



Universidad
Zaragoza

Trabajo de fin de máster

Estudio teórico de la generación de calor por nanopartículas magnéticas
utilizando liposomas como membranas celulares modelo

Theoretical study of magnetic nanoparticles heat generation using
liposomes as model cellular membranes

Autor

David Serrate Núñez

Directores

Raluca Maria Fratila
David Serantes

Máster en Ingeniería Biomédica

Escuela de Ingeniería y Arquitectura
2021

Agradecimientos

Si tuviese que resumir mis últimos meses con una sola palabra, creo que la más adecuada sería “locura”. Han sido unos meses bastante duros en los que he tenido que combinar mi trabajo como ingeniero con la realización de este trabajo de final de máster. Como la gente se podrá imaginar, he tenido que sacarme un cursillo exprés de malabares para poder compaginar mi trabajo y este proyecto. El cursillo estaba de oferta y ha sido de gran utilidad, no lo voy a negar, pero lo que ha marcado la diferencia y ha hecho este proyecto posible son mis tutores Raluca y David. No tengo palabras para agradecer vuestra enorme ayuda e implicación. Habéis sido capaces de encontrar un proyecto que se ajustase lo mejor posible a mis horarios cambiantes y lo habéis dado todo para poder terminarlo en un tiempo récord. Habéis trabajado contrarreloj y duramente, a veces a horas intempestivas e incluso en fin de semana, pero siempre con una gran sonrisa. Muchísimas gracias, de todo corazón, sin vuestra ayuda no lo hubiese logrado.

Por otro lado, quiero darle las gracias a la persona que lleva ganando 25 años consecutivos el premio a la mejor madre. Para el que no me crea, que sepa que hasta tiene el cinturón de campeona en una vitrina en su habitación. Gracias por apoyarme y guiarme siempre en todas las etapas de mi vida, y, como no, también en esta. He llegado hasta aquí gracias a ti.

También quiero darle las gracias a mi pareja Leyre. Eres un apoyo imprescindible en todos los nuevos retos que voy haciendo frente. Quiero que sepas que me hace mucha ilusión haberte motivado a iniciar tu propia aventura en el mundo biomédico, ese mundo del que disfruto en mi día a día y tanto me fascina. Te deseo el mejor de los éxitos en tu etapa que está a punto de empezar.

Por último, quiero dar gracias a mi familia y amigos más cercanos. Siempre hacéis que a vuestro lado lo bueno sea más bueno y lo malo menos malo.

Resumen

En la actualidad, las nanopartículas magnéticas (MNPs, por sus siglas en inglés) son ampliamente estudiadas en el campo de la biomedicina por sus interesantes características. Sus aplicaciones van desde su uso como agentes de contraste en resonancia magnética de imagen (RMI), la fabricación de biosensores, la liberación controlada de fármacos o incluso los tratamientos tumorales mediante hipertermia magnética. El presente trabajo de final de máster ha sido impulsado por una aplicación menos común de la hipertermia magnética, concretamente su uso para modular las propiedades biofísicas de membranas celulares modelo (liposomas) mediante un calentamiento localizado y controlado.

El trabajo se ha centrado en el estudio teórico de la capacidad de generar calor de MNPs de distintos tamaños bajo la aplicación de campos magnéticos alternos. Para lograr este objetivo, se han empleado métodos computacionales para simular un modelo teórico que contempla MNPs con un diámetro comprendido entre los 6 y 18 nm. Estas MNPs se han simulado variando su anisotropía y las condiciones del campo magnético aplicado. Modificar dichos parámetros ha sido crucial para evaluar su efecto en la capacidad de disipación de calor de las MNPs.

Previamente a este estudio, en el grupo BioNanosurf se han sintetizado y caracterizado las MNPs de forma experimental. Los resultados obtenidos en el laboratorio han sido comparados con las simulaciones realizadas en el presente trabajo. Esta comparación ha permitido entender mejor los resultados experimentales y determinar cuáles son las condiciones que favorecen una mayor generación de calor en la aplicación propuesta.

El trabajo realizado asienta las bases para continuar investigando el efecto de otras variables como puede ser la interacción entre nanopartículas, algo que ocurriría en aplicaciones *in vitro* e *in vivo*.

Abreviaturas y acrónimos

AFM = Microscopía de Fuerza Atómica (*Atomic Force Microscopy*)
AMF = Campo Magnético Alterno (*Alternating Magnetic Field*)
CESGA = Centro de Supercomputación de Galicia
CLI = Interfaz de Línea de Comando (*Command Line Interface*)
DPPC = Dipalmitoilfosfatidilcolina (*Dipalmythoylphosphatidylcholine*)
HFM = Hipertermia de Fluidos Magnéticos
INMA = Instituto de Nanociencia y Materiales de Aragón
LLG = Landau-Lifshitz-Gilbert
ML = Magnetoliposomas
MNP = Nanopartícula Magnética (*Magnetic Nanoparticle*)
PMAO = poli(anhídrido maleico-alt-1-octadeceno)
RMI = Resonancia Magnética de Imagen
SAR = Tasa de Absorción Específica (*Specific Absorption Rate*)
TEM = Microscopía Electrónica de Transmisión (*Transmission Electron Microscopy*)
VPN = Red Virtual Privada (*Virtual Private Network*)

Índice

1. Introducción	1
1.1 Nanopartículas magnéticas	1
1.2 Hipertermia magnética	2
1.3 Liposomas como modelos de membranas celulares	3
1.4 Antecedentes y planteamiento	5
2. Objetivos	7
3. Materiales y métodos	8
3.1 Preparación de las MNPs	8
3.2 Caracterización de las MNPs	8
3.3 Selección de las partículas para las simulaciones teóricas	8
3.4 Modelo teórico	9
3.5 Métodos computacionales	10
3.6 Código	12
4. Resultados y discusión	13
5. Conclusiones	19
6. Referencias	20
7. Anexos.....	22

1. Introducción

1.1 Nanopartículas magnéticas

Las nanopartículas se definen generalmente como partículas cuyo tamaño se encuentra por debajo de los 100 nm. Debido a su reducido tamaño, pueden presentar propiedades ópticas, eléctricas, magnéticas etc. nuevas o completamente distintas a las que tendría el mismo material en la escala macroscópica [1]. Concretamente, ciertas nanopartículas magnéticas (MNPs, por sus siglas en inglés) se caracterizan por tener una respuesta magnética única, conocida como superparamagnetismo. Esta propiedad consiste en que, en presencia de un campo magnético externo, las MNPs sufren una elevada imanación sin mostrar remanencia cuando éste se retira (Figura 1a) [2].

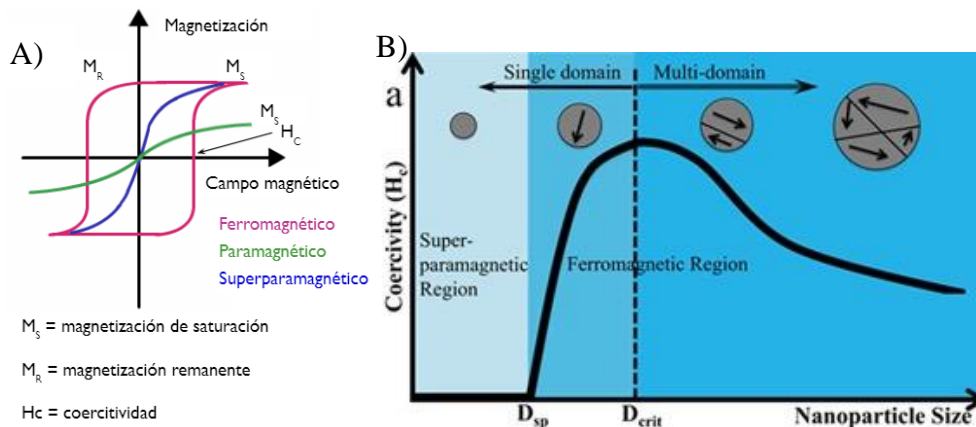


Figura 1. A) Ciclos de histéresis según el tipo de material magnético [2] (Figura reproducida de Navascuez Lominchar, Marcos, "Bioorthogonal click chemistry as a tool for the surface immobilization of magnetic nanoparticles," 2016.) B) Transition from superparamagnetic to the multi-domain region [3] (Figura reproducida de K. Wu, D. Su, J. Liu, R. Saha, and J. P. Wang, "Magnetic nanoparticles in nanomedicine: A review of recent advances," *Nanotechnology*, vol. 30, no. 50, Sep. 2019).

Las MNPs formadas por metales puros (Fe, Co, Ni, etc.) aleaciones (FeCo, permalloy) y óxidos (Fe_3O_4 , $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, CoFe_2O_4 , etc.) son las más empleadas actualmente en el ámbito de la nanotecnología. Pese a esto, en las aplicaciones biomédicas los metales puros no se emplean por su toxicidad y su oxidación [3]. En contrapartida, los óxidos de hierro como la magnetita (Fe_3O_4) o la maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), son comúnmente empleados por su gran estabilidad química y coloidal, la alta biocompatibilidad y coste reducido [4]. Gracias a las interesantes características mencionadas anteriormente, se ha producido un incremento en el número de estudios sobre las MNPs y sus aplicaciones en el campo de la biomedicina. Dichas aplicaciones van desde su uso como agentes de contraste en resonancia magnética de imagen (RMI), la fabricación de biosensores, la liberación controlada de fármacos o incluso los tratamientos tumorales mediante hipertermia magnética [4].

1.2 Hipertermia magnética

La hipertermia de fluidos magnéticos (HFM) consiste en la de generación de calor a distancia empleando nanopartículas magnéticas mediante la acción de un campo magnético alterno (AMF) [3]. Este procedimiento ha recibido una gran atención en los últimos años como alternativa terapéutica para el tratamiento del cáncer, debido a la mayor sensibilidad de las células tumorales a los aumentos de temperatura y al hecho de que materiales magnéticos comunes como los óxidos de hierro son muy biocompatibles [4], y que los campos magnéticos empleados son esencialmente inofensivos para el cuerpo humano. La idea básica es que, MNPs que no muestran histéresis (es decir, no hay absorción de energía magnética) bajo la aplicación de campos de baja frecuencia, sí mostrarían histéresis (es decir, su reorientación magnética implica un coste energético) bajo la aplicación de campos magnéticos alternos de frecuencia - y amplitud - alta. Como la energía magnética absorbida se puede transformar eficientemente en energía térmica, las nanopartículas magnéticas podrían administrarse de forma segura dentro de la región tumoral, para actuar como mediadores del calor local mediante la aplicación remota de un campo alterno. Lo ideal sería elevar la temperatura del tumor de forma controlada (en torno a los 43-47 °C), de modo que las células cancerosas resultaran dañadas mientras las sanas permanecieran inalteradas. En Europa, el uso de la hipertermia magnética como terapia recibió su aprobación para el tratamiento de tumores cerebrales (glioblastoma) en 2013 [5]. Además de su uso como terapia oncológica, la hipertermia magnética se ha estudiado para liberación controlada de fármacos [6] y se está actualmente explorando como herramienta para modular las propiedades biofísicas de membranas celulares (fluidez y permeabilidad) [7]. Es precisamente dentro de esta nueva aplicación donde se enmarca el trabajo realizado en este TFM, ya que uno de los directores lidera un proyecto centrado en el uso del calentamiento localizado inducido por MNPs para modular la fluidez de membranas celulares [8].

La efectividad de la hipertermia magnética está estrechamente relacionada con la cantidad de energía absorbida por un material en presencia de un campo magnético alterno [9], la cual se conoce como el coeficiente o tasa de absorción específica, SAR (acrónimo de Specific Absorption Rate, en inglés). En aplicaciones biomédicas, el SAR se suele expresar en vatios por gramo (W/g). Un mayor SAR significará una mayor absorción de energía por parte de las MNPs, lo que conllevará una mayor cantidad de calor disipada [10].

Hay distintos parámetros que pueden afectar al calentamiento de las MNPs [11], [12] :

a) Frecuencia y amplitud del campo magnético:

Existen estudios que demuestran que el SAR incrementa al aumentar la amplitud (H_{\max}) y frecuencia (f) del campo magnético aplicado [13], [14], [15], lo que sugeriría usar campos grandes para generar el calor deseado. El problema es que para aplicaciones *in vivo* la combinación H_{\max} - f está limitada, ya que campos con gran amplitud y frecuencias altas pueden producir un aumento de temperatura en tejidos no magnéticos. El límite fijado para el producto del campo por la frecuencia es de $4.85 \cdot 10^8$ A/m·s, aunque para zonas de exposición más reducidas se puede ampliar el límite hasta $5 \cdot 10^9$ A/m·s [11], [16]. Por lo tanto, es fundamental para la aplicación optimizar el SAR para combinaciones de H_{\max} y f controladas. Típicamente, H_{\max} alcanza unas decenas de kA/m, y f es del orden de cientos de kHz.

b) Tamaño de la nanopartícula:

La generación de calor tiene una estrecha relación con el tamaño (volumen, V) de la nanopartícula, ya que junto a su constante de anisotropía (K), define la fortaleza del acoplo de la imanación a su red frente a las fluctuaciones térmicas (véase subapartado siguiente). En general, para cualquier material (definido por sus parámetros K y M_s característicos) existe un tamaño óptimo de disipación de energía, el cual dependerá también de las características del campo [17]. Sin embargo, para los óxidos - como los del estudio actual -, debido a su baja K , podría ocurrir que tal tamaño óptimo fuese muy grande, por encima de las decenas de nanómetros. Por ejemplo, Sheng *et al.* [18] observaron que al incrementar el diámetro de la partícula se incrementa su SAR de modo no monotónico, sin llegar a observar un tamaño óptimo. Por otro lado, observaron que las MNPs con diámetros inferiores a 10 nm presentaban un SAR muy cercano a 0.

c) Anisotropía:

Todas las MNPs tienen una cierta anisotropía que lleva a una energía mínima en una dirección determinada. En el caso simple de considerar simetría uniaxial para la anisotropía, la energía de anisotropía magnética (proporcional a la constante de anisotropía uniaxial, K , y volumen de la partícula, V) se podría describir como la barrera de energía que encontramos cuando intentamos rotar el momento magnético de una MNP fuera de su dirección preferida. Es esta oposición a la rotación de la imanación la responsable de general pérdidas energéticas en forma de calor. Por lo tanto, la anisotropía (en general barrera de anisotropía) será un parámetro clave a optimizar al estudiar el SAR.

1.3 Liposomas como modelos de membranas celulares

Los liposomas son vesículas esféricas delimitadas por una bicapa compuesta por fosfolípidos y que separa dos compartimentos acuosos. La bicapa está formada por cabezas hidrofílicas y colas hidrofóbicas, lo que le otorga un comportamiento anfifílico. En contacto con un medio acuoso, las colas se enfrentan entre sí dejando las cabezas polares expuestas. De esta manera, se acaban formando esferas con un pequeño lumen acuoso en su interior. Esta configuración ofrece la posibilidad de cargar compuestos hidrofílicos en el compartimento acuoso interno, mientras que los compuestos hidrofóbicos podrían introducirse en la bicapa lipídica. Por otro lado, también existe la posibilidad de anclar moléculas de interés a su superficie. Los liposomas han sido ampliamente estudiados como sistemas de administración de fármacos [19], [20] y herramientas de diagnóstico [21], [22], y también se ha descrito su uso como modelos de membrana celular [23].

Un parámetro muy importante a tener en cuenta a la hora de diseñar un liposoma es la temperatura de transición de fase (T_m) de los fosfolípidos empleados. Los lípidos pueden hallarse en un estado líquido, por encima de la temperatura de transición, o en un estado tipo gel si se encuentran por debajo de esta. Para el uso de liposomas como modelos de membranas celulares, es conveniente emplear fosfolípidos cuya temperatura de transición de fase sea superior a la temperatura fisiológica. Por ejemplo, la dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC, $T_m = 42$ °C) se utiliza a menudo para diseñar liposomas que imiten la parte exterior de una membrana celular.

Actualmente, en el grupo de investigación en el que se ha realizado este Trabajo Fin de Máster (Grupo BioNanosurf, Instituto de Nanociencia y Materiales de Aragón, INMA) se está estudiando el efecto que el calentamiento inducido por las MNPs bajo la aplicación de un campo magnético alterno tiene en la permeabilidad y fluidez de la membrana celular. Sin embargo, estudiar el comportamiento de las MNPs unidas a la membrana celular y el efecto del calentamiento local sobre las propiedades de la membrana de una célula viva no es trivial, debido a la intrínseca complejidad de un sistema biológico. Para tener una mejor comprensión de estos fenómenos, se ha planteado el uso de modelos simplificados de membranas celulares (monocapas de fosfolípidos y colesterol depositadas sobre sustratos de mica). Los estudios preliminares llevados a cabo mediante técnicas de microscopía de fuerza atómica (AFM) usando MNPs de 12 nm en diámetro depositadas sobre estas monocapas han indicado que existe un calentamiento localizado inducido por las MNPs tras la aplicación de un campo magnético [7]. No obstante, se trata de un modelo muy simplificado que, además, no permite un estudio en profundidad de los cambios de fluidez y permeabilidad de la membrana. Por ello, se ha propuesto el uso de magnetoliposomas (MLs) como modelos de membranas que simulen mejor la membrana de una célula viva y permitan estudiar mejor el efecto del calentamiento localizado inducido por las MNPs tras la aplicación de campos magnéticos alternos en las propiedades biofísicas de las membranas (fluidez y permeabilidad).

Los magnetoliposomas son liposomas que contienen MNPs encapsuladas en el lumen o embebidas en la bicapa lipídica, según su tamaño (Figura 2). La inserción de MNPs (ML-A) en la bicapa lipídica de liposomas viene limitada por su grosor (3.4 nm), haciendo difícil la inserción de MNPs cuyo diámetro supere ese tamaño, aunque recientemente Choi *et al.* demostraron la inserción de MNPs de 6 nm en diámetro en la bicapa lipídica de liposomas [24]. En cuanto a MNPs de mayor tamaño, estas pueden ser encapsuladas en el compartimento interior de los liposomas (ML-B), o pueden estar unidas al exterior de la membrana liposomal (ML-C).

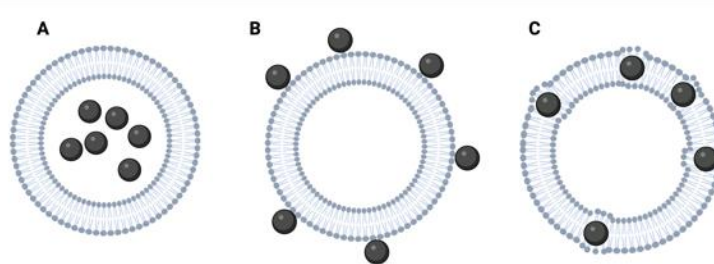


Figura 2. Distintas configuraciones de magnetoliposomas. a) MNPs encapsuladas en el lumen. b) MNPs unidas al exterior de la superficie del liposoma. c) MNPs introducidas en la bicapa lipídica (figura de elaboración propia usando BioRender.com).

1.4 Antecedentes y planteamiento

Como se indica en el apartado anterior, en el grupo de investigación BioNanosurf se ha planteado el uso de liposomas con nanopartículas magnéticas en distintas localizaciones (Figura 2) para estudiar el efecto del calentamiento localizado generado con hipertermia magnética en modelos de membranas celulares. Para la preparación de los tres tipos de magnetoliposomas se habían elegido *a priori* MNPs con dos diámetros distintos: 6 y 14 nm. Las MNPs de 6 nm se podrían emplear para las tres configuraciones, pero serían las únicas que se podrían introducir en la membrana (configuración C), debido al grosor de la bicapa lipídica. Las MNPs de 14 nm serían válidas solamente para las configuraciones A y B.

Además, los experimentos de hipertermia magnética usando los magnetoliposomas se habían planteado en condiciones de amplitud y frecuencia del campo magnético alterno similares a las empleadas con cultivos celulares (16.9 kA/m y 388/491 kHz).¹ Sin embargo, hay varios trabajos que parecen indicar una muy baja (o nula) capacidad de generar calor de las MNPs de diámetro inferior a 10 nm bajo condiciones de campo y frecuencia similares. Por ejemplo, en 2017 Sheng *et al.* [18] estudiaron el efecto del tamaño de la nanopartícula en su capacidad de generación de calor al aplicar un campo magnético alterno de 20.7 kA/m con una frecuencia de 325 kHz (Figura 3). En el estudio concluyeron que la eficiencia de calentamiento depende de distintas propiedades de las MNPs, como la saturación de magnetización y la energía de anisotropía. En el caso de la magnetita y la maghemita, esas propiedades están intrínsecamente asociadas con el tamaño de los nanocristales. Los resultados obtenidos demostraron que las partículas inferiores a 10 nm tenían un SAR muy reducido, lo cual indicaría su nula capacidad para generar calor. Por otro lado, las partículas superiores a 20 nm incrementan notoriamente su SAR y, por ende, la capacidad de generación de calor.

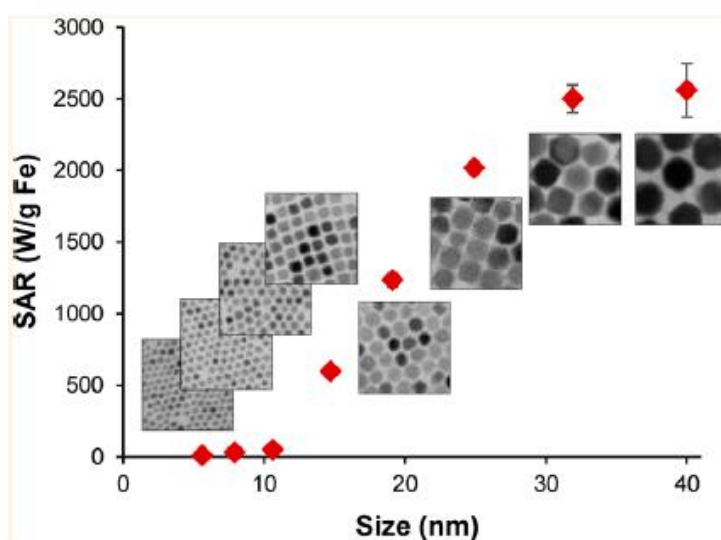


Figura 3. Evolución del SAR en función del diámetro de la MNP [18] (Figura reproducida de S. Tong, C. A. Quinto, L. Zhang, P. Mohindra, and G. Bao, "Size-Dependent Heating of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles," *ACS Nano*, vol. 11, no. 7, pp. 6808–6816, Jul. 2017).

¹ El aplicador de campo magnético dispone de dos bobinas, una para medidas de SAR y otra para trabajar con cultivos celulares. Dado que las frecuencias de las dos bobinas no coinciden, se han elegido para este trabajo las frecuencias de 388 y 491 kHz de la bobina para medir SAR, con el fin de tener un valor superior y otro inferior al de la frecuencia de la bobina para células (425 kHz).

Por otro lado, con anterioridad al comienzo de este TFM, se habían preparado y caracterizado las MNPs de 6 y 14 nm, obteniendo valores de SAR muy bajos para las MNPs de 6 nm (36 y 40 W/g Fe a 16.7 kA/m y 388 y 491 kHz, respectivamente) e intermedios para las MNPs de 14 nm (120 y 198 W/g Fe a 16.7 kA/m y 388 y 491 kHz, respectivamente).

En vista de estos antecedentes, se planteó para este TFM un estudio teórico del comportamiento del SAR en función del tamaño de partícula para condiciones específicas de amplitud y frecuencia del campo magnético. Por ello, el TFM ha sido realizado en colaboración con el Dr. David Serantes de la Universidad de Santiago de Compostela, experto en simulaciones teóricas de las propiedades de las nanopartículas magnéticas. El modelo teórico propuesto será el mismo que el usado por ejemplo en la reciente publicación de Ovejero *et al.* [25], en la que han participado tanto el Dr. Serantes, como varios investigadores de grupo BioNanosurf.

2. Objetivos

El objetivo principal de este Trabajo Fin de Máster es realizar un estudio teórico de la capacidad de generar calor de MNPs de distintos tamaños bajo la aplicación de campos magnéticos alternos. Los tamaños elegidos permiten el uso de las MNPs en la preparación de magnetoliposomas con las tres configuraciones descritas en la Figura 2. Por tanto, cabe esperar que los resultados obtenidos en este Trabajo Fin de Máster puedan ser utilizados para el diseño de magnetoliposomas en el marco de la investigación llevada a cabo en el grupo de investigación. Los resultados experimentales se han combinado con estudios teóricos para tener una mejor comprensión de los datos obtenidos.

Para alcanzar el objetivo principal, se han propuesto los siguientes objetivos:

1. Adquirir conocimientos básicos de nanomagnetismo, hipertermia magnética y cálculos computacionales.
2. Realizar una simulación teórica del SAR de nanopartículas magnéticas en el rango de 6-18 nm de diámetro.
3. Analizar y comparar los resultados teóricos con los datos de SAR experimentales.

3. Materiales y métodos

La preparación y caracterización físico-química de las MNPs empleadas en este trabajo han sido llevadas a cabo con anterioridad a este Trabajo Fin de Máster por Eduardo Moreno e Yilian Fernández del grupo BioNanosurf, en el marco de sus tesis doctorales. A continuación, se detallan algunos de los aspectos más relevantes relacionados con la preparación y caracterización de las MNPs.

3.1 Preparación de las MNPs

Las MNPs de 6 y 14 nm han sido sintetizadas siguiendo el protocolo optimizado por el grupo de investigación, mediante descomposición térmica de precursores organometálicos de hierro en disolventes con alto punto de ebullición [26], [27]. La estabilización de las MNPs magnéticas en medio acuoso se llevó a cabo utilizando el polímero anfifílico [poli(anhídrido maleico-alt-1-octadeceno, PMAO) [26], [27].

3.2 Caracterización de las MNPs

El tamaño y la morfología de las MNPs se analizaron mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM). Las MNPs en fase orgánica se lavaron tres veces con hexano y etanol y se diluyeron en cloroformo. Posteriormente, se depositó una gota de esta disolución en una rejilla de TEM de cobre con recubrimiento de carbono y se dejó secar a temperatura ambiente. Las medidas del diámetro de las MNPs se llevaron a cabo utilizando el software Digital Micrograph. Se contabilizaron de cada micrografía de TEM unas 200 MNPs y se representaron en un histograma de tamaños usando Excel.

La concentración de hierro (mg/ml) de las muestras se determinó mediante un procedimiento colorimétrico, midiendo la absorbancia de las muestras a 480 nm [27].

La caracterización magnética de las MNPs se llevó a cabo en un magnetómetro SQUID MPMS-XL (Quantum Design). Para ello se depositaron 50 μl de la suspensión de MNPs en un algodón y se dejó secar a temperatura ambiente. Este algodón se introdujo en una cápsula de policarbonato y esta fue insertada en el equipo de medición. El estudio de la magnetización en función del campo magnético se realizó a 300 K en un intervalo de campo magnético entre -1595 kA/m y 1595 kA/m (-2 y 2 T). Los resultados pueden consultarse en el Anexo I.

Las medidas del índice de absorción específica (SAR) se realizaron en un equipo para hipertermia magnética serie D5 (nanoScaleBiomagnetics) a una concentración de 0.5 mg de Fe/ml aplicando un campo magnético alterno con una amplitud de campo de 212 Gauss (21.2 mT, 16.9 kA/m) y con distintas frecuencias (305, 332, 347, 388, 491, 637 y 763 kHz) durante 3 minutos. Los resultados pueden consultarse en el Anexo I.

3.3 Selección de las partículas para las simulaciones teóricas

Los distintos tamaños de MNPs a simular se decidieron tras la caracterización realizada en el laboratorio, teniendo en cuenta la distribución de tamaños obtenida para las MNPs de 6 y 14 nm. Por un lado, en la preparación de MNPs de 6 nm se obtuvo realmente un rango de 5 a 9 nm (Figura 4). Por otro lado, para las MNPs de 14 nm se observó un rango de tamaños de 10 a 18 nm (Figura 5). Debido a esto, para las simulaciones se seleccionó un rango de 6 a 18 nm con intervalos de 2 nm.

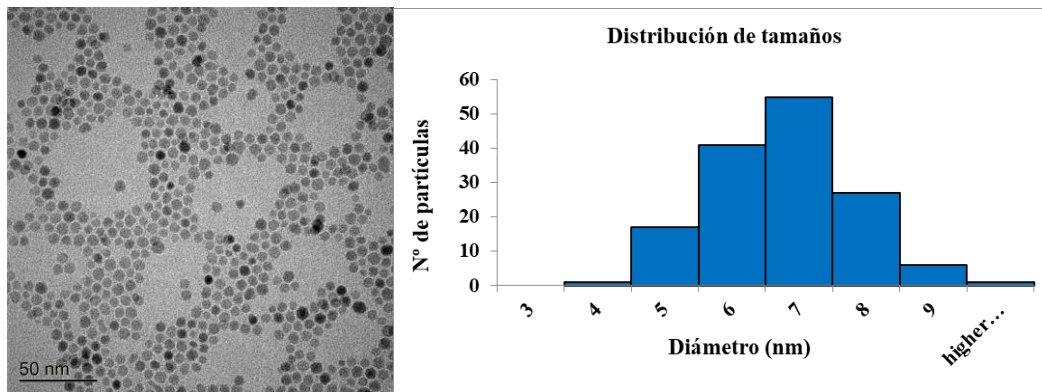


Figura 4. Imagen TEM de las MNPs de 6 nm (escala: 50 nm). Distribución de diámetro de las partículas experimentales de 6 nm.

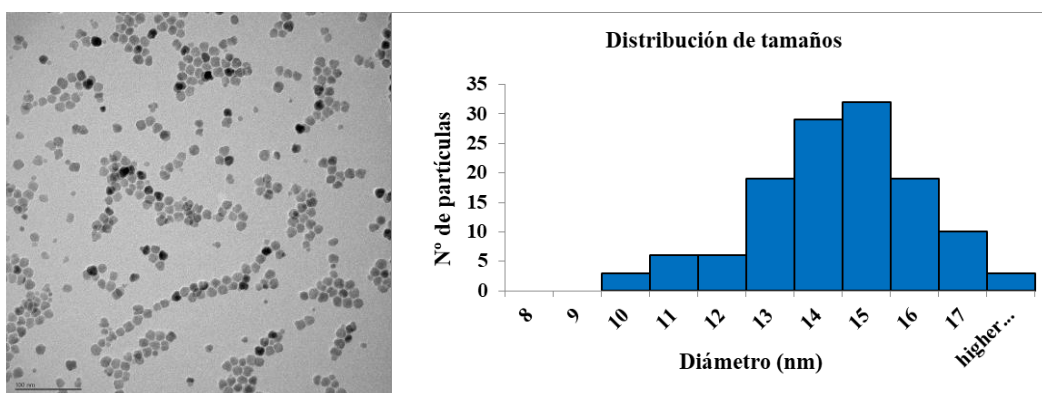


Figura 5. Imagen TEM de las MNPs de 14 nm (escala: 100 nm). Distribución de diámetro de las partículas experimentales de 14 nm.

3.4 Modelo teórico

El modelo teórico corresponde al modelo macrospin: entidades magnéticas en el rango monodominio, con características materiales y geométricas tales que sus momentos magnéticos constituyentes rotan de manera coherente, de tal modo que su imanación se puede considerar constante y proporcional al tamaño, como $|\vec{\mu}| = M_S V$, donde M_S es la imanación de saturación. Una característica típica del modelo macrospin es que pueden exhibir superparamagnetismo. El sistema en que las partículas estén unidas a la membrana liposomal o embebidas en la misma (ver Figura 2B y C), hace razonable considerar que en primera aproximación las partículas no roten físicamente bajo la acción del campo. Así, consideraremos que las partículas están físicamente quietas, y sólo su imanación evoluciona bajo la acción del campo magnético externo. En las simulaciones realizadas se consideró un sistema de 15000 partículas de igual tamaño y anisotropía, pero con una distribución espacial aleatoria. Además, la dirección de sus ejes preferidos también se fijó aleatoriamente (Figura 6).

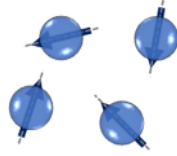


Figura 6. MNPs con distribución aleatoria en sus direcciones preferidas. (Figura de elaboración propia. Autor: David Serantes)

El sistema simulado no consideró las interacciones entre partículas, por lo que se estaría replicando un conjunto muy diluido de partículas. A cada partícula se le asignaron diferentes características según las condiciones experimentales (diámetro y anisotropía).

3.5 Métodos computacionales

La respuesta magnética de las MNPs se simuló mediante la ecuación de Landau-Lifshitz-Gilbert (LLG) [28]:

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \frac{-\gamma}{1 + \alpha^2} \vec{M} \times (\vec{H}_{eff} + \vec{H}_{th}) - \frac{\alpha\gamma}{M_S(1 + \alpha^2)} \vec{M} \times [\vec{M} \times (\vec{H}_{eff} + \vec{H}_{th})]$$

Ecuación 1. Ecuación de Landau-Lifshitz-Gilbert.

, en donde el primer término de la parte derecha de la ecuación describe la precesión de la imanación alrededor del campo efectivo local, \vec{H}_{eff} , y el segundo término corresponde a la atenuación, es decir, da cuenta de la tendencia de que la imanación tienda a la dirección de \vec{H}_{eff} . El campo \vec{H}_{eff} , es el campo magnético efectivo que actúa sobre las partículas, que para condiciones de no interacción incluye el campo externo H y el campo de anisotropía de las partículas, $H_K=2K/M_S$. En la ecuación (1), γ y α son la relación giroscópica de los electrones y el coeficiente de amortiguamiento, respectivamente, y \vec{H}_{th} es un campo aleatorio que tiene en cuenta la temperatura. Para la simulación se usó el software Object Oriented MicroMagnetic Framework (OOMMF)[29] sin considerar energía magnetostática ni de intercambio, de tal modo que cada celda unidad corresponde a un macrospin de volumen $V=cellsize^3$, tal como se hizo por ejemplo en un trabajo reciente en el que participó el co-director de este TFM [25]; un ejemplo representativo del código empleado se muestra en el Anexo II.

Todas las simulaciones realizadas en este trabajo se corrieron en los servidores del CESGA (Centro de Supercomputación de Galicia). Fue necesario solicitar acceso al centro de supercomputación para la creación de un directorio personal donde se guardaron los ficheros de las simulaciones. La conexión remota a los servidores del CESGA se realizó mediante el software FortiClient VPN (Figura 7). A la hora de acceder al directorio personal y realizar los cálculos, se utilizó el cliente SSH Putty (Figura 9) que funciona mediante una interfaz de línea de comandos (CLI, por sus siglas en inglés). Los servidores del CESGA emplean Linux (Red Hat Enterprise Linux Server release 7.5 (Maipo)), por lo que para emplear dicha interfaz fue necesario adquirir conocimientos básicos sobre los comandos de Linux. Para transferir los scripts con el código desde el ordenador personal hasta el directorio del CESGA, se empleó el software WinSCP (Figura 8). Este mismo software se empleó para transferir los resultados de los servidores al ordenador personal.

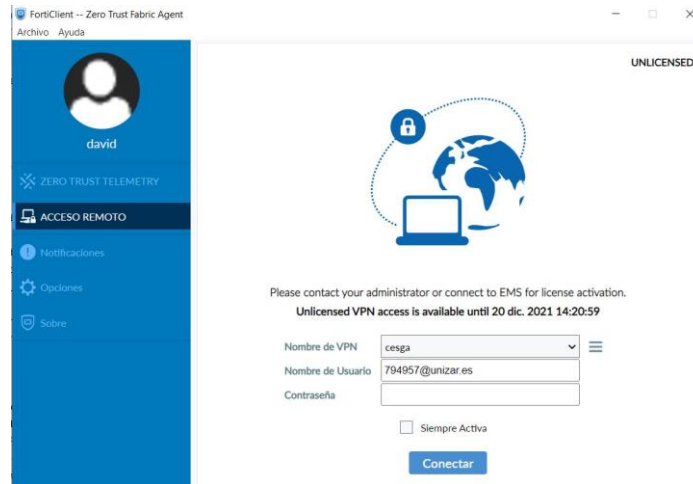


Figura 7. Conexión al CESGA mediante el software FortiClient VPN.

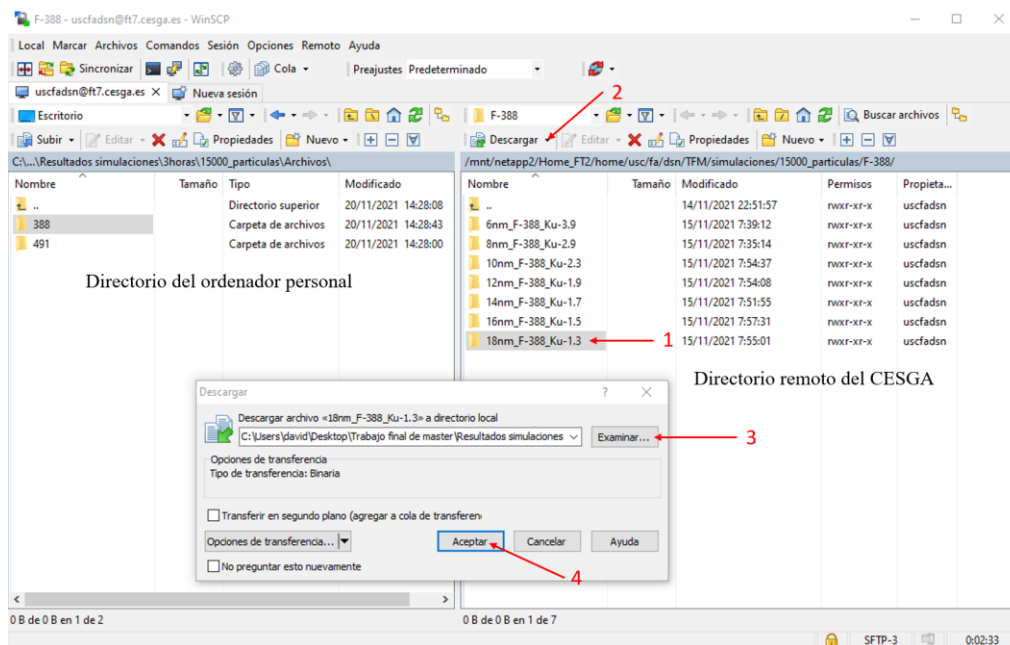


Figura 8. Transferencia de archivos empleando el software WinSCP. 1) Selección del archivo/carpeta a descargar. 2) Selección del tipo de descarga. 3) Selección del directorio local de destino. 4) Aceptar la descarga.

```

uscfdns@fs6804~
login as: uscfadsn
uscfdns@ft7.cesga.es's password:
Last login: Fri Oct 29 18:05:57 2021 from 10.212.135.107
*****
                        BIENVENIDO
*****
*
* El Superordenador Finis Terrae II ha sido financiado por el Ministerio de
* Economía y Competitividad, la Xunta de Galicia y FEDER (Fondo
* Europeo de Desarrollo Regional)
*****
* En caso de problemas/dudas: telefono --> 981 56 98 10, ext. 814
*                               web      --> portalusuarios.cesga.es
*                               e-mail   --> helpdesk_sistemas@cesga.es
*
* Documentacion disponible en: https://portalusuarios.cesga.es
*****

Envio de un trabajo con 10 horas de tiempo maximo:
sbatch --time=10:00:00 trabajo.sh

Envio de un trabajo MPI a dos nodos:
sbatch -p thinnodes --time=10:00:00 -N 2 trabajo.sh

Estos son los sistemas de ficheros asociados a su cuenta:

VARIABLE=PATH
-----
$HOME=/home/usc/fa/dsn
$LUSTRE=/mnt/lustre/scratch/home/usc/fa/dsn
$STORE=/mnt/netapp2/Store_un1/home/usc/fa/dsn

#####
##          PROXIMAS PARADAS PROGRAMADAS          ##
#####
##          NO hay ninguna parada programada proximanente.          ##
#####

[uscfdns@fs6804 ~]$

```

Figura 9. Cliente SSH PuTTY.

Finalmente, los archivos obtenidos se analizaron y graficaron empleando los programas OriginPro 9.0 y Microsoft Excel.

3.6 Código

El campo magnético simulado fue de 16.9 kA/m y las frecuencias de 388 y 491 kHz. Como ya se ha indicado anteriormente, las condiciones de campo y frecuencia fueron elegidas para ser lo más parecidas a las condiciones empleadas en la bobina específicamente diseñada para trabajos con cultivos celulares (16.9 kA/m y 388 y 425 kHz). En las simulaciones se utilizó $\alpha = 0.1$ y $M_S = 2.94 \cdot 10^5$ A/m, a 300 K, y los datos de magnetización se promediaron sobre 15000 partículas como se ha mencionado en el apartado 3.4. Para la constante de anisotropía Keff, se consideró siempre el término magnetocristalino intrínseco, de constante de anisotropía cúbica $K_C = -1.1 \cdot 10^5$ erg/cm³, más un término uniaxial adicional dependiente del tamaño, tal y como informan Demortière *et al.* [30]. A continuación, en la Figura 10 se destacan solamente los parámetros que se variaron sistemáticamente en el trabajo: tamaño de las partículas, a través del parámetro “cellsize” (en nm), que corresponde al cubo de volumen equivalente al diámetro considerado en cada momento; frecuencia del campo (“freq”, en kHz), y componente uniaxial de la anisotropía (“K1”, dentro de la función “Oxs_UniaxialAnisotropy”). El código completo puede consultarse en el Anexo II.

- a) Parameter cellsize 4.84e-9
- b) Parameter amp 21.2 ;# Amplitude of the applied field, in mT
Parameter freq 491 ;# Frequency of applied field, in kHz
- c) Specify Oxs_UniaxialAnisotropy {
K1 3.9e4

Figura 10. a) Definición del tamaño de la MNP. b) Definición de la amplitud y frecuencia del campo aplicado. c) Definición de la anisotropía.

4. Resultados y discusión

Inicialmente se realizaron simulaciones sistemáticas con valores de anisotropía de $1.0e4 \text{ J/m}^3$ hasta $10.0e4 \text{ J/m}^3$. El motivo de este estudio sistemático fue doble: en primer lugar, para familiarizarse con el proceso de enviar cálculos, analizarlos, y obtener resultados de un modo sistemático; en segundo lugar, y más fundamental, para obtener una idea global del papel de la anisotropía en la capacidad de calentamiento de los distintos tamaños, ya que, como se menciona en el apartado 1.2c, la anisotropía es un parámetro fundamental en la conversión de la energía electromagnética absorbida en calor. Para una misma amplitud y dos frecuencias distintas, se simularon MNPs en un rango de 6 a 18 nm con intervalos de 2 nm. Para cada diámetro, se incrementó la anisotropía de $1.0e4$ hasta $10.0e4 \text{ J/m}^3$ en intervalos de $1.0e4 \text{ J/m}^3$; esto se resume esquemáticamente en la Figura 11.

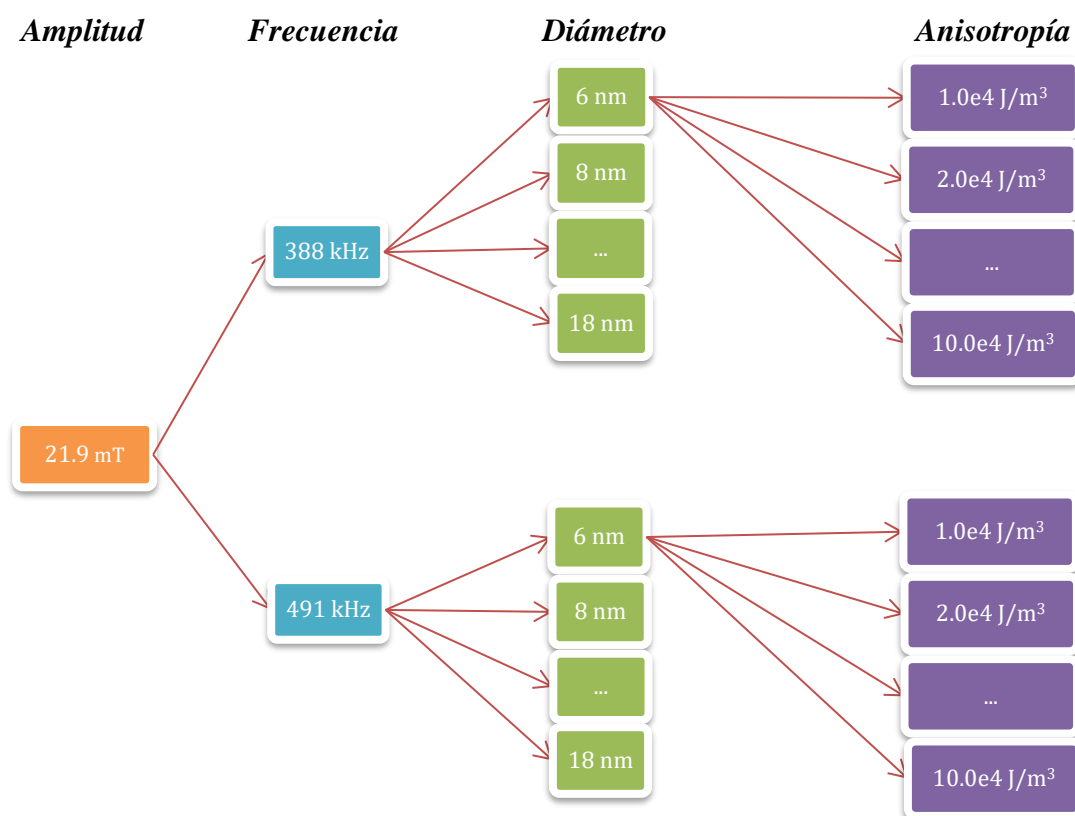


Figura 11. Esquema de las simulaciones iniciales.

Los resultados obtenidos en las primeras simulaciones sirvieron para confirmar que para las condiciones de campo magnético empleadas, las MNPs con diámetros inferiores a 10 nm no presentaban ningún tipo de generación de calor debido a un SAR cercano a 0.

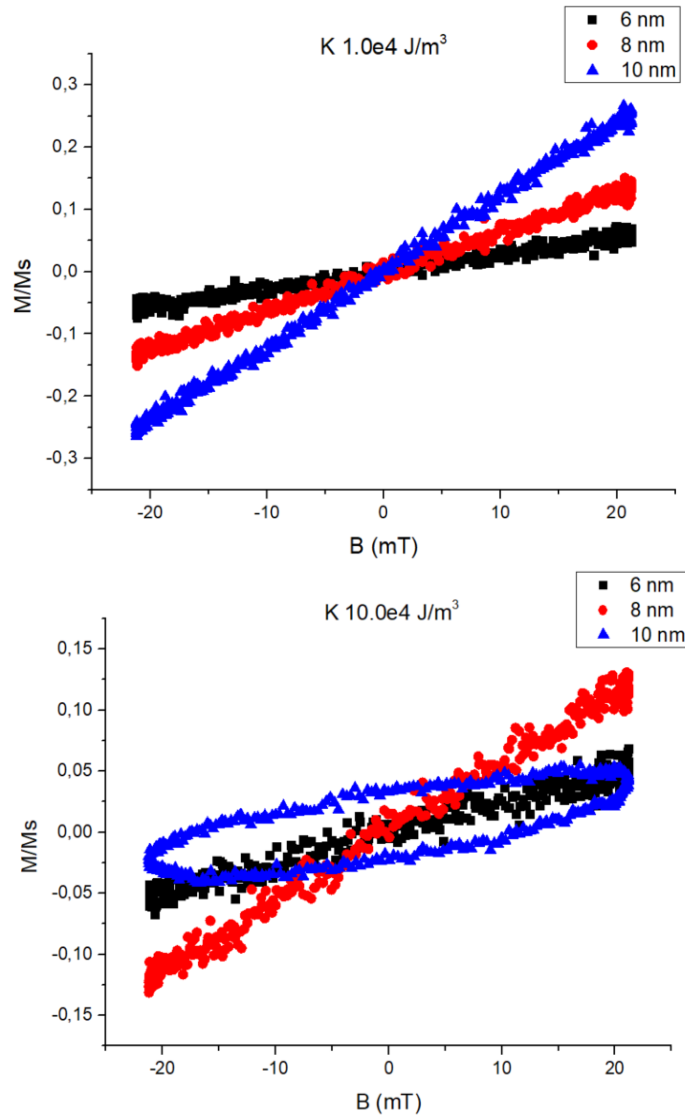


Figura 12. Ejemplo de los cálculos iniciales. Ciclos de histéresis a frecuencia 491 kHz.

Como se ha mencionado anteriormente, la simulación sistemática combinando tamaño y anisotropía es importante tanto desde el punto de vista teórico como de aprendizaje. Sin embargo, experimentalmente existe una correlación entre tamaño y anisotropía: a menor tamaño, mayor el valor de la constante de anisotropía debido a la mayor contribución de la anisotropía de superficie [30]. Consecuentemente, para poder tener correlación con el experimento, como resultados principales se mantuvieron las dos frecuencias y el rango de diámetros, pero los valores de reales de anisotropía para cada tamaño se obtuvieron del estudio de Demortière *et al.* [30], en donde la contribución uniaxial se estimó a través de la expresión

$$K_u = K_V + (6/D)K_S$$

Ecuación 2. Ecuación de dependencia de la anisotropía efectiva con el tamaño de la partícula.

en donde K_V es el módulo de la constante de anisotropía magnetocristalina, D el diámetro de la partícula, y K_S la constante de anisotropía superficial. Aunque se sabe que la expresión no es válida para tamaños muy pequeños (Demortière *et al.* indican inferiores a 8 nm), por mantener una expresión sistemática del valor de K uniaxial hemos decidido

mantener esa dependencia Así, hemos considerado que la expresión nos indica el valor de la constante de anisotropía uniaxial adicional. Los valores usados son los de la siguiente tabla:

Tabla 1. Valores de la constante de anisotropía uniaxial empleados según el tamaño de las MNPs.

Diámetro (nm)	K1 (J/m ³)
6	3.90e4
8	2.90e4
10	2.30e4
12	1.90e4
14	1.70e4
16	1.50e4
18	1.30e4

Para cada combinación de frecuencia y tamaño, se analizaron los datos y se graficaron los ciclos de histéresis. Los ciclos de histéresis para 388 kHz y 491 kHz se representan en las Figuras 13 y 14 respectivamente.

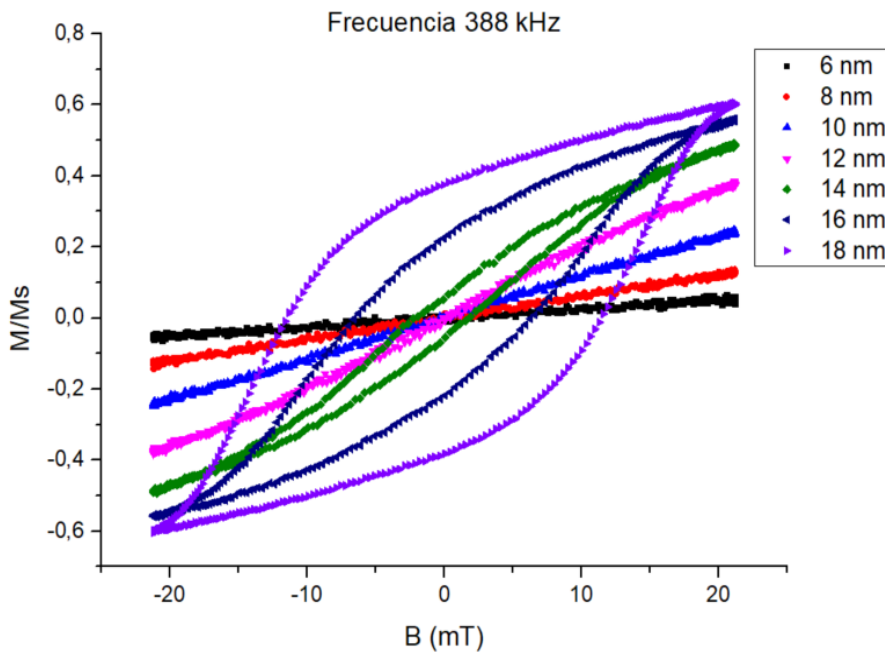


Figura 13. Ciclos de histéresis para todos los tamaños a 388 kHz.

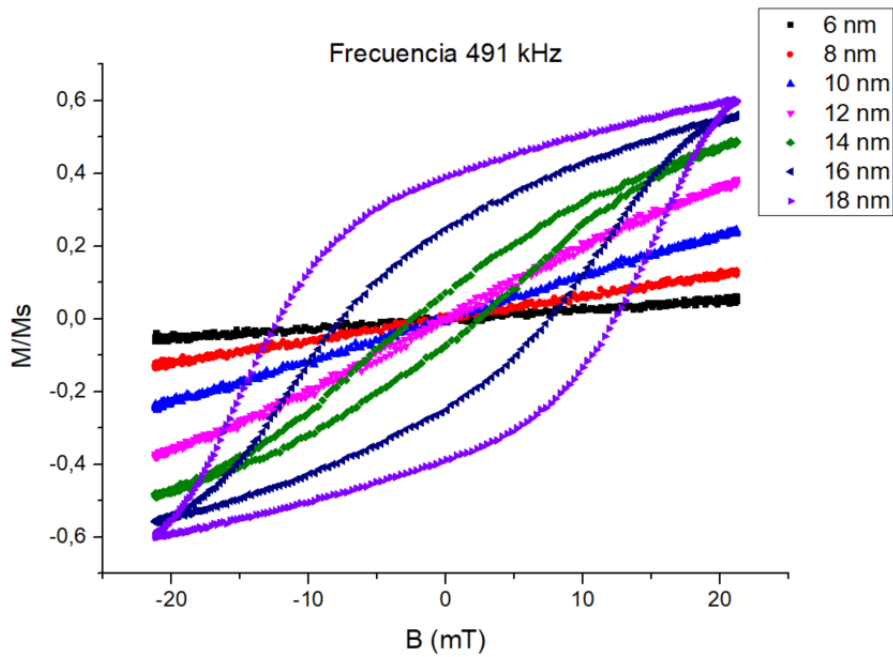


Figura 14. Ciclos de histéresis para todos los tamaños a 491 kHz.

A partir de estas gráficas se integró el área encerrada entre las dos curvas y se calculó el SAR de las MNPs. Conociendo el área del ciclo de histéresis, el valor de SAR puede ser calculado de forma aproximada mediante la expresión

$$SAR(W/g_{Fe}) = \frac{\text{área} \cdot M_s \cdot f \cdot 10^{-9}}{\rho \cdot 0.7}$$

Ecuación 3. Ecuación del SAR teórico a partir del área del ciclo de histéresis.

, donde las unidades son: [área]=1/mT, [M_s]=A/m, [f]=1/s, y [ρ]=g/cm³. El valor 0.7 se emplea para pasar de los valores de SAR de masa de magnetita a masa de Fe. Nótese que las figuras tienen el campo en unidades de mT porque el código trabaja con el campo B.

Los valores de área y SAR calculados pueden observarse en la Tabla 2.

Tabla 2. Valores de área (1/mT) y SAR (W/g Fe) en función de la frecuencia y el diámetro.

Diámetro (nm)	388 kHz		491 kHz	
	Área (1/mT)	SAR (W/g Fe)	Área (1/mT)	SAR (W/g Fe)
6	0	0	0	0
8	0	2	0	0
10	0	3	0	3
12	0	13	0	20
14	2	72	3	119
16	9	313	11	470
18	20	663	22	910

Los datos obtenidos reflejan que, para ambas frecuencias, las MNPs inferiores a 12 nm tienen unos valores de SAR muy cercanos a 0 y, por lo tanto, despreciables. En la Figura 15 se puede observar que existe una diferencia en el SAR al emplear diferentes frecuencias. Para unas mismas condiciones de tamaño, amplitud y anisotropía, las MNPs expuestas a una mayor frecuencia experimentan una mayor generación de calor. Esta diferencia se hace más notable a medida que se incrementa el tamaño de las MNPs.

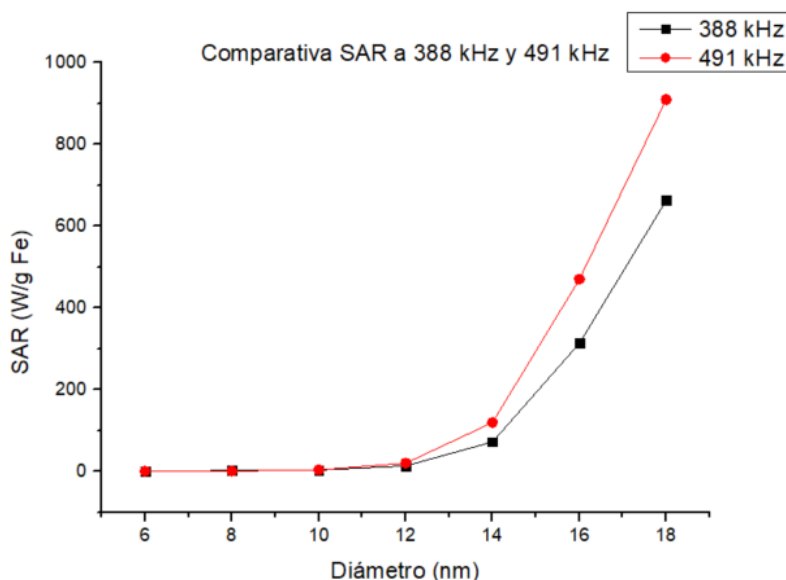


Figura 15. Valores de SAR en función de la frecuencia (kHz) y el diámetro (nm).

Los valores de SAR teóricos se compararon con los valores medidos experimentalmente tal y como se muestra en la Tabla 3. Se observó que los resultados experimentales no coincidieron del todo con los teóricos. Por ejemplo, a una frecuencia de 388 kHz las MNPs de 6 nm de diámetro presentaron un SAR simulado de 0 W/g Fe, mientras que, experimentalmente para esas mismas condiciones se determinó un SAR de 36 W/g Fe. La posible razón para este fenómeno podría ser la dispersión de tamaños observada en las MNPs, tal y como se puede ver reflejado en los histogramas mostrados en el apartado 3.3. Las MNPs de 6 nm presentaron una dispersión de tamaños relativamente ancha, con una considerable contribución de las MNPs con un diámetro superior a 6 nm (hasta 9 nm) dentro del mismo conjunto. Por el contrario, las simulaciones realizadas contemplaron que las 15.000 partículas simuladas tenían 6 nm de diámetro. Debido a esto, sería normal esperar que las partículas experimentales de 6 nm presentasen un SAR distinto a cero debido a la presencia de MNPs de mayor tamaño en el conjunto. Esta misma situación puede observarse para el resto de las condiciones de frecuencia y tamaño.

Tabla 3. Comparativa de los valores de SAR medidos experimentalmente frente a los valores de SAR calculados a partir de los datos de las simulaciones.

Frequency (kHz)	Experimental		Simulaciones	
	SAR (W/g Fe)		SAR (W/g Fe)	
	6 nm MNPs	14 nm MNPs	6 nm MNPs	14 nm MNPs
388	36	120	0	72
491	40	198	0	119

5. Conclusiones

Las principales conclusiones obtenidas en el presente TFM y su relación con los objetivos propuestos se detallan a continuación.

1. Se han adquirido conocimientos de nanomagnetismo, hipertermia magnética y cálculos computacionales a un nivel que permita el desarrollo del trabajo propuesto, así como el entendimiento y la discusión crítica de los resultados obtenidos (objetivos 1 y 2).
2. Los resultados obtenidos en este trabajo respaldan estudios anteriores que indican que las MNPs con diámetros inferiores a 12 nm apenas presentan capacidad de disipación térmica cuando son sometidas a condiciones de campo magnético que no superen los límites establecidos como seguros desde un punto de vista biológico (objetivo 2).
3. Teóricamente, la modulación de la fluidez de la membrana de los liposomas empleando MNPs introducidas en la bicapa lipídica no parece ser un método efectivo debido a las limitaciones de tamaño. Las MNPs que pueden ser introducidas en dicha bicapa no presentan capacidad de generación de calor significativa. Por tanto, los resultados obtenidos sugieren que los magnetoliposomas con las configuraciones A y B serían más indicados para estudiar el efecto del calentamiento localizado, ya que estas dos configuraciones admiten el uso de MNPs de mayor tamaño, cuyo SAR será más elevado (objetivo 2).
4. Los resultados experimentales difieren en cierta medida de los teóricos debido a la dispersión de tamaño de las MNPs sintetizadas en el laboratorio. La presencia de MNPs de mayor tamaño provoca un incremento del SAR del conjunto, lo que puede llevar a confusión ya que se podría pensar que partículas de diámetro reducido tienen valores de SAR más elevados que los reales (objetivo 3).
5. Como continuación a este trabajo, en las simulaciones se deberían incluir otros parámetros, por ejemplo, las interacciones entre MNPs, debido a que en este caso se han simulado MNPs en una suspensión acuosa diluida. Esto permitiría estudiar situaciones más parecidas a la realidad, que contemplen la interacción de MNPs en la superficie o el interior de los liposomas.

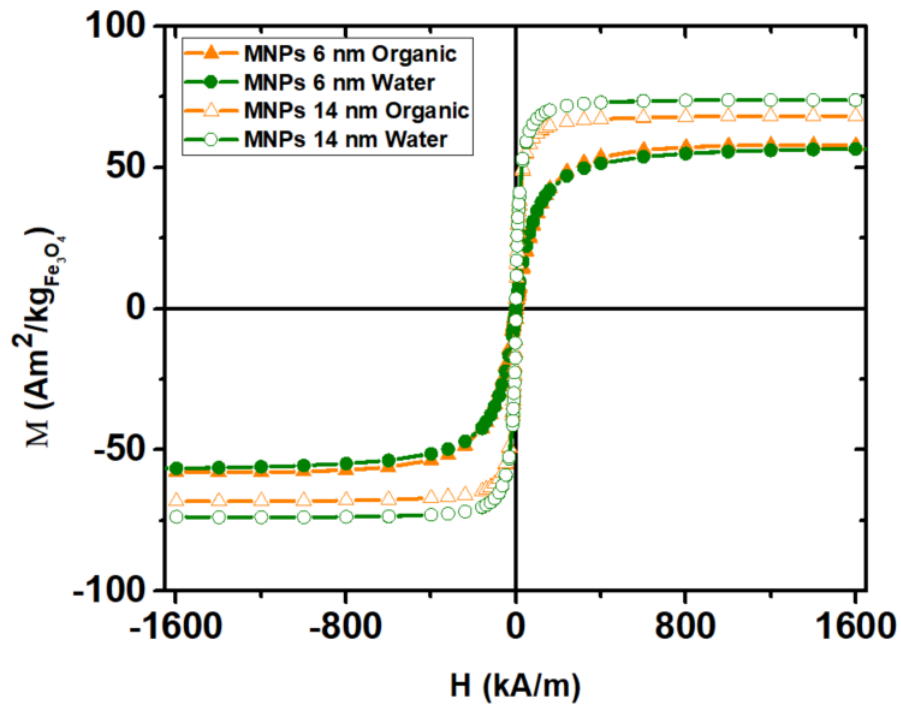
6. Referencias

- [1] A. Hervault and N. T. K. Thanh, “Magnetic nanoparticle-based therapeutic agents for thermo-chemotherapy treatment of cancer,” *Nanoscale*, vol. 6, no. 20, pp. 11553–11573, Oct. 2014, doi: 10.1039/c4nr03482a.
- [2] M. Navascuez Lominchar, “Bioorthogonal click chemistry as a tool for the surface immobilization of magnetic nanoparticles,” 2016.
- [3] K. Wu, D. Su, J. Liu, R. Saha, and J. P. Wang, “Magnetic nanoparticles in nanomedicine: A review of recent advances,” *Nanotechnology*, vol. 30, no. 50, Sep. 2019, doi: 10.1088/1361-6528/ab4241.
- [4] M. Colombo *et al.*, “Biological applications of magnetic nanoparticles,” *Chemical Society Reviews*, vol. 41, no. 11, pp. 4306–4334, May 2012, doi: 10.1039/c2cs15337h.
- [5] C. Radic, “MagForce Nanotechnologies Receives European Regulatory Approval for Its Nano-Cancer(R) Therapy,” Jun. 28, 2010.
- [6] M. Moros *et al.*, “Triggering antitumoural drug release and gene expression by magnetic hyperthermia,” *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 138. Elsevier B.V., pp. 326–343, Jan. 01, 2019. doi: 10.1016/j.addr.2018.10.004.
- [7] S. Ruiz-Rincón, A. González-Orive, V. Grazú, R. M. Fratila, J. M. de la Fuente, and P. Cea, “Altering model cell membranes by means of localized magnetic heating,” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 196, Dec. 2020, doi: 10.1016/j.colsurfb.2020.111315.
- [8] L. Beola *et al.*, “Nanopartículas magnéticas para tratamiento de cáncer por hipertermia magnética en modelos celulares 3D,” 2018.
- [9] A. F. Romero, “MASKANA, CEDIA 2015 Protocolo de pruebas para evaluar el SAR (Tasa de Absorción Específica) producido por terminales móviles.”
- [10] K. Kekalo, I. Baker, R. Meyers, and J. Shyong, “Magnetic Nanoparticles with High Specific Absorption Rate at Low Alternating Magnetic Field,” *Nano LIFE*, vol. 05, no. 02, p. 1550002, Jun. 2015, doi: 10.1142/s1793984415500026.
- [11] A. E. Deatsch and B. A. Evans, “Heating efficiency in magnetic nanoparticle hyperthermia,” *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, vol. 354. pp. 163–172, 2014. doi: 10.1016/j.jmmm.2013.11.006.
- [12] E. C. Abenojar, S. Wickramasinghe, J. Bas-Concepcion, and A. C. S. Samia, “Structural effects on the magnetic hyperthermia properties of iron oxide nanoparticles,” *Progress in Natural Science: Materials International*, vol. 26, no. 5, pp. 440–448, Oct. 2016, doi: 10.1016/j.pnsc.2016.09.004.
- [13] P. Pradhan *et al.*, “Comparative evaluation of heating ability and biocompatibility of different ferite-based magnetic fluids for hyperthermia application,” *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, vol. 81, no. 1, pp. 12–22, Apr. 2007, doi: 10.1002/jbm.b.30630.
- [14] C. L. Dennis *et al.*, “Nearly complete regression of tumors via collective behavior of magnetic nanoparticles in hyperthermia,” *Nanotechnology*, vol. 20, no. 39, 2009, doi: 10.1088/0957-4484/20/39/395103.
- [15] B. Mehdaoui *et al.*, “Large specific absorption rates in the magnetic hyperthermia properties of metallic iron nanocubes,” *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, vol. 322, no. 19, Oct. 2010, doi: 10.1016/j.jmmm.2010.05.012.
- [16] R. Hergt and S. Dutz, “Magnetic particle hyperthermia-biophysical limitations of a visionary tumour therapy,” *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, vol. 311, no. 1 SPEC. ISS., pp. 187–192, 2007, doi: 10.1016/j.jmmm.2006.10.1156.

- [17] B. Mehdaoui *et al.*, “Optimal size of nanoparticles for magnetic hyperthermia: A combined theoretical and experimental study,” *Advanced Functional Materials*, vol. 21, no. 23, pp. 4573–4581, Dec. 2011, doi: 10.1002/adfm.201101243.
- [18] 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, Jul. 2017, doi: 10.1021/acsnano.7b01762.
- [19] T. M. Allen and P. R. Cullis, “Liposomal drug delivery systems: From concept to clinical applications,” *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 65, no. 1, pp. 36–48, Jan. 2013. doi: 10.1016/j.addr.2012.09.037.
- [20] C. Zylberberg and S. Matosevic, “Pharmaceutical liposomal drug delivery: a review of new delivery systems and a look at the regulatory landscape,” *Drug Delivery*, vol. 23, no. 9, Taylor and Francis Ltd, pp. 3319–3329, Nov. 21, 2016. doi: 10.1080/10717544.2016.1177136.
- [21] A. L. Petersen, A. E. Hansen, A. Gabizon, and T. L. Andresen, “Liposome imaging agents in personalized medicine,” *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 64, no. 13, pp. 1417–1435, Oct. 2012. doi: 10.1016/j.addr.2012.09.003.
- [22] Y. Xia *et al.*, “Liposome-based probes for molecular imaging: from basic research to the bedside,” *Nanoscale*, vol. 11, no. 13, Royal Society of Chemistry, pp. 5822–5838, 2019. doi: 10.1039/C9NR00207C.
- [23] E. Rascol, J. M. Devoisselle, and J. Chopineau, “The relevance of membrane models to understand nanoparticles-cell membrane interactions,” *Nanoscale*, vol. 8, no. 9, Royal Society of Chemistry, pp. 4780–4798, Mar. 07, 2016. doi: 10.1039/c5nr07954c.
- [24] W. il Choi, A. Sahu, F. R. Wurm, and S. M. Jo, “Magnetoliposomes with size controllable insertion of magnetic nanoparticles for efficient targeting of cancer cells,” *RSC Advances*, vol. 9, no. 26, pp. 15053–15060, 2019, doi: 10.1039/c9ra02529d.
- [25] J. G. Ovejero *et al.*, “Selective Magnetic Nanoheating: Combining Iron Oxide Nanoparticles for Multi-Hot-Spot Induction and Sequential Regulation,” *Nano Letters*, vol. 21, no. 17, pp. 7213–7220, Sep. 2021, doi: 10.1021/acs.nanolett.1c02178.
- [26] M. Moros, B. Pelaz, P. López-Larrubia, M. L. García-Martin, V. Grazú, and J. M. de La Fuente, “Engineering biofunctional magnetic nanoparticles for biotechnological applications,” *Nanoscale*, vol. 2, no. 9, pp. 1746–1755, Sep. 2010, doi: 10.1039/c0nr00104j.
- [27] R. M. Fratila *et al.*, “Covalent immobilisation of magnetic nanoparticles on surfaces: Via strain-promoted azide-alkyne click chemistry,” *New Journal of Chemistry*, vol. 41, no. 19, pp. 10835–10840, 2017, doi: 10.1039/c7nj01822c.
- [28] J. L. García-Palacios and F. J. Lázaro, “Langevin-dynamics study of the dynamical properties of small magnetic particles,” 1998.
- [29] M. J. Donahue and D. G. Porter, “OOMMF User’s Guide, Version 1.0,” Sep. 1999.
- [30] A. Demortière *et al.*, “Size-dependent properties of magnetic iron oxide nanocrystals,” *Nanoscale*, vol. 3, no. 1, pp. 225–232, Jan. 2011, doi: 10.1039/c0nr00521e.

7. Anexos

Anexo I: Caracterización experimental de las respuesta magnética y SAR de las MNPs sintetizadas



Frecuencia (kHz)	SAR (W/g Fe)	
	6 nm MNPs	14 nm MNPs
305	0	130
332	0	115
347	0	160
388	36	120
491	40	198
637	57	294
763	63	408

Anexo II: Código empleado

```
# MIF 2.1
# MIF Example File: acsample.mif
# Description: Example with an ac applied field, in the (1,0,0) direction
set pi [expr 4*atan(1.0)]
set mu0 [expr 4*$pi*1e-7]

RandomSeed 1

Parameter cellsize 4.84e-9

Parameter amp 21.2 ;# Amplitude of the applied field, in mT
Parameter freq 491 ;# Frequency of applied field, in kHz
Parameter time_limit 1

# This value (to set the total simulation time) must be in ns
set time_limit [expr {int(1e9/($freq*1e3))+1}]

# Convert field amplitude from mT to A/m
set amp [expr {$amp*0.001/$mu0}]

# Convert freq from kHz to natural frequency in rad/sec
set freq [expr {$freq*1e3*2*$pi}]

Specify Oxs_BoxAtlas:atlas [subst {
  xrange {0 [expr {50*$cellsize}]}
  yrange {0 [expr {30*$cellsize}]}
  zrange {0 [expr {10*$cellsize}]}
}]

Specify Oxs_RectangularMesh:mesh [subst {
  cellsize {$cellsize $cellsize $cellsize}
  atlas :atlas
}]

Specify Oxs_RandomVectorField:Orientation {
  min_norm 1
  max_norm 1
  cache_grid :mesh
}

Specify Oxs_UniaxialAnisotropy {
  K1 3.9e4
  axis :Orientation
}

Specify Oxs_RandomVectorField:axis1 [subst {
  min_norm 1.0
  max_norm 1.0
  cache_grid :mesh
}]

Specify Oxs_CubicAnisotropy {
  K1 -1.1e4
  axis1 :axis1
  axis2 { Oxs_PlaneRandomVectorField {
    min_norm 1.0
    max_norm 1.0
    plane_normal :axis1
  }
```

```

    cache_grid :mesh
  }}
}

Specify Oxs_ScriptUZeeman {
  script_args total_time
  script SineField
}

proc SineField { total_time } {
  global amp freq
  set Hx [expr {$amp*sin($freq*$total_time)}]
  set dHx [expr {$amp*$freq*cos($freq*$total_time)}]
  return [list $Hx 0 0 $dHx 0 0]
}

Specify UHH_ThetaEvolve {
  do_precess 1
  alpha 0.1
  fixed_timestep 6e-13
  temperature 300
  uniform_seed 111
}

Specify Oxs_TimeDriver [subst {
  basename npSW-like
  evolver UHH_ThetaEvolve
  comment {run for "stage_count" ns total, with a stage event triggered every "stopping_time" ns.}
  stopping_time [expr {$time_limit*1e-9/360}]
  stage_count 810
  mesh :mesh
  Ms 294e3
  m0 { Oxs_RandomVectorField {
    min_norm 1.0
    max_norm 1.0
  }}
}]

Destination archive mmArchive
Schedule DataTable archive Stage 1
#END

```