064.

- [214] M. Dulle *et al.*, "Plasmonic gold-poly(N-isopropylacrylamide) core-shell colloids with homogeneous density profiles: A small angle scattering study," *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 17, no. 2, pp. 1354–1367, 2015, doi: 10.1039/c4cp04816d.
- [215] G. Chen and A. S. Hoffman, "Graft copolymers that exhibit temperature-induced phase transitions over a wide range of pH," *Nature*, vol. 373, p. 49, Jan. 1995, [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1038/373049a0>.
- [216] B. O. R and S. Zia, "Internet Journal of Medical Update (Biannual Electronic Journal)," *J. Med. Updat.*, vol. 6, no. 2, p. 2012, 2012, doi: 10.4314/ijmu.v10i2.3.
- [217] S. Tong, C. A. Quinto, L. Zhang, P. Mohindra, and G. Bao, "Size-Dependent Heating of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles," *ACS Nano*, vol. 11, no. 7, pp. 6808–6816, 2017, doi: 10.1021/acsnano.7b01762.
- [218] U. Schwertmann and R. M. Cornell, *The iron oxides: structure, properties, reactions, occurrence, and uses*. VCH, 2006.
- [219] A. K. Gupta and M. Gupta, "Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications," *Biomaterials*, vol. 26, no. 18, pp. 3995–4021, 2005, doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.10.012.
- [220] K. Nagase, M. Yamato, H. Kanazawa, and T. Okano, "Poly(N-isopropylacrylamide)-based thermoresponsive surfaces provide new types of biomedical applications," *Biomaterials*, vol. 153, pp. 27–48, 2018, doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.10.026.
- [221] I. Standard, "ISO/EN10993-5, Biological evaluation of medical devices - Part 5: Tests for cytotoxicity: in vitro methods," vol. 3 Ed, p. 42, 2009.
- [222] FDA, "Content and Review of Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Somatic Cell," *Guid. FDA Rev. Spons.*, no. April, 2008

5. Producción científica

Se produjeron dos artículos, una solicitud de patente y dos proceeding directamente relacionados con esta tesis.

5.1.1. Artículo 1

Pedro Hernández, Armando Lucero-Acuña, Cindy Alejandra Gutiérrez-Valenzuela, Ramón Moreno and Reynaldo Esquivel*, “ **Systematic evaluation of pH and thermoresponsive poly(n-isopropylacrylamide-chitosan-fluorescein) microgel** ” *E-Polymers*, vol. 17, no. 5, pp. 399–408, 2017, doi: [10.1515/epoly-2016-0328](https://doi.org/10.1515/epoly-2016-0328)

DE GRUYTER

e-Polymers 2017; aop

Pedro Hernández, Armando Lucero-Acuña, Cindy Alejandra Gutiérrez-Valenzuela, Ramón Moreno and Reynaldo Esquivel*

Systematic evaluation of pH and thermoresponsive poly(n-isopropylacrylamide-chitosan-fluorescein) microgel

DOI 10.1515/epoly-2016-0328

Received December 23, 2016; accepted March 11, 2017

potential as a thermo-pH triggered hydrogel in drug delivery applications.

Abstract: The interesting properties of stimuli-responsive polymers lead to a wide range of possibilities in design

Keywords: chitosan; kinetics of swelling; microgels; PNIPAM; stimuli-responsive polymers.

5.1.2. Artículo 2

Pedro. Hernández, Armando Lucero-Acuña, Iván E. Moreno-Cortez, Reynaldo Esquivel*, and Enrique Álvarez-Ramos, “ **Thermo-Magnetic Properties of Fe₃O₄@Poly(N-Isopropylacrylamide) Core–Shell Nanoparticles and Their Cytotoxic Effects on HeLa and MDA-MB-231 Cell Lines** ,” *J. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 20, no. 4, pp. 2063–2071, 2019, doi: [10.1166/jnn.2020.17324](https://doi.org/10.1166/jnn.2020.17324)



Copyright © 2020 American Scientific Publishers
All rights reserved
Printed in the United States of America

Article

*Journal of
Nanoscience and Nanotechnology*
Vol. 20, 2063–2071, 2020
www.aspbs.com/jnn

Thermo-Magnetic Properties of Fe₃O₄@Poly(N-Isopropylacrylamide) Core–Shell Nanoparticles and Their Cytotoxic Effects on HeLa and MDA-MB-231 Cell Lines

Pedro Hernández¹, Armando Lucero-Acuña², Iván E. Moreno-Cortez³,
Reynaldo Esquivel^{1,4,*}, and Enrique Álvarez-Ramos¹

¹Nanotechnology Graduate Program, Department of Physics, University of Sonora, Hermosillo, Sonora, 83000, Mexico

²Department of Chemical and Metallurgical Engineering, University of Sonora, Hermosillo, Sonora, 83000, Mexico

³Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica, Universidad Autónoma de Nuevo León, Avenida Universidad s/n,
Ciudad Universitaria, C.P. 66451 San Nicolás de los Garza, N.L., México

⁴National Council of Science and Technology of Mexico, Ciudad de México, 03940, México

5.1.3. Proceeding 1

P. Hernández Rosalva Josefina Rodríguez-Córdova, F.J. Martínez Vázquez, Iván E. Moreno-Cortez, Aarón Martínez-Higuera, Armando Lucero-Acuña, Enrique Álvarez Ramos, Reynaldo Esquivel., “ **Fabrication and Morphology Evaluation of Poly-vinyl Alcohol-Chitosan Nanofibers Prepared by Electrospinning Direct Deposition** ” *Microsc. Microanal.*, vol. 24, no. S1, pp. 1454–1455, 2018, doi: [10.1017/S1431927618007754](https://doi.org/10.1017/S1431927618007754).

1454
doi:10.1017/S1431927618007754

Microsc. Microanal. 24 (Suppl 1), 2018
© Microscopy Society of America 2018

Fabrication and Morphology Evaluation of Poly-vinyl Alcohol-Chitosan Nanofibers Prepared by Electrospinning Direct Deposition

Pedro Hernández¹, Rosalva Josefina Rodríguez-Córdova¹, F.J. Martínez Vázquez³, Iván E. Moreno-Cortez³, Aarón Martínez-Higuera¹, Armando Lucero-Acuña², Enrique Álvarez Ramos¹, Reynaldo Esquivel¹.

¹ Department of Physics, University of Sonora, Hermosillo, Sonora, Mexico

² Department of Chemical and Metallurgical Engineering, University of Sonora, Hermosillo, Sonora, Mexico

³ Universidad Autónoma de Nuevo León, Fac. de Ingeniería Mecánica y Eléctrica, Av Universidad s/n Cd Universitaria, Nuevo León México

5.1.4. Proceeding 2

Pedro-A. Hernandez-A., Nadia. Garcia-F, Jorge-L. Iriqui-R., Hiram Higuera-V., Eleazar León-S, Reynaldo Esquivel, Iván E. Moreno-Cortez and M.E. Álvarez-Ramos. **Systematic Evaluation of the Thermo-Magnetic Properties of Nanoparticles Coated with PNIPAM.** *Microscopy and Microanalysis*, 1-3. doi:10.1017/S1431927620021042.

This is an Accepted Manuscript for the Microscopy and Microanalysis 2020 Proceedings. This version may be subject to change during the production process.

DOI: 10.1017/S1431927620021042

888 – Systematic Evaluation of the Thermo-Magnetic Properties of Nanoparticles Coated with PNIPAM

Pedro-A. Hernandez-A.¹, Nadia. Garcia-F.², Jorge-L. Iriqui-R.³, Hiram Higuera-V.⁴, Eleazar León-S⁵, Reynaldo Esquivel⁶, Iván E. Moreno-Cortez⁷ and M.E. Álvarez-Ramos²

¹Universidad Estatal de Sonora, Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora, Mexico, ²Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora, Mexico, ³Universidad Estatal de Sonora., hermosillo, Sonora, Mexico, ⁴Universidad Estatal de Sonora., Hermosillo, Sonora, Mexico, ⁵Universidad Estatal de Sonora, Hermosillo, Sonora, Mexico, ⁶Universidad de Sonora, hermosillo, Sonora, Mexico, ⁷Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo Leon, Mexico

5.1.5. Solicitud de patente

Pedro Amado Hernández Abril, Reynaldo Esquivel González, Francisco Javier Zarate Félix, Mario Enrique Álvarez Ramos. **Compresa inteligente fotosensible para suministro programable y controlado de líquidos hidrofílicos y generación de calor**; IMPI, ME/E/2019/046506. 2019.

gob mx

Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial

Solicitud de Patente de Invención o de Registro de Modelo de Utilidad
o de Registro de Diseño Industrial
03 JUL. 2019

Homoclave del formato IMPI-00-009	Folio y Fecha de Recepción
Fecha de publicación del formato en el DOF 24 / 05 / 2018	SECRETARÍA DE ECONOMÍA INSTITUTO MEXICANO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL Dirección Divisinal de Patentes OFICINA REGIONAL DE OCCIDENTE Solicitud Expediente: MX/a/2019/008493 Fecha: 3/JUL/2019 Hora: 12:50:00 Folio: MX/E/2019/046506 168996 19030 7MX/E/2019/046506
Datos generales de la solicitud Marcar con una X sólo una opción <input checked="" type="radio"/> Solicitud de Patente de Invención <input type="radio"/> Solicitud de Registro de Modelo de Utilidad <input type="radio"/> Solicitud de Registro de Diseño Industrial, especifique: <input type="radio"/> Modelo Industrial <input type="radio"/> Dibujo Industrial	