

UNIVERSIDAD DE SONORA

División de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Física

Posgrado en Nanotecnología

Tesis

**“Síntesis de nanobarras de oro cubiertas con
sílice mesoporosa para la liberación controlada de
cisplatino”**

Que para obtener el grado de:
Maestro en Nanotecnología

Presenta:

Jaime Alberto Quiñones Rábago

Teniendo como director a:

Dr. Mario Eduardo Almada Ortiz

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

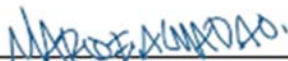
VOTOS APROBATORIOS

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 Maestría intitulada: "Síntesis de nanobarras de oro cubiertas con sílice mesoporosa para la liberación controlada de cisplatino", presentada por:

Jaime Alberto Quiñones Rabago

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 Grado de Maestría en Nanotecnología:



Dr. Mario Eduardo Almada Ortiz



Dr. Jaime Manuel Ibarra Hurtado



Dr. Josué Elías Juárez Onofre



Dr. Roberto Carlos Carrillo Torres



Dr. Christian Chapa González (EXTERNO)

DEDICATORIA

A mi padre Clemente Quiñones y a mi cuñada, Nany Cloribel quienes, aunque ya no estén presentes físicamente, siempre los llevo en mi mente y mi corazón.

A mi esposa Irene López y a mis hijos Jaime, Arleth y Ximena que son lo que más amo en la vida.

A mi madre Mercedes Rabago y a mis hermanos de quienes siempre he tenido el amor y calidez de la familia a la cual amo.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, quiero agradecer inmensamente al Dr. Mario Eduardo Almada Ortiz por haber sido mi director de tesis, por su gran apoyo incondicional tanto en lo académico como en lo personal para sacar el trabajo adelante, por sus consejos, disponibilidad y atenciones hacia mi persona.

Al Dr. Jaime Manuel Ibarra Hurtado por su apoyo, consejos y atenciones en este proceso de mis estudios de maestría.

A los Doctores Roberto Carlos Carrillo Torres, Josué Elías Juárez Onofre y Christian Chapa González por sus excelentes aportaciones académicas al presente trabajo de tesis.

A mi familia, mis padres, mi esposa y mis hijos, por su apoyo y comprensión en todo momento, pienso que sin ellos hubiera sido imposible llegar a este nivel en mis estudios.

Agradezco al posgrado en nanotecnología por la formación recibida y por haberme dado la oportunidad de realizar mis estudios de maestría.

Finalmente agradezco al CONACyT por el sostén económico recibido durante este proceso de mis estudios de maestría por medio de la beca de manutención.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS	vi
RESUMEN	ix
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	3
CÁNCER	3
TRATAMIENTO	3
Quimioterapia con cisplatino	4
SISTEMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA.....	5
Efecto de permeabilidad y retención mejorada	6
Direccionamiento activo	7
Nanopartículas de sílice mesoporosa	8
Nanopartículas de oro	13
Nanobarras de oro (AuNBs)	15
Nanobarras de oro cubiertas con sílice mesoporosa	19
HIPÓTESIS	21
OBJETIVOS	22
MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
Materiales	23
Síntesis de nanobarras de oro	23
Espectroscopia UV-Vis	23
Síntesis de nanobarras de oro cubiertas con sílice mesoporosa	24
Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)	24
Potencial Z	24
Síntesis de nanobarras de oro cubiertas con sílice mesoporosa funcionalizadas con grupos carboxilos	24
Síntesis del complejo AuNBs-SiO₂-(<i>cis</i>-[Pt(NH₃)₂Cl₂])	25
Estudios de liberación de cisplatino	26
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	28
Espectroscopía UV-Vis de las AuNBs	28
Imágenes de microscopia electrónica de barrido	30
Estudios de potencial Z	31

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS..... 39
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Representación esquemática de la combinación de direccionamiento activo y pasivo utilizando nanopartículas de sílice mesoporosa (Modificado de la referencia 41).	8
Figura 2: a) Ilustración de la versatilidad de NSM como portador de cargas de una variedad de fármacos, b) Ilustración esquemática de la liberación de fármaco de NSM en respuesta a estímulos (Modificado de la referencia 39).....	9
Figura 3: Imágenes de microscopía electrónica de transmisión de nanopartículas de sílice mesoporosa con diferentes formas, tamaños, composiciones y mesoestructuras (Modificado de la referencia 41).....	10
Figura 4: Mecanismo de formación de NSM del tipo MCM-41 (Modificado de la referencia 39).	11
Figura 5: a) Ilustración esquemática de la interacción del campo electromagnético oscilante y las nanoesferas de oro, b) y AuNBs para formar la RPS (Modificado de la referencia 7).....	14
Figura 6: Micrografías electrónicas de transmisión (arriba), espectros ópticos (abajo izquierda) y fotografías de soluciones acuosas de AuNBs de varias relaciones de aspecto (abajo derecha). Muestra de semillas: relación de aspecto a; relación de aspecto 1.35 ± 0.32 ; muestra b, relación de aspecto 1.95 ± 0.34 ; muestra c, relación de aspecto 3.06 ± 0.28 ; muestra d, relación de aspecto 3.50 ± 0.29 ; muestra e; relación de aspecto 4.42 ± 0.23 . Barra de escala: 500 nm para a y b, 100 nm para c, d, e (Modificado de la referencia 55).	15
Figura 7: Mecanismo de plantilla de micelas propuesto por Jana (2005) que muestra el origen de varias formas en diferentes etapas de ruptura de simetría (Modificado de la referencia 56).....	18

Figura 8: Ajuste lineal de la absorbancia a 706 nm frente a la concentración de cisplatino.....	27
Figura 9: Espectros UV-Vis de las AuNBs con diferentes tratamientos. AuNBs (línea negra), AuNBs-TEOS (línea roja) y AuNBs-NH ₄ NO ₃ (línea azul).	29
Figura 10: a) Imagen de SEM de las AuNBs-NSM sintetizadas con el método de Stöber modificado, b), c) y d) Gráficas de distribución de tamaños: del largo de las AuNBs, del ancho de las AuNBs y del grosor de la capa de sílica de las AuNBs respectivamente.	31
Figura 11: Potencial Z de AuNBs con diferentes tratamientos (Dispersas en agua, pH~5).	33
Figura 12: Espectros FT-IR de las AuNBs. a) AuNBs-NSM funcionalizadas con grupos amino (espectro negro) y AuNBs-NSM funcionalizadas con grupos carboxilos (espectro rojo). b) Ampliación de la figura.	35
Figura 13: Gráfica de cantidad y porcentaje de encapsulamiento de cisplatino, los símbolos representan el valor promedio y las barras de error corresponden a la desviación estándar (n = 3).	36
Figura 14: Gráfica de liberación acumulativa de cisplatino del sistema AuNBs-NSM-(cis-[Pt(NH ₃) ₂ Cl ₂]) en PBS, pH 7.4 a 37 °C en tiempos de 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 48, 72 y 96 h.	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Cantidad y porcentaje de encapsulamiento de Cisplatino (promedio de 3 repeticiones del procedimiento).	37
---	----

RESUMEN

Existen terapias convencionales para tratar diversos tumores cancerosos, como la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia, sin embargo, estas no son lo suficientemente eficaces debido a que generan diversos efectos adversos como anemia, náuseas, vómito o daño renal, lo cual limita la dosis a administrar. En el caso de la quimioterapia, uno de los fármacos más utilizados es el cisplatino, sin embargo, como muchos otros quimioterapéuticos, su principal problema es la inadecuada biodistribución que limita significativamente su eficiencia. En este contexto emergen los sistemas de liberación controlada a base de nanopartículas, en particular, aquellos construidos a base de sílice mesoporosa. Por otro lado, la terapia fototérmica ha recibido mucha atención en los últimos años como potencial tratamiento contra el cáncer, en este sentido, se han desarrollado diversos tipos de nanopartículas de oro capaces de transformar la energía electromagnética en calor, dentro de éstas, aquellas que presentan un máximo de absorción dentro de la ventana biológica han recibido especial interés por parte de la comunidad científica, en este contexto encontramos las nanobarras de oro. El objetivo del presente trabajo es sintetizar nanobarras de oro cubiertas con sílice mesoporosa que puedan ser utilizadas para la liberación controlada de cisplatino y a la vez utilizar las propiedades fototérmicas de las mismas para combinar la quimioterapia con la fototerapia. Se presentan los resultados de la síntesis de nanobarras de oro cubiertas con sílice mesoporosa funcionalizadas con grupos carboxilos para encapsulación de cisplatino. El sistema se caracterizó por microscopía electrónica de barrido, potencial zeta, espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier y se evaluó la cinética de liberación de cisplatino a pH de 7.4, los resultados mostraron una liberación rápida durante las primeras 6 horas, después de las 12 horas se observó una liberación lenta hasta alcanzar alrededor de 60% de liberación en un lapso de 96 horas.

INTRODUCCIÓN

El cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo, la búsqueda de nuevas opciones de tratamientos ha sido el objeto de múltiples investigaciones. La elevada tasa de mortalidad por esta enfermedad se debe en gran medida a la poca eficiencia de los fármacos comúnmente utilizados, esto debido al desarrollo de resistencia después de varios tratamientos y a los efectos secundarios asociados a ellos como anemia, náuseas, vómito o daño renal¹.

El cisplatino es uno de los primeros medicamentos quimioterapéuticos basados en metales, tiene propiedades inhibitoras sobre la división celular, diversos estudios han mostrado que ejerce su actividad anticancerígena atacando varios sitios de acción, se une al ADN genómico o ADN mitocondrial creando lesiones en el mismo, bloqueando la producción de ADN, ARNm y proteínas, deteniendo la replicación y activando varias vías de transducción de señales que conducen a la apoptosis. Adicionalmente, el estrés oxidativo es un mecanismo muy común en la citotoxicidad por cisplatino y depende de la concentración y el tiempo de exposición, este fármaco genera especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés), las cuales son responsables del cambio de diferentes vías de transducción de señales, que pueden causar daños en el ADN^{2,3}.

El cisplatino no muestra su mayor potencial para combatir el cáncer debido a los efectos secundarios que genera y a la resistencia adquirida por las células cancerosas. La resistencia al cisplatino depende de múltiples factores, como la reducción de la acumulación del fármaco, la inactivación del fármaco mediante la unión con diferentes proteínas, el aumento de la reparación del ADN, la alteración de las diferentes proteínas que promueven la apoptosis². En este sentido los sistemas de liberación controlada de quimioterapéuticos a base de nanopartículas podrían ser útiles para mejorar la bio distribución de este fármaco, aumentar su eficacia y disminuir los efectos adversos.⁴

Las nanopartículas de sílice mesoporosa tienen diversas propiedades que las hacen muy útiles como sistema de liberación controlada de fármacos, poseen gran capacidad de carga, biocompatibilidad, citotoxicidad baja, gran área de superficie, excelente estabilidad y facilidad de modificarlas superficialmente⁵. Por otro lado, las nanobarras de oro son actualmente utilizadas en

el área biomédica para realizar terapia fototérmica y estimular la liberación de fármacos, debido a su resonancia de plasmón de superficie localizado (LSPR por sus siglas en inglés) sintonizable, que permite producir incrementos localizados en la temperatura en respuesta a la irradiación laser^{6,7}.

En estudios previos se han sintetizado nanopartículas de sílice mesoporosa del tipo MCM-41 que tienen gran potencial como sistemas de administración controlada de fármacos. Así también ha sido posible funcionalizar su superficie con grupos amino por silanización con 3-aminopropiltriétoxosilano (APTES)^{5,8}. Por otro lado, la succinilación de grupos aminos en las nanopartículas de sílice mesoporosa ha permitido la funcionalización con grupos carboxilos⁹. Se han sintetizado nanopartículas metálicas cubiertas con sílica mesoporosa funcionalizadas superficialmente con grupos carboxilos para el encapsulamiento de cisplatino, demostrando una liberación prolongada y dependiente del pH. Las propiedades de este tipo de nanopartículas permiten la coordinación de cisplatino con los grupos carboxilos, lo cual asegura una liberación sostenida lenta que disminuye la inactivación del fármaco en el medio fisiológico antes de llegar al sitio de interés¹⁰⁻¹².

En el presente trabajo se presenta la síntesis de un sistema a base de nanobarras de oro cubiertas con sílice mesoporosa funcionalizadas con grupos carboxilos que permite el control en la liberación de cisplatino en condiciones fisiológicas simuladas a 37 °C y pH 7.4.

ANTECEDENTES

CÁNCER

El cáncer está relacionado con el crecimiento descontrolado de células anormales en cualquier parte del cuerpo, que en la mayoría de los casos pueden formar una masa de tejido llamada tumor. El cáncer es una enfermedad multifactorial, algunos de los factores relacionados con su incidencia son los genéticos y la exposición a factores ambientales como los carcinógenos físicos (radiación, ultravioleta e ionizante), carcinógenos químicos (componentes del humo del tabaco, aflatoxina y arsénico) y carcinógenos biológicos (virus, bacterias o parásitos)^{2,13}.

La principal causa de letalidad asociada con el cáncer es el proceso de metástasis, el cual implica la diseminación de células cancerosas provenientes de un tumor primario a órganos distales. La metástasis comprende una variedad de mecanismos celulares que incluyen la invasión del estroma, el escape de la vigilancia inmunológica, la evasión y modulación del microambiente tisular y el desarrollo de resistencia a terapias químicas¹⁴. El cáncer causa aproximadamente 1 de cada 6 muertes en todo el mundo, más que el SIDA, la tuberculosis y la malaria juntos. Es la segunda causa de muerte (después de las enfermedades cardiovasculares) a nivel mundial. En 2020 la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés), estimó 19.3 millones de nuevos casos y 10 millones de muertes por cáncer (unas 2700 muertes por cáncer al día) en todo el mundo. Tomando en cuenta solo el crecimiento y envejecimiento de la población se espera que para 2040 los nuevos casos aumenten a 27.5 millones y las muertes por algún tipo de cáncer a 16.3 millones. Sin embargo, estas cifras pueden ser mayores debido al aumento en la prevalencia de factores que aumentan el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón, de mama y colorrectal, como fumar, una dieta poco saludable, la inactividad física y nuliparidad¹³.

TRATAMIENTO

Entre las herramientas convencionales más usadas para tratar el cáncer se encuentra la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia, siendo esta última muy utilizada para el tratamiento de diversos tumores sólidos^{1,15}.

La radioterapia se basa en la aplicación de un haz externo de fotones de alta energía, se aplican energía en las profundidades del tejido canceroso evitando la exposición de la piel a la radiación. Los resultados de esta terapia están relacionados con las características físicas de los diferentes tipos de radioterapia y de las propiedades biológicas de cada tumor. Uno de los desafíos clínicos de la radioterapia es la hipoxia tumoral que tiene origen a partir del desarrollo anormal de la vasculatura tumoral y que se relaciona con la quimio y radioresistencia. Una estrategia para mejorar la radioterapia es la quimiorradiación, en la que ambas terapias se administran al mismo tiempo, aprovechando las interacciones a nivel celular o molecular de la quimioterapia, permitiendo que las células sean más sensibles a la radiación¹⁶.

Quimioterapia con cisplatino

El cisplatino se usa para tratar clínicamente diversos tipos cáncer incluidos los de testículos, ovario, vejiga y pulmón. Su efecto anticanceroso está relacionado con la formación de aductos en el ADN que tiene efecto sobre el proceso de replicación conduciendo a la muerte celular. Estudios confirman que el cisplatino ejerce su actividad contra el cáncer uniéndose al ADN genómico (ADNg) o al ADN mitocondrial (ADNmt) bloqueando la producción de ADN, ARN mensajero y proteínas, activando varias vías de transducción de señales que conducen a la apoptosis. Puesto que el cisplatino se transporta por el torrente sanguíneo se pierde un porcentaje del fármaco por interacción con proteínas y otras reacciones secundarias que provocan una serie de efectos secundarios como anemia, náuseas, vómito y daño renal.^{1,2,17}

En el torrente sanguíneo la concentración de cloruro es relativamente alta (100 mM) y, por lo tanto, el cisplatino permanece inalterado y neutro. Proteínas plasmáticas como la albúmina, transferrina y cisteína pueden unirse fuertemente con las moléculas de cisplatino y dar como resultado la desactivación de una gran cantidad del fármaco aplicado. Se ha reportado que de 65 a 95% del cisplatino puede unirse a las proteínas del plasma sanguíneo en las 24 h posteriores a la aplicación. El cisplatino que no se une a dichas proteínas puede transportarse por difusión pasiva a través de la membrana plasmática a las células tumorales.

Otra proteína que capta el cisplatino es la proteína transportadora de cobre CTR1. El cisplatino causa la degradación de la concentración de CTR1 generando una menor acumulación

de cisplatino en células cancerosas. Células con mayor expresión de CTRL1 pueden tener mayor acumulación de cisplatino lo que aumenta su sensibilidad. Cuando el cisplatino está en el interior de la célula se activa debido al desplazamiento de los dos ligandos de cloruro por moléculas de agua, es decir, ocurre una diacuación del cisplatino debido a la baja concentración de cloruro en el citoplasma (4-20 mM). Los cisplatinos hidrolizados son electrófilos potentes y pueden reaccionar con varios nucleófilos como los grupos sulfhidrilo de proteínas y nitrógenos de los ácidos nucleicos ya que el agua es mejor grupo saliente que el cloruro. El cisplatino presenta muchos efectos adversos incluyendo nefrotoxicidad, ototoxicidad, hepatotoxicidad, toxicidad gastrointestinal y neurotoxicidad^{2,18}.

SISTEMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA

Los sistemas de liberación controlada para la administración de fármacos han surgido para atender la necesidad del desarrollo de terapias más específicas contra los diferentes tipos de cáncer. La administración de fármacos utilizando nanopartículas como sistemas de liberación controlada es una alternativa muy útil para mejorar la biodistribución de los quimioterapéuticos¹⁵. Estas nanopartículas son capaces de superar barreras biológicas y transportar eficazmente los quimioterapéuticos a sitios objetivo, minimizando así los efectos nocivos en tejidos sanos^{15,19}.

El desarrollo de nanomedicinas para combatir el cáncer se ha basado en dos enfoques: el direccionamiento activo mediante la funcionalización de la superficie de nanopartículas que mejorando la selectividad de las mismas; y el efecto de permeabilidad y retención mejorada (EPR) que permite una mayor acumulación de los fármacos en el sitio del tumor (Figura 1)⁴. Las nanopartículas, en la actualidad, se han utilizado como sistemas de liberación controlada por su gran área de superficie y capacidad de carga, formas y tamaños controlables, así como sus propiedades únicas. También es posible la liberación controlada del fármaco con la aplicación de un estímulo externo o interno que puede ayudar a mejorar la biodistribución de fármacos, aumentar su eficacia y disminuir sus efectos adversos⁹.

Las nanopartículas de PLGA (ácido poli-láctico-co-glicólico) son un tipo de nanopartículas orgánicas estudiadas para la liberación controlada de quimioterapéuticos, se ha demostrado que la degradación del PLGA ha sido un punto clave para la liberación sostenida de fármacos y que es posible el ajuste de propiedades físicas (peso molecular del polímero, concentración del fármaco,

la proporción de ácido poliláctico y ácido poliglicólico) de estos nanosistemas²⁰⁻²². También algunas nanopartículas inorgánicas como los puntos cuánticos han sido útiles como nanoacarreadores, recientemente se han conjugado con diferentes componentes que permiten una liberación controlada de fármacos²³⁻²⁶. Por ejemplo, Sangtani et al., en 2018 sintetizaron un sistema de puntos cuánticos conjugados con péptidos que mejoraron la endocitosis del nanocomplejo y la liberación del fármaco doxorrubicina por escisión enzimática, pH ácido y agentes reductores²³. Las nanopartículas de óxido de hierro han sido modificadas superficialmente en diferentes investigaciones para este mismo fin, en las cuales se ha logrado unir ligandos específicos a receptores sobreexpresados en células cancerosas, péptidos y aptámeros, mejorando así su direccionamiento específico a células enfermas por medio del efecto EPR, bajo un campo magnético y el direccionamiento activo, asegurando su biodegradación en iones férricos en condiciones ácidas propias del ambiente canceroso²⁷⁻³². Las nanobarras de oro se han funcionalizado superficialmente para utilizarse como sistemas de liberación controlada de fármacos, una de las principales características es su capacidad de producir incrementos de temperaturas en respuesta a la irradiación laser, lo cual resulta de gran utilidad para realizar terapia fototérmica^{6,7,33,34}. Las nanopartículas de sílice mesoporosa actualmente son ampliamente exploradas dado que tienen mucho potencial para la administración de fármacos en el tratamiento de diferentes enfermedades, especialmente en la quimioterapia contra el cáncer, siendo sus propiedades fisicoquímicas (capacidad de carga, biocompatibilidad, baja citotoxicidad, área de superficie, estabilidad, facilidad de modificación superficial) lo que les permite ser excelentes nanoportadores³⁵⁻⁴².

Efecto de permeabilidad y retención mejorada

El descubrimiento del efecto EPR ha sido fundamental para el desarrollo de los sistemas de liberación de fármacos a base de nanopartículas ya que se pueden aprovechar las características fisiopatológicas de tejidos tumorales para la acumulación selectiva de quimioterapéuticos administrados sistemáticamente. El efecto EPR fue un hallazgo de Matsmura y Maeda (1986), ellos encontraron proteínas por encima de 50 KDa acumuladas en tejidos tumorales que permanecieron durante largos periodos. Los tumores sólidos presentaban vasos sanguíneos con espacios entre células endoteliales de 200 a 2000 nm y el drenaje linfático era defectuoso^{15,43,44}. Esto puede

deberse a que al formarse el tumor se produce una angiogénesis descontrolada debido a que las células requieren un mayor suministro de nutrientes y oxígeno; generando la proliferación de los vasos sanguíneos anormales y un drenaje linfático deficiente ocasionado por la vasculatura anormal propia del tumor, lo que da origen a una mayor permeabilidad y retención de partículas^{45,46}.

En base a las particularidades del efecto EPR es importante tomar en cuenta el tamaño y forma de los nanoportadores para potenciales aplicaciones en la quimioterapia, así como el hecho de que este efecto no se presenta con universalidad de la misma manera en los diferentes tipos de tumores cancerosos. Por ejemplo, la acumulación por EPR apenas y sucede en el cáncer de páncreas mientras que en el sarcoma de Kaposi y mieloma múltiple se presenta de manera muy elevada, por lo que es necesario el diseño de sistemas a base de nanopartículas con direccionamiento activo que sean capaces de acumularse en tejidos tumorales donde el efecto EPR es débil^{45,46}.

Direccionamiento activo

El direccionamiento activo, también es conocido como selectividad mediada por ligando y es considerado una estrategia complementaria del efecto de permeabilidad y retención mejorada o direccionamiento pasivo⁴⁴. Esta estrategia implica el uso de ligandos en la superficie de nanopartículas que se unen a receptores sobreexpresados en las células cancerosas, mejorando la afinidad de la superficie del nanosistema por la superficie de la célula cancerosa⁴⁵. Permite una mejor penetración y entrega específica del fármaco evitando la interacción con tejidos normales, por lo que se mejora la eficacia terapéutica y se disminuyen los efectos secundarios⁴⁷. Se han funcionalizado nanopartículas con diversos tipos de ligandos como anticuerpos, péptidos, ácidos nucleicos y aptámeros. Entre los receptores clásicos podemos mencionar receptores de transferrina (TfR), la cual permite llegar al entorno de los tumores cerebrales mediante el ligando transferrina (Tf), la integrina $\alpha V\beta 3$ que se expresa en tumores cerebrales y los receptores de ácido fólico⁴⁸.

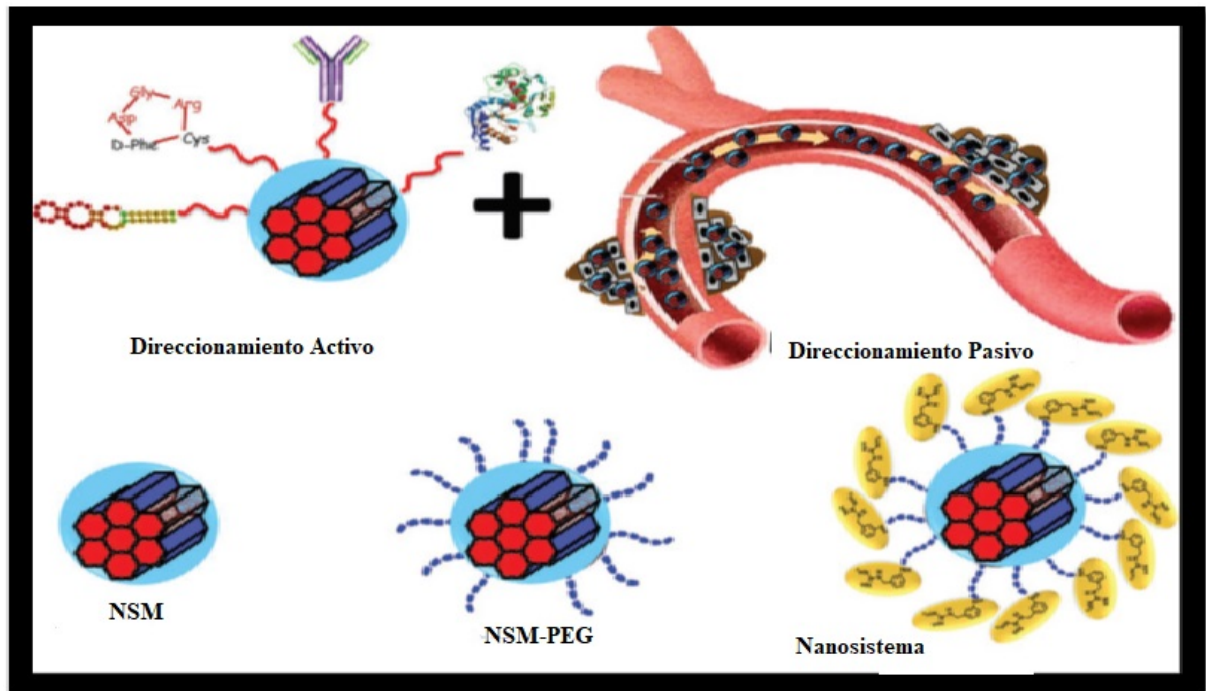


Figura 1: Representación esquemática de la combinación de direccionamiento activo y pasivo utilizando nanopartículas de sílice mesoporosa (Modificado de la referencia 41).

Nanopartículas de sílice mesoporosa

Las nanopartículas de sílice mesoporosa (NSM) son de particular interés para la liberación controlada de fármacos debido a que poseen ciertas características que sobresalen sobre los demás tipos de nanoestructuras, presentan poros internos bien ordenados de alrededor de 2-50 nm de diámetro, con un volumen de poro considerablemente grande ($0.6-1 \text{ cm}^3/\text{g}$) y un área de superficie de alrededor de $700-1000 \text{ m}^2/\text{g}$, esto es sumamente conveniente debido a que estos poros pueden funcionar como reservorios para diversas moléculas. Adicionalmente, las nanopartículas de sílice mesoporosa son fáciles de sintetizar y de funcionalizar, además, es posible diseñar sistemas que liberen los fármacos en respuesta a estímulos externos (temperatura, luz, campos electromagnéticos, ultrasonido) y/o internos (cambios en el pH, potenciales redox, y concentración de enzimas)³⁹.

Las estrategias más reportadas para encapsular medicamentos en las NSM son a) incorporar los fármacos en los poros y/o en la superficie de las nanopartículas por medio de interacciones hidrofóbicas o electrostáticas, b) dopar las nanopartículas de sílice con los fármacos durante los procesos de síntesis y c) unir los fármacos de manera covalente o a través de enlaces de coordinación en la superficie interna de los poros mediante enlaces sensibles a la luz, la temperatura, el pH, el ambiente reductor, entre otros. Además de lo anterior, se ha intentado mejorar el control de la liberación de los fármacos cubriendo los poros con moléculas que actúen como compuertas que se abran en respuesta a diversos estímulos, tanto internos como externos (Figura 2)^{4,39}.

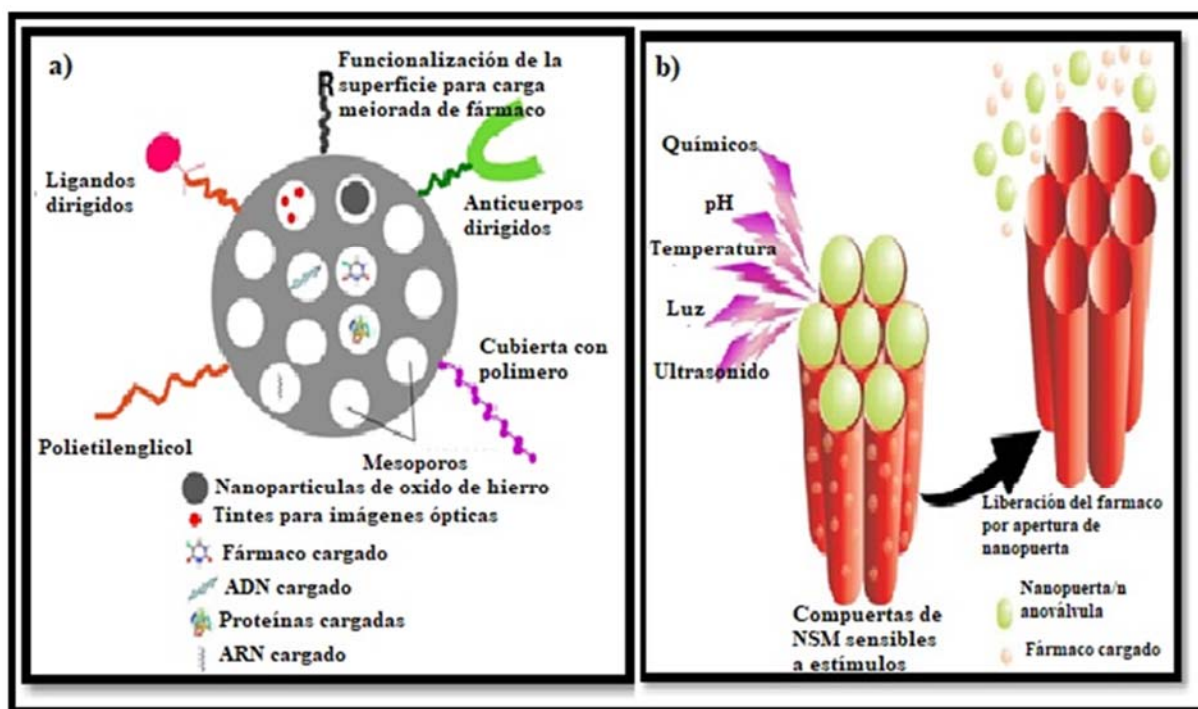


Figura 2: a) Ilustración de la versatilidad de NSM como portador de cargas de una variedad de fármacos, b) Ilustración esquemática de la liberación de fármaco de NSM en respuesta a estímulos (Modificado de la referencia 39)

Los materiales a base de sílice mesoporosa fueron reportados por primera vez en Japón por Kuroda y colaboradores; y en Estados Unidos por científicos de Mobil Oil en el año de 1990. Las NSM están constituidas de sílice amorfa a escala atómica con una mesoestructura ordenada (Figura

3). La sílice ha sido considerada una biocerámica, ya que ha demostrado un comportamiento bioactivo por lo que son ideales para sistemas de administración de fármacos^{8,40}. Este tipo de nanopartículas se sintetizan por medio del método sol-gel y se pueden obtener con tamaños de 50-300 nm, diferentes diámetros de poro, diferentes porosidades (canales paralelos o poros radiales), con nanopartículas en su esqueleto o creciendo la red mesoporosa a partir de nanopartículas metálicas como núcleo⁴¹.

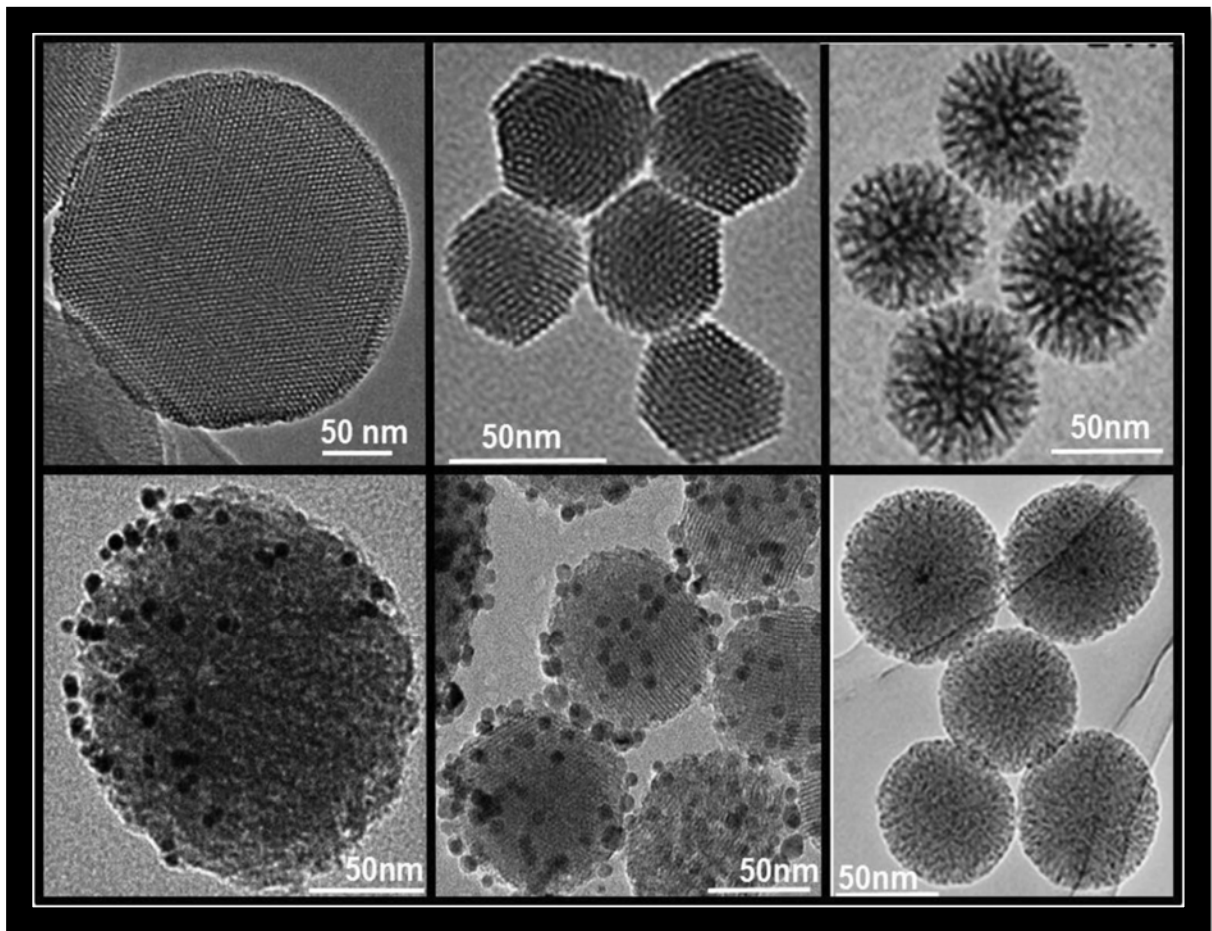


Figura 3: Imágenes de microscopía electrónica de transmisión de nanopartículas de sílice mesoporosa con diferentes formas, tamaños, composiciones y mesoestructuras (Modificado de la referencia 41).

El método sol-gel es un proceso hidrolítico que implica la hidrólisis y condensación de alcóxidos de silicio utilizando catalizadores básicos o ácidos. Inicialmente la hidrólisis y condensación del precursor, es un punto clave del proceso de formación de las NSM, posteriormente la policondensación alrededor de las moléculas surfactantes, las cuales direccionan la estructura mesoporosa, la formación de una red de óxido de silicio conduce a una suspensión coloidal la cual evoluciona a unidades organizadas complejas por fuerzas moleculares hasta formarse un gel. Finalmente, la plantilla de surfactante se extrae usando diferentes solventes o bien por calcinación (Figura 4)³⁹⁻⁴².

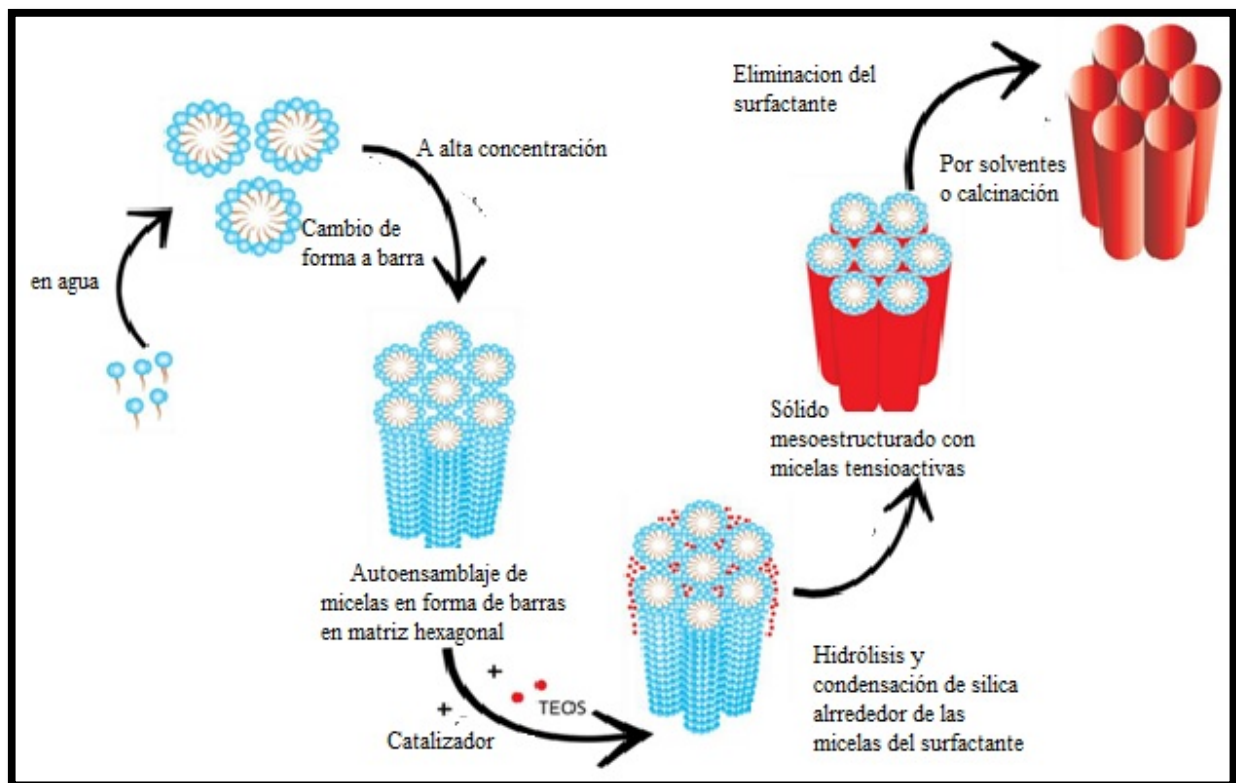


Figura 4: Mecanismo de formación de NSM del tipo MCM-41 (Modificado de la referencia 39).

En el proceso de hidrólisis, el precursor (generalmente tetraetil ortosilicato) sufre un ataque nucleofílico sobre el átomo de silicio por parte de un átomo de oxígeno de una molécula de agua, los grupos alcóxido son reemplazados por grupos hidroxilos y posteriormente ocurre la

condensación de las moléculas hidrolizadas formando enlaces siloxanos (Si-O-Si). De tal manera que la presencia o ausencia de grupos hidroxilos tiene influencia sobre las estructuras poliméricas resultantes, por ejemplo, a pH ácidos se obtendrán estructuras largas débilmente ramificadas; mientras que a pH básicos se obtendrán estructuras fuertemente ramificadas. El método sol-gel, Stöber modificado, bajo condiciones básicas y concentraciones diluidas del precursor de sílice da como producto NSM esféricas monodispersas de tamaño uniforme del tipo MCM-41 útiles en tratamientos contra cánceres sólidos. Debido a sus formas esféricas, las NSM del tipo MCM-41 ofrecen ventajas como mayor velocidad de transporte, una adhesión de los sustratos efectiva y una mejor dispersión en disolución³⁹⁻⁴².

El primer reporte donde se utilizó este tipo de nanopartículas para la liberación controlada de fármacos fue en el año 2001, se encapsuló ibuprofeno dentro de los poros con un porcentaje en peso de 30 % (ibuprofeno/NSM), este sistema logró controlar la liberación de este fármaco durante un periodo de 3 días. A partir de esta investigación, la cantidad de reportes en relación al uso de estas nanopartículas para encapsular diversos fármacos ha incrementado exponencialmente³⁷. La mayor cantidad de reportes del uso de estas nanopartículas en el área médica se han enfocados en el tratamiento del cáncer⁴.

Se han sintetizado nanosistemas en los cuales se ha mejorado la capacidad de carga de quimioterapéuticos mediante la funcionalización de NSM con grupos carboxilos que han mostrado una liberación sostenida y dependiente del pH; por ejemplo Gu y cols. en 2010 y 2013 sintetizaron NSM funcionalizadas con grupos carboxilos, utilizaron las propiedades de éstos para coordinarse con el cisplatino formando complejos por medio del reemplazo del ion cloruro^{10,11}. Zhu y cols. en 2014 sintetizaron nanopartículas magnéticas cubiertas inicialmente con una capa fina de sílice, posteriormente agregaron una segunda capa funcionalizada también con grupos carboxilos para la encapsulación de cisplatino, el sistema mostró gran capacidad de fármaco, alta magnetización útil para la aplicación dirigida, una liberación sostenida y citotoxicidades mayores en comparación con cisplatino libre en líneas celulares A549 y MCF-7¹².

En 2009 Rosenholm y cols. estudiaron un sistema de orientación a base de NSM para mejorar la biocompatibilidad y disminuir las interacciones no deseadas de los nanoportadores y el entorno biológico. Para esto, funcionalizaron con polietilenimina (PEI) y ácido fólico, asegurando

la dirección específica a células cancerosas que sobreexpresan receptores de folato, el sistema fue mejorado con FITC para monitorear la endocitosis de los nanoportadores por microscopia confocal⁴⁹. Recientemente Day y cols. en 2021 sintetizaron NSM funcionalizadas para la liberación controlada de doxorubicina, utilizaron NSM esféricas tipo MCM-41 y las funcionalizaron con poly-L-histidina (PLH) y el fármaco hormonal tamoxifen (TAM), con lo cual lograron un sistema de liberación de fármaco con triple función, asegurando la focalización pasiva por medio de las NSM, la focalización activa por medio de TAM que es específico a dirigirse a tumores que sobreexpresan receptores de estrógeno como en cáncer de mama y finalmente fue posible controlar la liberación de la carga por medio de PLH el cual actuó como compuerta sensible al pH⁵⁰.

Nanopartículas de oro

El uso de nanopartículas de oro (AuNP) es otra alternativa prometedora en el campo de la nanomedicina para el tratamiento contra el cáncer. El oro presenta propiedades físicas y químicas diversas, en escala macro es conocido de color amarillo único debido a su alto potencial redox y gran estabilidad química. Cuando el oro se reduce a escala nanométrica (por lo general de 1 a 100 nm) presenta propiedades ópticas, magnéticas, electrónicas y estructurales, que son útiles para una amplia gama de aplicaciones biomédicas, como la obtención de imágenes celulares, el diagnóstico molecular y la terapia dirigida⁶.

Estas propiedades nanométricas son atribuidas a la alta proporción de átomos de superficie, al confinamiento electromagnético (cuando una onda óptica interactúa con una nanopartícula de oro da lugar a su color característico por medio de resonancias con los plasmones de superficie) y a efectos cuánticos que esclarecen el cambio en sus propiedades metálicas a propiedades semiconductoras⁶. La interacción entre un campo electromagnético oscilante de luz y una nanopartícula de oro hacen que los electrones de la banda de conducción de la nanopartícula metálica experimenten una oscilación colectiva en resonancia. Esto induce una separación de carga entre los electrones libres (carga negativa) y el núcleo metálico iónico (carga positiva). Una fuerza coulombica restauradora genera la oscilación dipolar en la superficie que induce una fuerte absorción de luz, esta propiedad se conoce como resonancia de plasmón superficial (RPS) (Figura 5) ⁷. La posición de la RPS, es decir la longitud de onda donde se presenta la máxima absorción y

la intensidad de la banda varía, ya que depende de diversos factores que afectan la densidad de la nube electrónica sobre la superficie de la nanopartícula metálica tales como el tamaño, forma, estructura, composición y constante dieléctrica del metal, posibilitando la manipulación de la posición de la RPS (Figura 6)⁵¹. Adicionalmente, las nanopartículas de oro poseen propiedades fototérmicas, es decir, la luz absorbida procedente de la radiación electromagnética es convertida en calor, lo cual ha sido de gran utilidad en la terapia fototérmica²⁶.

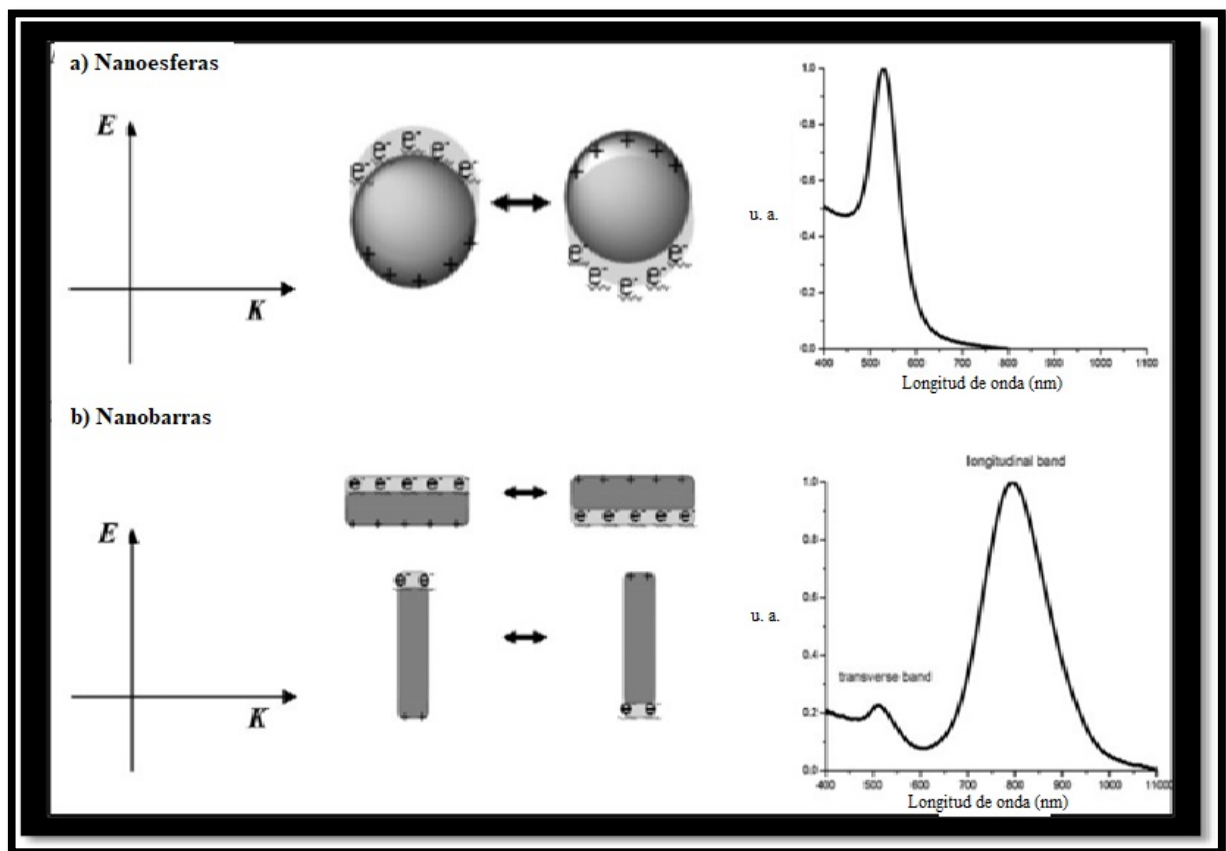


Figura 5: a) Ilustración esquemática de la interacción del campo electromagnético oscilante y las nanoesferas de oro, b) y AuNBs para formar la RPS (Modificado de la referencia 7).

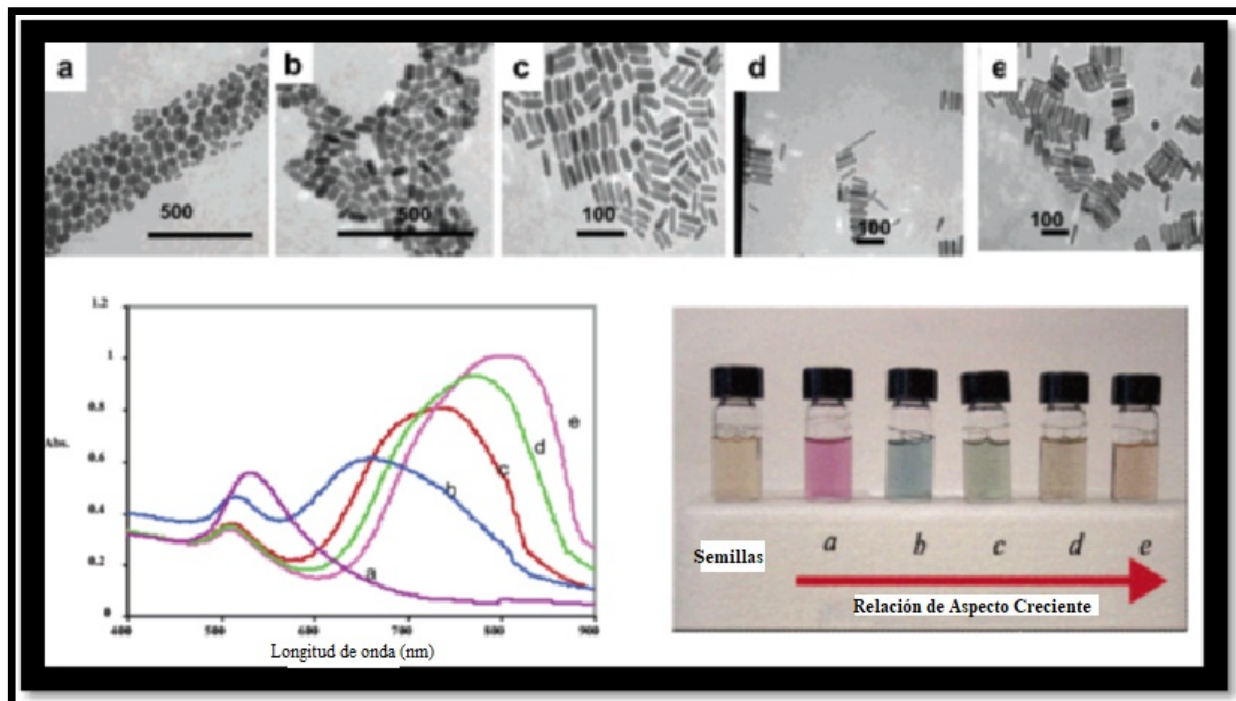


Figura 6: Micrografías electrónicas de transmisión (arriba), espectros ópticos (abajo izquierda) y fotografías de soluciones acuosas de AuNBs de varias relaciones de aspecto (abajo derecha). Muestra de semillas: relación de aspecto a ; relación de aspecto 1.35 ± 0.32 ; muestra b , relación de aspecto 1.95 ± 0.34 ; muestra c , relación de aspecto 3.06 ± 0.28 ; muestra d , relación de aspecto 3.50 ± 0.29 ; muestra e ; relación de aspecto 4.42 ± 0.23 . Barra de escala: 500 nm para a y b , 100 nm para c , d , e (Modificado de la referencia 51).

Nanobarras de oro (AuNBs)

Como se mencionó anteriormente la forma y tamaño de las nanopartículas influyen en la RPS resultante. En las nanobarras de oro la oscilación de los electrones ocurre de manera transversal y longitudinal, por lo que la RPS se divide en dos bandas, una de absorción fuerte en la región del infrarrojo cercano que se origina por las oscilaciones en el eje longitudinal (600-1600 nm) y otra débil en la región visible originadas por las oscilaciones en el eje transversal (510-530 nm). La banda transversal es invariable a los cambios de tamaño, mientras que la banda longitudinal tiene un corrimiento al rojo, es decir se desplaza desde la región visible al infrarrojo cercano ante relaciones de aspecto (longitud/ancho) crecientes. Además, la influencia de la relación

de aspecto en el comportamiento de la RPS ha sido de gran importancia para el tratamiento y diagnóstico del cáncer utilizando nanobarras de oro, ya que a través de la manipulación de la forma y tamaño durante la síntesis es posible obtener nanopartículas que absorban radiación en el rango de longitudes de onda donde la absorción de los tejidos es mínima, dicha región se encuentra entre los 700 y 900 nm y se conoce como ventana biológica^{6,7}.

Para la síntesis de AuNBs el método más usado es el método mediado por semilla, que básicamente consta de una “solución de semillas” y una “solución de crecimiento”. La solución de semilla consta de nanopartículas de oro de 2 a 4 nm preparadas por reducción de ácido cloroáurico (HAuCl₄) estabilizadas con el surfactante catiónico CTAB (bromuro de cetil-trimetil-amonio), las cuales se agregan a la “solución de crecimiento” compuesta por CTAB, HAuCl₄, ácido ascórbico y nitrato de plata^{6,7}. La forma, el tamaño y la relación de aspecto de las AuNBs tienen gran influencia en las propiedades ópticas y electrónicas, por lo que el mecanismo de formación ha sido estudiado ampliamente por muchos investigadores, sobre todo para encontrar las condiciones que favorezcan el crecimiento anisotrópico, sin embargo, este no ha sido explicado del todo y solo se proponen modelos para explicar dicho fenómeno.

Murphy et al. (2005) determinaron que la presencia de CTAB producía AuNBs con relaciones de aspecto controlables debido a que funcionaba como un agente de direccionamiento selectivo para producir un crecimiento anisotrópico. Ellos produjeron partículas esféricas de ~4 nm reduciendo sales metálicas con un agente reductor fuerte (borohidruro de sodio, NaBH₄) en presencia de CTAB, también prepararon una solución de crecimiento que contenía sales metálicas, CTAB como agente de direccionamiento y un agente reductor débil (ácido ascórbico). Estudiaron la influencia del tamaño de las semillas en la formación de las AuNBs, concluyendo que las semillas de menor tamaño producían AuNBs con mayores relaciones de aspecto. También determinaron que la presencia de iones Ag⁺ aumentaban el rendimiento de AuNBs con relaciones de aspecto de ~6 en casi el 100 % comparado con el ~40 % de las AuNBs sintetizadas sin iones Ag⁺ con relaciones de aspecto de ~25, es decir se obtuvieron altos rendimientos de AuNBs cortas en síntesis con plata y rendimientos de AuNBs bajos para las síntesis sin plata. Por último es interesante mencionar que determinaron la conexión entre las relaciones de aspecto y la longitud de la cola hidrofóbica del tensioactivo, para ello utilizaron diferentes surfactantes con distintos

números de carbonos (10, 12, 14 y el de 16 usado originalmente), se observó que las relaciones de aspecto disminuyeron conforme la longitud de la cola fue menor.⁵³

Jana y cols. en 2005 propusieron un mecanismo de plantillas de micelas para explicar la formación de AuNBs. Reportaron que para producir AuNBs monodispersas con rendimientos de 90-95 % es necesaria la adhesión de las AuNPs en crecimiento a la superficie micelar, lo cual en primera instancia es lo que rompe el proceso isotrópico al disminuir la cinética de crecimiento, recalando que la concentración del tensioactivo tiene un papel crucial en el procedimiento. Por lo tanto, la variación de la concentración del CTAB es parte interesante del estudio y ante lo cual obtuvieron resultados que evidencian que a concentraciones de CTAB por encima de la segunda CMC se formaron AuNBs con un rendimiento alto, mientras que a concentraciones por debajo de la segunda CMC se formaron AuNBs con un rendimiento de ~10%. Los iones Ag^+ favorecen el mecanismo de plantilla micelar formando complejos con el tensioactivo lo que permite su absorción sobre la superficie de las AuNPs, dando como resultado una velocidad de crecimiento menor. Adicionalmente se concluyó que el tamaño de las AuNPs en crecimiento (solución de semillas) es otro factor importante para favorecer el crecimiento anisotrópico, debido a que, si las AuNPs en crecimiento eran de tamaños superiores a los 5 nm, esto no permitía que las AuNPs permanecieran en el interior de las micelas ya que tenían mayores dimensiones en comparación con las dimensiones de las micelas de CTAB (Figura 7)^{54,55}. Murphy et al. (2005) propusieron que el CTAB en agua genera esferas micelares en forma de barras que pueden unirse a caras (100) de las semillas, debido a que el espacio entre esas caras es parecido al tamaño de la cabeza CTA^+ , esto induce el crecimiento anisotrópico selectivo en las caras (111)⁵³.

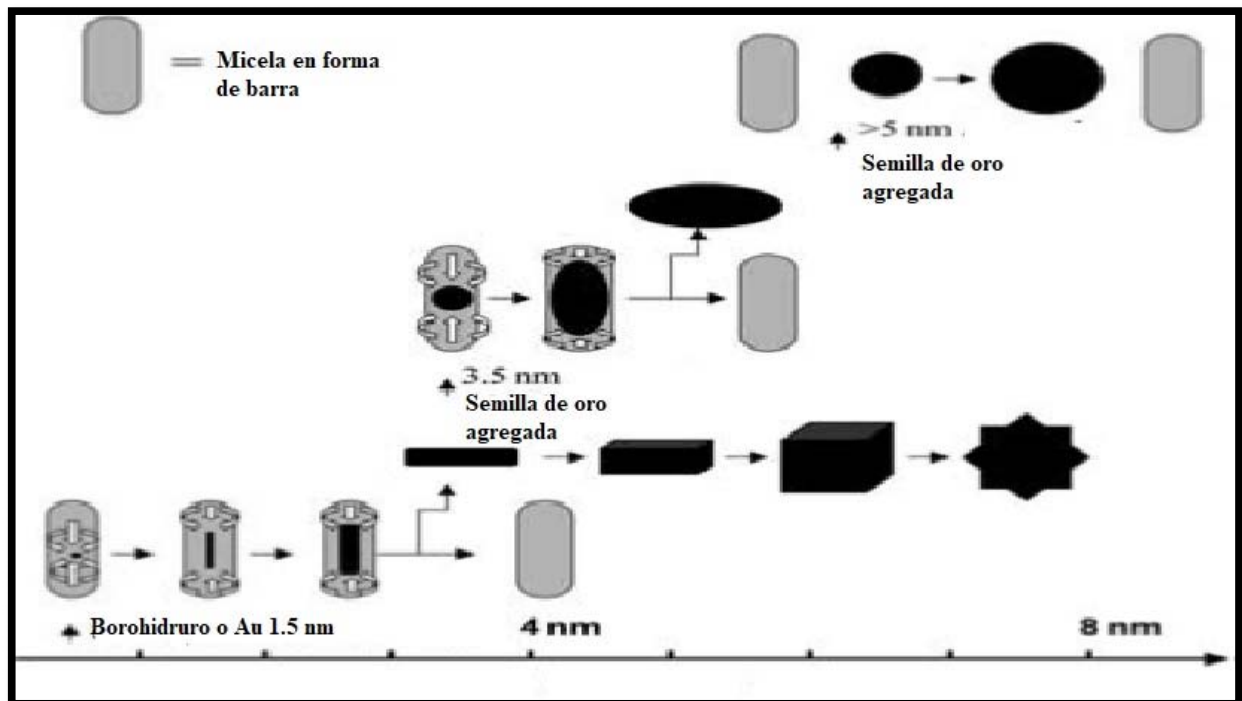


Figura 7: Mecanismo de plantilla de micelas propuesto por Jana (2005) que muestra el origen de varias formas en diferentes etapas de ruptura de simetría (Modificado de la referencia 54).

Park y colaboradores en 2013 utilizaron espectroscopia UV-Vis y microscopía electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés) para analizar cinéticas de crecimiento de AuNBs y propusieron que este se podía describir de manera general en 5 etapas. En la etapa 1, ocurre el crecimiento isotrópico de las semillas de oro, las cuales están conformadas por partículas que tienen estructuras cristalinas icosaédricas con caras (111) y (100) que forman principalmente nanoesferas de oro de ~6 nm. En la etapa 2, se manifiesta un rápido crecimiento anisotrópico en el cual el depósito de las partículas ocurre de manera más rápida sobre el eje longitudinal de la barra mientras que el diámetro se mantiene. En la etapa 3, el crecimiento sobre el eje longitudinal disminuye su velocidad, mientras que el crecimiento sobre el eje transversal aumenta. En los primeros minutos la RPSL experimenta el máximo desplazamiento hacia el rojo debido a la máxima relación de aspecto. Después de esto aumenta el crecimiento transversal en los extremos dando como resultado AuNBs en forma de mancuernas. En la etapa 4, las velocidades de crecimiento tanto transversal como longitudinal disminuyen, los lados de las AuNBs se rellenan y los extremos se aplanan

notablemente. Finalmente, en la etapa 5 se presenta una relajación en la cual los extremos de las AuNBs recuperan su forma semiesférica continuando hasta su forma termodinámicamente más estable⁵⁶.

Nanobarras de oro cubiertas con sílice mesoporosa

Las nanobarras de oro cubiertas con sílice mesoporosa (AuNBs-NSM) presentan un gran potencial para ser aplicadas en terapias contra el cáncer. La gran capacidad de carga, la relativamente fácil funcionalización de su superficie por la gran presencia de grupos silanol y la biocompatibilidad^{42,46,47}. Estas características hacen idóneas a las AuNBs-NSM para ser utilizadas como reservorios de fármacos quimioterapéuticos. Por otro lado, las propiedades ópticas de las AuNBs pueden ser de utilidad para realizar terapia fototérmica para quimiosensibilizar células objetivo⁵.

Se han cubierto AuNBs con sílice generalmente por medio del método sol-gel reportado inicialmente por Matsuura y cols. en 2008 bajo leves modificaciones como en el método de Stöber, por el cual se obtienen nanopartículas esféricas del tipo MCM-41, útiles en el tratamiento y diagnóstico de diversos cánceres sólidos. La síntesis incluye el uso de un tensioactivo que funciona como platilla, un precursor de sílice en condiciones básicas y de concentración diluida para la formación de las estructuras fuertemente ramificadas de forma esféricas^{39-42,57}.

Wu y cols. en 2015 sintetizar AuNBs-NSM a gran escala y estudiaron el comportamiento del grosor de la capa de sílice sobre las AuNBs al variar la concentración de TEOS, la estabilidad al optimizar la concentración de CTAB, así como también el control de la cinética de reacción al agregar PEG-silano a la reacción. Observaron que el grosor de la capa de sílice se ajustó de 3.3 a 17.3 nm al variar el volumen de TEOS de 31.3 a 500 ml, una concentración de CTAB en exceso daba como resultado el crecimiento de NSM esféricas que no cubrían las AuNBs y que es posible la interrupción del crecimiento de la capa de sílice agregando PEG-silano. Obtuvieron diferentes grosores de capas de sílice sobre las AuNBs al agregar PEG-silano en el rango de 5 a 9.2 nm en tiempos de 30 a 120 minutos. Esto resulta de gran utilidad como opción a utilizar menos TEOS para obtener capas delgadas o gruesas según la aplicación correspondiente.⁵⁸

Por ejemplo, Liu y cols. en 2014 sintetizaron AuNBs y posteriormente las cubrieron con sílice, utilizaron CTAB como plantilla para generar los poros durante el proceso de silanización por el precursor APTES. Obtuvieron una capa de sílice con un grosor de ~35 nm y por medio de espectroscopia UV-Vis monitorearon la presencia de la cubierta sobre las AuNBs, ya que se observó un corrimiento hacia el rojo de ~35 nm debido al cambio en el índice de refracción superficial, posteriormente lo confirmaron por TEM. Después capturaron el fármaco doxorubicina en los poros de la sílice, los cubrieron con 1-tetradecanol (TD) (cambio de fase a 39 °C) y funcionalizaron la superficie de sílice con ácido fólico para asegurar la focalización a células KB que sobreexpresan receptores de folato. La liberación del fármaco fue por medio hipertermia con irradiación laser en el infrarrojo cercano (NIR, por sus siglas en inglés)⁵⁹.

Por otro lado, Yu y cols. en 2019 también cubrieron AuNBs con sílice mesoporosa por medio del método de Stöber modificado. Sus AuNBs-NSM fueron cargados con el fármaco doxorubicina en el interior de los poros para posteriormente sellar los poros con TD; funcionalizaron la superficie de las AuNBs-NSM con polietilenglicol (PEG), un componente que favorece el tiempo de dispersión en el medio fisiológico y péptidos cíclicos RGD para proveer direccionamiento activo a células cancerosas⁶⁰.

HIPÓTESIS

Las nanobarras de oro cubiertas con sílice mesoporosa funcionalizada con grupos carboxilos funcionan como un sistema de liberación controlada de cisplatino.

OBJETIVOS

Objetivo General.

Sintetizar un sistema de liberación para el cisplatino a base de nanobarras de oro cubiertas con sílice mesoporosa funcionalizada con grupos carboxilos.

Objetivos específicos.

Sintetizar nanobarras de oro que presenten resonancia de plasmón superficial alrededor de 800 nm.

Sintetizar nanobarras de oro cubiertas con sílice mesoporosa funcionalizada con grupos carboxilos.

Sintetizar el sistema AuNBs-SiO₂-(*cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂]).

Evaluar la liberación del cisplatino del sistema AuNBs-SiO₂-(*cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂]).

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales.

Para los estudios experimentales se utilizaron los reactivos bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB, 99 %), hidróxido de sodio (97 %), alcohol etílico (99.5 %), tetraetil-ortosilicato (TEOS, 99 %), 3-amino-propil-trietoxi-silano (APTES), nitrato de amonio (NH_4NO_3), anhídrido succínico, dimetilformamida (DMF), Trietilamina ($(\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), *cis*-diaminodicloroplatino II (*cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$), dimetilsulfóxido (DMSO), orto-fenilendiamina (OPDA), buffer de fosfatos (pH 6.8, 50 Mm), buffer de fosfatos salino (PBS, pH 7.4), fosfato disódico (Na_2HPO_4), fosfato monopotásico (KH_2PO_4), cloruro de sodio, cloruro de potasio. Para preparar todas las soluciones se utilizó agua desionizada mili-Q (Resistividad $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$).

Síntesis de nanobarras de oro.

Las AuNBs fueron sintetizadas por el método mediado por semillas⁶¹. La cristalería se lavó con agua regia para remover contaminación que pudiera interferir con la síntesis. El procedimiento se llevó a cabo a una temperatura de 33 °C. Las semillas de oro se prepararon añadiendo 0.5 ml de NaBH_4 (10 mM) a 5 ml de una solución de CTAB (0.1 M) y HAuCl_4 (0.48 Mm) bajo agitación magnética. También se preparó una solución de crecimiento usando CTAB (0.1 M), HCl (0.08 M), HAuCl_4 (0.5 mM), AgNO_3 (0.08 mM) y ácido ascórbico. Una vez preparada la solución de crecimiento se dejó en reposo durante 0.5 h y después de eso se agregaron 10 μl de la solución de semillas, la mezcla se agitó levemente y se dejó reposar durante 3 h.

Espectroscopia UV-Vis.

Las AuNBs fueron caracterizadas espectroscópicamente en diferentes momentos del proceso con el equipo Evolution 220. Los resultados se graficaron usando el programa OriginPro 8.5 con absorbancias normalizadas

Síntesis de nanobarras de oro cubiertas con sílice mesoporosa.

La síntesis de AuNBs-NSM se llevó a cabo usando protocolos previamente reportado por otros autores con ligeras modificaciones^{57,59,62,63}. Las AuNBs sintetizadas se colocaron en una solución de CTAB 0.8 mM a un pH de 10, y se ajustó la absorbancia a 1, posteriormente, las nanobarras se hicieron reaccionar con una solución de TEOS y etanol (proporción 4:1) durante 48 h a 33 °C sin agitación. El producto resultante se centrifugó a 10,000 RPM durante 15 min y se resuspendió en agua para medir los espectros de absorción. Las AuNBs-NSM resultantes se sometieron a un tratamiento con nitrato de amonio para eliminar el CTAB, para esto se suspendieron en etanol y se colocaron en NH₄NO₃ (6 mg de NH₄NO₃ por cada ml de AuNBs-NSM). Se dejaron reaccionar a reflujo a 60 °C, con agitación a 400 RPM durante 4 h.

Microscopia Electrónica de Barrido (SEM).

Se agregaron 30 µl de las AuNBs-NSM suspendidas en etanol en una rejilla de cobre y se dejaron secar para su posterior caracterización. Las imágenes de las AuNBs-NSM fueron obtenidas usando el equipo JEOL JSM-7800F. Las imágenes obtenidas fueron analizadas utilizando el programa ImageJ.

Potencial Z.

El potencial Z de las AuNBs fue medido con un Zetasizer nano ZS, las nanopartículas fueron suspendidas en agua (pH~5) y colocadas en una celda para potencial Z. Los valores de potencial Z se reportan como la media ± desviación estándar de tres mediciones independientes.

Síntesis de nanobarras de oro cubiertas con sílice mesoporosa funcionalizadas con grupos carboxilos.

Para funcionalizar con grupos amino se agregó 3-aminopropiltrióxido (APTES) a las AuNBs-NSM suspendidas en etanol con absorbancia de 1 y se dejaron reaccionar a reflujo a 60 °C durante 12 h con agitación magnética constante (400 RPM). El producto se centrifugó a 10,000

RPM durante 15 minutos y se suspendió en etanol⁶⁴. Para la funcionalización con grupos carboxilos, las AuNBs-NSM funcionalizadas con grupos amino fueron sometidas a un proceso de succinilación utilizando anhídrido succínico. Se agregó el sedimento de un volumen de AuNBs-NSM funcionalizadas con grupos amino a una solución de anhídrido succínico disuelto en DMF (dimetilformamida) en presencia de trietilamina (1 mg/ml), la mezcla se dejó reaccionar durante 2 horas a temperatura ambiente con agitación magnética constante (300 RPM). Finalmente se centrifugó y se realizaron lavados con agua para eliminar las especies no reaccionantes, posteriormente se suspendió en agua y se ajustó la absorbancia a un valor de 2.⁹ Para confirmar la presencia de grupos funcionales se obtuvieron los espectros FT-IR de las AuNBs-NSM usando un espectrómetro FT-IR (Sectrum Two, Perkin-Elmer) equipado con un accesorio universal ATR (diamante de reflexión única). Se obtuvieron los espectros de las AuNBs-NSM tratadas con APTES y anhídrido succínico.

Síntesis del complejo AuNBs-SiO₂-(*cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂]).

El complejo AuNBs-SiO₂-(*cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂]) se sintetizó haciendo reaccionar cisplatino disuelto en DMSO a una concentración de 75 µg/ml con una suspensión acuosa de AuNBs-NSM funcionalizadas con grupos carboxilos con absorbancia de 2. La reacción se llevó a cabo a 45 °C en oscuridad durante 24 horas bajo agitación magnética constante a 140 RPM. El producto se centrifugó, se eliminó sobrenadante y se resuspendió en agua. La eficiencia de encapsulamiento se determinó a partir de la concentración del cisplatino en el sobrenadante, esto se realizó a través de espectroscopía UV-Vis utilizando el método colorimétrico con OPDA⁶⁵.

La cantidad y porcentaje de cisplatino encapsulado se determinó a partir del sobrenadante, se agregaron alícuotas de 100 µl de cada una de las muestras, 200 µl de PBS (pH 6.8, 50mM) y 100 µl de OPDA. La mezcla se calentó durante 10 minutos a 100 °C, posteriormente se enfrió en baño de hielo y se completó un volumen de 2 ml con DMF para finalmente realizar la medición de la absorbancia a una longitud de onda de 706 nm.

Adicionalmente se realizó una curva de calibración con 5 concentraciones conocidas de cisplatino II disuelto en PBS (6.25, 12.5, 25, 50 y 100 µg/ml). Se obtuvieron datos de las absorbancias a partir de los cuales se calculó la concentración de cisplatino en sobrenadante. Se

realizaron tres repeticiones del procedimiento, de ello se obtuvo el promedio y la desviación estándar utilizados para realizar la curva de calibración mostrada en la figura 8.

Después de realizar un ajuste lineal, se obtuvo la siguiente ecuación:

$$y = 0.01184 + 0.0171 * x;$$

Donde y es la absorbancia (A) obtenida de cada muestra y x es la concentración en $\mu\text{g/ml}$.

Estudios de liberación de cisplatino.

Los sedimentos de un volumen conocido de AuNBs-SiO₂-(cis-[Pt(NH₃)₂Cl₂]) se suspendieron en 5 ml de PBS a pH 7.4 y a una temperatura de 37 °C, la suspensión se agitó durante 96 horas. Para mantener el cisplatino en su forma clorada y favorecer el intercambio de ligandos el PBS contiene una concentración de cloruro de sodio de 137 mM⁶⁶. Se tomaron alícuotas de 500 μl a diferentes tiempos (0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 48, 72 y 96 h), éstas se centrifugaron y se determinó la concentración de cisplatino en el sobrenadante utilizando el método colorimétrico con OPDA. El volumen extraído de la suspensión se rellenó con 500 μl de PBS.⁶⁵ Las concentraciones de cisplatino se corrigieron con la fórmula:

$$C_{real} = C_{medida} \times (DF)^n$$

Donde: C_{real} es la concentración real, C_{medida} es la concentración medida, DF es el factor de dilución (10/9) y n es la toma de muestra correspondiente. En base a la corrección con la fórmula anterior se obtuvo la concentración de cisplatino ajustada (concentración real) a partir de la cual se calculó el porcentaje de liberación.

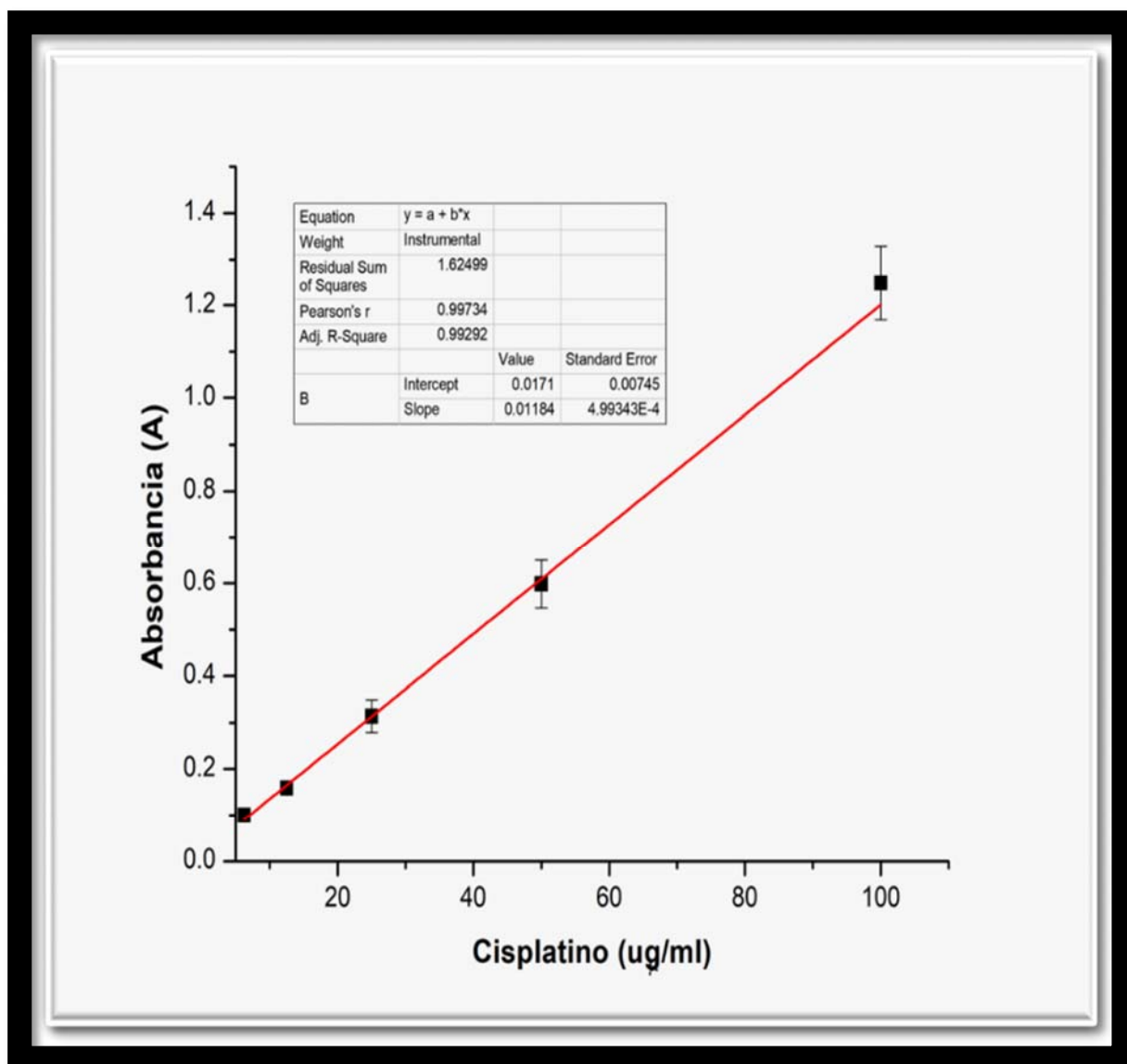


Figura 8: Ajuste lineal de la absorbancia a 706 nm frente a la concentración de cisplatino.

RESULTADOS Y DISCUSIONES.

Espectroscopía UV-Vis de las AuNBs.

La Figura 9 muestra los espectros de UV-VIS de las AuNBs en diferentes momentos del procedimiento. Primeramente, se obtuvieron AuNBs con una resonancia de plasmón de superficie transversal que se posicionó en una longitud de onda de ~ 513 nm y una resonancia de plasmón de superficie longitudinal situado en ~ 752 nm, se puede observar un claro corrimiento hacia el rojo de ~ 30 nm para las AuNBs cubiertas con sílice, este comportamiento ha sido reportado previamente y se atribuye a un cambio en el índice de refracción local por la presencia de la capa de sílice mesoporosa sobre las AuNBs⁵⁹. También se puede observar un corrimiento hacia el azul después del tratamiento con NH_4NO_3 para la eliminación del CTAB, probablemente este proceso cambia de nuevo el índice de refracción local y por eso se modifica la posición del plasmón, se puede llegar a tal conclusión considerando que las imágenes de SEM muestran que efectivamente las nanobarras de oro están cubiertas con una capa de sílice.

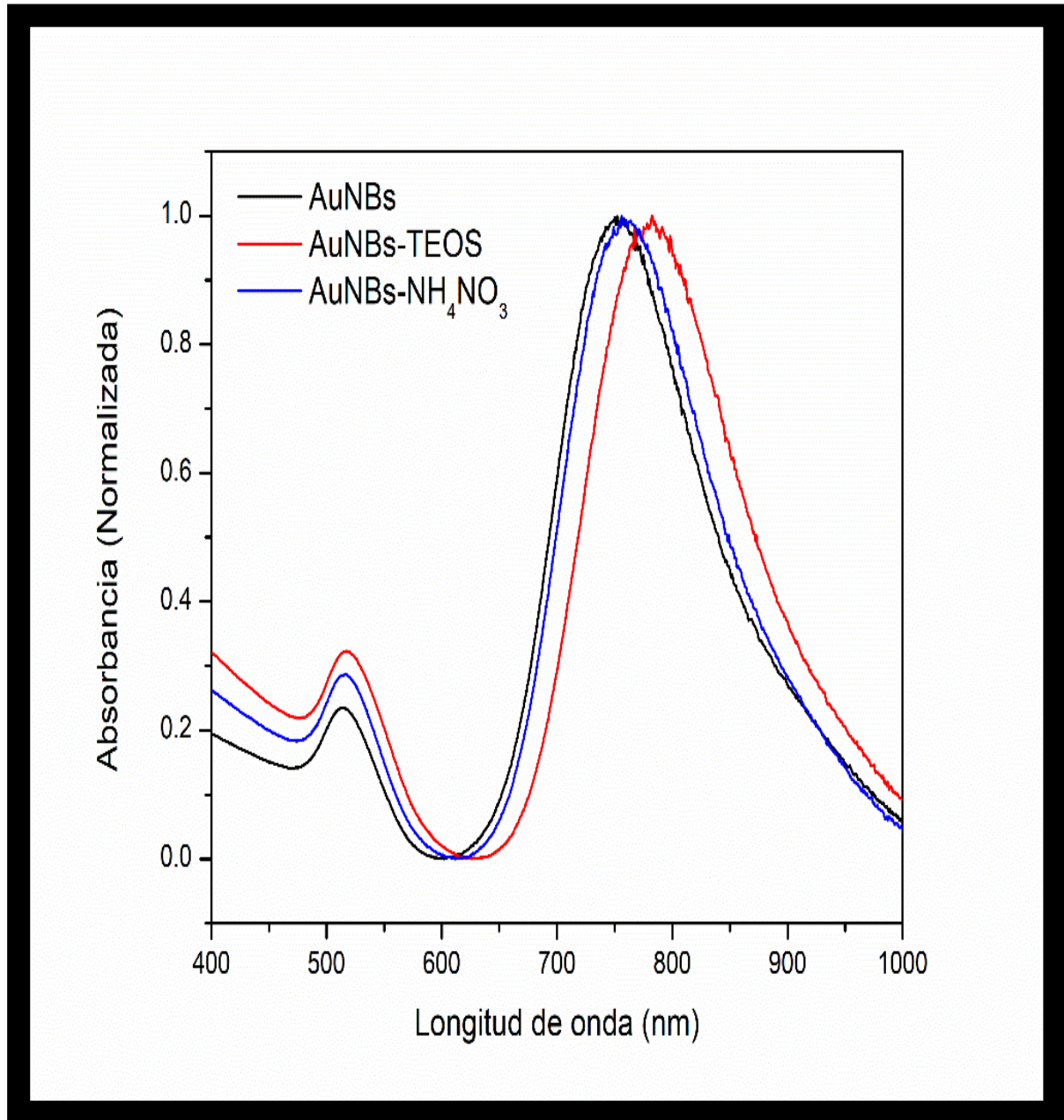


Figura 9: Espectros UV-Vis de las AuNBs con diferentes tratamientos. AuNBs (línea negra), AuNBs-TEOS (línea roja) y AuNBs-NH₄NO₃ (línea azul).

Imágenes de microscopía electrónica de barrido

Las imágenes SEM se muestran en la figura 10, estas micrografías confirmaron la cubierta de sílice alrededor de las AuNBs y permitieron realizar un histograma de distribución de tamaños, el cual se realizó utilizando como herramienta de medición el programa ImageJ versión 1.4. Se realizaron 100 mediciones de la longitud y ancho de las AuNBs, así como es grosor de la capa de sílica. Se determinó la relación de aspecto de las AuNBs con los promedios de la longitud y ancho, dando como resultado una relación de aspecto de 3.2. Se observó que la longitud de las AuNBs se encuentra en el rango de 35 a 75 nm (media de 52.4 nm y desviación estándar de 1.03 nm), que el ancho va desde 11 a 21 nm (media de 15.99 nm y desviación estándar de 0.50 nm) y que el grosor de la capa de sílice va desde 17 a 47 nm (media de 32.9 nm y desviación estándar de 0.46 nm) (Figura 10).

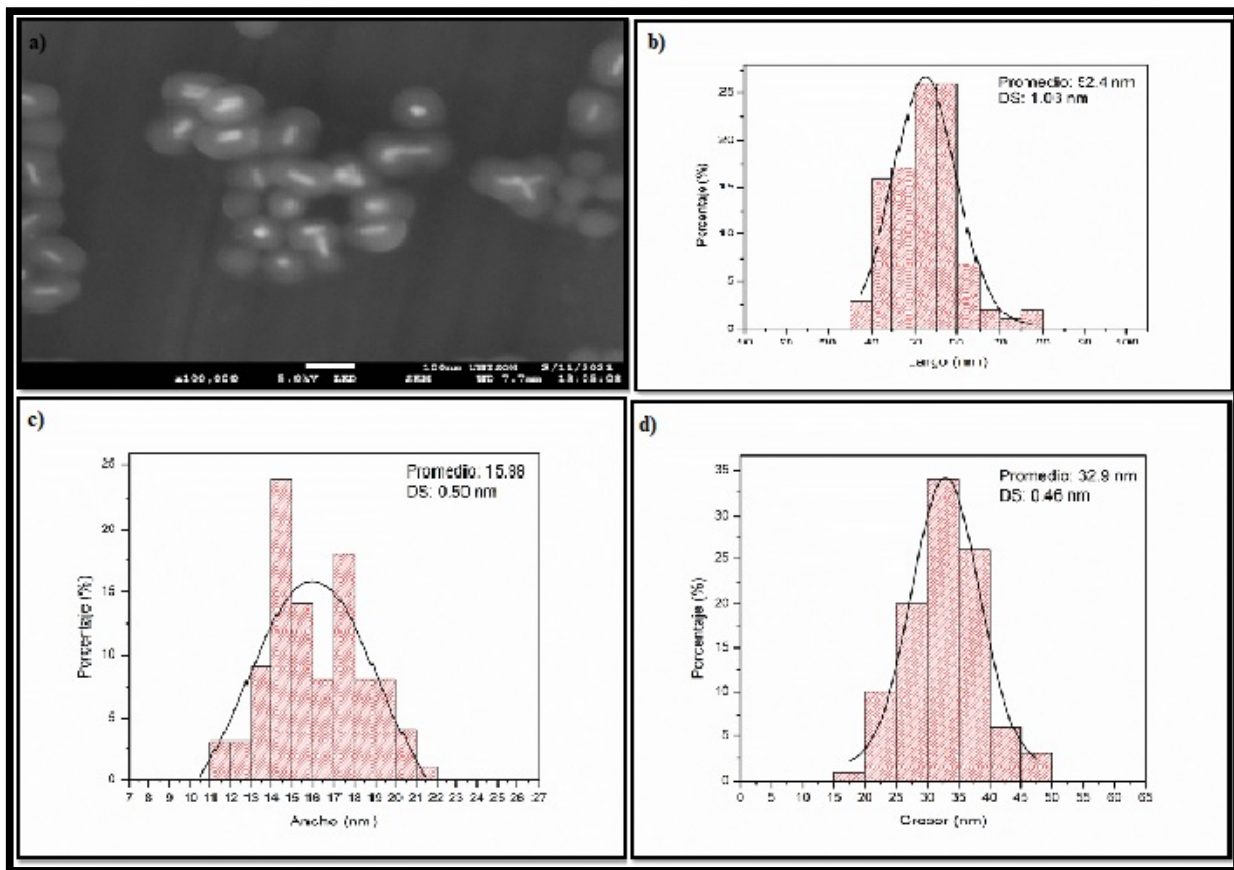


Figura 10: a) Imagen de SEM de las AuNBs-NSM sintetizadas con el método de Stöber modificado, b), c) y d) Gráficas de distribución de tamaños: del largo de las AuNBs, del ancho de las AuNBs y del grosor de la capa de sílica de las AuNBs respectivamente.

Estudios de potencial Z.

También se realizaron estudios de potencial Z a las AuNBs con los diferentes tratamientos a los que fueron sometidas en este trabajo. En los resultados mostrados en la Figura 11 se observa un potencial Z de +48 mV para las AuNBs-CTAB, enseguida se observa una disminución en el valor del Potencial Z a +10 mV después del tratamiento con NH_4NO_3 , esto puede deberse a la eliminación del surfactante catiónico utilizado (CTAB). Posteriormente luego del tratamiento con APTES se observa una leve disminución del valor de potencial Z a +6 mV el cual aparentemente no es significativo si consideramos las barras de error. Finalmente, en el caso de las partículas tratadas con anhídrido succínico se observa una inversión en el valor del potencial Z a -21 mV lo

cual sugiere que las AuNBs-NSM presentan ácidos carboxílicos en su superficie. De lo anterior se puede sugerir que los tratamientos de funcionalización con grupos amino y carboxilos de las AuNBs-NSM se realizaron con éxito.

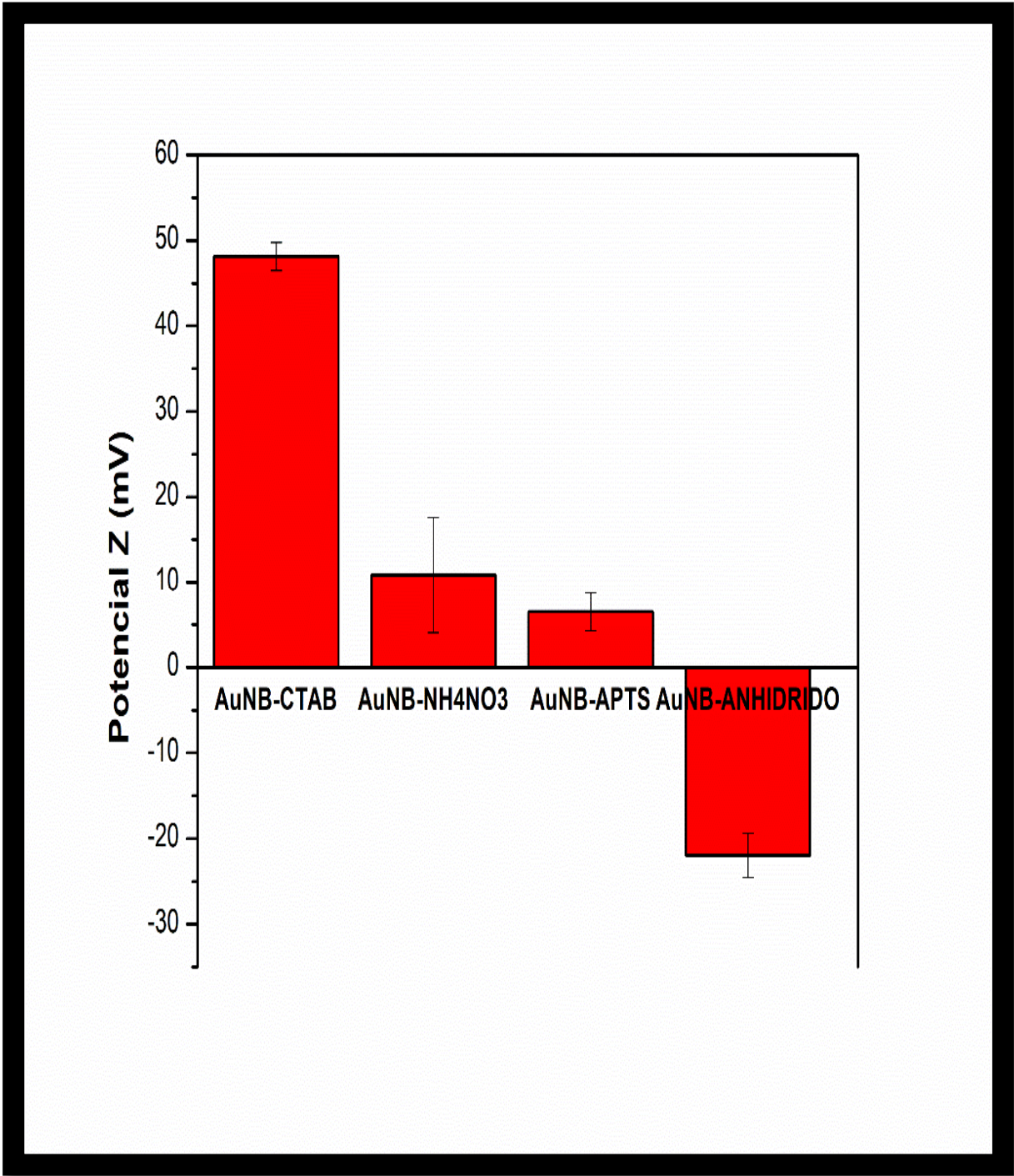


Figura 11: Potencial Z de AuNBs con diferentes tratamientos (Dispersas en agua, pH~5).

FT-IR.

La funcionalización con grupos amino y grupos carboxilos de las AuNBs-NSM fueron confirmadas por espectroscopía de infrarrojo. Los espectros de FT-IR de las AuNBs-NSM con tratamiento con APTES y con anhídrido succínico se muestran en la figura 12. Se observa que las AuNBs-NSM tratadas con APTES presentan una banda moderada en 3282 cm^{-1} que puede ser asociada a enlaces N-H de grupos amina, también presenta dos señales en 2854 y 2930 cm^{-1} que se pueden atribuir a señales de vibraciones de enlaces C-H de los metilenos de la cadena alifática del APTES, luego en 1555 y 1650 cm^{-1} se observa una banda doble débil asociada a grupos amina y una banda intensa en 1049 cm^{-1} que se debe al enlace Si-O. En el caso de las AuNBs-NSM tratadas con anhídrido succínico se observa un incremento en la intensidad a 1555 y 1650 cm^{-1} , las cuales se pueden asociar a los enlaces N-H y C=O de la amida, respectivamente (durante la reacción de succinilación de grupos amino sucede un ataque nucleofílico por parte de los grupos amino sobre uno de los grupos carbonilo del anillo anhídrido provocando la apertura del mismo con formación del enlace amida y liberando el otro carbonilo para formar un ácido carboxílico libre). Adicionalmente se muestra la aparición de una banda a 1708 cm^{-1} que se puede asociar a la presencia del carbonilo del grupo COOH^{10,11,67,68}. Estos resultados sugieren que el tratamiento para funcionalizar las AuNBs-NSM con grupos carboxilos fue realizado con éxito.

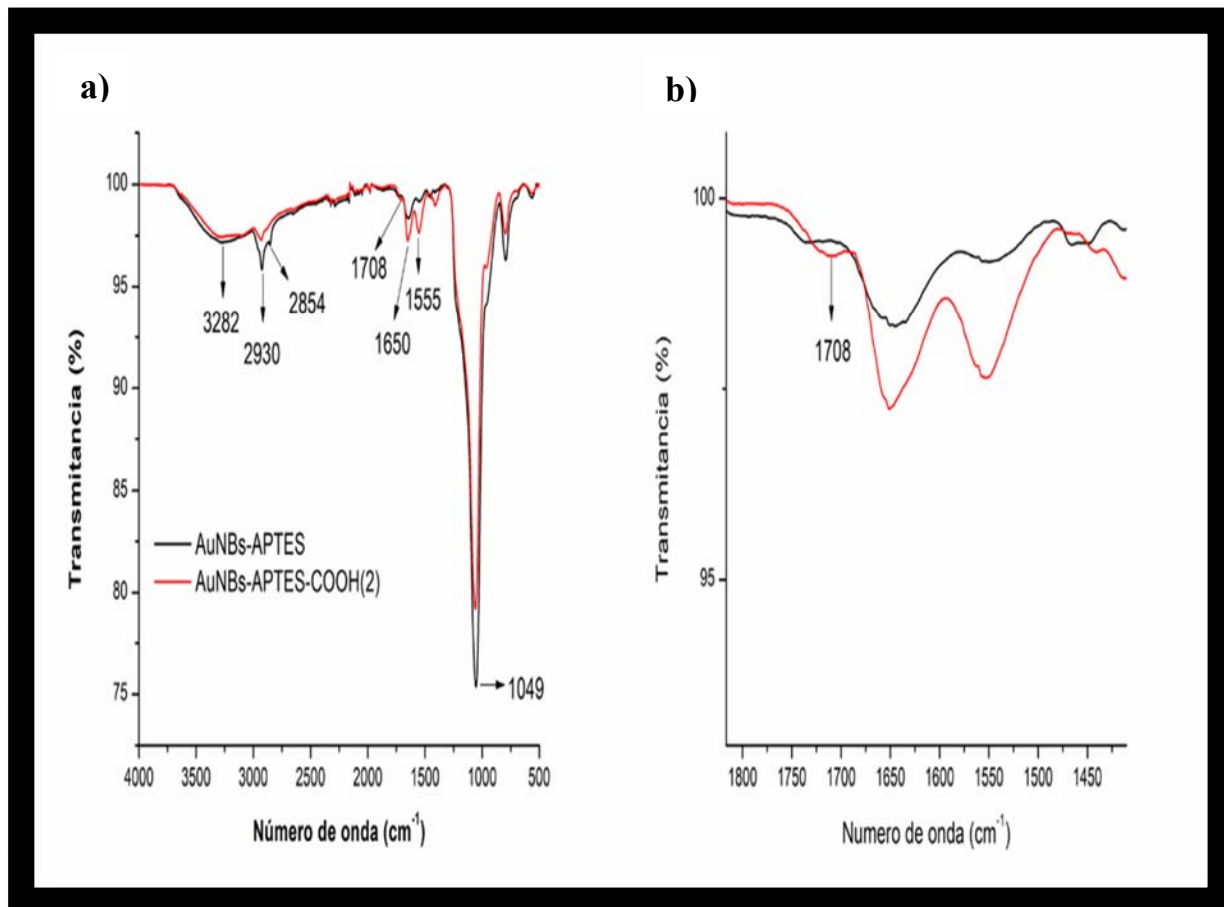


Figura 12: Espectros FT-IR de las AuNBs. a) AuNBs-NSM funcionalizadas con grupos amino (espectro negro) y AuNBs-NSM funcionalizadas con grupos carboxilos (espectro rojo). b) Ampliación de la figura.

Encapsulamiento de cisplatino.

La cantidad y porcentaje de cisplatino encapsulado se determinó a partir del sobrenadante por derivatización con OPDA. La cantidad de carga de fármaco fue relativamente alta para las AuNBs-NSM que se sometieron a concentraciones altas de cisplatino, sin embargo, el porcentaje de cisplatino encapsulado fue bajo, según condiciones físicas presentadas por las muestras se observó que estas presentaban problemas de resuspensión, lo cual puede deberse a que el cisplatino se encuentra cubriendo la superficie de las nanopartículas por completo. Las mejores condiciones de resuspensión se observaron en el rango de concentraciones de 50 a 75 $\mu\text{g/ml}$. Se eligió la

concentración de 75 mg/ml para encapsulación de nuestro sistema, ya que las nanopartículas sometidas a ésta presentaron buenas condiciones de resuspensión y un porcentaje de encapsulamiento lo más alto posible además de una masa de cisplatino encapsulado considerable (Figuras 13 y tabla 1).

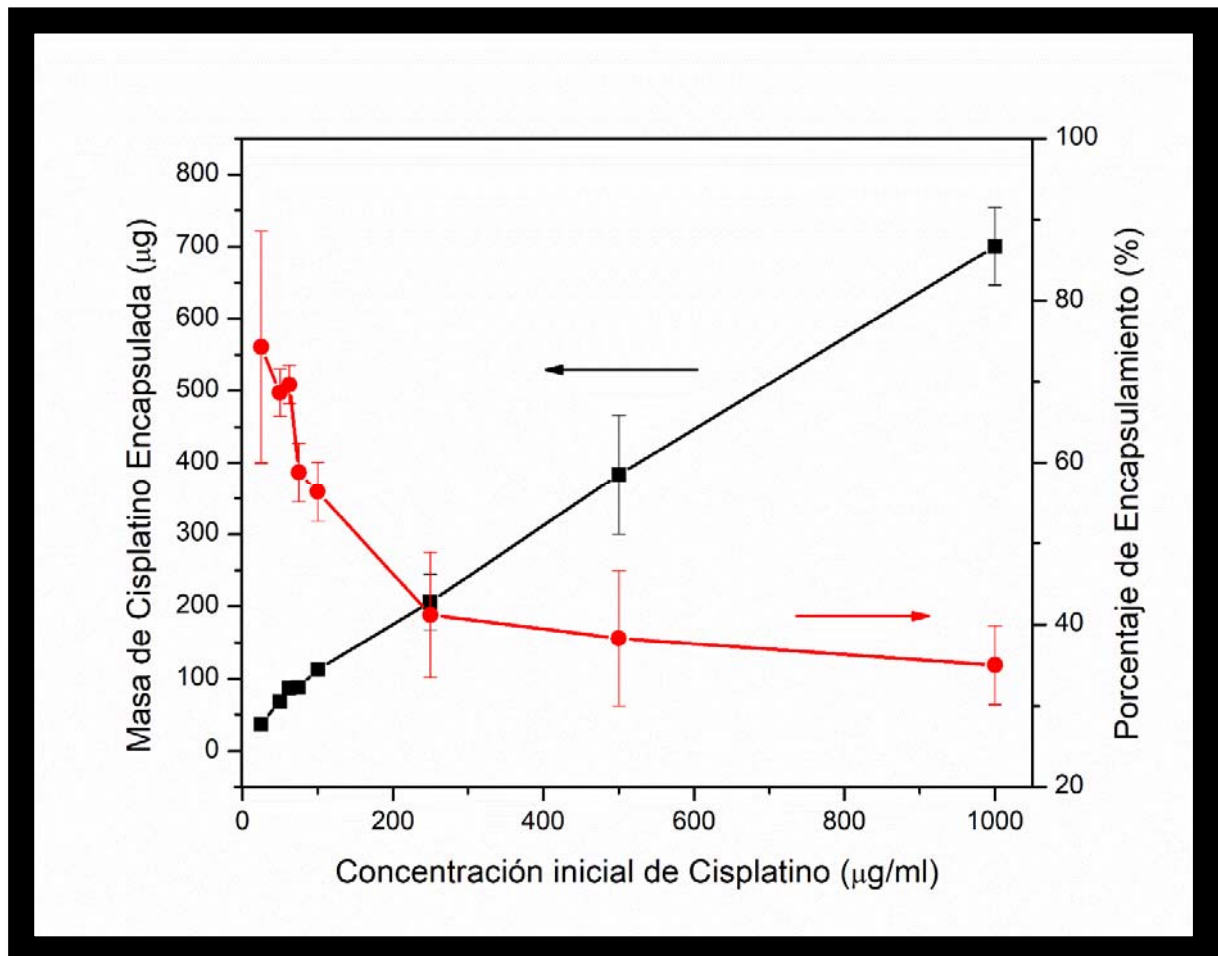


Figura 13: Gráfica de cantidad y porcentaje de encapsulamiento de cisplatino, los símbolos representan el valor promedio y las barras de error corresponden a la desviación estándar ($n = 3$).

Tabla 1: Cantidad y porcentaje de encapsulamiento de Cisplatino (promedio de 3 repeticiones del procedimiento).

MASA INICIAL CISPLATINO	PROMEDIO MASA CISPLATINO ENCAPSULADA	PROMEDIO % ENCAPSULAMIENTO
2000 µg	700 µg	35
1000 µg	383 µg	38
500 µg	205 µg	41
200 µg	112 µg	56
150 µg	88 µg	58
125 µg	87 µg	69
100 µg	68 µg	68
50 µg	37 µg	74

Cinética de liberación de cisplatino a pH 7.4

Se evaluó la liberación de cisplatino de las AuNBs-NSM en condiciones fisiológicas simuladas (37 °C, pH 7.4) utilizando una solución amortiguadora de fosfatos salina con una concentración de cloruros de 137 mM. Durante las primeras 6 h se observó una liberación rápida, lo cual se puede atribuir a la liberación del cisplatino absorbido en la superficie de las AuNBs-NSM. Posterior a las primeras 12 h se observó una liberación lenta hasta alcanzar una liberación del 60% del fármaco encapsulado en un tiempo de 96 h (Figura 14). La liberación sostenida de cisplatino es un tema de gran importancia para el suministro de fármacos en la quimioterapia contra cáncer para evitar la disipación y la inactivación del fármaco en el entorno fisiológico antes de la llegada al sitio tumoral de interés. Investigaciones han demostrado que una interacción física débil (adsorción) no asegura una liberación sostenida del fármaco, por ello en este caso se evaluó el encapsulamiento utilizando un enlace de coordinación¹⁰⁻¹².

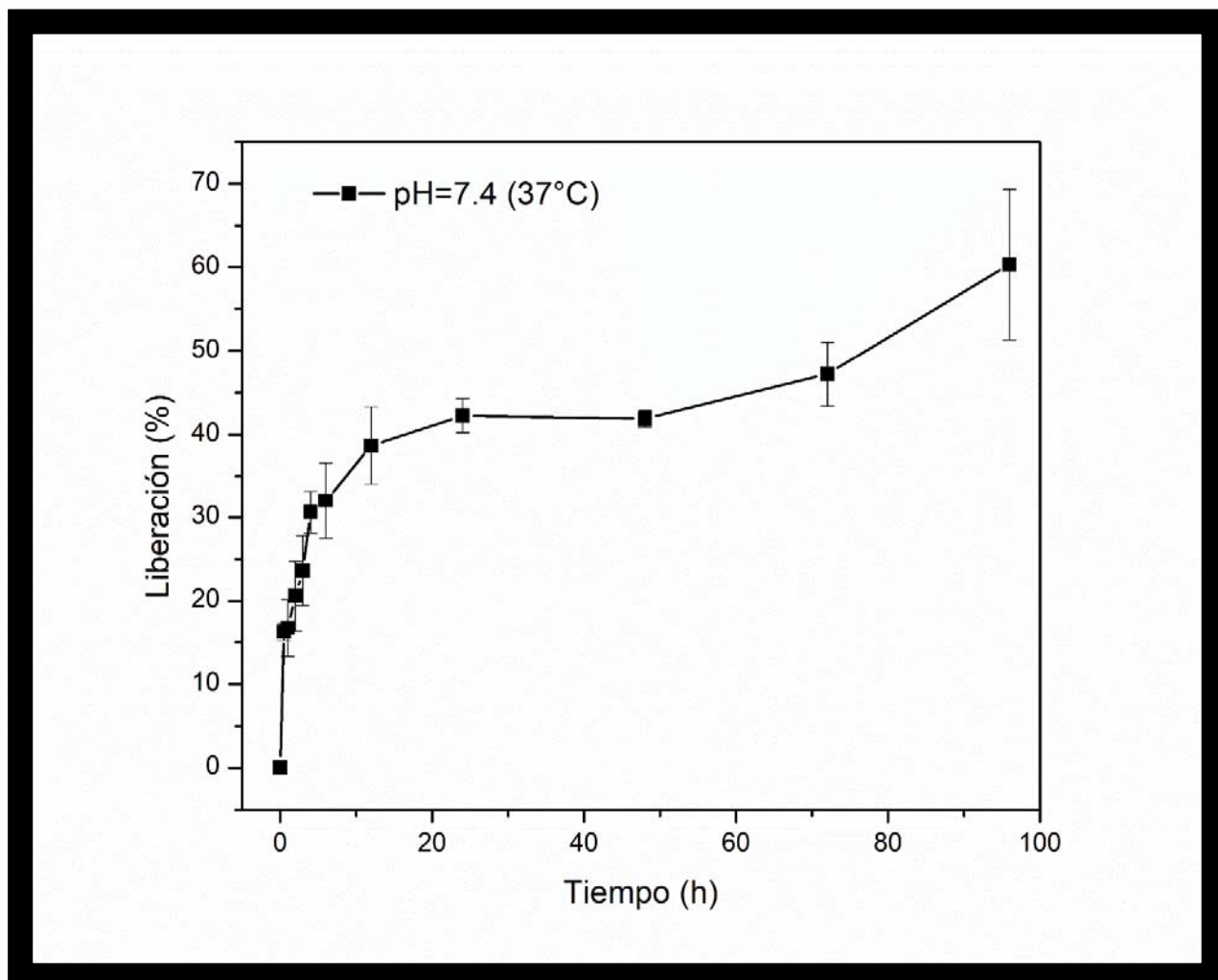


Figura 14: Gráfica de liberación acumulativa de cisplatino del sistema AuNBs-NSM-(*cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂]) en PBS, pH 7.4 a 37 °C en tiempos de 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 48, 72 y 96 h.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.

En el presente trabajo el sistema AuNBs-NSM funcionalizadas con grupos carboxilos cargados con cisplatino se sintetizó en un proceso de varios pasos. Fue posible obtener AuNBs con una RPS de alrededor de 800 nm útil en aplicaciones biomédicas para el potencial tratamiento y diagnóstico de tumores cancerosos. El método sol-gel de Stöber modificado para la formación de estructuras esféricas del tipo MCM-41 fue indispensable para realizar la cubierta de las AuNBs, se confirmó por medio de SEM que se obtuvo en general una cubierta de sílice alrededor de las AuNBs de manera uniforme con un grosor promedio de 32.9 nm y AuNBs con una relación de aspecto promedio de 3.2. Se realizó la funcionalización con grupos carboxilos de las AuNBs-NSM lo cual se comprobó por medio FT-IR, los resultados arrojaron una banda moderada alrededor de 1708 cm^{-1} característico del carbonilo del grupo COOH, también se determinó potencial Z en el cual se observó una inversión en el valor de positivo a negativo con lo que se puede soportar aún más la presencia del grupo carboxilo. Se logró encapsular el fármaco cisplatino en nuestro nanosistema por medio de un enlace de coordinación con una geometría esperada de forma tetraédrica, demostrando una liberación lenta del fármaco de 60% en un tiempo de 96 horas en condiciones fisiológicas simuladas. Como perspectivas futuras nuestro sistema AuNBs-NSM-(*cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂]) puede someterse a tratamiento con componentes de cambio de fase como 1-tetradecanol para asegurar el control de la liberación del fármaco, por otro lado aprovechando la capacidad de las AuNBs para producir incrementos en la temperatura en respuesta a irradiación laser, se puede inducir el cambio de fase de TD y la ablación fototérmica, así como mejorar la citotoxicidad de cisplatino por el calentamiento local.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alvarez-Berrios, M. P. & Vivero-Escoto, J. L. In vitro evaluation of folic acid-conjugated redox-responsive mesoporous silica nanoparticles for the delivery of cisplatin. *Int. J. Nanomedicine* **11**, 6251–6265 (2016).
2. Ghosh, S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug. *Bioorg. Chem.* **88**, 102925 (2019).
3. Traverso, N. *et al.* Role of Glutathione in Cancer Progression and Chemoresistance. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013, 1–10. doi:10.1155/2013/972913 (2013).
4. Li, T. *et al.* Recent advancements in mesoporous silica nanoparticles towards therapeutic applications for cancer. *Acta Biomater.* **89**, 1–13 (2019).
5. Chen, T. *et al.* Intelligent Drug Delivery System Based on Mesoporous Silica Nanoparticles Coated with an Ultra-pH-Sensitive Gatekeeper and Poly(ethylene glycol). *ACS Macro Lett.* **5**, 55–58 (2016).
6. Huang, X., Neretina, S. & El-Sayed, M. A. Gold nanorods: From synthesis and properties to biological and biomedical applications. *Adv. Mater.* **21**, 4880–4910 (2009). doi:10.1002/adma.200802789.
7. Zhou, J. *et al.* Functionalized gold nanorods for nanomedicine: Past, present and future. *Coord. Chem. Rev.* **352**, 15–66 (2017).
8. Trewyn, B. G., Slowing, I. I., Giri, S., Chen, H. T. & Lin, V. S. Y. Synthesis and functionalization of a mesoporous silica nanoparticle based on the sol-gel process and applications in controlled release. *Acc. Chem. Res.* **40**, 846–853 (2007).
9. Hermanson, G. T. Creating Specific Functionalities. Silane Coupling Agents. *Bioconjugate Techniques* (3th ed., 187-189, 539-542). Elsevier (2013).
10. Gu, J. *et al.* Surface modification-Complexation strategy for cisplatin loading in mesoporous nanoparticles. *J. Phys. Chem. Lett.* **1**, 3446–3450 (2010).
11. Gu, J., Liu, J., Li, Y., Zhao, W. & Shi, J. One-pot synthesis of mesoporous silica nanocarriers with tunable particle sizes and pendent carboxylic groups for cisplatin delivery. *Langmuir* **29**, 403–410 (2013).
12. Zhu, X., Gu, J., Li, Y., Zhao, W. & Shi, J. Magnetic core-mesoporous shell nanocarriers with drug anchorages suspended in mesopore interior for cisplatin delivery. *Microporous Mesoporous Mater.* **196**, 115–121 (2014).
13. Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* (2018). doi:10.3322/caac.21492.
14. Suhail, Y. *et al.* Systems Biology of Cancer Metastasis. *Cell Syst.* **9**, 109–127 (2019).
15. Bor, G., Azmi, I. D. M. & Yaghmur, A. Nanomedicines for cancer therapy: Current status,

- challenges and future prospects. *Ther. Deliv.* **10**, 113–132 (2019).
16. Allen, C., Her, S. & Jaffray, D. A. Radiotherapy for Cancer: Present and Future. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **109**, 1–2 (2017).
 17. Chabner, B. A. & Roberts, T. G. Chemotherapy and the war on cancer. *Nat. Rev. Cancer* **5**, 65–72 (2005).
 18. Dasari, S. & Bernard Tchounwou, P. Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. *Eur. J. Pharmacol.* **740**, 364–378 (2014).
 19. Jain, R. K. & Stylianopoulos, T. Delivering nanomedicine to solid tumors. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **7**, 653–664 (2010).
 20. Psimadas, D., Georgoulas, P., Valotassiou, V. & Loudos, G. Molecular Nanomedicine Towards Cancer : *J. Pharm. Sci.* **101**, 2271–2280 (2012).
 21. Mundargi, R. C., Babu, V. R., Rangaswamy, V., Patel, P. & Aminabhavi, T. M. Nano/micro technologies for delivering macromolecular therapeutics using poly(d,l-lactide-co-glycolide) and its derivatives. *J. Control. Release* **125**, 193–209 (2008).
 22. Emami, F., Mostafavi Yazdi, S. J. & Na, D. H. Poly(lactic acid)/poly(lactic-co-glycolic acid) particulate carriers for pulmonary drug delivery. *J. Pharm. Investig.* **49**, 427–442 (2019).
 23. Sangtani, A. *et al.* Intracellularly Actuated Quantum Dot-Peptide-Doxorubicin Nanobioconjugates for Controlled Drug Delivery via the Endocytic Pathway. *Bioconjug. Chem.* **29**, 136–148 (2018).
 24. Field, L. D. *et al.* A Quantum Dot-Protein Bioconjugate That Provides for Extracellular Control of Intracellular Drug Release. *Bioconjug. Chem.* **29**, 2455–2467 (2018).
 25. De, S. *et al.* Tailoring the Efficacy of Multifunctional Biopolymeric Graphene Oxide Quantum Dot-Based Nanomaterial as Nanocargo in Cancer Therapeutic Application. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **4**, 514–531 (2018).
 26. Ahmadi-Kashani, M., Dehghani, H. & Zarrabi, A. A biocompatible nanopatform formed by MgAl-layered double hydroxide modified Mn₃O₄/N-graphene quantum dot conjugated-polyaniline for pH-triggered release of doxorubicin. *Mater. Sci. Eng. C* **114**, 111055 (2020).
 27. Poller, W. C. *et al.* Very small superparamagnetic iron oxide nanoparticles: Long-term fate and metabolic processing in atherosclerotic mice. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.* **14**, 2575–2586 (2018).
 28. Zhao, M. *et al.* A GPC3-specific aptamer-mediated magnetic resonance probe for hepatocellular carcinoma. *Int. J. Nanomedicine* **13**, 4433–4443 (2018).
 29. Fu, C. *et al.* Surface functionalization of superparamagnetic nanoparticles by an acid-labile polysaccharide-based prodrug for combinatorial monitoring and chemotherapy of hepatocellular carcinoma. *RSC Adv.* **7**, 41919–41928 (2017).
 30. Bettini, S. *et al.* A simple approach to synthesize folic acid decorated magnetite@SiO₂ nanostructures for hyperthermia applications. *J. Mater. Chem. B* **5**, 7547–7556 (2017).

31. Zheng, X. C. *et al.* The theranostic efficiency of tumor-specific, pH-responsive, peptide-modified, liposome-containing paclitaxel and superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Int. J. Nanomedicine* **13**, 1495–1504 (2018).
32. Wang, X. *et al.* Transferrin-conjugated drug/dye-co-encapsulated magnetic nanocarriers for active-targeting fluorescent/magnetic resonance imaging and anti-tumor effects in human brain tumor cells. *RSC Adv.* **6**, 105661–105675 (2016).
33. Ahmad, M. Z. *et al.* Metallic nanoparticles: Technology overview and drug delivery applications in oncology. *Expert Opin. Drug Deliv.* **7**, 927–942 (2010).
34. Klochkov, S. G. *et al.* Implications of nanotechnology for the treatment of cancer: Recent advances. *Semin. Cancer Biol.* **69**, 190–199 (2021).
35. Zhang, Y. *et al.* DNA-Hybrid-Gated Photothermal Mesoporous Silica Nanoparticles for NIR-Responsive and Aptamer-Targeted Drug Delivery. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **7**, 20696–20706 (2015).
36. Barkat, A. *et al.* Functionalized mesoporous silica nanoparticles in anticancer therapeutics. *Semin. Cancer Biol.* **69**, 365–375 (2021).
37. Vallet-Regí, M., Colilla, M., Izquierdo-Barba, I. & Manzano, M. Mesoporous silica nanoparticles for drug delivery: Current insights. *Molecules* **23**, 1–19 (2018).
38. Li, Z., Zhang, Y. & Feng, N. Mesoporous silica nanoparticles: synthesis, classification, drug loading, pharmacokinetics, biocompatibility, and application in drug delivery. *Expert Opin. Drug Deliv.* **16**, 219–237 (2019).
39. Narayan, R., Nayak, U. Y., Raichur, A. M. & Garg, S. Mesoporous silica nanoparticles: A comprehensive review on synthesis and recent advances. *Pharmaceutics* **10**, 1–49 (2018).
40. Kresge, C.T. *et al.* Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism. *Letters To Nature* vol. 359 710–712 (1992).
41. Manzano, M. & Vallet-regí, M. Mesoporous Silica Nanoparticles for Drug Delivery. *Advanced Functional Materials*, **1902634**, 3–5 (2020). doi:10.1002/adfm.201902634.
42. Vallet-Regí, M., Rámila, A., Del Real, R. P. & Pérez-Pariente, J. A new property of MCM-41: Drug delivery system. *Chem. Mater.* **13**, 308–311 (2001).
43. Matsumura, Y. & Maeda, H. A New Concept for Macromolecular Therapeutics in Cancer Chemotherapy: Mechanism of Tumoritropic Accumulation of Proteins and the Antitumor Agent Smancs. *Cancer Res.* **46**, 6387–6392 (1986).
44. Danhier, F. To exploit the tumor microenvironment: Since the EPR effect fails in the clinic, what is the future of nanomedicine? *J. Control. Release* **244**, 108–121 (2016).
45. Gisbert-Garzarán, M. & Vallet-Regí, M. Influence of the surface functionalization on the fate and performance of mesoporous silica nanoparticles. *Nanomaterials* **10**, (2020).
46. Villaverde, G. & Baeza, A. Targeting strategies for improving the efficacy of nanomedicine in oncology. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, **10**, 168–181 (2019). doi:10.3762/bjnano.10.16.

47. Baeza, A., Colilla, M. & Vallet-Regí, M. Advances in mesoporous silica nanoparticles for targeted stimuli-responsive drug delivery. *Expert Opin. Drug Deliv.* **12**, 319–337 (2015).
48. Anton, N. An overview of active and passive targeting strategies to improve the nanocarriers efficiency to tumour sites. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **71**, 1185–1198 (2019). doi.org/10.1111/jphp.13098.
49. Rosenholm, J. M. *et al.* Targeting of porous hybrid silica nanoparticles to cancer cells. *ACS Nano* **3**, 197–206 (2009).
50. Day, C. M., Sweetman, M. J., Song, Y., Plush, S. E. & Garg, S. Functionalized mesoporous silica nanoparticles as delivery systems for doxorubicin: Drug loading and release. *Appl. Sci.* **11**, 14–16 (2021).
51. Huang, X. & El-sayed, M. A. Gold nanoparticles : Optical properties and implementations in cancer diagnosis and photothermal therapy. *Journal of Advanced Research*, 13–28 (2010) doi:10.1016/j.jare.2010.02.002.
52. Link, S., & El-Sayed, M. A. Shape and size dependence of radiative, non-radiative and photothermal properties of gold nanocrystals. *International Reviews in Physical Chemistry*, **19**(3), 409–453 (2000). doi:10.1080/01442350050034180
53. Boehm, H. P., Clauss, A., G. O. Fischer & U Hoffman. Das Adsorptionsverhalten sehr dünner Kohlenstoff-Folien. *Zeitschrift für Anorg. und Allg. Chemie* **316**, 119–127 (1962).
54. Jana, N. R. Gram-scale synthesis of soluble, near-monodisperse gold nanorods and other anisotropic nanoparticles. *Small* **1**, 875–882 (2005).
55. Jana, N. R., Gearheart, L. & Murphy, C. J. Seed-mediated growth approach for shape-controlled synthesis of spheroidal and rod-like gold nanoparticles using a surfactant template. *Adv. Mater.* **13**, 1389–1393 (2001).
56. Park, K. *et al.* Growth mechanism of gold nanorods. *Chem. Mater.* **25**, 555–563 (2013).
57. Gorelikov, I. & Matsuura, N. Single-step coating of mesoporous silica on cetyltrimethyl ammonium bromide-capped nanoparticles. *Nano Lett.* **8**, 369–373 (2008).
58. Wu, W. C. & Tracy, J. B. Large-scale silica overcoating of gold nanorods with tunable shell thicknesses. *Chem. Mater.* **27**, 2888–2894 (2015).
59. Liu, J. *et al.* Gold nanorods coated with mesoporous silica shell as drug delivery system for remote near infrared light-activated release and potential phototherapy. *Small* **11**, 2323–2332 (2015).
60. Yu, Y. *et al.* Rattle-Type Gold Nanorods/Porous-SiO₂ Nanocomposites as Near-Infrared Light-Activated Drug Delivery Systems for Cancer Combined Chemo-Photothermal Therapy. *Mol. Pharm.* **16**, 1929–1938 (2019).
61. Almada, M. *et al.* Photothermal conversion efficiency and cytotoxic effect of gold nanorods stabilized with chitosan, alginate and poly(vinyl alcohol). *Mater. Sci. Eng. C* **77**, 583–593 (2017).
62. Takeuchi, Y. Sagittal plane spinal mobility is associated with dynamic balance ability of

- community-dwelling elderly people. *J. Phys. Ther. Sci.* **29**, 112–114 (2017).
63. Elst, L. Vander, Laurent, S. & Christine, J. Heat-triggered drug release systems based on mesoporous silica nanoparticles filled with a maghemite core and phase-change molecules as gatekeepers. *J. Mater. Chem. B*, 59–70 (2014) doi:10.1039/c3tb21229g.
 64. Cui, X., Cheng, W. & Han, X. Lipid bilayer modified gold nanorod@mesoporous silica nanoparticles for controlled drug delivery triggered by near-infrared light. *J. Mater. Chem. B* **6**, 8078–8084 (2018).
 65. Domínguez-Ríos, R. *et al.* Cisplatin-loaded PLGA nanoparticles for HER2 targeted ovarian cancer therapy. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **178**, 199–207 (2019).
 66. Hall, M. D. *et al.* Say no to DMSO: Dimethylsulfoxide inactivates cisplatin, carboplatin, and other platinum complexes. *Cancer Res.* **74**, 3913–3922 (2014).
 67. Feng, J. *et al.* Effects of template removal on both morphology of mesoporous silica-coated gold nanorod and its biomedical application. *RSC Adv.* **4**, 28683–28690 (2014).
 68. Varache, M. *et al.* Loading of Cisplatin into Mesoporous Silica Nanoparticles: Effect of Surface Functionalization. *Langmuir* **35**, 8984–8995 (2019).