

**Micelas Inversas como Nanoreactores para la Síntesis de Nanopartículas Tipo *Core-Shell***

**SiO<sub>2</sub>@Au**

**Karen Loraine Rincón Granados**

**Trabajo de Grado para Optar Por El Título de Química**

**Director**

**Fernando Martínez Ortega**

**Doctor En Química**

**Co-Director**

**Diana Blach Vargas**

**Doctora En Química**

**Universidad Industrial de Santander**

**Facultad de Ciencias**

**Escuela de Química**

**Bucaramanga**

**2017**

*Yo soy de los que piensan que la ciencia tiene una gran belleza. Un científico en su laboratorio no es sólo un técnico, también es un niño colocado ante fenómenos naturales que lo impresionan como un cuento de hadas.*

*Marie Curie*

## AGRADECIMIENTOS

Al ultimar mis estudios de pregrado reconozco que es un trabajo que no sólo es fruto del esfuerzo personal sino que conlleva el apoyo de muchas otras personas, tanto en lo profesional como en lo personal, por esta razón con estas líneas deseo mostrar mi agradecimiento a todas ellas:

A Dios por su amor infinito demostrado al brindarme la salud y vida para llevar a cabo con pasión mi carrera profesional, por darme la fortaleza necesaria en los momentos difíciles y no decaer hasta lograr mis sueños.

A mi mamá quien ha sido el motor de mi vida y ha hecho todo para que yo haga realidad mis sueños, gracias por su absoluto amor y apoyo, por brindarme las palabras cálidas en los momentos difíciles, y por confiar y creer en mí siempre.

A toda mi familia por acompañarme y apoyarme siempre, en especial a mi abuela materna por ser otra mamá a lo largo de mi vida, por su apoyo y entera confianza en mí, por todos sus consentimientos llenos de amor que han alegrado mi corazón cuando estuvo desolado, gracias por ser mi ángel en la tierra.

A mi director, el Dr. Fernando Martínez y a mi co-directora la Dr. Diana Blach por contribuir en mi formación profesional, por sus aportes, ideas, tiempo, paciencia y dedicación que me brindaron a lo largo de mi tesis, y por darme la oportunidad de desarrollar una tesis acompañada de tan valioso talento.

A mi grupo de Investigación el centro de investigaciones en Catálisis (CICAT), del cual obtuve herramientas valiosas para poder realizar mi trabajo de investigación, al laboratorio de

Bioquímica molecular y su directora la Dr. Stelia Méndez por el acompañamiento y el espacio de sus instalaciones.

A los Proyectos 1782 y 1819 de la Universidad Industrial de Santander con los cuales se financió mi investigación, y a Colciencias por su programa es tiempo de volver. Al parque tecnológico Guatiguará UIS y todo su personal por el acompañamiento e instalaciones brindadas.

A todos mis compañeros de laboratorio que compartieron conmigo durante el proceso de mi tesis, por su apoyo de cualquier modo, y por las enseñanzas que me brindaron.

A la Universidad Industrial de Santander por darme la oportunidad de formarme como Química, a la Escuela de Química, profesores y personal no docente que de una u otra forma contribuyeron para todo mi proceso de formación.

A todas las personas que de cualquier modo en mi vida aportaron su granito de arena para llegar a culminar tan anhelado sueño.

¡Muchas Gracias!

## TABLA DE CONTENIDO

Introducción .....	16
1. Planteamiento del problema.....	18
2. Objetivos .....	20
2.1 Objetivo general.....	20
2.2 Objetivos específicos .....	20
3. Justificación .....	21
4. Estado del arte.....	22
5. Marco Teórico.....	26
5.1 Nanotecnología, y nanomateriales .....	26
5.2 Tipos de nanopartículas (NP).....	28
5.3 Tipos de NP core-shell.....	29
5.4 Métodos de síntesis de NP tipo core-shell .....	30
5.6 Funcionalización de las NP core-shell.....	34
5.7 Técnicas de caracterización .....	35
5.8 Efectos fototérmicos de las NP .....	37
6. Metodología .....	38
6.1 Reactivos, materiales y equipos .....	38
6.2 Síntesis de NP de óxido de silicio (core) - SiO <sub>2</sub> NP .....	39

6.3 Síntesis de NP de oro - AuNP.....	41
6.4 Síntesis de NP tipo core-shell - SiO <sub>2</sub> @AuNP.....	42
6.5 Funcionalización de las SiO <sub>2</sub> @AuNP con ácido fólico - SiO <sub>2</sub> @AuNP A.F. ....	44
6.6 Evaluación de la respuesta térmica de las NP en solución .....	46
6.7 Ensayos Biológicos.....	46
7. Resultados y Análisis.....	47
7.1 Síntesis y caracterización de las SiO <sub>2</sub> NP, SiO <sub>2</sub> NP (core), AuNP, SiO <sub>2</sub> @AuNP.....	47
7.2 Funcionalización con AF de las SiO <sub>2</sub> @AuNP.....	71
7.3 Citotoxicidad en células tipo HeLa de las SiO <sub>2</sub> NP (core) y SiO <sub>2</sub> @AuNP .....	81
8. Conclusión .....	84
9. Recomendaciones .....	85
Referencias bibliográficas.....	87
Apéndices.....	99

**LISTA DE TABLAS**

Tabla 1. Tamaños Hidrodinámicos ( $D_{app}$ ) de SiO <sub>2</sub> NP obtenidos mediante DLS para las relaciones molares [NH <sub>4</sub> OH]/[TEOS] de: a.) 8,5 b.) 4,5 c.) 3,0. ....	50
Tabla 2. Tamaños Hidrodinámicos ( $D_{app}$ ) obténidos mediante DLS de: a.) SiO <sub>2</sub> NP b.) SiO <sub>2</sub> NP (core). ....	55
Tabla 3. Tamaños hidrodinámicos de AuNP sintetizadas en micelas inversas de AOT/n-heptano 0,1M con un $w_0=2$ , HAuCl <sub>4</sub> 0,1 M y agente reductor N <sub>2</sub> H <sub>4</sub> 0,6M. ....	60
Tabla 4. Energías de enlace [eV] obtenidas mediante XPS con carga referenciada al pico de contaminación C1s a 284,8 eV para las SiO <sub>2</sub> @AuNP y SiO <sub>2</sub> @AuNP con AF. ....	79

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representación de una micela inversa formada por el surfactante AOT y sus respectivas fases.....	32
Figura 2. Espectros RPS de SiO <sub>2</sub> @AuNP como una función del grosor de la shell. ....	33
Figura 3. Esquema general de síntesis de SiO <sub>2</sub> NP.....	40
Figura 4. Esquema general de síntesis de SiO <sub>2</sub> NP con modificaciones en la superficie mediante grupos aminos dados por el APTES. ....	41
Figura 5. Esquema general de síntesis de AuNP. ....	42
Figura 6. Esquema general de síntesis de SiO <sub>2</sub> @AuNP vía MI. ....	43
Figura 7. Esquema general de síntesis de SiO <sub>2</sub> @AuNP vía MII.....	44
Figura 8. Esquema general de transferencia de fase y funcionalización con AF de las NP. ....	45
Figura 9. Relación entre el diámetro aparente [nm] y la relación molar [NH <sub>4</sub> OH]/[TEOS] para un sistema AOT/n-heptano de: a.) 0,1 M y b.)0,05 M.....	48
Figura 10. Espectro FT-IR desde 1300 hasta 950 cm <sup>-1</sup> de:(-)SiO <sub>2</sub> NP sintetizadas a una relación [NH <sub>4</sub> OH]/[TEOS]=6,5 y w=10 con D <sub>app</sub> =60±0,8 nm, (-) SiO <sub>2</sub> NP sintetizadas a una relación [NH <sub>4</sub> OH]/[TEOS]=0,7 y w=5 con D <sub>app</sub> =3,5±0,3nm, (-) TEOS en AOT/n-heptano, (-) NH <sub>4</sub> OH en AOT/n-heptano y (-) Sistema micelar AOT/n-heptano. ....	51
Figura 11. Micrografías SEM de SiO <sub>2</sub> NP sintetizadas en un sistema AOT/n-heptano 0,1 M con relaciones molares NH <sub>4</sub> OH]/[TEOS] de: a) 8,5 b) 4,5 y c) 3,0, con su correspondiente histograma de distribución de tamaño. ....	54

- Figura 12. Espectro FT-IR desde 1300 hasta 900 cm<sup>-1</sup> de: SiO<sub>2</sub>NP y SiO<sub>2</sub>NP (core) sintetizadas a una relación [NH<sub>4</sub>OH]/[TEOS]=9,5 y w=6 con D<sub>app</sub>=172±6 nm y 198±67 nm, respectivamente, y del APTES. .... 56
- Figura 13. Micrografías de SiO<sub>2</sub>NP (core) sintetizadas a una relación [NH<sub>4</sub>OH]/[TEOS]=9,5 y w=6: a.) Micrografías SEM b.) Micrografías TEM..... 57
- Figura 14. Cinética de formación de las AuNP sintetizadas en micelas inversas de AOT/n-heptano 0,1M con un w=2, HAuCl<sub>4</sub> 0,1 M y agente reductor N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 0,6M..... 58
- Figura 15. Espectro LPSR de AuNP sintetizadas en micelas inversas de AOT/n-heptano 0,1M con un w=2, HAuCl<sub>4</sub> 0,1 M y agente reductor N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 0,6M, y a la derecha fotografía de la apariencia física de la solución de las AuNP. .... 59
- Figura 16. Micrografías TEM de AuNP sintetizadas en micelas inversas de AOT/n-heptano 0,1M con un w=2, HAuCl<sub>4</sub> 0,1 M y agente reductor N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 0,6M, y su respectiva distribución de tamaño. .... 61
- Figura 17. Cinética de formación de: a.) SiO<sub>2</sub>@AuNP sintetizadas vía MII (Desde 2 min hasta 60 min de reacción) b.) SiO<sub>2</sub>@AuNP sintetizadas vía MII-I (desde 10 s hasta 60 s de reacción)..... 62
- Figura 18. Espectro RPS para SiO<sub>2</sub>@AuNP vía MI, MII, y MII-I sintetizadas empleando micelas inversas de AOT/n-heptano 0,1 M, HAuCl<sub>4</sub> 0,1 M y agente reductor N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 0,6M. En la parte inferior las fotografías de la apariencia física de la solución de SiO<sub>2</sub>@AuNP para: a.) MI b.) MII c.) MII-I..... 64
- Figura 19. Micrografías TEM y su correspondiente distribución de tamaño de SiO<sub>2</sub>@AuNP sintetizadas empleando micelas inversas de AOT/n-heptano 0,1 M, HAuCl<sub>4</sub> 0,1 M y agente reductor N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 0,6M vía: a.) MI b.) MII c.) MII-I..... 67

Figura 20. Respuestas térmicas evaluadas en medio orgánico AOT/n-heptano para: (◉) AuNP, (◉) SiO <sub>2</sub> NP (core), (◉) SiO <sub>2</sub> @AuNP vía MI (◉) SiO <sub>2</sub> @AuNP vía MII (◉) SiO <sub>2</sub> @AuNP vía MIII y (◉) el sistema micelar AOT/n-heptano, empleando un láser de 808 nm y 400mW. ....	68
Figura 21. Respuestas térmicas evaluadas en medio celular EMEM con SFB al 10% para: (◉) SiO <sub>2</sub> NP (core), (◉) SiO <sub>2</sub> @AuNP vía MII y (◉) Medio celular EMEM con SFB al 10%, a una potencia de a.) 400 mW. y b.) 800 mW, con un láser de 808 nm. ....	69
Figura 22. Espectro de absorción UV-Vis del ácido fólico (AF) a una concentración de 1*10 <sup>-3</sup> M en medio básico acuoso. ....	72
Figura 23. Espectros de fluorescencia desde 300 a 550 nm de: (◉) AF, (◉) SiO <sub>2</sub> NP y (◉) SiO <sub>2</sub> @AuNP vía MII para a.) λ <sub>ext</sub> =280 nm b.) λ <sub>ext</sub> =364 nm.....	73
Figura 24. Espectro FT-IR de: AF, SiO <sub>2</sub> @AuNP vía MII funcionalizadas con AF, y SiO <sub>2</sub> @AuNP vía MII sin AF.....	75
Figura 25. Estructura molecular del ácido fólico (AF) y sus respectivas zonas de interacción con las SiO <sub>2</sub> @AuNP.....	76
Figura 26. Espectros XPS (- Envolvente, - - - componentes) lado izquierdo SiO <sub>2</sub> @AuNP y lado derecho SiO <sub>2</sub> @AuNP con AF para: a.) O 1s b.) N 1s c.) Au 4f .....	78
Figura 27. Viabilidad celular en células tipo HeLa evaluando: a.) SiO <sub>2</sub> NP (core) sin y con funcionalización de AF a 2500, 1250 y 250 μM. y b.) SiO <sub>2</sub> @AuNP sin y con funcionalización de AF a 450, 225, y 45 μM.....	82

## LISTA DE APÉNDICES

Apéndice A. Espectro UV-Vis de las SiO <sub>2</sub> NP (core) sintetizadas a una relación [NH <sub>4</sub> OH]/[TEOS]=9,5 y w=6 con D <sub>app</sub> =198±67 nm. A la derecha fotografía de la apariencia física de la solución de las SiO <sub>2</sub> NP (core). .....	99
Apéndice B. Micrografía TEM de la no formación de SiO <sub>2</sub> @AuNP por falta de la funcionalización de APTES en las SiO <sub>2</sub> NP. ....	100
Apéndice C. Montaje experimental para la evaluación de respuesta térmica de las NP en solución. ....	100
Apéndice D. Modulación espectro vibracional IR mediante GaussView 5.0.8 del APTES, algunos modos de vibración son mostrados y la molécula con la cual se desarrolló la modulación. Se resalta la señal a 1061 cm <sup>-1</sup> perteneciente a la vibración Si-OCH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> . ....	101
Apéndice E. Espectro de fluorescencia de SiO <sub>2</sub> @AuNP funcionalizadas con AF (λ <sub>ext.</sub> 280 nm) .....	102
Apéndice F. Espectros XPS (- Envolvente, - - - componentes) lado izquierdo SiO <sub>2</sub> @AuNP y lado derecho SiO <sub>2</sub> @AuNP con AF para: a.) C 1s b.) Si 2p c.) Na 1s c.) S 2p. ....	103

## RESUMEN

**TÍTULO:** Micelas Inversas como Nanoreactores para la Síntesis de Nanopartículas Tipo *Core-Shell* SiO<sub>2</sub>@Au\*.

**AUTORA:** Karen Loraine Rincón Granados\*\*

**PALABRAS CLAVES:** Nanopartículas, *core-shell*, SiO<sub>2</sub>@Au, micelas inversas, efecto fototérmico.

### DESCRIPCIÓN:

Las nanopartículas (NP) metálicas poseen propiedades intrínsecas a su tamaño y forma, una de estas propiedades con mayor proyección en biomedicina es el efecto fototérmico generado mediante la interacción de las NP con la radiación electromagnética emitiendo calor localizado. Actualmente, la nanotecnología busca métodos que permitan la generación de nanomateriales eficientes en procesos puntuales como la repuesta térmica. Se ha sugerido el uso de micelas inversas (MIs) como nanoreactores, los cuales son una promisoriosa estrategia de síntesis, que permite obtener NP con características fisicoquímicas específicas.

En este sentido, se sintetizaron NP *core-shell* SiO<sub>2</sub>@Au empleando MIs de H<sub>2</sub>O/dioctilsulfosuccinato de sodio (AOT)/n-Heptano 0,1 M como nanoreactores para la síntesis de NP de óxido de silicio (SiO<sub>2</sub>NP) (*core*) y NP de oro (AuNP) (*shell*). Dos metodologías fueron evaluadas para la formación de SiO<sub>2</sub>@AuNP. En la metodología I (MI), SiO<sub>2</sub>NP y AuNP fueron sintetizadas por separado y unidas posteriormente, y en la metodología II (MII), sobre SiO<sub>2</sub>NP sintetizadas se realizó la deposición *insitu* de oro. Los resultados mostraron la eficiencia de los sistemas nanoheterogéneos (MIs) para llevar a cabo la síntesis de SiO<sub>2</sub>@AuNP, con un control del tamaño, y deposición de la *shell* y ventajas como la preparación en condiciones de temperatura ambiente y presión atmosférica.

Así mismo, se encontró que MII es más eficiente para la obtención de SiO<sub>2</sub>@AuNP con características idóneas para su aplicación en terapia fototérmica, Adicionalmente, se observó que dependiendo de las concentraciones de oro empleadas en la metodología MII se pudo controlar el desplazamiento batocrómico de la resonancia del plasmón superficial (RPS) de las SiO<sub>2</sub>@AuNP mejorando su respuesta térmica a la irradiación con luz láser cercana al infrarrojo. Se evaluó la citotoxicidad de los nanocompuestos obtenidos y se encontró que estos presentan poca citotoxicidad en células cancerosas tipo HeLa, convirtiéndolos en prometedores compuestos para el tratamiento del cáncer.

---

\* Trabajo de Grado

\*\* Facultad de Ciencias Básicas. Escuela de Química. Director: Fernando Martínez Ortega, doctor en Química. Co-Director: Diana Blach Vargas, doctora en Química.

**ABSTRACT**

**TITLE:** Inverse Micelles as Nanoreactors for the Synthesis of Type core-shell Nanoparticles SiO<sub>2</sub>@Au \*.

**AUTHOR:** Karen Loraine Rincón Granados\*\*

**KEYWORDS:** Nanoparticles, *core-shell*, SiO<sub>2</sub>@Au, inverse micelles, photothermal effect.

**DESCRIPTION:**

The metallic nanoparticles (NP) possess intrinsic properties to its size and shape, one of these properties with greater projection in biomedicine is the photothermal effect generated by the interaction of the NP with the electromagnetic radiation emitting localized heat. Currently, nanotechnology looks for methods that allow the generation of efficient nanomaterials in specific processes like the thermal response. It has been suggested the use of inverse micelles (IMs) as nanoreactors, which are a promising synthetic strategy, which allows to obtain NP with specific physicochemical characteristics.

In this sense, core-shell SiO<sub>2</sub>@AuNP were synthesized using IMs of H<sub>2</sub>O/dioctyl sulfosuccinate sodium (AOT)/n-heptane 0.1 M as nanoreactors for the synthesis of silicon oxide NP (SiO<sub>2</sub>NP) (core) and Golden NP (AuNP) (shell). Two methodologies for the formation of SiO<sub>2</sub>@AuNP were evaluated. In the methodology I (MI), the SiO<sub>2</sub>NP and AuNP were separately synthesized and subsequently joined, and in Methodology II (MII), in the synthesized SiO<sub>2</sub>NP, gold deposition was performed. The results showed the efficiency of the nanoheterogeneous systems (IMs) to carry out the synthesis of SiO<sub>2</sub>@AuNP, with a control of size, shell deposition and advantages such as preparation under conditions of ambient temperature and atmospheric pressure.

Likewise, it was found that MII is more efficient to obtain SiO<sub>2</sub>@AuNP with characteristics suitable for its application in photothermal therapy. In addition, it was observed that depending on the gold concentrations used in the MII methodology, the bathochromic shift of the surface plasmon resonance (SPR) of the SiO<sub>2</sub>@AuNP improves their thermal response to irradiation with near-infrared laser light. The cytotoxicity of the nanocomposites obtained was evaluated and found to have little cytotoxicity in type HeLa cancer cells, making them promising compounds for the treatment of cancer.

---

\* Bachelor Thesis

\*\* Facultad de Ciencias Básicas. Escuela de Química. Director: Fernando Martínez Ortega, doctor in Chemistry. Co-Director: Diana Blach Vargas, doctor in Chemistry.

## Introducción

En los últimos años, el avance en el desarrollo de materiales elaborados por medio de la nanotecnología ha mostrado un asombroso crecimiento. Diferentes tipos de NP metálicas han despertado gran interés en la biomedicina, donde se ha descrito su utilización en tratamientos frente al cáncer aprovechando las propiedades intrínsecas de éstas, como lo es la resonancia del plasmón superficial (RPS), que permite la interacción de las NP con la radiación electromagnética, aprovechando ésta para disiparla en calor, dando lugar a un efecto fototérmico, que puede ser utilizado para la muerte selectiva de las células cancerosas. (Bardhan, Lal, Joshi, & Halas, 2011; Huang, El-Sayed, Qian, & El-Sayed, 2006; Qian et al., 2008). Crear nuevas alternativas para el tratamiento del cáncer, se ha convertido en un desafío que implica citocompatibilidad y selectividad, a fin de minimizar las consecuencias adversas que pueden traer las terapias convencionales. La selectividad celular puede tratarse con moléculas biológicas que además permitan aumentar la citocompatibilidad, a esto se le denomina funcionalización. Una de las moléculas biológicas que ha abierto la posibilidad a mejorar dichas propiedades es el ácido fólico (AF), debido a que líneas celulares como las HeLa (cáncer de cuello uterino) sobreexpresan receptores folato, y el AF presenta gran afinidad por estos, potencializando el uso de estas NP en la nanomedicina (Sega & Low, 2008).

Por tanto, abriendo campo a este uso biológico, las NP tipo *core-shell* han mostrado grandes ventajas sobre las NP simples, ya que han conducido a la mejora de propiedades tales como: menor citotoxicidad, citocompatibilidad, mejor conjugación con otras moléculas bioactivas,

aumento de la estabilidad térmica y química, entre otras. (Law et al., 2008; Nagarajan & Yong, 2008). Actualmente, existen diversos métodos de síntesis para obtener NP tipo *core-shell* entre los cuales se encuentran los sistemas confinados como las micelas inversas (MIs), que son sistemas supramoleculares formados por moléculas de surfactante (anfifílicas), permitiendo obtener sistemas que funcionen como nanoreactores para diferentes procesos sintéticos, entre ellos la síntesis de NP. Los sistemas de MIs se han utilizado para producir algunas NP metálicas y semiconductoras como FeNP, CoNP, NiNP, AuNP, CdSNP, ZnSNP, y NP de aleación (*alloy*) como Pt-Cu, por lo tanto, se puede usar un procedimiento de MIs para preparar NP con una estructura núcleo/envoltura o *core-shell*, como Fe@Au, Ni@Au, Ag@SiO<sub>2</sub>, y CdS@SiO<sub>2</sub> (D. Chen et al., 2009).

En este sentido, en el presente trabajo se estudió el empleo de nanoreactores como medios de reacción para la síntesis de las NP tipo *core-shell* SiO<sub>2</sub>@Au con el fin de mejorar las propiedades ópticas y fototérmicas de las AuNP. De esta manera, se emplearon MIs formadas por H<sub>2</sub>O/AOT/n-heptano, la deposición de la *shell* se realiza de forma controlada bajo condiciones de temperatura y presión ambientales. Posteriormente, se realiza una funcionalización de las SiO<sub>2</sub>@AuNP con AF para permitir la internalización selectiva en las células tipo HeLa por endocitosis mediada por receptor de folato.

## 1. Planteamiento del problema

Los métodos más comunes que actualmente se emplean para tratar el cáncer son: la quimioterapia y radioterapia, pero éstos poseen inconvenientes, debido a, su poca selectividad causando daño a los tejidos sanos, además, ocasionando efectos adversos en las personas. La nanomedicina ha realizado avances para implementar las NP en terapias fototérmicas contra el cáncer, sin embargo, la naturaleza, el tamaño y la forma de éstas, son parámetros fundamentales en las células. Conjunto a esto, la eficiencia térmica, y el tipo de radiación que absorban las NP para luego liberar la energía en forma de calor, se convierte en un parámetro trascendental. Para tratamientos fototérmicos eficaces y selectivos se requieren NP que pueden ser ópticamente excitadas con luz situada en las ventanas biológicas; es decir, a longitudes de onda superiores de 700 nm. Se ha encontrado que el aumento del tamaño de nanoesferas metálicas individuales de oro permite realizar un ajuste de la resonancia del plasmón superficial (RPS) en el visible (hasta aproximadamente 600 nm), pero no en el rango espectral NIR (Maestro et al., 2014). La síntesis de NP *core-shell* podrían ayudar a desplazar el RPS hacia zonas del NIR, sin embargo, las metodologías tradicionales para la síntesis de NP tienen problemas y presentan condiciones de reacción tediosas, como: preparación a altas temperaturas, atmosfera inerte de nitrógeno, agitaciones vigorosas, altas cantidades de reactivos, tiempos de síntesis muy largos, poco control en el tamaño de la NP, morfología, costo, entre otras (Granmayeh Rad, Abbasi, & Afzali, 2011; Hirsch et al., 2003; Nikabadi, Shahtahmasebi, Rokn-Abadi, Mohagheghi, & Goharshadi, 2013; Scharl, 2010). Adicionalmente, la estabilidad de las NP es un factor muy importante, en el caso de los métodos tradicionales generalmente se obtienen mezclas de tamaños de micras que deben ser separados para garantizar la exclusividad del tamaño,

además, generándose un problema de agregación de las NP, en el caso de las aplicaciones biológicas, la agregación de las NP podría presentar efectos secundarios graves en la salud. Otro aspecto que se debe considerar de las NP tipo *core-shell*, es el grosor de la *shell*, ya que éste determinará propiedades puntuales de las NP (Nikabadi et al., 2013), por ende, los métodos que favorezcan la homogeneidad y el tamaño del grosor de la *shell* controlable prevalecen; en los métodos tradicionales este factor puede llegar a ser poco controlable.

Por tanto, se propone la síntesis de NP tipo *core-shell* SiO<sub>2</sub>@Au mediante el uso de micelas inversas (MIs) como nanoreactores que permitan modular el tamaño del *core* (SiO<sub>2</sub>) y de la *shell* (Au) a fin de mejorar las propiedades de estas NP, adicionalmente, realizar una funcionalización con AF con el fin de evitar problemas de citotoxicidad, así mismo crear una selectividad hacia las células cancerosas HeLa teniendo en cuenta la sobreexpresión de receptores de folato en estas. (Shen, 2011; Shukla et al., 2008).

## 2. Objetivos

### 2.1 Objetivo general

Emplear micelas inversas como nanoreactores para la síntesis de nanopartículas de tipo *core-shell* SiO<sub>2</sub>@Au con respuesta térmica a la irradiación de infrarrojo cercano (NIR).

### 2.2 Objetivos específicos

✚ Evaluar la relación molar de los precursores (TEOS, y NH<sub>4</sub>OH) en la síntesis de las nanopartículas que conforman el *core* de SiO<sub>2</sub>.

✚ Sintetizar el *core* de SiO<sub>2</sub>, la *shell* de Au y las nanopartículas *core-shell* empleando micelas inversas de H<sub>2</sub>O/AOT/n-heptano como nanoreactores.

✚ Caracterizar el *core* de SiO<sub>2</sub>, la *shell* de Au y las nanopartículas *core-shell* de SiO<sub>2</sub>@Au mediante técnicas espectroscópicas (UV-Vis, fluorescencia), microscópicas (SEM y TEM) y de dispersión dinámica de la luz (DLS).

✚ Funcionalizar las nanopartículas *core-shell* de SiO<sub>2</sub>@Au con ácido fólico.

- ✚ Caracterizar las SiO<sub>2</sub>@AuNP funcionalizadas con ácido fólico mediante la espectroscopia fotoelectrónica de Rayos X (XPS).

- ✚ Evaluar el efecto térmico de soluciones de nanopartículas *core-shell* de SiO<sub>2</sub>@Au al ser irradiadas con radiación NIR.

- ✚ Evaluar la citotoxicidad de las NP SiO<sub>2</sub>@Au en células tipo HeLa.

### 3. Justificación

El método de síntesis por micelas inversas (MIs) ofrece mejoras frente a los métodos tradicionales, puesto que, posee mayor control del tamaño, distribución y la forma de las NP, en el caso de NP tipo *core-shell* se puede lograr una cubierta homogénea controlando el grosor de la *shell*, y una distribución de tamaño adecuada para las NP que hacen parte del *core*, adicionalmente las moléculas del surfactante ayudan a la estabilización de las NP, evitando la aglomeración de éstas. El uso de nanoreactores como las MIs permiten ventajas como: la reducción de algunos costos, condiciones de temperatura ambiente y presión atmosférica, tiempos de reacción cortos, cantidades bajas de reactivos, entre otras (Guerrero-Martínez, Pérez-Juste, & Liz-Marzán, 2010; Subramanian Tamil Selvan, 2010; S. T Selvan, Tan, & Ying, 2005), dichas ventajas aportan facilidades y comodidades en la preparación de las NP, lo cual se hace más eficiente frente a los métodos tradicionales.

En este sentido, en el presente trabajo de grado se realiza la síntesis de NP tipo *core-shell* SiO<sub>2</sub>@Au mediante el uso de MIs que permitan modular el tamaño del *core* (SiO<sub>2</sub>) y la deposición de la *shell* (Au), lo cual conlleva a propiedades ópticas y fototérmicas mejoradas al ser irradiadas con radiación perteneciente al infrarrojo cercano (NIR), adicionalmente, se otorga una selectividad inducida por la funcionalización de la superficie de las SiO<sub>2</sub>@AuNP con ácido fólico (AF) facilitando también el ingreso celular y disminución de efectos citotóxicos. El emplear el oro en la *shell*, permite una gran biocompatibilidad y baja toxicidad de las NP en el organismo. Además, el desplazamiento del RPS hacia zonas en el NIR abre la posibilidad a ser empleadas en terapias fototérmicas para tratamiento del cáncer, siendo útil la absorción del RPS en zonas de las ventanas biológicas, puesto que, se reduce el calentamiento no selectivo de tejido sano, daños por radiación fuerte y al mismo tiempo permite tratamientos en tejidos profundos (Loo et al., 2004). Por tanto, el desplazamiento que se puede lograr con las NP tipo *core-shell* SiO<sub>2</sub>@Au sintetizadas mediante nanoreactores abre campo a su uso en aplicaciones biológicas.

#### 4. Estado del arte

La aplicación de calor para el tratamiento del cáncer no es nueva y ha sido utilizada desde 1900 (Glazer & Curley, 2011), sin embargo, la nanomedicina permite la generación de calor por parte de NP al interactuar con radiación electromagnética, este proceso es diferente al proceso de hipertermia tradicional donde el calor se genera externamente por fuentes de microondas o ultrasonido, puesto que, el calor generado a partir de las NP se produce alrededor de estas y puede

elevant la temperatura significativamente en pocos segundos, en consecuencia, se puede utilizar este efecto fototérmico como una terapia alternativa contra el cáncer para dañar o destruir células y tejidos cancerosos mediante calor localizado (Koshima, Ojima, & Uchimoto, 2009). El primer ejemplo de la terapia fototérmica de NP mediadas por el oro se informó por (Hirsch et al., 2003) empleando NP tipo *core-shell* SiO<sub>2</sub>@Au que consistían en núcleos (*core*) de sílice de 110 nm rodeados de NP de oro con un grosor de 10 nm (*shell*), sintetizadas por métodos tradicionales de dos etapas (método de Stöber y el método de Duff y Baiker), y funcionalizadas con el glicol de polietileno (PEG) que a menudo se utiliza para minimizar la agregación de nanopartículas y para aumentar la circulación en la sangre y su vida media de permanencia. Estas NP *core-shell* mostraron un RPS a 820 nm, haciéndolo coincidir a la longitud de onda de emisión de un láser de diodo; se observó in vitro la destrucción fototérmica localizada de las células de carcinoma; la coloración con plata de las células reveló que densidades altas de NP *core-shell* se unían a las células, y en la exposición de láser con una fluencia de 35 W/cm<sup>2</sup> durante 7 minutos, ocurrió la muerte celular, que se evidencio en las imágenes de microscopía de fluorescencia; comprobando finalmente que la exposición de las células a cualquiera de éstas NP con luz NIR de forma individual compromete la viabilidad celular. Sin embargo, en 1998, ya se habían sintetizado NP tipo *core-shell* SiO<sub>2</sub>@Au mediante el método de Stöber por (Oldenburg, Averitt, Westcott, & Halas, 1998) donde concluyeron que dichas NP, poseen una respuesta en la resonancia óptica, la cual es dependiente de las dimensiones de su *core* dieléctrico y su *shell* metálica, y esto daría lugar a materiales con funcionalidades ópticas únicas, en regiones del espectro electromagnético donde pueden existir materiales apropiados con diferentes aplicaciones.

La versátil aplicación de las NP de tipo *core-shell* ha motivado el desarrollo de diversos métodos de preparación. Para la síntesis de dicho tipo de NP (Chung, Lee, Kim, & Lee, 2011)

sintetizaron NP de SiO<sub>2</sub>@CeO<sub>2</sub> por el método de MIs, iniciando con la precipitación de las NP del *core* de sílice en una micela con tetraetilortosilicato (TEOS), y posteriormente, la deposición de la superficie de óxido de cerio sobre el *core* de NP de sílice dispersas en la micela; además, se promovió la precipitación en superficie de las partículas de óxido de cerio, con una modificación a la superficie empleando 3-aminopropiltriethoxisilano (APTES), empleando como surfactantes: dioctilsulfosuccinato de sodio (AOT) y Polioxietileno (5) nonilfenilo éter (NP-5), en fase continua de n-heptano. La mezcla de dichos surfactantes empleados, promovió el crecimiento de las SiO<sub>2</sub>NP, puesto que, el papel del co-surfactante (NP-5) aumentó tanto la flexibilidad interfacial de la micela, así como la interacción intermicelar en la microemulsión.

Por otro lado, (Nikabadi et al., 2013) sintetizaron NP SiO<sub>2</sub>@Au en este caso mediante el método de reducción química de cloruro de oro en cloruro de tetrahidroximetil fosfonio (THPC) y funcionalizando el *core* de SiO<sub>2</sub> con APTES; estos autores encontraron que la posición del PSR depende de los tamaños de las AuNP de la *shell*, cambiando el tamaño de las AuNP sobre la superficie del *core* asociado al grosor de la *shell*, es posible diseñar un material con las propiedades ópticas modificables.

Por otra parte (Ayala-Orozco et al., 2014) sintetizaron SiO<sub>2</sub>@AuNP, y NP multicapas (*nanomatryoshkas*) de Au@SiO<sub>2</sub>@Au mediante métodos tradicionales, observando que las *nanoshell* son una muy buena y prometedora alternativa para las terapias fototérmicas, pero las NP *nanomatryoshkas* podrían presentar propiedades mejoradas, como mayor eficiencia térmica, aunque poseen dificultades en el proceso de formación de la última capa de oro por la poca funcionalización de los grupo amino del APTES en la capa de SiO<sub>2</sub> ya fijada al oro. Otros investigadores (Haifei Wang et al., 2015) sintetizaron PS@AuNP, retirando el PS (Poliestireno) mediante calentamiento en DMF (N,N-dimetilformamida), obteniendo NP huecas, en formas de

nanocajas y nanoesferas; observando que presentan una propiedad óptica especial en el NIR, y pueden convertir la radiación del láser de 808 nm en calor, sin embargo, las nanocajas muestran un mayor aumento de la temperatura a la misma concentración de NP. Siguiendo en el ámbito de las NP *core-shell*, (Jeong, Joo, & Kim, 2015) sintetizaron Au@SiO<sub>2</sub>NP por el método de microemulsión en una sola etapa mezclando ciclohexano y una solución acuosa de Ácido tetracloroáurico (HAuCl<sub>4</sub>) en la presencia de un surfactante no iónico Triton X-100 en 1-hexanol, el procedimiento consiste en la adición sucesiva de borohidruro de sodio (NaBH<sub>4</sub>), hidróxido de amonio (NH<sub>4</sub>OH) y TEOS a dicha microemulsión, concluyendo que, el recubrimiento de SiO<sub>2</sub> otorga estabilidad a las AuNP, lo que abre puertas para otras aplicaciones como la catálisis. (R.-J. Chen et al., 2016) hicieron la síntesis de NP *core-shell* empleando MIs, y como *core* la tetraquis pentafluorofenil-21H, 23H-porfina (PF<sub>6</sub>) y Au como *shell*, usando los agentes surfactantes bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB), y poli (N-N-vinilcaprolactama-co-N-vinilimidazol)-g-poli (P (VCL-Covim)-g-PLA); Las PF<sub>6</sub>@AuNP son estructuras estables con actividad fotocatalítica mejorada debido a la propiedad fotoactivadora de la PF<sub>6</sub>, que se emplea como un fotosensibilizador para promover el efecto fototérmico. En sus ensayos con células A549 de carcinoma pulmonar se observó que la temperatura aumentó rápidamente con iluminaciones estables de una lámpara halógena de 300 W y, después de 40 minutos de tratamiento, la temperatura se mantiene constante a 42 °C, concluyendo que las PF<sub>6</sub>@AuNP, presenta una buena respuesta fototérmica y pueden considerarse compuestos potencia para la terapia fotodinámica para el tratamiento de células de cáncer.

En el campo de la funcionalización, (Li, Li, Zhang, Zhai, & Wang, 2009) trabajaron con AuNP funcionalizadas con ácido fólico (AF), sugiriendo que el AF en la superficie de éstas facilita la captación por las células HeLa, por medio de endocitosis mediada por receptores folatos. Por

otro lado, (Zhang et al., 2010) modificaron la superficie de AuNP con el tripéptido glutatión que tiene grupos carboxilo, para que posteriormente se conjugara con el ácido fólico (AF) a través de la reacción entre el grupo amino de AF y el grupo carboxilo de glutatión. Estas NP conjugadas con ácido fólico presentaron estabilidad en solución acuosa y mediante la microscopía electrónica de transmisión (TEM) y la microscopía confocal de barrido láser (CLSM) confirmaron la orientación de dichas NP en células humanas de carcinoma cervical (HeLa) con una expresión de alto nivel de receptor de folato, adicionalmente, no se observó captación celular de estas NP en células A549 que carecen de receptor de folato, por tanto el uso de estas NP conjugadas con AF, abre la posibilidad a ser empleadas tanto en diagnóstico como en terapias del cáncer.

En general, las NP de tipo *core-shell* pueden ser herramientas ventajosas de investigación para aplicaciones útiles en diversos campos, y especialmente en el área de la nanomedicina.

## 5. Marco Teórico

### 5.1 Nanotecnología, y nanomateriales

La nanotecnología es una rama de la ciencia multidisciplinar que manipula la materia a escala nanométrica abarcando numerosos y diversos campos de la ciencia y la tecnología, que van desde la biomédica, biotecnología, farmacéutica, agricultura, materiales avanzados, catálisis, electrónica, entre otras (Taylor et al., 2013). La síntesis, propiedades y aplicaciones de los materiales y

dispositivos nanométricos han contribuido enormemente a varios campos de la biomedicina como agentes de imagen, transporte de fármacos, herramientas de diagnóstico, u otros, aplicados a la salud humana junto con otras áreas (G. Liu, Swierczewska, Lee, & Chen, 2010). Desde hace pocas décadas, el inmenso potencial de las NP, especialmente en el campo de la nanomedicina, ha conducido a un amplio interés en el conocimiento de los objetos de tamaño nanométrico (Kharissova, Kharisov, Jimenez-Perez, Munoz Flores, & Ortiz Mendez, 2013).

Las NP se convierten en un punto de interés, debido a que poseen numerosas propiedades particulares como consecuencia de su tamaño (Poole & Owens, 2007). Por ejemplo, las NP poseen frecuentemente propiedades ópticas inesperadas en tanto sean lo suficientemente pequeñas para confinar sus electrones y producir efectos cuánticos. Por otro lado, las NP metálicas poseen una propiedad dependiente de su tamaño, forma y de la frecuencia de la radiación incidente, puesto que, al interactuar con la radiación electromagnética se logra que los electrones se muevan oscilando de forma colectiva en la superficie, dando lugar a lo que se denomina resonancia del plasmón superficial (RPS), la longitud de onda del RPS es característica de la forma, el tamaño y del tipo de material de la NP. (Domingo, 2010). Según (Francisco, Garcia, & Moreno, 2008) afirman que: “La luz superficial” que puede viajar por las superficies metálicas, es una onda más complicada que la luz normal, ya que no consiste sólo en un campo electromagnético, sino que involucra también los electrones libres presentes en los metales, y fue Rufus Ritichie quien descubrió estas ondas, o plasmones superficiales en los años cincuenta del pasado siglo (p.66).

## 5.2 Tipos de nanopartículas (NP)

Existen diversos tipos de NP de acuerdo al material que las componen, que pueden ser carbón, metales, polímeros, entre otros. Por otro lado, se pueden categorizar como simples o de tipo *core-shell* o compuestas. En general, las NP simples están hechas de un único material; mientras que, las NP de material compuesto o *core-shell*, se componen de dos o más materiales. Las NP de tipo *core-shell* están formadas por un núcleo (material interno - *core*) y una cubierta o cáscara (material de la capa exterior - *shell*). Las NP *core-shell* pueden consistir en una amplia gama de diferentes combinaciones en estrecha interacción. La elección del material de la cubierta y del núcleo de las NP depende generalmente en gran medida de la aplicación final (Bardhan et al., 2010; Hui Wang, Brandl, Nordlander, & Halas, 2007).

En aplicaciones biológicas las NP *core-shell* tienen importantes ventajas sobre las NP simples, tales como: menor citotoxicidad, aumento de la dispersabilidad, biocompatibilidad, mejor conjugación con otras moléculas bioactivas, una mayor estabilidad térmica y química, entre otras. De manera general, cuando las NP deseadas son tóxicas pueden causar muchos problemas para los tejidos del huésped, por tanto, el recubrimiento del núcleo con un material biocompatible hace que las NP sean menos tóxicas. En ocasiones, la cáscara o *shell* no sólo actúa como una capa no tóxica, sino también ayuda a mejorar las propiedades del material presente en el núcleo, por ejemplo, la hidrofilia de las NP, siendo ésta muy importante para dispersarlas en los sistemas biológicos, que en su gran mayoría son medios acuosos (Law et al., 2008; Nagarajan & Yong, 2008), no obstante, cabe mencionar que el *core* también puede aportar cambios en las propiedades de la *shell*.

Además, de las propiedades mejoradas en los nanomateriales tipo *core-shell*, éstos también son importantes desde el punto de vista económico, por ejemplo un material costoso se puede

depositar sobre un material barato reduciendo el consumo del material costoso frente a la preparación del mismo material puro. Las NP *core-shell* se utilizan también como un molde hueco para la preparación de otros compuestos después de eliminar las partículas del núcleo, ya sea, por disolución o calcinación. Las partículas nano y micro huecas se utilizan para diferentes fines tales como microvasos, soportes catalíticos (Priyanto, Sakanishi, Okuma, & Mochida, 2001), adsorbentes (Zhao et al., 1998), materiales estructurales ligeros (Wijnhoven & Vos, 1998), y aislantes térmicos y eléctricos (Zhu, Ma, Wang, Wu, & Peng, 2012).

### 5.3 Tipos de NP *core-shell*

Existen actualmente muchas variedades de NP tipo *core-shell* disponibles para una amplia gama de aplicaciones. De manera general, el núcleo (*core*) y la cubierta (*shell*) en una NP *core-shell* están hechos de materiales inorgánicos, orgánicos o una mezcla de ambos. Se intenta clasificar las NP *core-shell* en función de las propiedades de sus materiales en cuatro grupos principales: inorgánico/inorgánico; inorgánico/orgánico; orgánico/inorgánico; y orgánico/orgánico. Las NP del grupo inorgánico/inorgánico en general, tanto los núcleos y cubiertas son hechos de metales, óxidos de metal, otros compuestos inorgánicos, o sílice. En uso de los revestimientos de sílice tienen varias ventajas tales como: reducir la conductividad a granel y aumentar la estabilidad de la suspensión de las partículas del núcleo. Además, la sílice es un material químicamente inerte disponible; puede utilizarse para modular la posición y la intensidad de la banda del RPS en NP metálicas (Ghosh Chaudhuri & Paria, 2012).

Aparte de la sílice, el oro como material de corteza también ha sido estudiado por muchos investigadores (Pham, Kumar, & Jeong, 2010; L. Sun, Wang, & Wang, 2010). El revestimiento de

oro en las NP mejora muchas de sus propiedades físicas, tales como la estabilidad química mediante la protección del material de núcleo de la oxidación y la corrosión, la biocompatibilidad, la bioafinidad a través de la funcionalización de grupos terminales amina/tiol, y las propiedades ópticas (Xuan, Wang, Yu, & Leung, 2009).

Por otro lado, la forma de las NP *core-shell*, ha mostrado potenciales aplicaciones que van desde la catálisis, la nanoelectrónica, y las unidades de almacenamiento de información, así, como en sensores biológicos y biomédicos (Han et al., 2008; Radi, Pradhan, Sohn, & Leung, 2010).

#### **5.4 Métodos de síntesis de NP tipo *core-shell***

Algunos de los diversos métodos de síntesis de NP *core-shell* utilizados son la precipitación, polimerización, micelas inversas como nanoreactores, condensación sol-gel, capas mediante técnicas de adsorción, entre otras (Schartl, 2010). El paso más importante durante la síntesis de NP *core-shell* es mantener un recubrimiento uniforme y controlar el grosor de la *shell* o cubierta. Aunque varios investigadores han tratado de controlar el espesor y el recubrimiento uniforme de la cubierta con los métodos descritos, existen ciertas dificultades tales como: la aglomeración de partículas de núcleo en el medio de reacción, formación preferencial de las partículas separadas de material de la cubierta en lugar de recubrir el núcleo, una cobertura incompleta de la superficie del núcleo, y un poco control de la velocidad de reacción, entre otros. Sin embargo, la síntesis de las NP usando MIs como nanoreactores ha creado expectativas durante al menos las últimas dos décadas, debido al control del tamaño de partícula, distribución de tamaño estrecha y revestimiento uniforme (Guerrero-Martínez et al., 2010; Subramanian Tamil Selvan, 2010; S. T Selvan et al., 2005).

**Micelas Inversas (MIs):**

En medios no acuosos, la organización de agregados supramoleculares formados por moléculas anfifílicas (es decir, moléculas que poseen un extremo hidrofílico y otro extremo hidrofóbico), se realiza formando estructuras que se conocen como MIs. Dentro de esas moléculas anfifílicas, se encuentran los surfactantes, los cuales pueden ser clasificados como: aniónicos, catiónicos y no iónicos, según la disociación en el agua y el tipo de iones que son disociados, al momento de emplear surfactantes no solo importa su clasificación estructural, también es de vital importancia la aplicación final, por tanto, en aplicaciones biológicas se hace necesario emplear surfactantes que no sean tóxicos como lo es el dioctilsulfosuccinato de sodio (AOT).

En un sistema de MIs, los surfactantes forman dichas micelas y las moléculas co-surfactantes (que pueden o no ser necesarios) ayudan en el proceso de formación de micelas mediante la reducción de las fuerzas de repulsión electrostáticas entre los grupos polares de las moléculas de surfactante. Como resultado, la fase acuosa está presente como una gota nanodiscreta dentro de la fase dispersante, y la reacción de formación de NP ocurre dentro de la gota acuosa o en la interface (Ver *Figura 1*). Las MIs actúan como centro para la nucleación y el crecimiento de las NP (Ghosh Chaudhuri & Paria, 2012).

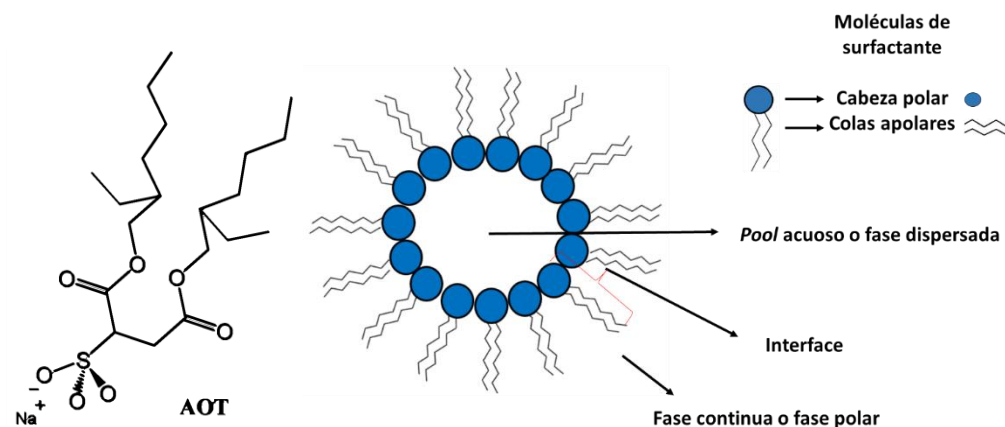


Figura 1. Representación de una micela inversa formada por el surfactante AOT y sus respectivas fases.

Para emplear las MIs como nanoreactores es necesario tener en cuenta la *Ecuación 1*, la cual permite tener cierto control sobre el diámetro hidrodinámico de nanoreactor.

$$V_o = w * [AOT] * V_T * \frac{1}{\rho_o} * PM_o$$

*Ecuación 1.* Relación de factor  $w$  con el volumen del reactivo polar.

Donde,  $V_o$  es el volumen del reactivo polar, el factor  $w$ ,  $[AOT]$  la concentración del surfactante,  $V_T$  el volumen total de la solución de AOT/*n*-Heptano,  $\rho_o$  densidad del reactivo polar,  $PM_o$  peso molecular del reactivo polar.

El método de MIs como nanoreactores puede llegar a ser muy útil para el control del grosor de la *shell*, que se convierte en un factor determinante para las aplicaciones biológicas; la *Figura 2* muestra un modelamiento del desplazamiento de la resonancia del plasmón superficial (RPS) en NP *core-shell* SiO<sub>2</sub>@Au en función del grosor de la *shell* (Loo et al., 2004).

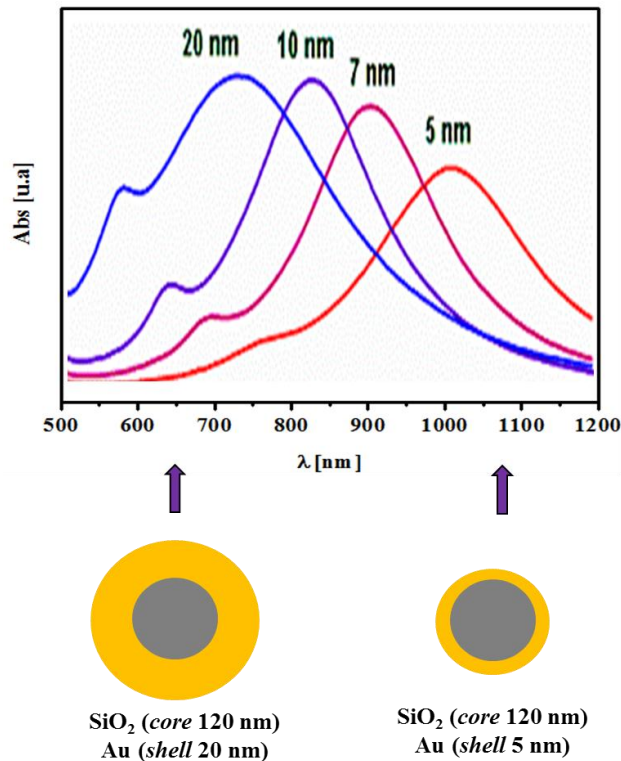


Figura 2. Espectros RPS de SiO<sub>2</sub>@AuNP como una función del grosor de la shell.

### 5.5 Factores que afectan el tamaño y distribución de las nanopartículas *core-shell*

El tamaño y la polidispersidad de las NP sintetizadas por nanoreactores dependen de ciertos factores, tales como: la concentración y naturaleza de reactivos, la relación molar agua/surfactante, la fracción de volumen polar, la fase continua, la temperatura, el pH, entre otras. Uno de los parámetros más importantes para el control del tamaño y forma de las NP mediante micelas inversas, es la relación molar de [H<sub>2</sub>O]/[surfactante] ( $w_0$ ).

Normalmente, con el aumento de  $w_0$ , el tamaño de la micela también aumenta, de manera que la rigidez de la película de surfactante disminuye. Eso hace que la nucleación intermicelar sea

mayor en comparación con la nucleación intramicelar. Adicionalmente, aumenta la agregación de las NP debido a la colisión e intercambio entre las micelas inversas (Gutiérrez-Becerra et al., 2012), del mismo modo, un mayor contenido de agua reduce la interacción entre los grupos polares de las moléculas de surfactante y las NP, haciendo que aumente la agregación de las estas (Asaf Kleopas, Diwakar, Heeres, & Anurag, 2007).

Por otro lado, la fase orgánica o continua también influye en la síntesis de NP, puesto que, no todos los disolventes orgánicos son adecuados para la formación de micelas inversas. La viscosidad es un parámetro importante para controlar el mecanismo de formación de micelas inversas e indirectamente ayuda a controlar la dinámica intermicelar (Lisiecki & Pileni, 1995).

También, la concentración de los reactivos es influyente en el tamaño de las NP, puesto que al aumentar la concentración de reactivos se aumenta las interacciones y colisiones intermicelares e intramicelares (Gutiérrez-Becerra et al., 2012); sin embargo, existen reportes de que este factor no influye de manera significativa en la síntesis (Husein, Rodil, & Vera, 2005; Pileni, Motte, & Petit, 1992).

## **5.6 Funcionalización de las NP *core-shell***

La aplicación biológica de las NP requiere la funcionalización con moléculas que permitan mejorar su estabilidad, solubilidad e internalización celular u a (Åkerman, Chan, Laakkonen, Bhatia, & Ruoslahti, 2002), orgánulos dentro de la célula (B. R. Liu, Huang, Chiang, & Lee, 2010), o seguir concretamente el movimiento de proteínas o de las moléculas de ARN en las células vivas (Zech et al., 2009). Estos agentes de direccionamiento idealmente deberían estar unidos covalentemente y estar presentes en un número controlado a la NP.

En la actualidad, hay muchos ejemplos de cómo sistema fisiológicos puede ser usados para la administración dirigida de moléculas biológicamente activas contra el cáncer. Como lo es el receptor de folato, el cual es una diana biológica potencialmente útil, debido a que esta proteína de membrana se une a folatos extracelulares con una afinidad muy elevada y mediante un proceso de endocitosis, los transporta dentro de la célula para el consumo biológico. En efecto, evidencias preclínicas y clínicas muestran cómo los receptores de folato pueden ser positivos para: identificar anatómicamente células cancerígenas usando conjugados de folato con agentes de formación de imágenes de radiodiagnóstico y los cánceres pueden ser tratados eficientemente con dianas quimioterapéuticas unidas al folato. El ácido fólico (AF) muestra una alta afinidad por el receptor de folato, en tejidos normales la expresión de receptores de folato es mínima en los tejidos normales, mientras que en algunos tejidos cancerosos se encuentran sobre expresados, debido a este hecho, el receptor de folato es también un antígeno/biomarcador de reconocimiento de tumores. Por lo tanto, los métodos terapéuticos y de diagnóstico explotan la función del receptor folato para desarrollar tratamientos contra el cáncer al permitir el ingreso de la NP por endocitosis mediada por receptor (Vázquez, 2000; Vlahov & Leamon, 2012).

## 5.7 Técnicas de caracterización

La caracterización de las NP de tipo *core-shell* se hace crítica, debido a que se debe caracterizar el *core* y la presencia de la *shell*, usualmente las técnicas implementadas son las espectroscopias de IR, UV-Vis, espectroscopia de fluorescencia y fotoelectrones de rayos X (XPS\*); microscopias electrónicas de barrido (SEM\*) y de transmisión (TEM\*); dispersión de luz dinámica (DLS\*);

resonancia magnética nuclear (NMR\*) y difracción de rayos X (XRD\*), entre otras. A continuación, se muestra una breve descripción de cada técnica mencionada.

*\*Por sus siglas en inglés*

❖ Espectroscopia IR: se basa en las vibraciones moleculares que se producen en la región del infrarrojo del espectro electromagnético, los grupos funcionales tienen frecuencias características de absorción (Vázquez, 2000).

❖ Espectroscopia UV-Vis: esta técnica resulta beneficiosa para caracterizar NP<sub>s</sub> metálicas, ya que, por medio de ella se puede detectar la banda de la resonancia del plasmón superficial que es propia de cada tipo de NP (Weininger & Stermitz, 1988).

❖ Espectroscopia de Fluorescencia: la fluorescencia es un proceso de emisión en el cual las moléculas son excitadas por la absorción de radiación electromagnética y, al relajarse a cualquiera de los estados vibracionales del estado electrónico basal, liberan el exceso de energía en forma de fotones, característico para cada material fluorescente (Hernández & Pérez, 2002)

❖ Microscopia electrónica de barrido (SEM): en el microscopio electrónico de barrido se construyen imágenes y contrastes, aprovechando la emisión de electrones (electrones secundarios) de una muestra, cuando sobre ella incide un haz enfocado de electrones de alta energía. La muestra también emite rayos X, los cuales pueden ser analizados para obtener información sobre la composición del material, denominada EDX\*(Sabín Fernández, 2007)

❖ Microscopia electrónica de transmisión (TEM): se basa en un haz de electrones que es conducido a través de lentes electromagnéticas y se proyecta sobre una muestra muy delgada situada en una columna de alto vacío. Debido a que los electrones tienen una longitud de onda mucho menor que la luz visible pueden caracterizar estructuras mucho más pequeñas (Skoog, West, & Holler, 1997).

❖ Dispersión de luz dinámica (DLS): tiene en cuenta la variación de la intensidad de dispersión en el tiempo, la cual es empleada para la determinación de la distribución de tamaños de partículas (Estelrich, 1991).

❖ Espectroscopia de fotoelectrones de rayos X (XPS): consiste básicamente en la excitación mediante un haz de rayos-X de los niveles más internos de los átomos, provocando la emisión de fotoelectrones que proporcionan información sobre la energía de enlace de cada electrón, por lo tanto, sobre el estado de oxidación de cada átomo emisor (Alicante, 2017).

❖ Resonancia magnética nuclear (NMR): se basa en la medida de absorción (por parte de los núcleos atómicos) de la radiación electromagnética en la región de las radiofrecuencias, permitiendo elucidar estructuras moleculares (Skoog et al., 1997).

❖ Difracción de rayos X (XRD): se basa en la dispersión coherente del haz de rayos X por parte de la materia y en la interferencia constructiva de las ondas que están en fase y que se dispersan en determinadas direcciones del espacio, proporcionando información sobre las composiciones, fases químicas, y estructuras cristalinas presentes en la muestra (Atkins & Jones, 2006).

## **5.8 Efectos fototérmicos de las NP**

Las diferentes aplicaciones de las NP metálicas en la nanomedicina están fuertemente relacionadas con su resonancia del plasmón superficial (RPS). Este fenómeno se produce cuando la luz incidente induce una oscilación de electrones libres en la NP, lo que conduce a un confinamiento espacial del campo electromagnético en la nanoescala. Este confinamiento de campos electromagnéticos puede generar intensas y localizadas cantidades de calor. Esta propiedad puede

dar lugar a fenómenos de hipertermia en las células de un mamífero, las cuales comienzan a sufrir daños a partir de 42 °C (N. Sanchez-Dominguez, L. Gallardo-Blanco, A. Rodriguez-Rodriguez, V. Vela-Gonzalez, & Sanchez-Dominguez, 2014).

Una de las estrategias terapéuticas más prometedoras en la nanomedicina es la terapia fototérmica contra cáncer, donde las NP absorben energía por medio de la interacción de éstas con la radiación y generan calor en el área del tumor, reduciendo así al mínimo el daño en el tejido sano circundante (Jain, Huang, El-Sayed, & El-Sayed, 2008; Jaque et al., 2014). La intensidad de la irradiación con el láser incidente, la naturaleza de las NP (es decir, la localización del RPS) y su tamaño, son los factores que determinarán la eficiencia del calentamiento localizado (Pelaz et al., 2017). Una mayor eficacia para la terapia fototérmica con NP, se podría lograr si la radiación incidente se hace a longitudes de onda de láser específicas situadas en las ventanas biológicas, es decir, de 700 nm a 1400 nm aproximadamente para aprovechar la minimización de absorción y dispersión de la radiación IR de los tejidos (Ghoroghchian, Therien, & Hammer, 2009; Smith, Mancini, & Nie, 2009).

## **6. Metodología**

### **6.1 Reactivos, materiales y equipos**

Los reactivos empleados fueron: dioctil sulfosuccinato de sodio, (AOT, 97%, Aldrich Chemistry), n-heptano (99% AppliChem Panreac), tetraetil ortosilicato (TEOS, 99%, Merck), 3-aminopropil trietoxisilano (APTES, 98%, Alfa Aesar), hidróxido de amonio (NH<sub>4</sub>OH, 28%, Merck), hidracina

(N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 98%, Sigma-Aldrich), ácido tetracloroáurico trihidratado (HAuCl<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O, Sigma-Aldrich), citrato de sodio dihidratado (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>7</sub>·H<sub>2</sub>O, 99%, Sigma-Aldrich), ácido fólico (para Bioquímica, Merck).

Para las reacciones, se usaron viales de vidrio los cuales tiene un protocolo de limpieza de lavado con agua regia (HCl:HNO<sub>3</sub>, 3:1), luego NaOH, y un día en solución de agua-jabón, con el fin de retirar cualquier contaminante que afecta la síntesis posterior.

La síntesis de las SiO<sub>2</sub>NP, AuNP y SiO<sub>2</sub>@AuNP se lleva a cabo empleando como medio de reacción un sistema confinado de micelas inversas formadas por H<sub>2</sub>O/AOT/*n*-heptano. Todas las síntesis se realizaron a condiciones de temperatura ambiente y presión atmosférica.

Los equipos empleados para las diferentes caracterizaciones fueron: Z-sizer Nanoseries ZS90, espectrofotómetro UV-Vis Hewlett Packard 8453, Fluorímetro PTI Felix 4.1.0, espectrofotómetro UV-Vis Shimadzu UV-2600, Infrarrojo Thermo Scientific IS50-FT-IR, microscopio SEM FEI Quanta FEG 650, microscopio TEM FEI Tecnai G2 F20, equipo XPS SPECS.

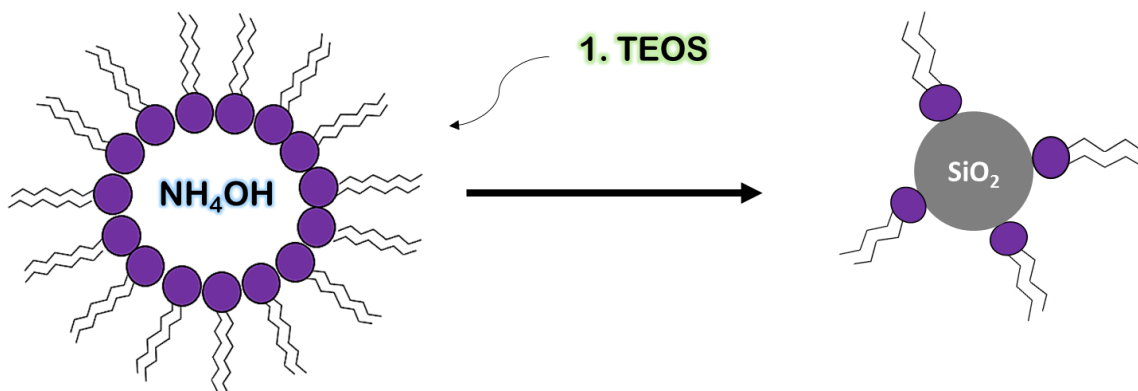
## 6.2 Síntesis de NP de óxido de silicio (*core*) - SiO<sub>2</sub>NP

La formación de las SiO<sub>2</sub>NP se lleva a cabo mediante una reacción de hidrolisis de alcoxisilanos como el TEOS y APTES mediante un ataque nucleofílico de átomos de oxígeno de una molécula como el NH<sub>4</sub>OH sobre los átomos de silicio. El TEOS es un compuesto apolar, por tanto, se encontrará disponible en la fase continua de la micela inversa, contrario al NH<sub>4</sub>OH, el cual es polar y se encontrará disponible en la fase polar o *pool* acuoso de la micela inversa, por tanto, la reacción se llevará a cabo empleando la interface micelar.

Inicialmente se realiza una caracterización cualitativa del sistema micelar, determinando el máximo  $w$  que soporta el sistema frente a la adición de cada uno de los reactivos polares: Para conocer este valor se empleó un  $V_T = 2000 \mu\text{L}$  de solución micelar AOT/*n*-heptano 0,05 M, y se realizó la adición consecutiva de volúmenes exactos de  $\text{NH}_4\text{OH}$  (10  $\mu\text{L}$ ), hasta observar la desestabilización del sistema, es decir, separación de fases y/o turbidez, para este sistema en particular se extrapoló el volumen de ruptura a la concentración micelar de 0,1 M.

Con el fin de observar la influencia que posee la relación entre el  $\text{NH}_4\text{OH}$  y TEOS sobre los tamaños de las  $\text{SiO}_2\text{NP}$ , se evaluaron: diferentes  $w$  (6 y 10) con volumen de TEOS constante (9  $\mu\text{L}$ ), y diferentes volúmenes de TEOS (23, 35, y 50  $\mu\text{L}$ ) con  $\text{NH}_4\text{OH}$  constante (es decir,  $w = 6$ ), a concentraciones de AOT/*n*-heptano de 0,05 M y 0,1 M, En este ensayo todas las síntesis fueron llevadas a un  $V_T = 2000 \mu\text{L}$ , y a medida que avanza la reacción la solución presenta turbidez.

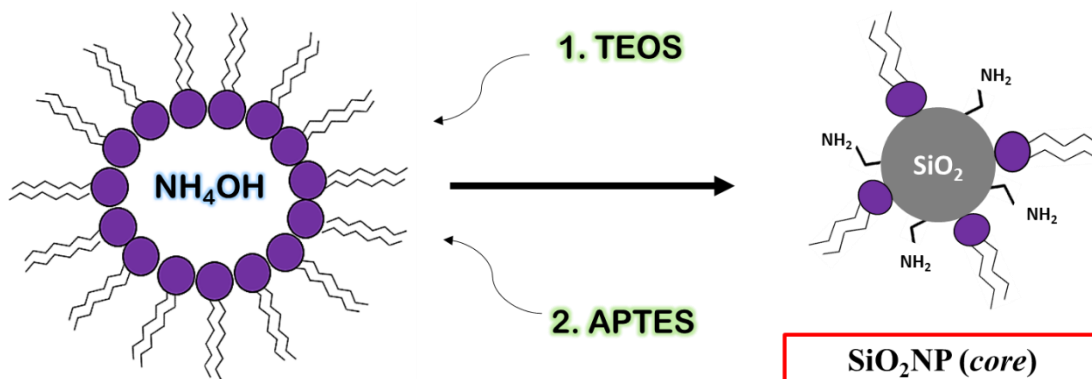
De manera general las  $\text{SiO}_2\text{NP}$  se sintetizan como muestra la *Figura 3*.



*Figura 3.* Esquema general de síntesis de  $\text{SiO}_2\text{NP}$

Se ha reportado (R. Wang et al., 2016) que para la deposición efectiva de la *shell* sobre las  $\text{SiO}_2\text{NP}$  se requiere funcionalización (activación con grupos reactivos) de las  $\text{SiO}_2\text{NP}$ , para ello se empleó APTES, reactivo que permite la adición de grupos amino en la superficie de las  $\text{SiO}_2\text{NP}$

(Ver *Apéndice B*). En la síntesis de SiO<sub>2</sub>NP modificadas con APTES en la superficie, las cuales son denominadas SiO<sub>2</sub>NP (*core*), se emplean volúmenes iguales de TEOS y APTES desde el inicio de la reacción (14  $\mu$ L), y con un  $w = 6$ , llevado a un  $V_T = 4000 \mu$ L. El proceso general de síntesis se muestra en la *Figura 4*.

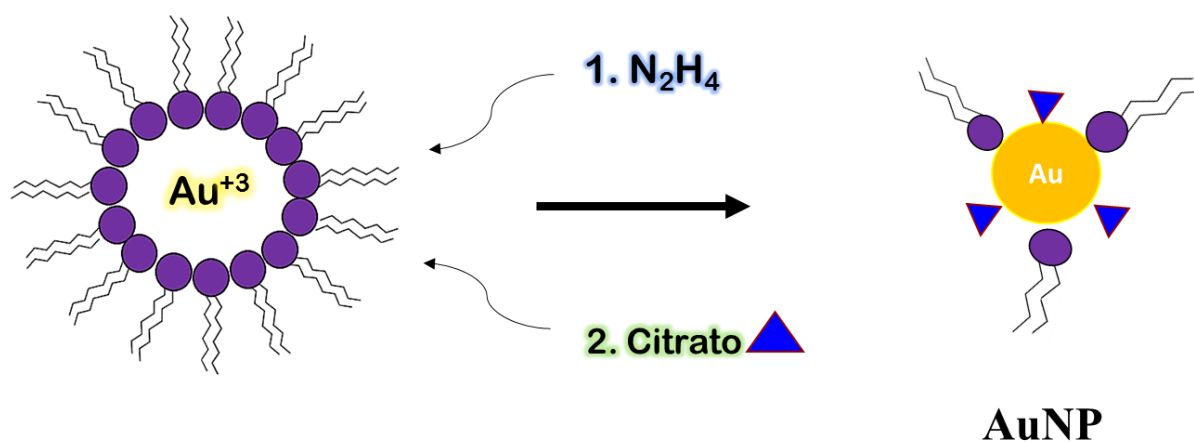


*Figura 4.* Esquema general de síntesis de SiO<sub>2</sub>NP con modificaciones en la superficie mediante grupos aminos dados por el APTES.

### 6.3 Síntesis de NP de oro - AuNP

La síntesis de AuNP se realizó mediante la reducción del  $\text{Au}^{+3}$  empleando  $\text{N}_2\text{H}_4$ . Los precursores empleados fueron el  $\text{HAuCl}_4$  0,1 M, y  $\text{N}_2\text{H}_4$  0,6 M, además se empleó el  $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}$  0,2 M (que actúa como un agente estabilizante, posteriormente, ayudará en la formación de las NP tipo *core-shell* SiO<sub>2</sub>@Au).

La concentración de la solución micelar de AOT/*n*-heptano seleccionada para la síntesis de las AuNP fue 0,1 M con  $V_T = 3000 \mu\text{L}$ , empleando 13,5  $\mu\text{L}$  HAuCl<sub>4</sub>, 13,5  $\mu\text{L}$  N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, y 60  $\mu\text{L}$  C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>·3Na. De manera general las AuNP se sintetizan como muestra la *Figura 5*.



*Figura 5.* Esquema general de síntesis de AuNP.

Nota: Las AuNP servirán como modelo de comparación con las SiO<sub>2</sub>@AuNP.

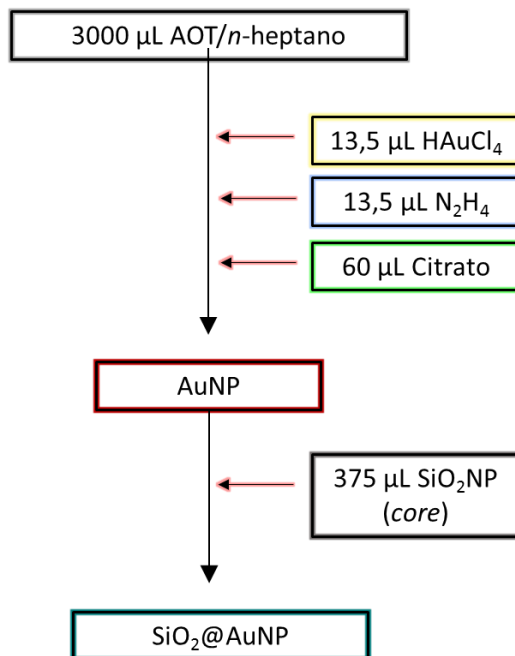
El C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>·3Na·2H<sub>2</sub>O 0,2 M se emplea encapsulado en AOT/*n*-heptano 0,1 M con un  $w=5$ , en todas las síntesis.

#### 6.4 Síntesis de NP tipo *core-shell* - SiO<sub>2</sub>@AuNP

Para la síntesis de SiO<sub>2</sub>@AuNP se llevaron a cabo dos metodologías, las cuales se describen a continuación:

Metodología I (MI). *Síntesis de SiO<sub>2</sub>@AuNP con SiO<sub>2</sub>NP y AuNP formadas de manera independiente.*

La *Figura 6* presenta el procedimiento general para la preparación de SiO<sub>2</sub>@AuNP vía MI.



*Figura 6.* Esquema general de síntesis de SiO<sub>2</sub>@AuNP vía MI.

Metodología II (MII). *Síntesis de SiO<sub>2</sub>@AuNP con Oro insitu.*

La *Figura 7* presenta el procedimiento general para la preparación de SiO<sub>2</sub>@AuNP vía MII.

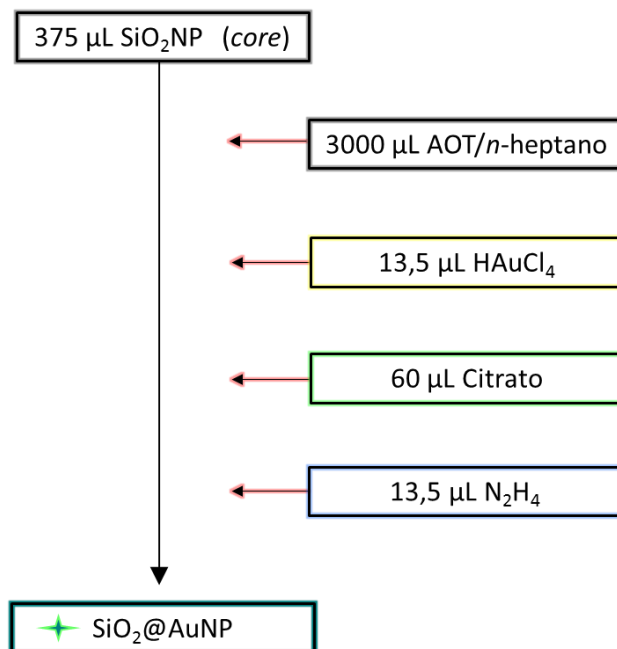


Figura 7. Esquema general de síntesis de SiO<sub>2</sub>@AuNP vía MII.

En la metodología II (MII), se realizó una evaluación de un volumen mayor de oro, para el cual se empleó 27 µL HAuCl<sub>4</sub>, y 27 µL N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, siguiendo el mismo protocolo de síntesis, esta evaluación será denominada MII-I.

En todas las metodologías de síntesis de SiO<sub>2</sub>@AuNP, se empleó agitación magnética a 400 rpm, y temperatura ambiente (25°C) durante todo el proceso de síntesis.

### 6.5 Funcionalización de las SiO<sub>2</sub>@AuNP con ácido fólico - SiO<sub>2</sub>@AuNP A.F.

La funcionalización de las SiO<sub>2</sub>@AuNP con AF se lleva a cabo realizando el procedimiento presentado en la Figura 8.

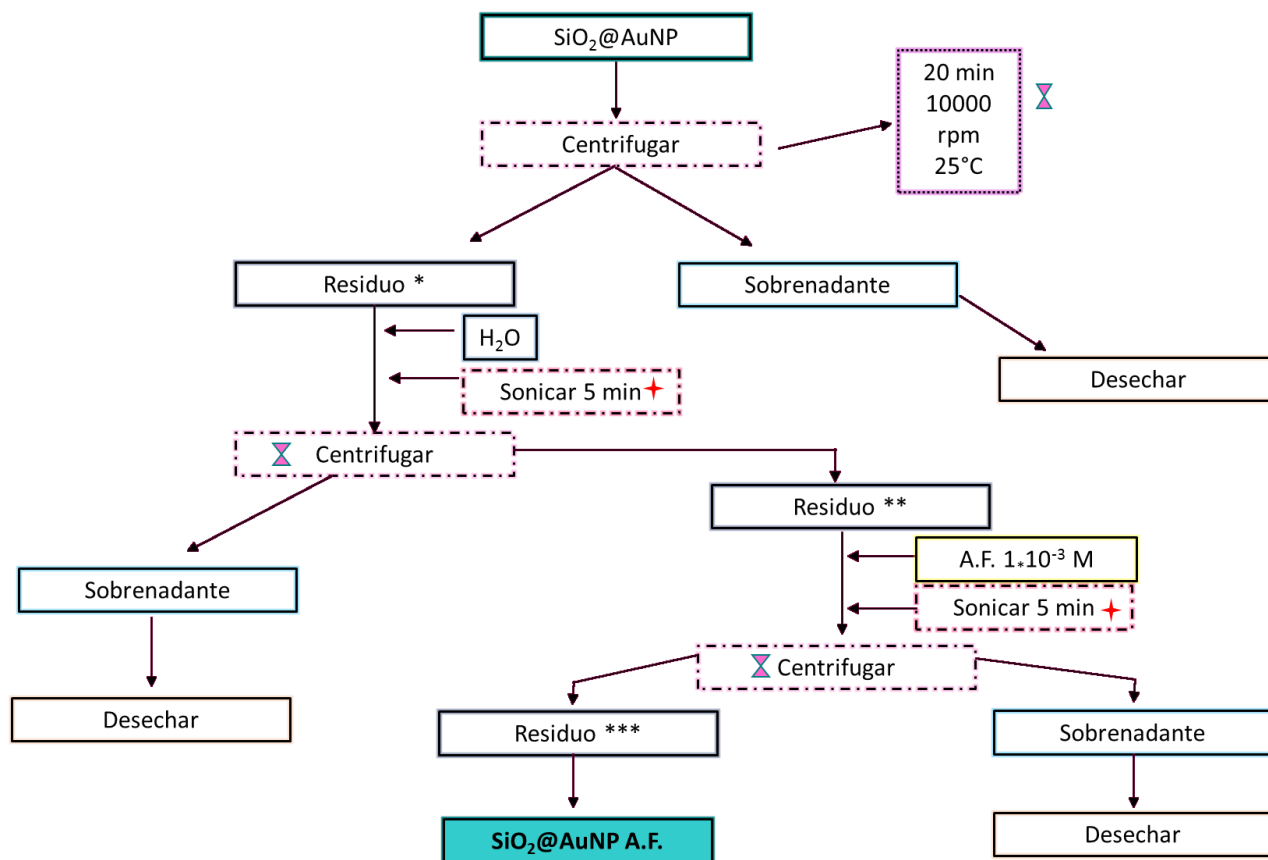


Figura 8. Esquema general de transferencia de fase y funcionalización con AF de las NP.

Nota: El volumen que se agregó de AF fue igual al volumen de solución de solvente orgánico inicial en cada tubo eppendorf. A la solución de AF se le agrega una gota de NaOH 0,1 M antes de agregar la solución de AF a las NP. En el caso de SiO<sub>2</sub>NP se lleva a cabo el mismo procedimiento de funcionalización.

## 6.6 Evaluación de la respuesta térmica de las NP en solución

Para la medición del cambio de temperatura en la solución de NP, se empleó un láser de 808 nm con una potencia de 400 mW, ubicado a una distancia de 5 cm del vial conteniendo 4000  $\mu$ L de la solución de NP. Empleando un termómetro digital se midió la temperatura cada 30 s durante 10 min, determinando los cambios de temperatura frente a la irradiación (Ver *Apéndice C*).

Nota: Las NP que requieran la evaluación de la respuesta térmica en medio celular (EMEM alimentado con suero fetal bovino (SFB) al 10%) deben ser sometidas a una transferencia de fase para dispersarlas en medio celular.

## 6.7 Ensayos Biológicos

Los ensayos de citotoxicidad se llevaron a cabo en células de cáncer de cuello uterino (HeLa) con un tiempo de tratamiento de 2 horas, se evaluaron las SiO<sub>2</sub>NP, SiO<sub>2</sub>NP A.F. SiO<sub>2</sub>@AuNP y SiO<sub>2</sub>@AuNP A.F. Para cada tipo de NP se evaluaron tres concentraciones, las cuales para las SiO<sub>2</sub>NP corresponden a 2500  $\mu$ M, 1250  $\mu$ M, y 250  $\mu$ M, y, para las SiO<sub>2</sub>@AuNP a 450  $\mu$ M, 225  $\mu$ M, y 45  $\mu$ M, respectivamente.

La concentración molar se calcula asumiendo una conversión total del precursor, en el caso de las SiO<sub>2</sub>NP el TEOS, y en el caso de las SiO<sub>2</sub>@AuNP el HAuCl<sub>4</sub> (se toma el HAuCl<sub>4</sub> por ser el reactivo superficial y las AuNP las responsables del efecto fototérmico).

Para determinar la viabilidad celular se empleó el método cristal violeta, para lo cual después del tratamiento se fijan las células con 100  $\mu$ L de metanol durante 10 min, (previamente

retirado el medio celular), luego, se añade 50  $\mu$ L de cristal violeta al 0,2% disuelto en agua durante 5 min, después se realizan 4 lavados con PBS, y por último, se adiciona el citrato al 50%, finalmente, se realiza la lectura de la absorbancia a una  $\lambda = 550$  nm con un agitación durante 1 min antes de iniciar la medición en el equipo multiskan go thermo scientific. Las cantidades mencionadas se agregan a cada pozo.

## 7. Resultados y Análisis

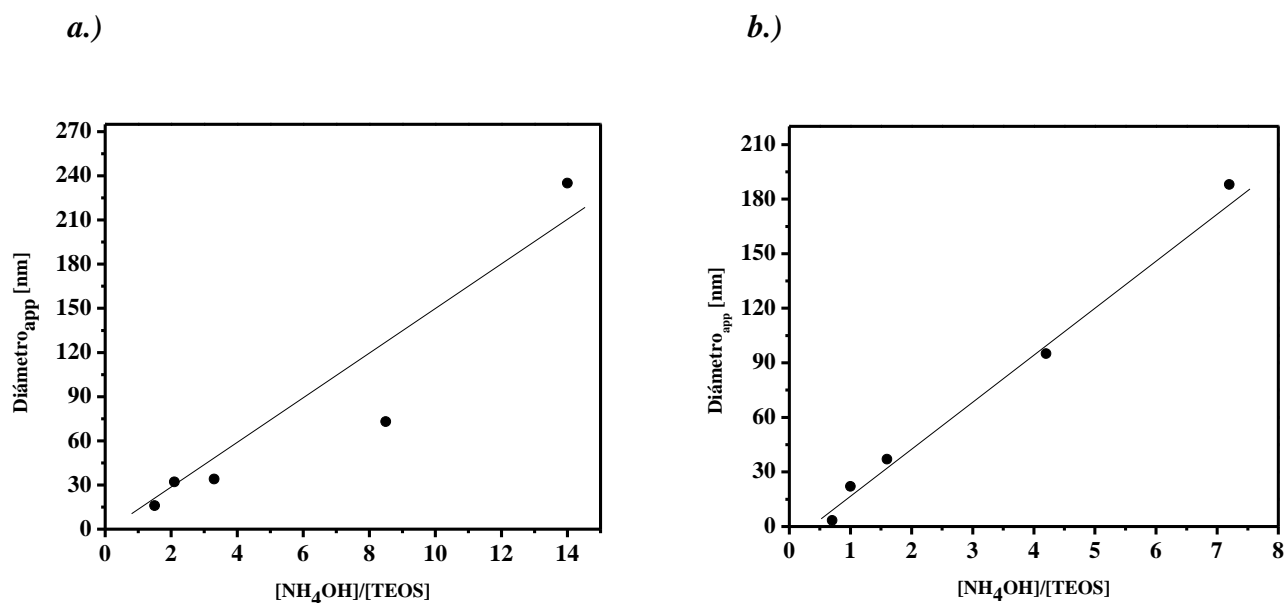
Los resultados de esta investigación se presentan en tres secciones principalmente: en la primera sección se presenta lo relacionado a la síntesis y caracterización de SiO<sub>2</sub>NP, SiO<sub>2</sub>NP (*core*), AuNP, y SiO<sub>2</sub>@AuNP. La segunda sección indica los resultados obtenidos para la funcionalización con AF de las SiO<sub>2</sub>@AuNP, y por último, en la tercera sección se presentan los ensayos de citotoxicidad de las SiO<sub>2</sub>NP (*core*) y SiO<sub>2</sub>@AuNP en células cancerosas tipo HeLa.

### 7.1 Síntesis y caracterización de las SiO<sub>2</sub>NP, SiO<sub>2</sub>NP (*core*), AuNP, SiO<sub>2</sub>@AuNP.

- *Nanopartículas de óxido de silicio (core) - SiO<sub>2</sub>NP*

Los ensayos cualitativos preliminares para el sistema AOT/n-heptano 0,05 M y 0,1 M, el valor máximo de  $w$  fue 15 y 30, respectivamente, lo cual indica el soporte máximo de la micela, teniendo en cuenta esto, se evita emplear  $w$  límites que pongan en riesgo la estructura micelar.

Teniendo en cuenta las concentraciones molares de los precursores TEOS y NH<sub>4</sub>OH (4,5 M y 7,2 M, respectivamente), y los volúmenes añadidos de cada uno de ellos al sistema, se construye lo presentado en la *Figura 9*, la cual muestra los resultados obtenidos al evaluar el efecto de la relación molar entre el NH<sub>4</sub>OH y TEOS sobre los diámetros aparentes de las SiO<sub>2</sub>NP obtenidos mediante DLS.



*Figura 9.* Relación entre el diámetro aparente [nm] y la relación molar [NH<sub>4</sub>OH]/[TEOS] para un sistema AOT/n-heptano de: **a.)** 0,1 M y **b.)** 0,05 M.

Según lo mostrado en la *Figura 9*, los diámetros aparentes obtenidos para cada ensayo muestran una dependencia aproximadamente proporcional a la relación molar [NH<sub>4</sub>OH]/[TEOS], es decir, cuanto mayor sea la relación molar [NH<sub>4</sub>OH]/[TEOS], mayor será el tamaño de las SiO<sub>2</sub>NP, lo cual puede atribuirse al exceso de agente nucleofílico que permite llevar a cabo una mayor hidrólisis del alcoxisilano, para una posterior condensación a los grupos siloxano Si-O-Si,

lo que se refleja en el aumento del tamaño de nanopartícula. A concentraciones mayores de sistema micelar, como 0,1 M, la cinética de intercambio será rápida y por tanto, ayudará al proceso de maduración y resultará una mayor polidispersidad, así lo reportan los autores (Arriagada & Osseo-Asare, 1995), no obstante, experimentalmente se observa mejor estabilidad trabajando con el sistema micelar 0,1 M, por lo tanto éste se elige para los demás resultados.

De acuerdo a lo anterior, se pueden establecer los parámetros generales (cantidades de reactivos y relación de éstos) para la síntesis de SiO<sub>2</sub>NP, sin embargo, las micelas inversas no funcionan como sistemas *template*, por tanto, las relaciones para la síntesis de NP no son estrictas para la obtención de determinado tamaño, simplemente permiten una aproximación a cierto tamaño.

Por tanto, se sintetizaron SiO<sub>2</sub>NP bajo relaciones molares [NH<sub>4</sub>OH]/[TEOS] de 8,5, 4,5 y 3,0, y  $w = 6$ , las cuales fueron caracterizadas mediante DLS, como lo presenta *Tabla 1*, donde se observan los diámetros aparentes de cada una de estas SiO<sub>2</sub>NP y el índice de polidispersidad obtenido en las mediciones.

Tabla 1. *Tamaños Hidrodinámicos ( $D_{app}$ ) de SiO<sub>2</sub>NP obtenidos mediante DLS para las relaciones molares  $[NH_4OH]/[TEOS]$  de: a.) 8,5 b.) 4,5 c.) 3,0.*

a.)	$D_{app}$ [nm]	PdI
Medición 1	76,34	0,187
Medición 2	74,79	0,191
Medición 3	74,71	0,195

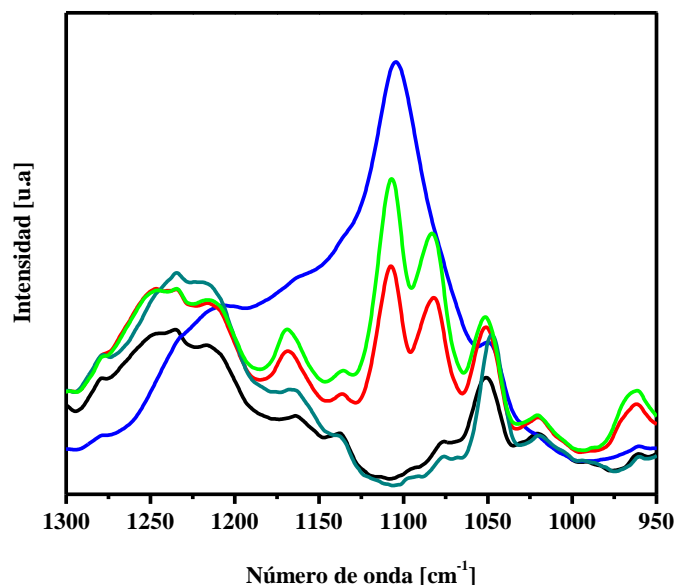
b.)	$D_{app}$ [nm]	PdI
Medición 1	46,21	0,770
Medición 2	45,67	0,165
Medición 3	48,24	0,771

c.)	$D_{app}$ [nm]	PdI
Medición 1	34,97	0,779
Medición 2	34,42	0,264
Medición 3	34,91	0,272

Como se muestra en la *Tabla 1*, para las relaciones  $[NH_4OH]/[TEOS]$  de 8,5, 4,5 y 3,0, se obtuvieron tamaños hidrodinámicos de  $75\pm 0,9$  nm,  $47\pm 0,9$  nm, y  $35\pm 0,3$  nm, respectivamente, y mediciones con un índice de polidispersidad menor a 1, lo cual es aceptable.

Todas las SiO<sub>2</sub>NP fueron caracterizadas mediante espectroscopia FT-IR, a modo de ejemplo en la *Figura 10* se muestra el espectro FT-IR entre 1300 y 950 cm<sup>-1</sup> correspondiente a SiO<sub>2</sub>NP y a sus precursores en medio micelar.



*Figura 10.* Espectro FT-IR desde 1300 hasta 950  $\text{cm}^{-1}$  de: (-) SiO<sub>2</sub>NP sintetizadas a una relación  $[\text{NH}_4\text{OH}]/[\text{TEOS}]=6,5$  y  $w=10$  con  $D_{\text{app}}=60\pm 0,8$  nm, (-) SiO<sub>2</sub>NP sintetizadas a una relación  $[\text{NH}_4\text{OH}]/[\text{TEOS}]=0,7$  y  $w=5$  con  $D_{\text{app}}=3,5\pm 0,3$ nm, (-) TEOS en AOT/n-heptano, (-) NH<sub>4</sub>OH en AOT/n-heptano y (-) Sistema micelar AOT/n-heptano.

Tal como se observa en la *Figura 10* el precursor TEOS presenta dos bandas características de la vibración  $\text{H}_3\text{CO-Si-OCH}_3$  a 1084 y 1104  $\text{cm}^{-1}$ . Cuando la reacción de hidrolisis del alcóxido de silicio TEOS se lleva a cabo, se observa que en el espectro del producto formado (SiO<sub>2</sub>NP) dichas bandas se convierten en una única banda intensa alrededor de 1100  $\text{cm}^{-1}$  característica de la vibración asimétrica O-Si-O, (Araujo, Onega, Ponce, & Martínez, 2000) banda que confirma la transformación del TEOS en SiO<sub>2</sub>NP. Resultados similares fueron reportados por (Cornejo, Sanchez, Rojas, & Herrera, 2009).

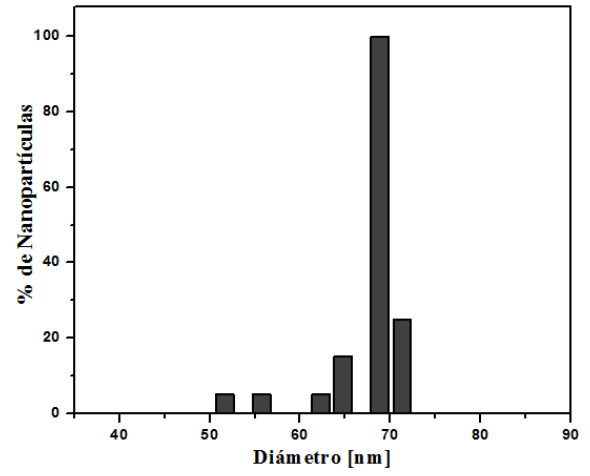
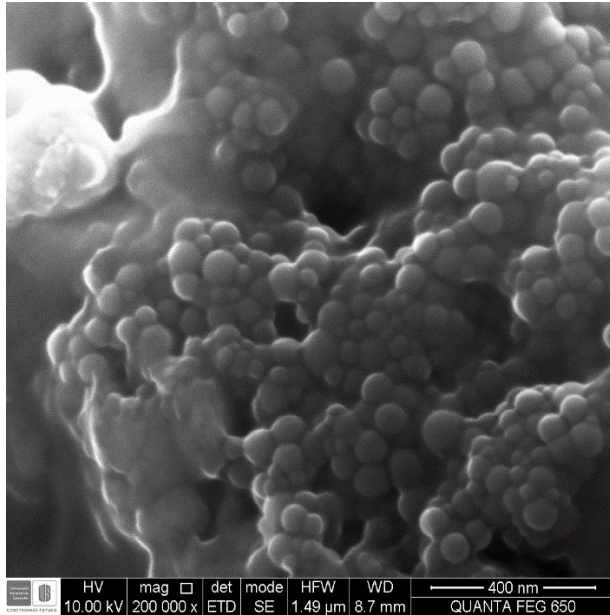
La bandas que aparecen alrededor de 1050 y 1250  $\text{cm}^{-1}$  son características del sistema micelar empleado, es decir, AOT/n-heptano y corresponden a las vibraciones simétrica y

asimétrica del grupo sulfonato (SO<sub>3</sub>) presente en el AOT (Moran, Bowmaker, Cooney, Bartlett, & Woolfrey, 1995). Como se observa en la *Figura 10* ambas bandas presentan un desplazamiento en presencia de las SiO<sub>2</sub>NP indicando que una vez formado el producto, el surfactante AOT ayuda a estabilizar las SiO<sub>2</sub>NP interaccionando a través de los grupos sulfonato.

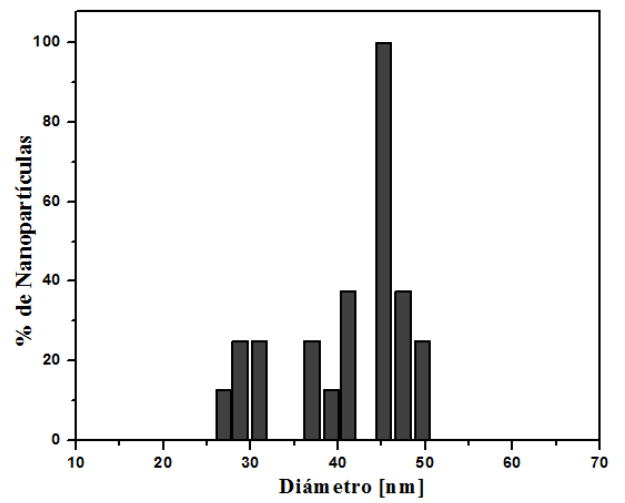
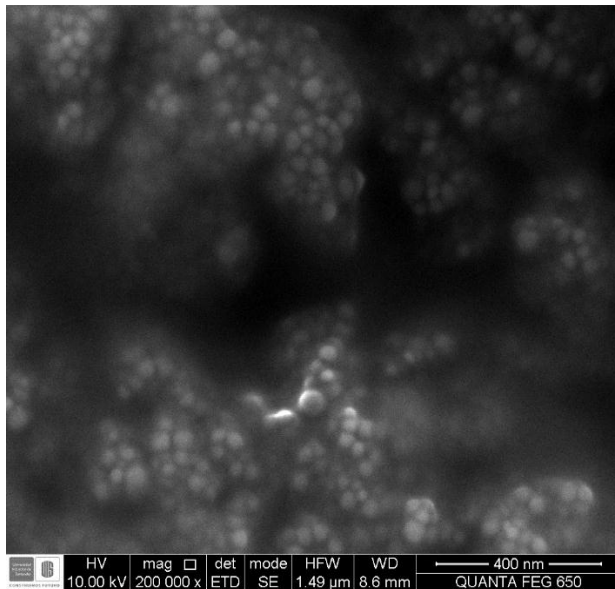
De manera interesante (Arriagada & Osseo-Asare, 1995) reportaron que en un sistema de AOT/Decano, con  $w$  por debajo de 5 no es posible la síntesis de SiO<sub>2</sub>NP, debido a la fuerte interacción que existe entre las moléculas de H<sub>2</sub>O que se encuentran en el *pool* acuoso con las cabezas polares y iones sodio del surfactante, inhibiendo así el ataque nucleofílico al TEOS, por lo que en el espectro FT-IR (*Figura 10*) no se observan cambios en las bandas 1084 y 1104 cm<sup>-1</sup> características de la vibración H<sub>3</sub>CO-Si-OCH<sub>3</sub> del TEOS para las SiO<sub>2</sub>NP que reportaron un diámetro aparente de 3,4 nm, lo cual indica que en este caso no hubo la eficiente transformación del precursor al producto deseado (Araujo et al., 2000).

Conjunto a esto, SiO<sub>2</sub>NP sintetizadas bajo relaciones molares [NH<sub>4</sub>OH]/[TEOS] de 8,5, 4,5 y 3,0, y  $w = 6$ , fueron caracterizadas mediante microscopia SEM, como se observa en la *Figura 11*, donde se muestran las micrografías y el correspondiente histograma de distribución de tamaño.

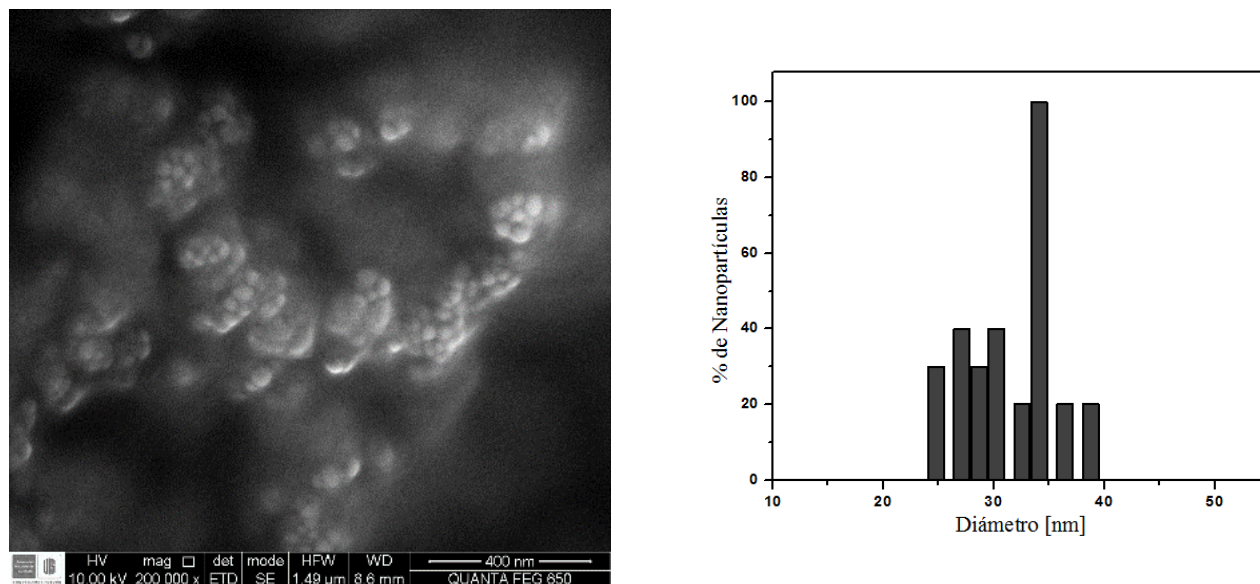
a.)



b.)



c.)



*Figura 11.* Micrografías SEM de SiO<sub>2</sub>NP sintetizadas en un sistema AOT/n-heptano 0,1 M con relaciones molares NH<sub>4</sub>OH]/[TEOS] de: **a)** 8,5 **b)** 4,5 y **c)** 3,0, con su correspondiente histograma de distribución de tamaño.

Como muestra la *Figura 11*, para las SiO<sub>2</sub>NP se obtuvieron distribuciones de tamaño de 72±20 nm, 45±15 nm y 34±15 nm, para las relaciones [NH<sub>4</sub>OH]/[TEOS] de 8,5, 4,5 y 3,0, respectivamente, estos tamaños están correlacionados con lo obtenido para las mediante DLS como se presentó en la *Tabla 1*.

Por otro lado, tal como se mencionó en la metodología, para depositar la *shell* de oro, se necesita una previa funcionalización o modificación superficial de las SiO<sub>2</sub>NP con APTES, estas son denominadas SiO<sub>2</sub>NP (*core*). Por tanto, se sintetizaron SiO<sub>2</sub>NP y SiO<sub>2</sub>NP (*core*) a las mismas condiciones, con relación molar [NH<sub>4</sub>OH]/[TEOS] = 9,5 y  $w = 6$ , la diferencia es la adición de APTES en aquellas que harán parte del *core*. Los resultados obtenidos para éstas NP por DLS los

presenta la *Tabla 2*, donde se observan los tamaños hidrodinámicos de cada tipo de NP y el índice de polidispersidad para cada medición.

Tabla 2. *Tamaños Hidrodinámicos ( $D_{app}$ ) obtenidos mediante DLS de: a.) SiO<sub>2</sub>NP b.) SiO<sub>2</sub>NP (core).*

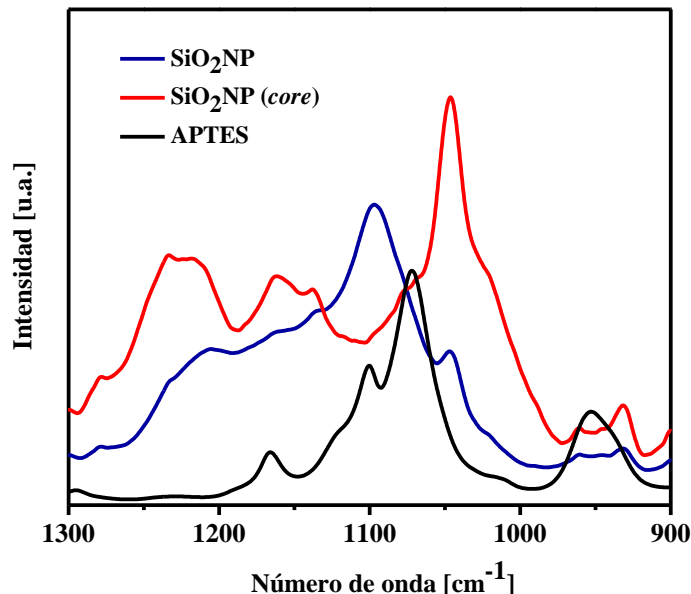
<b>a.)</b>	<b><math>D_{app}</math> [nm]</b>	<b>PdI</b>
Medición 1	166,2	0,088
Medición 2	174,9	0,078
Medición 3	177,5	0,067

<b>b.)</b>	<b><math>D_{app}</math> [nm]</b>	<b>PdI</b>
Medición 1	138,1	0,233
Medición 2	185,3	0,301
Medición 3	271,2	0,285

Tal como se observa en la *Tabla 2*, las SiO<sub>2</sub>NP presentan diámetros aparentes de 172±6 nm, y las SiO<sub>2</sub>NP (*core*) de 198±67 nm, observándose que las SiO<sub>2</sub>NP (*core*) son más polidispersas, lo cual puede deberse a que la adición de APTES influya en la cinética de formación, sin embargo, el índice de polidispersidad es menor a 1, lo cual es aceptable. Las SiO<sub>2</sub>NP elegidas para ser parte del *core* poseen tamaños grandes debido a que la literatura ha reportado que el tamaño del *core* ayuda al desplazamiento del PSR en las SiO<sub>2</sub>@AuNP (Jørgensen et al., 2016; Oldenburg et al., 1998).

A continuación, se caracterizaron las SiO<sub>2</sub>NP de 172±6 nm y SiO<sub>2</sub>NP (*core*) de 198±67 nm empleando espectroscopia FT-IR, como muestra la *Figura 12*, la cual presenta el espectro FT-IR desde 1300 a 900 cm<sup>-1</sup>, junto con el APTES.



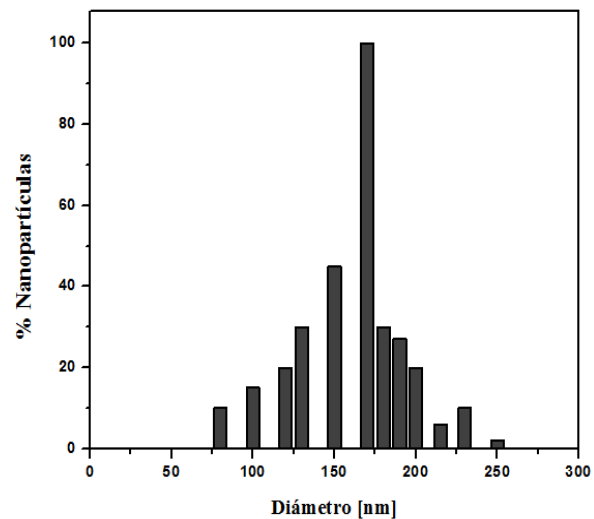
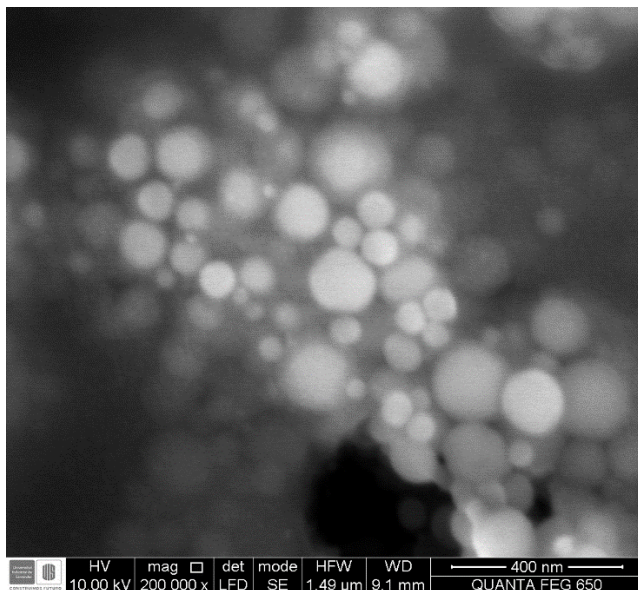
*Figura 12.* Espectro FT-IR desde 1300 hasta 900  $\text{cm}^{-1}$  de: SiO<sub>2</sub>NP y SiO<sub>2</sub>NP (core) sintetizadas a una relación  $[\text{NH}_4\text{OH}]/[\text{TEOS}]=9,5$  y  $w=6$  con  $D_{\text{app}}=172\pm 6$  nm y  $198\pm 67$  nm, respectivamente, y del APTES.

Tal como se observa en la *Figura 12* las SiO<sub>2</sub>NP (core) presentan un desplazamiento en la banda de alrededor de 1100  $\text{cm}^{-1}$  característica de la vibración asimétrica O-Si-O hacia alrededor de 1046  $\text{cm}^{-1}$  banda que se atribuye a la vibración O-Si-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>, en el espectro del APTES esta vibración se presenta alrededor de 1070  $\text{cm}^{-1}$ , por tanto, se evidencia una efectiva funcionalización de las SiO<sub>2</sub>NP con APTES. La modulación IR de la molécula de APTES mediante *GaussView* está correlacionada con la banda observada correspondiendo a la respectiva vibración mencionada. (Ver Apéndice D).

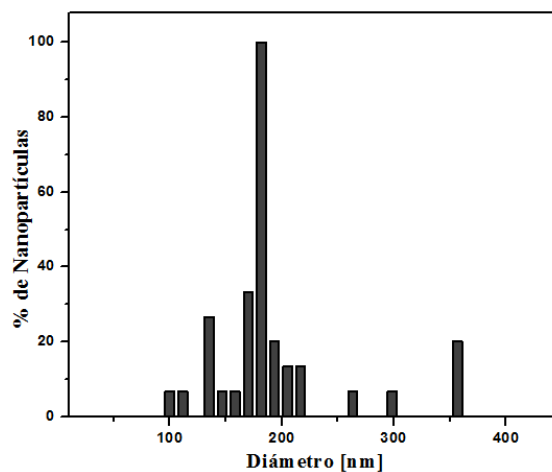
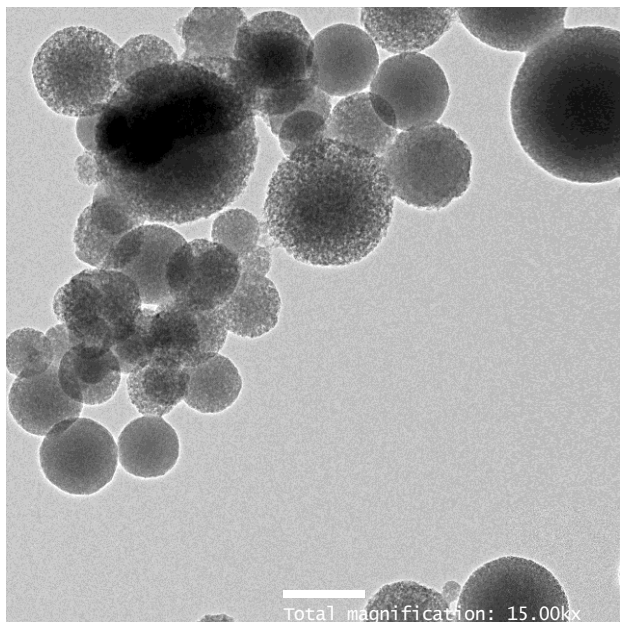
Las SiO<sub>2</sub>NP (core) se caracterizaron por UV-Vis, a modo de evidenciar que dichas NP, no poseen ninguna absorción en la zona de interés (NIR), conjunto a esto se muestra la apariencia física de la solución (Ver Apéndice A).

Adicionalmente, las SiO<sub>2</sub>NP (*core*) se caracterizaron mediante microscopías SEM y TEM, la *Figura 13* muestra las micrografías respectivas y la distribución de tamaño para cada una.

a.)



b.)



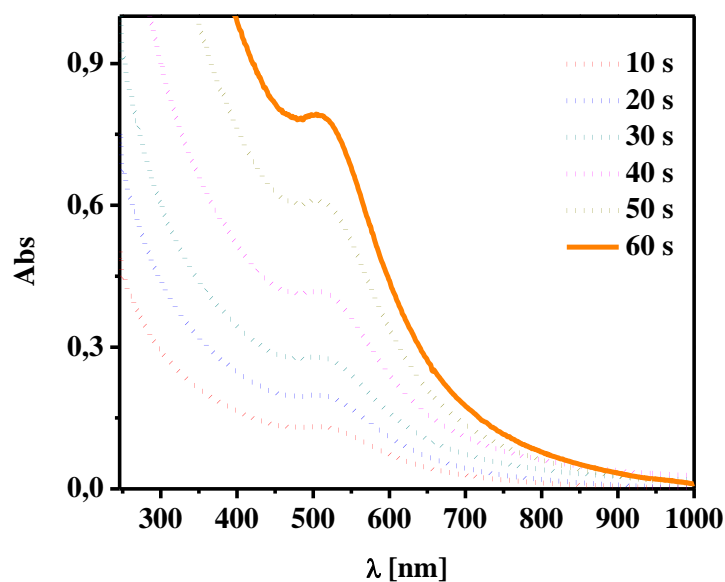
*Figura 13.* Micrografías de SiO<sub>2</sub>NP (*core*) sintetizadas a una relación [NH<sub>4</sub>OH]/[TEOS]=9,5 y w=6: **a.)** Micrografías SEM **b.)** Micrografías TEM.

Las distribuciones de tamaño aproximadas obtenidas mediante SEM y TEM son de  $170\pm 54$  nm y  $182\pm 66$  nm, respectivamente, las cuales esta correlacionadas con lo obtenido mediante DLS presentado en la *Tabla 2* para las SiO<sub>2</sub>NP (*core*).

La caracterización de las SiO<sub>2</sub>NP con y sin funcionalización de APTES realizada por DLS, IR, SEM, y TEM, permite evidenciar la formación del *core* de SiO<sub>2</sub>. A continuación, se describirá lo relacionado a la preparación y caracterización de la *shell*, es decir AuNP.

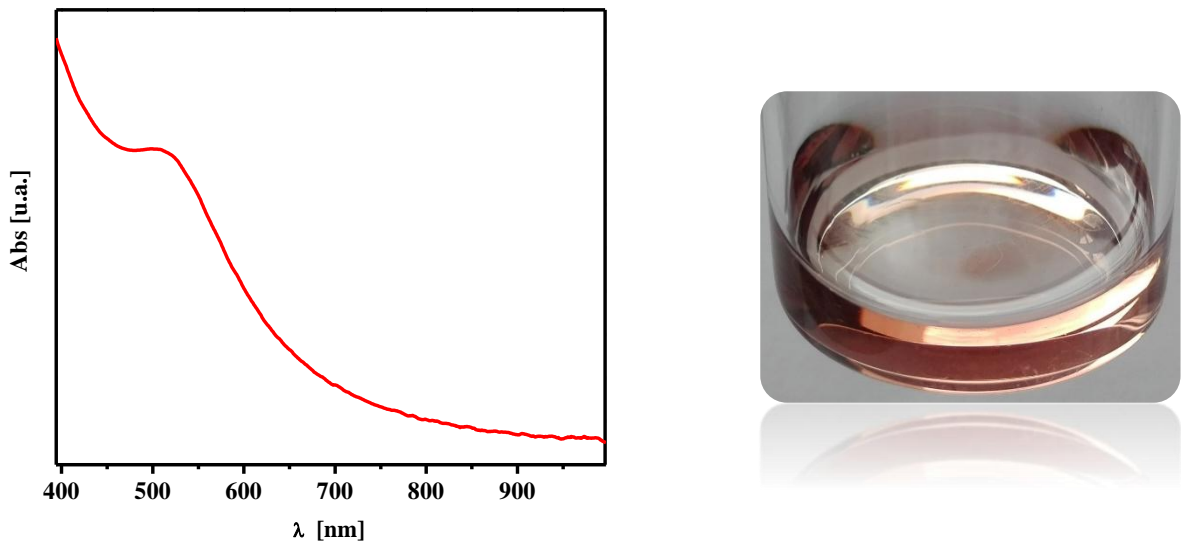
- *Nanopartículas de oro - AuNP*

A las AuNP formadas se les realizó la cinética de formación, como se presenta en la *Figura 14*, donde se muestra la evolución del RPS a través del tiempo.



*Figura 14.* Cinética de formación de las AuNP sintetizadas en micelas inversas de AOT/n-heptano 0,1M con un  $w=4$ , HAuCl<sub>4</sub> 0,1 M y agente reductor N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 0,6M.

Tal como muestra la *Figura 14*, en la evolución del RPS a través del tiempo, solo se observan cambios en la intensidad de absorción de éste y no en la posición de la  $\lambda$ , indicativo de la formación de más AuNP del mismo tipo. Por tanto, el RPS definitivo de las AuNP formadas se muestra en la *Figura 15*, donde se observa espectro del RPS de estas NP y la apariencia física en solución.



*Figura 15.* Espectro RPS de AuNP sintetizadas en micelas inversas de AOT/n-heptano 0,1M con un  $w=2$ , HAuCl<sub>4</sub> 0,1 M y agente reductor N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 0,6M, y a la derecha fotografía de la apariencia física de la solución de las AuNP.

Tal como muestra la *Figura 15*, se obtuvo un RPS de  $\lambda=518$  nm, el cual es atribuido a la formación de AuNP. Según estudios de (K. Sun, Qiu, Liu, & Miao, 2009), obtuvieron AuNP con un RPS de  $\lambda=540$  nm y una distribución de tamaño entre  $\approx 5-10$  nm, mediante reducción con el ácido ascórbico de HAuCl<sub>4</sub> empleando micelas inversas de AOT/isooctano. Por tanto, el RPS de dichas NP puede correlacionarse con lo obtenido para las AuNP mediante MIs de AOT/n-Heptano.

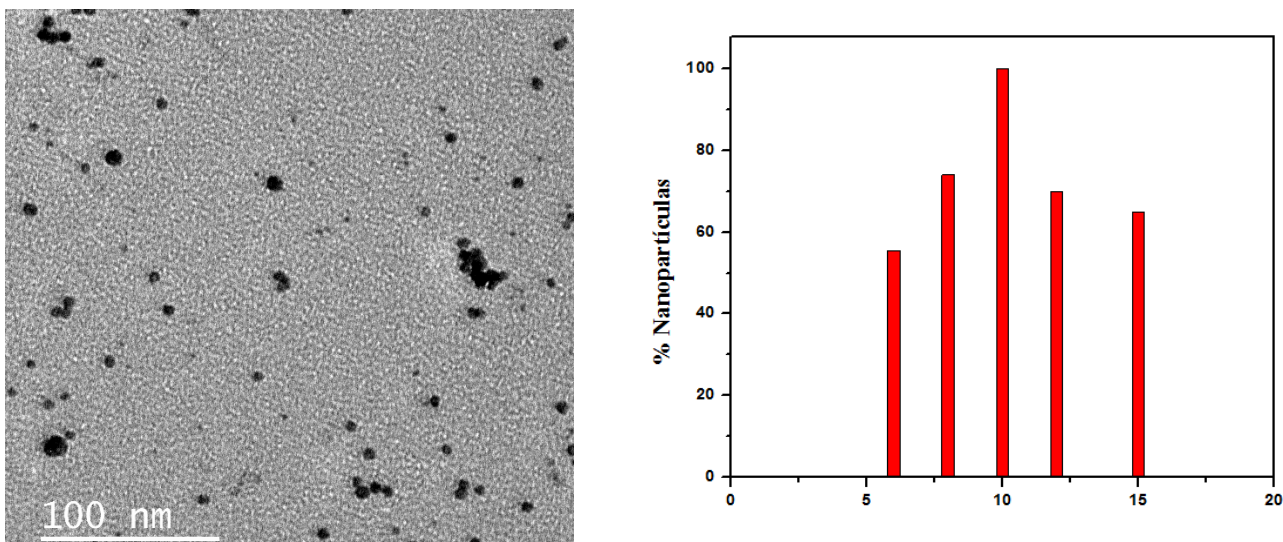
Las AuNP formadas se caracterizaron mediante DLS como muestra la **Tabla 3** en donde se aprecia los tamaños hidrodinámicos y el respectivo índice de polidispersidad para cada medición.

Tabla 3. *Tamaños hidrodinámicos de AuNP sintetizadas en micelas inversas de AOT/n-heptano 0,1M con un  $w_0=2$ , HAuCl<sub>4</sub> 0,1 M y agente reductor N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 0,6M.*

	<i>D<sub>app</sub> [nm]</i>	<i>PdI</i>
<i>Medición 1</i>	7,39	0,551
<i>Medición 2</i>	6,916	0,545
<i>Medición 3</i>	7,481	0,523

De acuerdo a lo observado en la *Tabla 3* se obtuvieron AuNP con tamaños hidrodinámicos de  $7\pm 0,3$  nm, con un índice de polidispersidad menor a 1, lo cual es aceptable.

Adicionalmente, las AuNP formadas se caracterizaron mediante microscopia TEM, como muestra la *Figura 16*, donde se observan la micrografía de las AuNP y su respectiva distribución de tamaño.



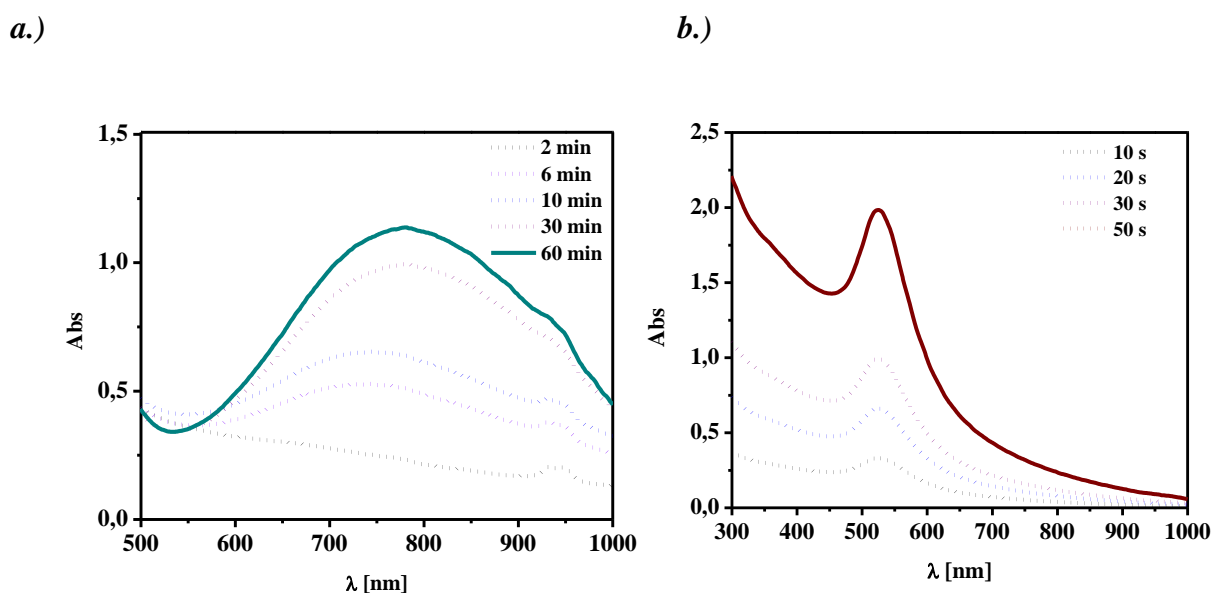
*Figura 16.* Micrografías TEM de AuNP sintetizadas en micelas inversas de AOT/n-heptano 0,1M con un  $w=2$ , HAuCl<sub>4</sub> 0,1 M y agente reductor N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 0,6M, y su respectiva distribución de tamaño.

Tal como muestra la *Figura 16*, las AuNP formadas presentan una distribución de tamaño de  $10\pm 5$  nm, según lo mostrado por el TEM, en la micrografía puede observarse algunas AuNP aglomeradas entre sí, debido a que el tamaño pequeño ocasiona cierta inestabilidad. Comparando la distribución de tamaños obtenidos por TEM y DLS existe correlación entre estos.

Como se ha mencionado anteriormente, la creación de AuNP que permitan provocar efectos fototérmicos para ser empleadas en ámbitos biomédicos como las terapias fototérmicas contra el cáncer, no son suficientes si la absorción de estas no se realiza en zonas cercanas al infrarrojo (NIR), por tanto, se hace necesario la creación de NP que contengan oro, las cuales permitan mejorar las propiedades ópticas y fototérmicas, para esto se ha sugerido las NP de tipo *core-shell* SiO<sub>2</sub>@Au, a continuación se describirán los resultados observados para la síntesis de dichas NP.

- Nanopartículas tipo *core-shell* - SiO<sub>2</sub>@AuNP

A las NP tipo *core-shell* SiO<sub>2</sub>@Au sintetizadas mediante la metodología MII y la respectiva evaluación del aumento de la cantidad de oro (MII-I), se les realizó la cinética de formación donde se muestra el espectro RPS a través del tiempo para cada una, como presenta la *Figura 17*.



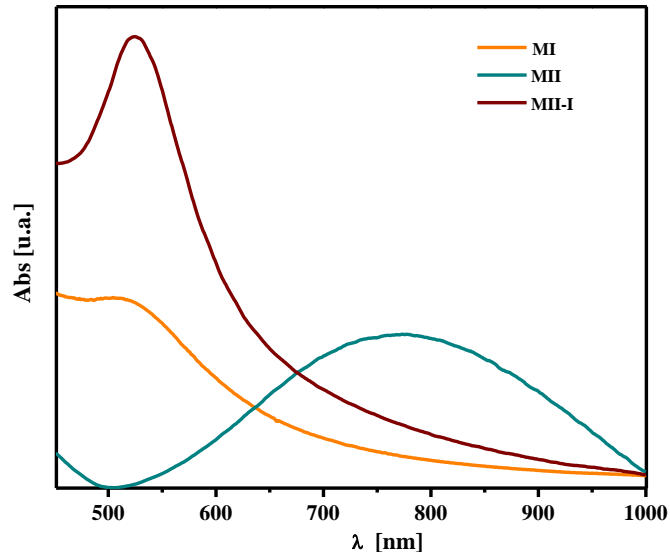
*Figura 17.* Cinética de formación de: **a.)** SiO<sub>2</sub>@AuNP sintetizadas vía MII (Desde 2 min hasta 60 min de reacción) **b.)** SiO<sub>2</sub>@AuNP sintetizadas vía MII-I (desde 10 s hasta 60 s de reacción).

Tal como muestra la *Figura 17*, la cinética de formación de las SiO<sub>2</sub>@AuNP vía MII, evidencia un desplazamiento gradual hacia el rojo a medida que pasa el tiempo hasta obtener un RPS de  $\approx 775$  nm, partiendo de  $\approx 725$  nm, que puede darse por la deposición de más AuNP sobre las SiO<sub>2</sub>NP del *core*. Las SiO<sub>2</sub>@AuNP vía MII-I no presentan desplazamientos significativos en la  $\lambda$  del PSR a través del tiempo y presenta una síntesis más rápida, apreciando cambios solo en la

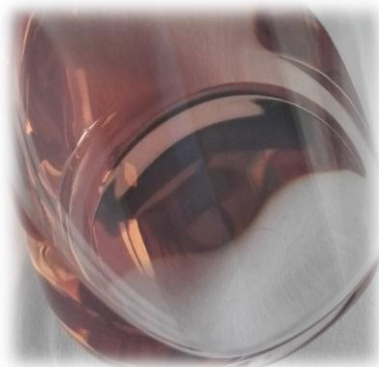
intensidad de absorción que se atribuyen a la formación de más SiO<sub>2</sub>@AuNP. Para la metodología MI no se realiza una cinética de formación través del tiempo, puesto que, la formación de AuNP que conformaran la *shell*, se ha realizado por separado del *core*, por tanto, sería la misma cinética presentada en la *Figura 14*.

Las SiO<sub>2</sub>NP (*core*), SiO<sub>2</sub>@AuNP mostraron mediante las mediciones de ζ-potencial los valores de -2,53, y -17,66 [mV], respectivamente, de lo cual se puede destacar que la creación de una *shell* sobre las SiO<sub>2</sub>NP aumenta la estabilidad de las NP, la cual se atribuye a los grupos carboxilo del citrato desprotonados, que interaccionan con la *shell* aumentando dicha estabilidad.

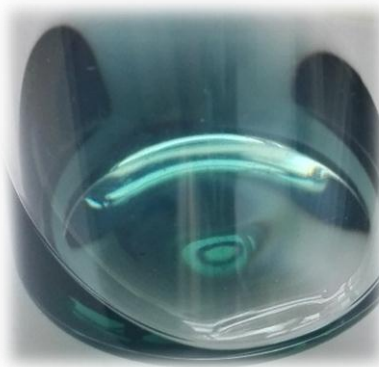
Los espectros del RPS de las NP tipo *core-shell* SiO<sub>2</sub>@Au sintetizadas mediante las dos metodologías (MI, MII) y la respectiva evaluación del aumento de la cantidad de oro (MII-I), se presentan en la *Figura 18*, además su apariencia física en solución.



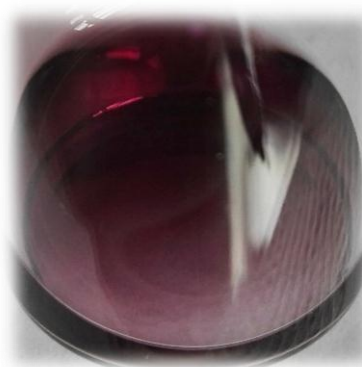
*a.)*



*b.)*



*c.)*



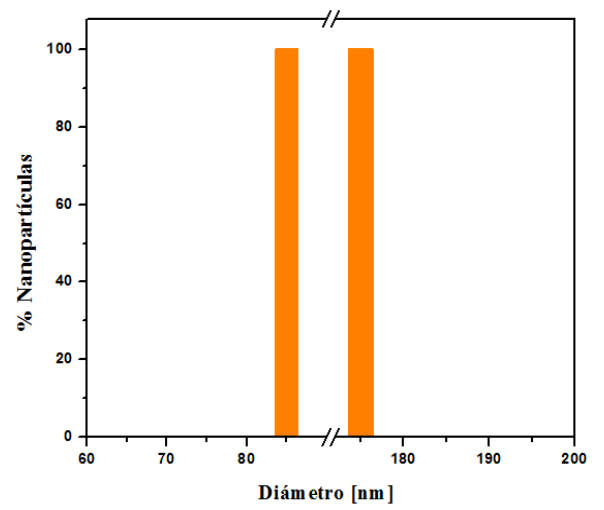
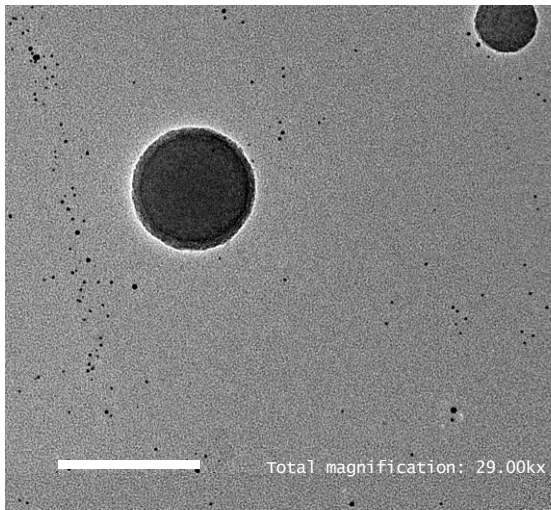
*Figura 18.* Espectro RPS para SiO<sub>2</sub>@AuNP vía MI, MII, y MII-I sintetizadas empleando micelas inversas de AOT/n-heptano 0,1 M, HAuCl<sub>4</sub> 0,1 M y agente reductor N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 0,6M. En la parte inferior las fotografías de la apariencia física de la solución de SiO<sub>2</sub>@AuNP para: **a.)** MI **b.)** MII **c.)** MII-I

De acuerdo a los resultados que muestra la *Figura 18* se puede indicar que se obtuvieron NP con RPS de  $\lambda \approx 518$  nm,  $\lambda \approx 775$  nm, y  $\lambda \approx 525$  nm, para MI, MII, y MII-I, respectivamente, los cuales están acompañados del color característico de cada solución; Al comparar el RPS de

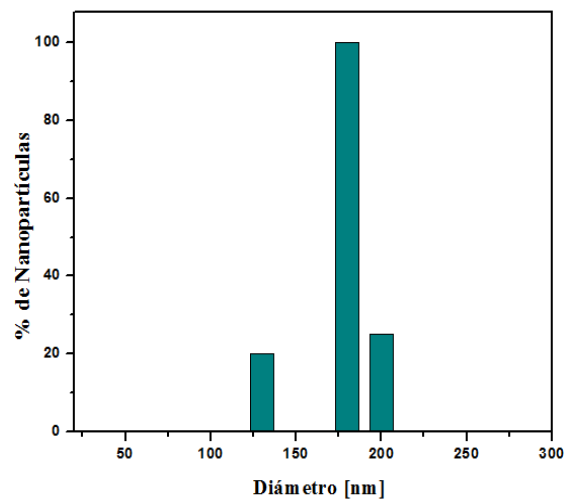
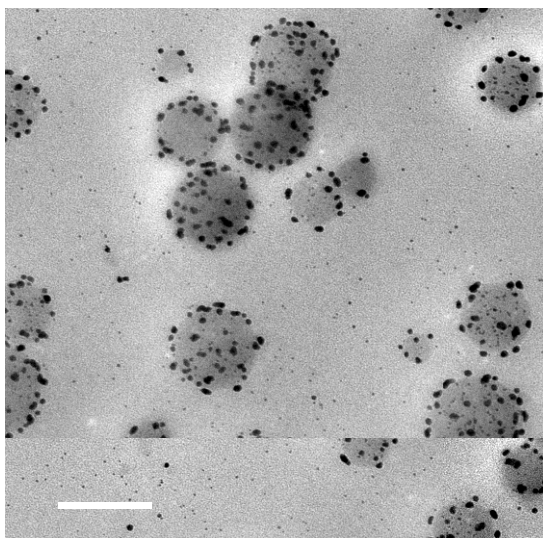
las AuNP (Ver *Figura 15*) con las NP vía MI, no se presenta ningún desplazamiento en la  $\lambda$ , por el contrario, MII ( $\Delta\lambda \approx 250$  nm) y MII-I ( $\Delta\lambda \approx 7$  nm) si lo presentan, en el caso de MII se resalta que el desplazamiento significativo ocurre hacia zonas del NIR; éstas diferencias que existen en el comportamiento óptico entre los RPS de las NP sintetizadas puede atribuirse al acoplamiento de plasmón entre partículas, el cual se incrementa cuando las AuNP (*shell*) se fijan en la superficie de SiO<sub>2</sub>NP (*core*) con distancias moderadas ocasionando que el RPS se desplace a zonas de menor energía.

Por otra parte, las NP tipo *core-shell* SiO<sub>2</sub>@Au sintetizadas mediante dos metodologías (MI, MII) y la respectiva evaluación del aumento de la cantidad de oro (MII-I), se caracterizaron mediante microscopia TEM, como muestra la *Figura 19*, donde se observan las micrografías para cada metodología y su respectiva distribución de tamaño.

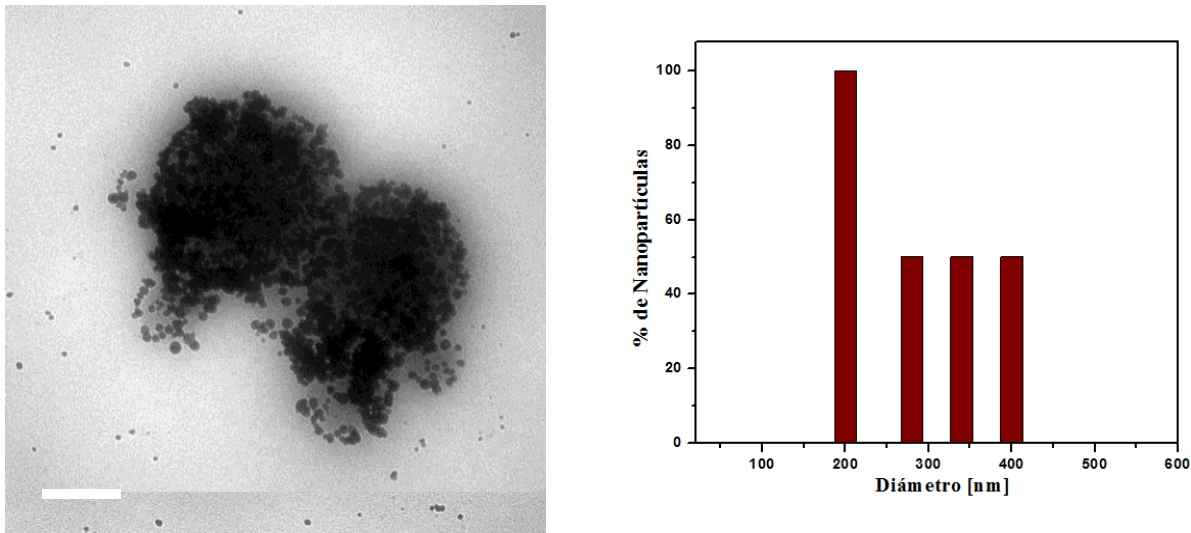
*a.)*



*b.)*



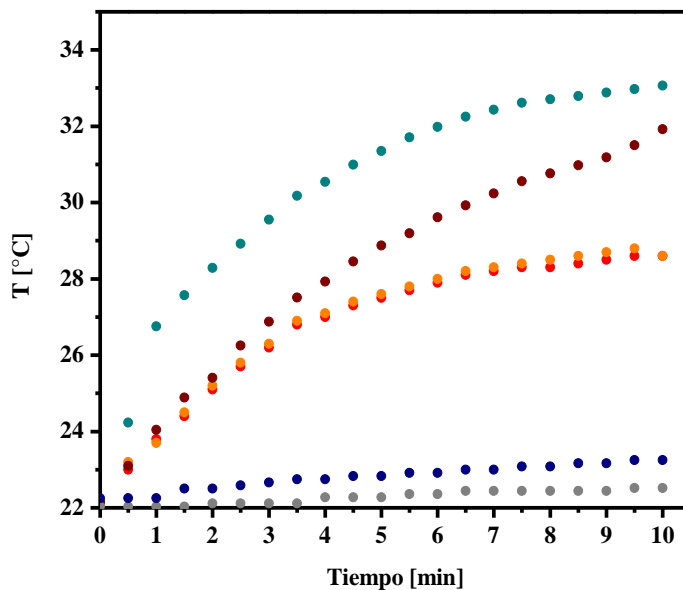
c.)



*Figura 19.* Micrografías TEM y su correspondiente distribución de tamaño de SiO<sub>2</sub>@AuNP sintetizadas empleando micelas inversas de AOT/n-heptano 0,1 M, HAuCl<sub>4</sub> 0,1 M y agente reductor N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 0,6M vía: **a.)** MI **b.)** MII **c.)** MII-I

Tal como lo muestran las micrografías presentadas en la *Figura 19*, el procedimiento vía MI no permite la síntesis de NP tipo *core-shell* SiO<sub>2</sub>@Au, lo cual se correlaciona al no observarse desplazamiento en el RPS. Para las preparaciones vía MII y MII-I se garantiza la síntesis de NP tipo *core-shell* SiO<sub>2</sub>@Au, sin embargo, entre estas se puede apreciar la diferencia entre la deposición superficial de las AuNP de la *shell* sobre las SiO<sub>2</sub>NP del *core*, lo cual se correlaciona con los desplazamientos obtenidos en el RPS, los cuales ocurren hacia zonas del NIR cuando existe acoplamiento de plasmones entre las AuNP. Las NP vía MI no forman NP tipo *core-shell* probablemente por la encapsulación de cada una de las partes ya formadas (*core* y *shell*) en las moléculas del surfactante, haciendo difícil su interacción. Por el contrario, MII y MII-I poseen mayor disponibilidad de interacción al realizar la deposición de oro *in situ*.

Por otro lado, la respuesta térmica evaluada en medio orgánico de las NP tipo *core-shell* SiO<sub>2</sub>@Au sintetizadas mediante dos metodologías (MI, MII) y la respectiva evaluación del aumento de la cantidad de oro (MII-I), se presenta en la *Figura 20*, donde se observan los aumentos de temperatura durante 10 minutos de irradiación.

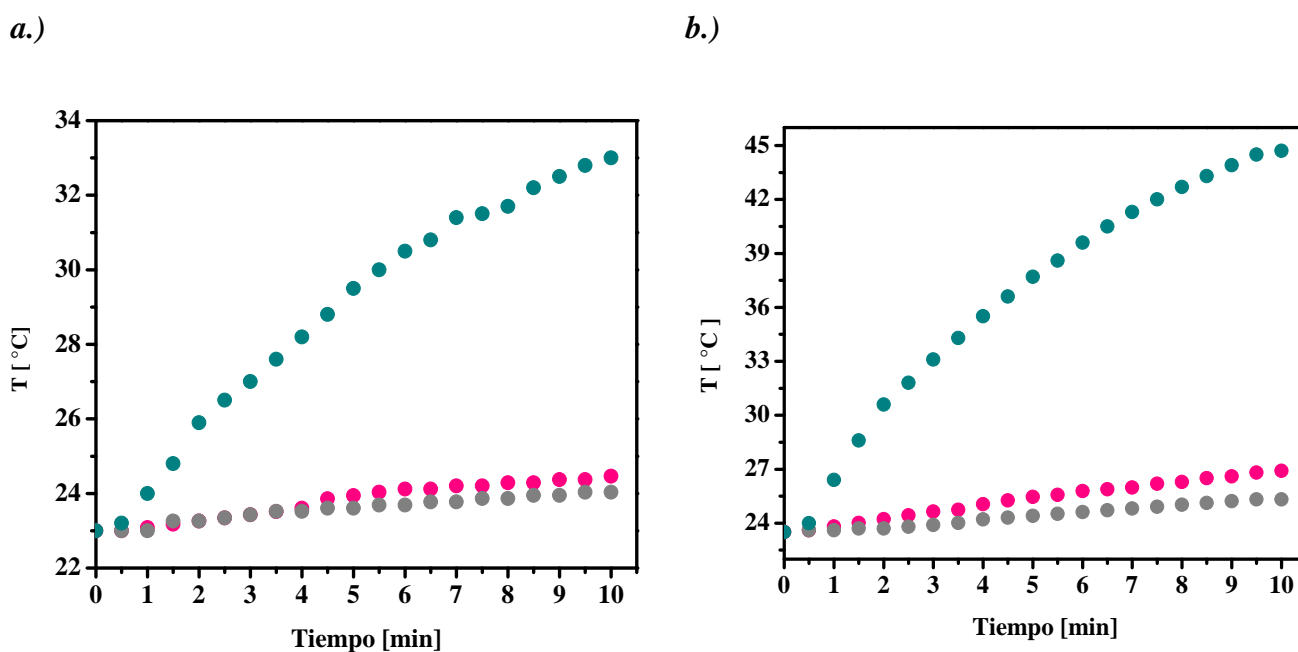


*Figura 20.* Respuestas térmicas evaluadas en medio orgánico AOT/n-heptano para: (◉) AuNP, (◉) SiO<sub>2</sub>NP (core), (◉) SiO<sub>2</sub>@AuNP vía MI (◉) SiO<sub>2</sub>@AuNP vía MII (◉) SiO<sub>2</sub>@AuNP vía MII-I y (◉) el sistema micelar AOT/n-heptano, empleando un láser de 808 nm y 400mW.

Tal como se observa en la *Figura 20*, ambas SiO<sub>2</sub>@AuNP (vía MII y MII-I) poseen una eficiencia térmica mayor, que la obtenida para AuNP y lo realizado vía MI. Dicha eficiencia puede ser atribuida a la absorción del RPS de las SiO<sub>2</sub>@AuNP en la zona IR, zona que coincide con la longitud de onda del láser utilizado para la irradiación (808 nm), también se evidencia que el sistema micelar, y las SiO<sub>2</sub>NP (*core*) no poseen una respuesta térmica significativa. A pesar de que

las AuNP muestran una respuesta térmica apreciable por la absorción que poseen, similar a como sucede vía MI, sigue siendo mejor la respuesta térmica otorgada por las NP tipo *core-shell* SiO<sub>2</sub>@AuNP (vía MII y MII-I). Para las AuNP y MI, la respuesta térmica no posee diferencias entre sí, evidenciando que en el procedimiento MI no hay formación de NP tipo *core-shell* SiO<sub>2</sub>@Au.

La respuesta térmica de las SiO<sub>2</sub>@AuNP vía MII y las SiO<sub>2</sub>NP (*core*), se evaluó en medio celular a potencias de 400 mW y 800 mW, como se muestra en la *Figura 21*.



*Figura 21.* Respuestas térmicas evaluadas en medio celular EMEM con SFB al 10% para: (°)SiO<sub>2</sub>NP (*core*), (◐) SiO<sub>2</sub>@AuNP vía MII y (◑) Medio celular EMEM con SFB al 10%, a una potencia de **a.)** 400 mW. y **b.)** 800 mW, con un láser de 808 nm.

Tal como se muestra en la *Figura 21* los  $\Delta T$  °C para las SiO<sub>2</sub>@AuNP vía MII son de  $\approx 10^\circ\text{C}$  y  $21,2^\circ\text{C}$ , a una potencia de 400 mW y 800 mW, respectivamente, lo cual indica, que al aumentar la potencia de irradiación se mejora la respuesta térmica de las NP, sin embargo, en la aplicación de estas SiO<sub>2</sub>@AuNP en el ámbito biológico, el uso de potencias altas no son tan convenientes debido a que solo por la irradiación puede existir muerte celular. La disminución de aproximadamente  $2^\circ\text{C}$  para las SiO<sub>2</sub>@AuNP vía MII en medio celular comparado con el medio orgánico, puede deberse a la pérdida de NP en los procesos de lavado con el fin de realizar la transferencia de fase al medio celular, sin embargo, las SiO<sub>2</sub>@AuNP vía MII siguen mostrando una respuesta térmica significativa para su uso biológico, en especial los primeros minutos, ya que lo ideal sería evaluar el menor tiempo posible con una buena respuesta térmica en dicho tiempo.

Estudios similares realizados por (R. Wang et al., 2016) mostraron diferencias en las propiedades ópticas de las SiO<sub>2</sub>@AuNP dadas según el crecimiento de las AuNP sobre las SiO<sub>2</sub>NP decoradas previamente con AuNP de 4 nm, en medio homogéneo acuoso, controlando la deposición de la shell mediante relaciones molares entre el citrato y el oro, encontrando que las SiO<sub>2</sub>@AuNP que tuvieran AuNP por debajo de los 20 nm (obtenidas por relaciones altas entre citrato/oro) daban corrimientos del RPS hacia el rojo ( $\lambda \approx 784$  nm), ocasionado por el acoplamiento de plasmones entre las AuNP de la superficie, adicionalmente, la eficiencia térmica de las SiO<sub>2</sub>@AuNP en solución acuosa produjo aumentos de temperatura de  $\Delta T \approx 20^\circ\text{C}$ , siendo irradiadas durante 10 min con  $3,5 \text{ W/cm}^2$  y una  $\lambda = 808$  nm. Además, la formación de SiO<sub>2</sub>@AuNP a través del tiempo, es decir la cinética mostró un desplazamiento hacia el rojo en los primeros minutos. Por lo tanto, lo obtenido mediante micelas inversas como nanoreactores muestra que son sistemas promisorios en la síntesis de nanocompuestos como las NP tipo *core-shell*.

Por los resultados obtenidos en las propiedades ópticas y fototérmicas se eligen las SiO<sub>2</sub>@AuNP sintetizadas vía MII para llevar a cabo la respectiva funcionalización con AF y los ensayos biológicos.

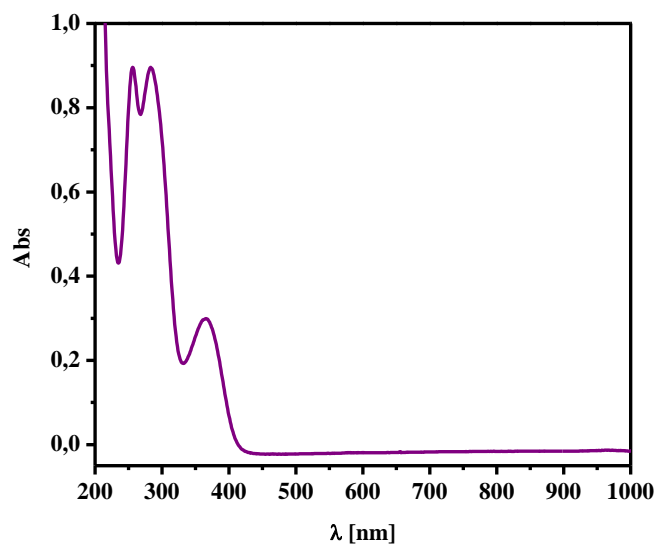
Tal como se ha mencionado anteriormente, la funcionalización de las NP es vital para la aplicación que se desean emplear, por tanto, las SiO<sub>2</sub>@AuNP sintetizadas vía MII son funcionalizadas con ácido fólico (AF) a fin de aprovechar la sobreexpresión de receptores folato en las células tipo HeLa. A continuación, se presentan los resultados correspondientes a la caracterización de dicha funcionalización.

## 7.2 Funcionalización con AF de las SiO<sub>2</sub>@AuNP

La funcionalización con AF de las SiO<sub>2</sub>@AuNP se caracterizó mediante espectroscopias de fluorescencia, FT-IR, y XPS, con el fin de observar la existencia la interacción entre el AF y las NP. Adicionalmente, se midió el ζ-potencial de las SiO<sub>2</sub>@AuNP y las SiO<sub>2</sub>@AuNP con AF, de manera que sea observable si la estabilidad de las NP aumenta o disminuye al funcionalizarse con el AF.

Las mediciones de ζ-potencial para las SiO<sub>2</sub>@AuNP y las SiO<sub>2</sub>@AuNP con AF, determinaron los valores de -17,66, y -47,23 [mV], respectivamente, de lo cual se puede destacar que la respectiva funcionalización con AF, aumenta significativamente la estabilidad de las SiO<sub>2</sub>@AuNP, por tanto, se aporta evidencia a la existencia de una interacción efectiva entre las SiO<sub>2</sub>@AuNP y el AF.

Por otro lado, mediante el espectro de absorción del ácido fólico (AF) se atribuyeron las bandas a los grupos funcionales característicos, la *Figura 22* muestra el espectro UV-Vis del AF.



*Figura 22.* Espectro de absorción UV-Vis del ácido fólico (AF) a una concentración de  $1 \cdot 10^{-3}$  M en medio básico acuoso.

Según la *Figura 22*, de acuerdo a la asignación general de bandas en el UV-Vis, el primer doblete observado será para las transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$  y la segunda banda a menor energía a transiciones  $n \rightarrow \pi^*$  teniendo en cuenta esto, se caracterizan por espectroscopia de fluorescencia las SiO<sub>2</sub>@AuNP funcionalizadas con AF como se presenta en la

*Figura 23*, donde se observa el espectro de fluorescencia desde 300 a 550 nm, para las SiO<sub>2</sub>@AuNP, las SiO<sub>2</sub>@AuNP funcionalizadas con AF, y el AF, excitando a una  $\lambda=280$  y 364 nm.

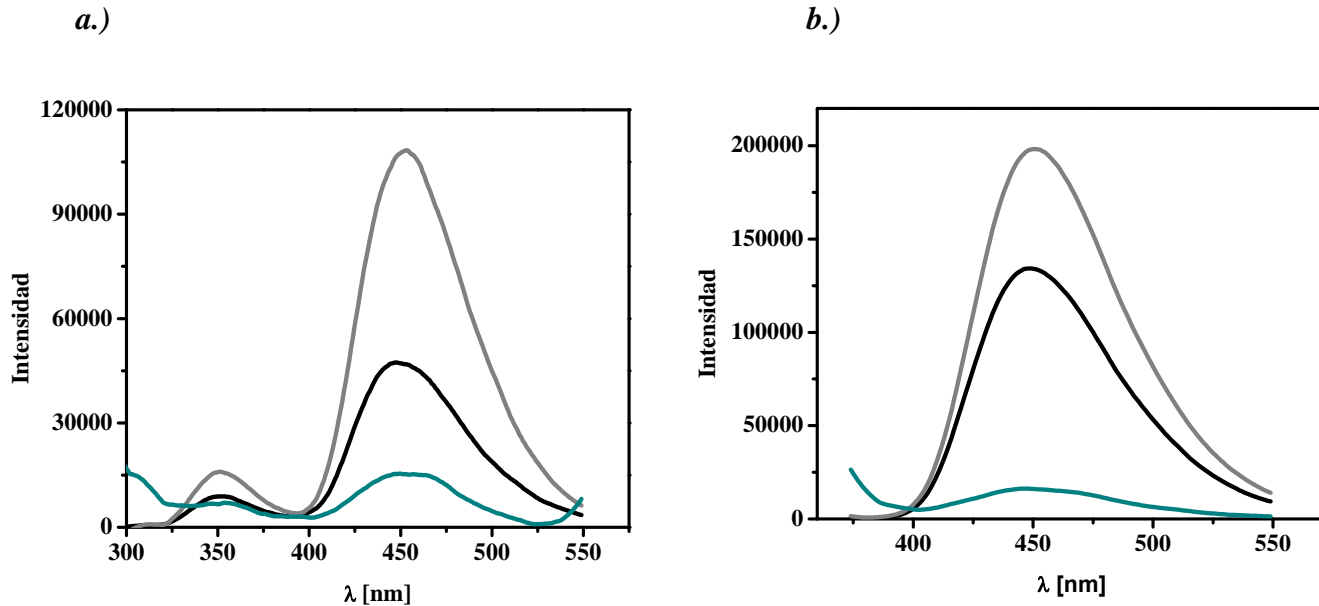


Figura 23. Espectros de fluorescencia desde 300 a 550 nm de: (●) AF, (○) SiO<sub>2</sub>NP y (◐) SiO<sub>2</sub>@AuNP vía MII para **a.)** λ<sub>ext</sub> = 280 nm **b.)** λ<sub>ext</sub> = 364 nm

Tal como se observa en la

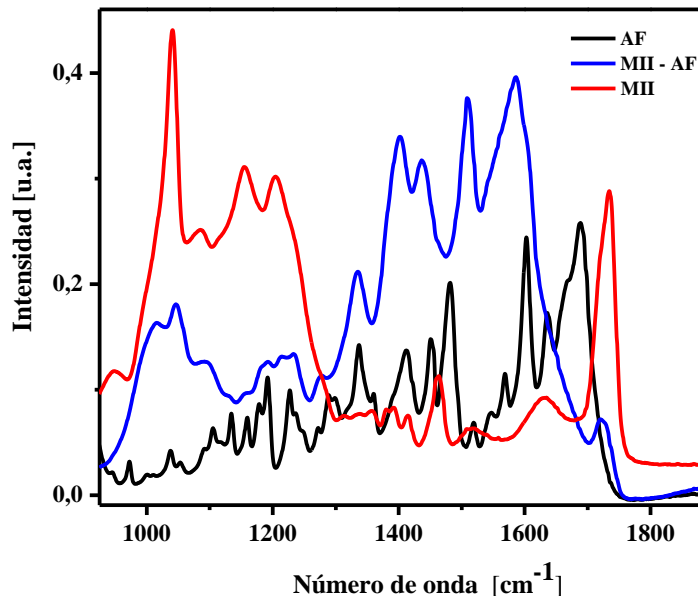
Figura 23 tanto la banda de 350 nm como la de 450 nm del AF presentan un *quenching* (inhibición) de fluorescencia en presencia de las SiO<sub>2</sub>@AuNP, mientras que el AF en presencia de SiO<sub>2</sub>NP muestra un comportamiento opuesto, en este caso un *enhanced* (aumento) de fluorescencia. El *quenching* generado por las SiO<sub>2</sub>@AuNP es muestra de una interacción entre estas NP y el AF. Algunos estudios reportados, como por ejemplo (Martínez, 2014) indicó una disminución de la emisión de fluorescencia del AF en alrededor de 475 nm al interactuar con los nanotubos de carbono (NTC), este efecto de *quenching* de una molécula en presencia de los NTC se atribuye a mecanismos de transferencia electrónica. Por otro lado, (Ortega, 2009) prepararon AuNP mediante ablación láser donde se observó *quenching* por parte de estas NP en la señal de la Rodamina, siendo útil como un sensor de mercurio, debido a que la regeneración de la

señal de fluorescencia de la Rodamina se da una vez que se pone en contacto el mercurio con las AuNP, debido a que esta especie amalgama la nanoestructura dejando libre a la especie radiactiva. Por lo anterior, se puede atribuir una interacción efectiva entre las NP y el AF. Según la asignación de las bandas del AF por absorción, el *quenching* observado por las SiO<sub>2</sub>@AuNP en la banda de emisión que presenta el AF, ( $\approx 450$  nm) es una muestra de la posible interacción de las NP por medio de los grupos heteroátomos, este *quenching* es aún más notorio cuando se excita a una  $\lambda = 364$  nm. En la primera banda de emisión ( $\approx 350$  nm) de las SiO<sub>2</sub>@AuNP funcionalizadas, se observa una leve disminución en la intensidad, es decir, un leve *quenching*, sin embargo éste no es tan significativo.

La concentración de AF se varió en las SiO<sub>2</sub>@AuNP a  $5 \cdot 10^{-5}$  M, sin realizar lavado mediante centrifugación, con el fin de tener una aproximación de la concentración de AF que realmente interactúa en la superficie de las SiO<sub>2</sub>@AuNP (Ver *Apéndice E*).

Para el caso de las SiO<sub>2</sub>NP el *enhanced* observado en la señal del AF para ambas bandas de emisión, puede atribuirse a que los óxidos de silicio dependiendo del exceso de silicio, pueden presentar propiedades como el atrapamiento de carga, transporte de portadores, fotoluminiscencia, fluorescencia y termoluminiscencia (Berman, Aceves, PETERS, Berriel, & Luna, 2000).

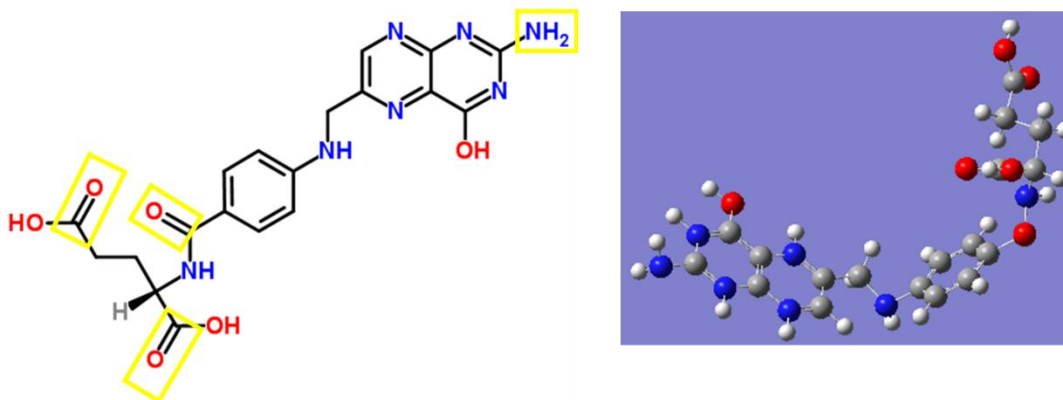
La caracterización por espectroscopia FT-IR de las SiO<sub>2</sub>@AuNP funcionalizadas con AF se presenta en la *Figura 24*, donde se observa el espectro FT-IR de las SiO<sub>2</sub>@AuNP, las SiO<sub>2</sub>@AuNP funcionalizadas con AF, y el AF.



*Figura 24.* Espectro FT-IR de: AF, SiO<sub>2</sub>@AuNP vía MII funcionalizadas con AF, y SiO<sub>2</sub>@AuNP vía MII sin AF.

Tal como se muestra en la *Figura 24*, la presencia de las bandas de mayor interés son observadas a 1689 cm<sup>-1</sup> correspondiente a la vibración del C=O del carboxilo final, 1638 cm<sup>-1</sup> al C=O del grupo amino, y 1601 cm<sup>-1</sup> a la flexión del NH<sub>2</sub>, dichas bandas son desplazadas debido a la interacción del AF con las NP. En el espectro FT-IR de las SiO<sub>2</sub>@AuNP (vía MII) funcionalizadas con AF, se observan desplazamientos a 1583 cm<sup>-1</sup> correspondiente a la vibración del C=O del carboxilo final, y a 1508 cm<sup>-1</sup> correspondiente a un solapamiento entre las bandas características de las vibraciones C=O del grupo amino, y NH<sub>2</sub>, las bandas mencionadas no son observables en el espectro FT-IR de las SiO<sub>2</sub>@AuNP (vía MII) sin funcionalizar, por ende, se atribuye una posible interacción entre las SiO<sub>2</sub>@AuNP (vía MII) con el AF, especialmente

mediante los grupos C=O y NH<sub>2</sub>, la *Figura 25* muestra la molécula de AF resaltando aquellas zonas que son claves en la interacción con las SiO<sub>2</sub>@AuNP.



*Figura 25.* Estructura molecular del ácido fólico (AF) y sus respectivas zonas de interacción con las SiO<sub>2</sub>@AuNP.

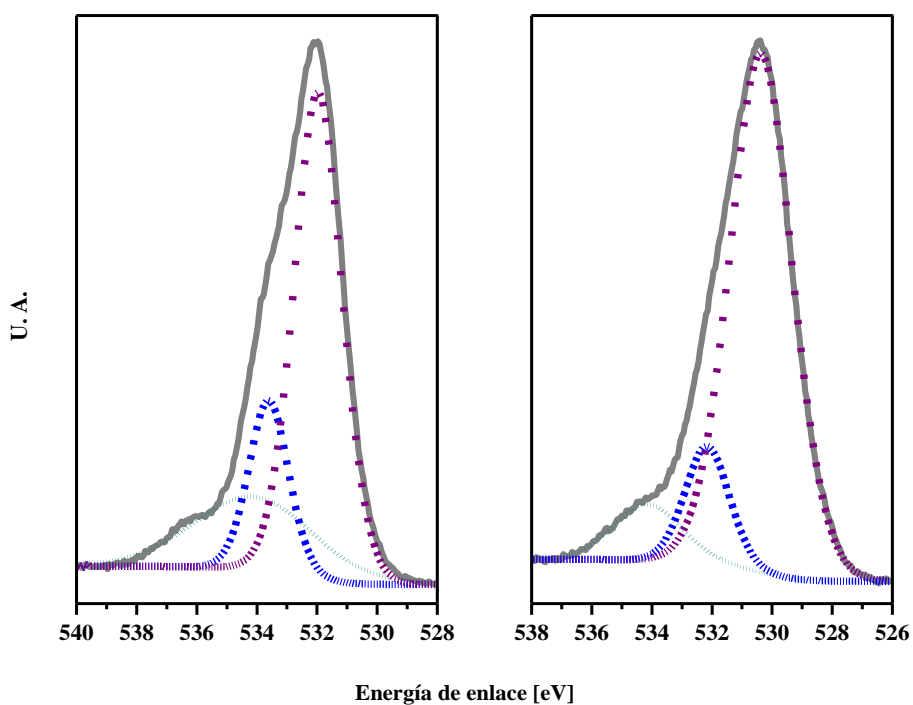
Para el AF (Santos et al., 2017) reportan que la banda que se detecta en 1694 cm<sup>-1</sup> corresponde a la vibración de estiramiento del enlace C=O del grupo carboxilo, mientras que la vibración de estiramiento del enlace C=O del grupo -CONH aparece a 1640 cm<sup>-1</sup>. Adicionalmente, la banda a 1605 cm<sup>-1</sup> pertenece a la vibración del modo de flexión de NH<sub>2</sub> mientras que la vibración de estiramiento (OH) del esqueleto de OH fenilo se revela mediante la banda a 1411 cm<sup>-1</sup>. Lo anterior presenta concordancia con lo obtenido y analizado para la funcionalización con AF de las SiO<sub>2</sub>@AuNP.

Conjunto a las caracterizaciones por fluorescencia y FT-IR, se emplea adicionalmente la espectroscopia fotoelectrónica XPS para la caracterización de las SiO<sub>2</sub>@AuNP y las SiO<sub>2</sub>@AuNP con AF, a fin de observar las energías de enlace de elementos de mayor interés de acuerdo a las

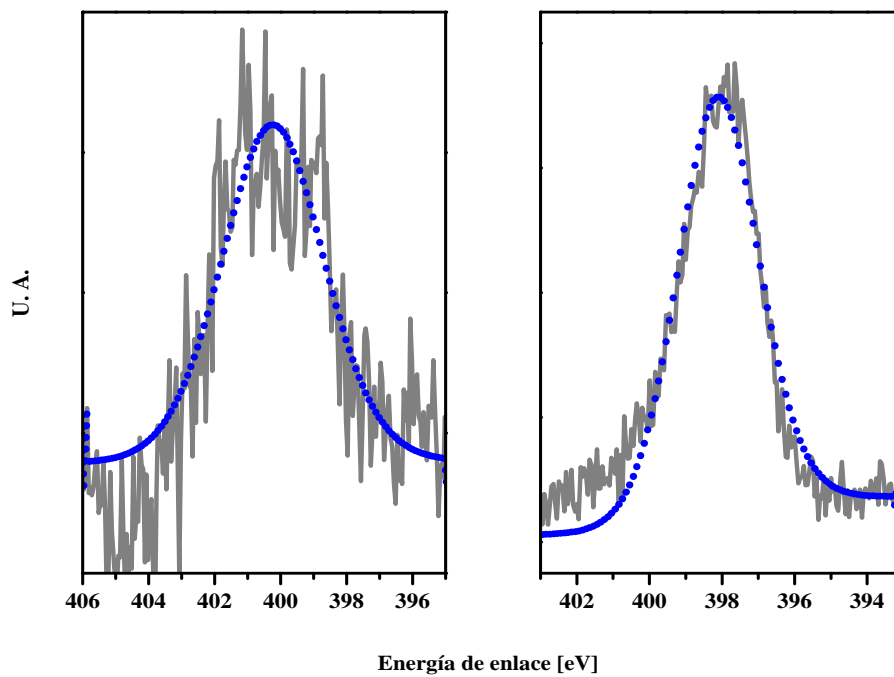
posibles interacciones entre la superficie de las NP y el AF, como lo son el nitrógeno (N), oxígeno (O) y oro (Au), los cuales de acuerdo a los valores de energía dependientes del entorno químico, es posible correlacionar interacciones entre las NP y el AF.

Por tanto, la Figura 26 presenta los espectros XPS de los elementos O *1s*, N *1s*, y Au *4f*, con sus respectivos componentes y la envolvente, para las SiO<sub>2</sub>@AuNP y las SiO<sub>2</sub>@AuNP funcionalizadas con AF.

a.)



b.)



c.)

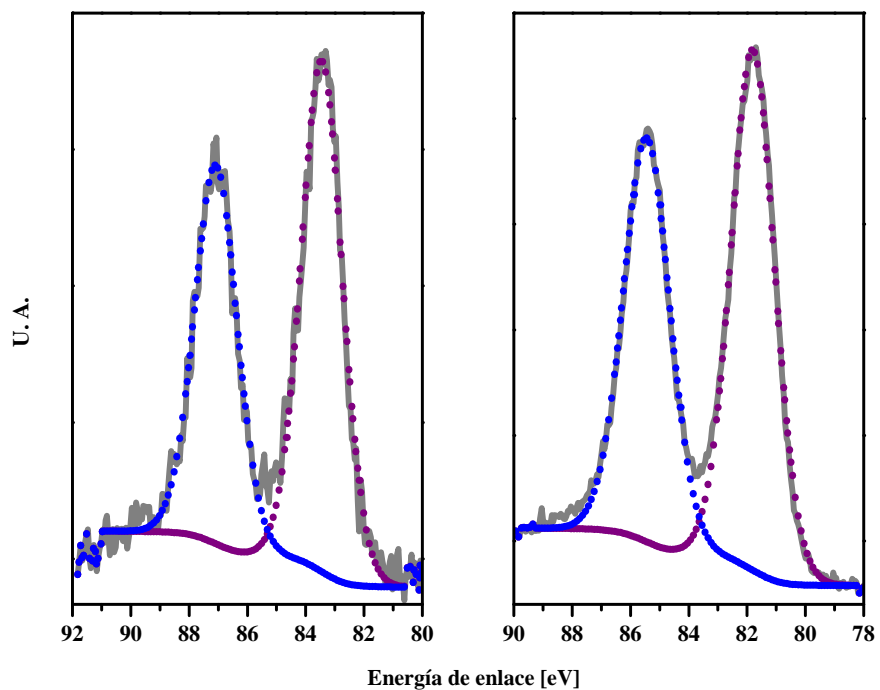


Figura 26. Espectros XPS (= Envolvente, - - - componentes) lado izquierdo SiO<sub>2</sub>@AuNP y lado derecho SiO<sub>2</sub>@AuNP con AF para: a.) O 1s b.) N 1s c.) Au 4f

De acuerdo a la *Figura 26*, al comparar los valores de las energías de enlace de las SiO<sub>2</sub>@AuNP y las SiO<sub>2</sub>@AuNP con AF, se observan desplazamientos significativos entre sí para los tres elementos O *1s*, N *1s*, y Au *4f*, en la *Tabla 4* se presentan los valores correspondientes a las energías de enlace de acuerdo a cada elemento para ambas NP.

Tabla 4. *Energías de enlace [eV] obtenidas mediante XPS con carga referenciada al pico de contaminación C 1s a 284,8 eV para las SiO<sub>2</sub>@AuNP y SiO<sub>2</sub>@AuNP con AF.*

	O <i>1s</i>			N <i>1s</i>	Au <i>4f</i>	
<b>SiO<sub>2</sub>@AuNP</b>	531,90	533,60	533,85	400,42	83,47	87,12
<b>SiO<sub>2</sub>@AuNP AF</b>	530,37	532,16	534,15	398,13	81,80	85,45

En el caso del O *1s*, las bandas encontradas para las SiO<sub>2</sub>@AuNP según la base de datos de Thermo Scientific XPS pueden corresponder a oxígenos en ambientes químicos como SiO<sub>2</sub> (531,90 [eV]), que se puede atribuir a las SiO<sub>2</sub>NP, y C-O (531,50-532,00 [eV]), C=O (533 [eV]), que se pueden atribuir a restos del surfactante AOT, comparando dichos valores con los de las SiO<sub>2</sub>@AuNP con AF se aprecian desplazamientos de estas bandas hacia 530,37 [ev] que puede sugerirse a la interacción del oxígeno del SiO<sub>2</sub> del *core* con el oro de las AuNP de la *shell*, 532,16 [eV] señal que puede estar formada por los C-O del surfactante y de las cadenas del AF y 534,15 [eV] que puede atribuirse a una interacción entre las SiO<sub>2</sub>@AuNP con los oxígenos de los carbonilos presentes en el AF. Para AuNP funcionalizadas con AF (Li et al., 2009) reportaron un valor de 533 [eV] para el O *1s*, por tanto se correlaciona con lo obtenido para la interacción de las SiO<sub>2</sub>@AuNP con el AF.

Para el N *1s*, se puede observar en las SiO<sub>2</sub>@AuNP que la banda presente a 400,42 [eV] puede corresponder a nitrógenos en ambientes químicos como C-NH<sub>2</sub> (400,00 [eV]) según la base de datos de Thermo Scientific, ésta señal puede ser atribuida a los grupos aminos superficiales en las SiO<sub>2</sub>NP, y para las SiO<sub>2</sub>@AuNP con AF la banda a 398,13 [eV], puede corresponder a nitrógenos en ambientes químicos con metales, por ende, puede ser atribuida a una interacción de las SiO<sub>2</sub>@AuNP con los nitrógenos de los grupos amino presentes en el AF. De manera similar (Li et al., 2009) AuNP funcionalizadas con AF el N *1s* presenta una señal a 398 [eV]. Por tanto, se puede correlacionar con la interacción entre las SiO<sub>2</sub>@AuNP y el AF.

Seguido a esto, para el Au *4f*, se puede observar en las NP que el doblete presente es correspondiente al Au *4f*<sub>7/2</sub> y Au *4f*<sub>5/2</sub>. Los valores de energía de enlace obtenidos para las SiO<sub>2</sub>@AuNP (83,47 y 87,12 [eV]), son atribuidos según la base de datos de Thermo Scientific a las especies de Au<sup>0</sup> presentes en las AuNP de la *shell*, para las SiO<sub>2</sub>@AuNP con AF las bandas *4f*<sub>7/2</sub> y Au *4f*<sub>5/2</sub> se presentan a 81,80 y 85,45 [eV], observándose un desplazamiento que puede ser ocasionado por la interacción de las AuNP con el AF, puesto que según la base de datos de Thermo Scientific dichos valores de energía pueden corresponder a oro en ambientes químicos tales como oro con oxígeno (80,80 [eV]) y oro con nitrógeno (84,50 [eV]), sin embargo la señal a 84,50 [eV] también puede corresponder a interacción de oro con oxígeno, puesto que (Epling, Hoflund, Weaver, Tsubota, & Haruta, 1996) reportan para el Au una banda a 85,90 [eV] correspondiente a un ambiente químico de Au<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, por tanto, el desplazamiento de las bandas para el Au *4f*, puede ser atribuido a una interacción entre las SiO<sub>2</sub>@AuNP con los nitrógenos de los grupos amino y los oxígenos de los carboxilos presentes en el AF.

Consecuentemente, mediante XPS se podría indicar una interacción entre las SiO<sub>2</sub>@AuNP con AF, sugiriéndose que tanto el grupo amino como los grupos carboxilo de la molécula de AF

serían los responsables de los desplazamientos observados con respecto a las SiO<sub>2</sub>@AuNP sin funcionalizar, tanto para el O *1s*, N *1s* y Au *4f*. Los elementos de C *1s*, Si *2p*, Na *1s* y S *2p*, también fueron detectados para las SiO<sub>2</sub>@AuNP y SiO<sub>2</sub>@AuNP con AF, evidenciando desplazamiento en los valores de energía, lo cual puede ser ocasionado por el cambio de entorno químico en la superficie de las SiO<sub>2</sub>@AuNP al interactuar con el AF (Ver *Apéndice F*). Los elementos Na *1s* y S *2p* se atribuyen a especies presentes en restos del surfactante AOT.

De acuerdo a los resultados obtenidos mediante las caracterizaciones realizadas empleando la espectroscopia de fluorescencia, FT-IR, y XPS, se puede indicar una interacción entre las SiO<sub>2</sub>@AuNP y el AF, por tanto, una funcionalización de las SiO<sub>2</sub>@AuNP con AF.

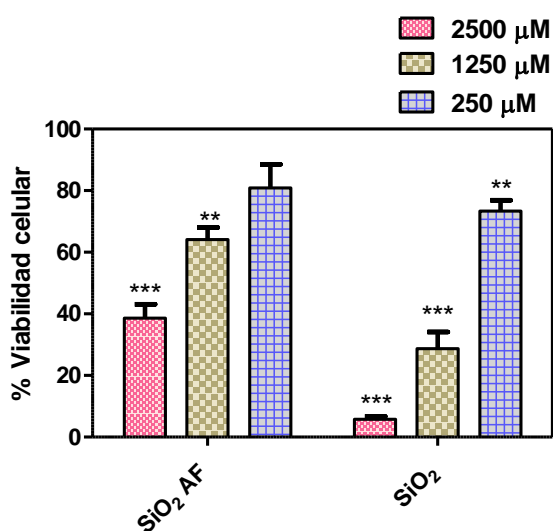
La importancia de una adecuada funcionalización radica en la aplicación de las NP, por tanto, en las aplicaciones biológicas como tratamientos del cáncer, tener una funcionalización con moléculas biocompatibles se hace de vital importancia. Actualmente, el mayor reto que se presenta con los tratamientos actuales, es la selectividad de los compuestos hacia solo las células cancerosas. Por tanto, el emplear moléculas como el AF, permite aumentar la citocompatibilidad de las NP, adicionalmente en líneas celulares como las HeLa el uso del AF puede ser aprovechado debido a la sobreexpresión de receptores folato, induciendo selectividad hacia estas células. A continuación, se presentan los resultados obtenidos para la citotoxicidad de las SiO<sub>2</sub>NP (*core*) y las SiO<sub>2</sub>@AuNP sintetizadas.

### **7.3 Citotoxicidad en células tipo HeLa de las SiO<sub>2</sub>NP (*core*) y SiO<sub>2</sub>@AuNP**

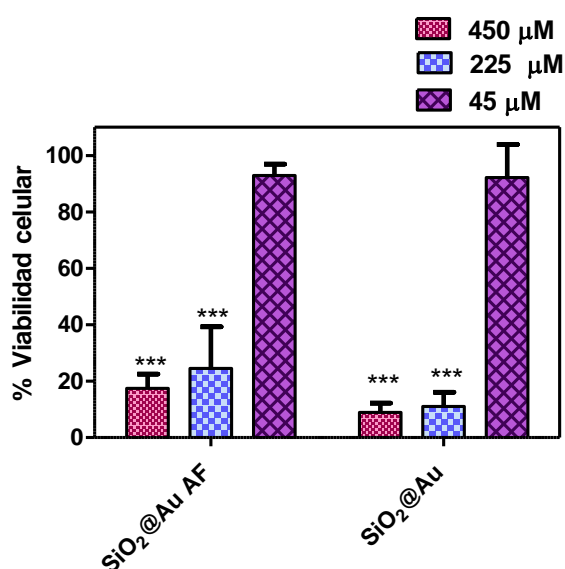
La evaluación fototérmica de NP en sistemas biológicos requiere que previamente se observe la citotoxicidad de las NP en la respectiva línea celular, ya que si son tóxicas no podrían ser aplicadas

en una terapia fototérmica contra el cáncer. Por tanto, la evaluación citotóxica de las SiO<sub>2</sub>NP (*core*) y las SiO<sub>2</sub>@AuNP sin y con funcionalización de AF en células tipo HeLa, se presenta en la *Figura 27*, donde se muestra la viabilidad celular para las concentraciones evaluadas según cada tipo de NP, siendo para las SiO<sub>2</sub>NP (*core*) 2500 μM, 1250 μM y 250 μM, y para las SiO<sub>2</sub>@AuNP 450 μM, 225 μM, y 45 μM.

a.)



b.)



*Figura 27.* Viabilidad celular en células tipo HeLa evaluando: **a.)** SiO<sub>2</sub>NP (*core*) sin y con funcionalización de AF a 2500, 1250 y 250 μM. y **b.)** SiO<sub>2</sub>@AuNP sin y con funcionalización de AF a 450, 225, y 45 μM.

Tal como muestra *Figura 27*, las SiO<sub>2</sub>NP (*core*) y las SiO<sub>2</sub>@AuNP presentan una citotoxicidad significativa, sin embargo, el % de viabilidad celular es mayor cuando las NP se encuentran funcionalizadas con AF, es decir, el AF por ser una molécula biocompatible disminuye

la toxicidad que pueden presentar las NP evaluadas. En el caso de la menor concentración (250  $\mu\text{M}$  para las SiO<sub>2</sub>NP (*core*) y 45  $\mu\text{M}$  para las SiO<sub>2</sub>@AuNP) solo las SiO<sub>2</sub>NP (*core*) sin funcionalizar presentan una citotoxicidad significativa, por el contrario, las SiO<sub>2</sub>@AuNP con y sin AF solo disminuyen la viabilidad celular en un 7%, es decir que las AuNP (que se encuentran en la *shell* para este caso) a bajas concentraciones no presentan ninguna citotoxicidad, razón por la cual, a esa concentración no hay diferencia significativa entre aquellas NP que están funcionalizadas y las que no lo están. Según lo reportado en la literatura, (Fisichella et al., 2009) evaluaron la citotoxicidad de SiO<sub>2</sub>NP con funcionalización de APTES (de  $\approx 200$  nm) en células tipo HeLa revelando mediante el método de MTT (Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio) que la viabilidad celular disminuye en un 50% a una concentración de 50  $\mu\text{g/mL}$  ( $\approx 850$   $\mu\text{M}$ ) durante 4 horas de tratamiento, por otro lado, (Cardoso Avila et al., 2017) encontraron que la citotoxicidad de las AuNP modificadas con cisteamina en la superficie, en células tipo HeLa, a 24 horas, y empleando el método azul de Tripán, no mostraron muerte celular para concentraciones por debajo de 38  $\mu\text{M}$ .

Por tanto, se puede indicar que las concentraciones bajas de acuerdo a cada tipo de las NP evaluadas (SiO<sub>2</sub>NP (*core*) 250  $\mu\text{M}$ , y para las SiO<sub>2</sub>@AuNP 45  $\mu\text{M}$ ) no comprometen la viabilidad celular por citotoxicidad, además se destaca el aumento en viabilidad celular que otorga la funcionalización con AF, es decir, un aumento en la biocompatibilidad de las NP evaluadas con las células tipo HeLa.

## 8. Conclusión

En el presente trabajo de investigación se llevó a cabo la síntesis de SiO<sub>2</sub>NP, AuNP, y SiO<sub>2</sub>@AuNP empleando MIs como nanoreactores conformadas por el surfactante AOT y como fase continua solvente n-heptano, a una concentración 0,1 M. Se obtuvieron SiO<sub>2</sub>NP con diferentes tamaños observando que la relación entre los precursores [NH<sub>4</sub>OH/TEOS], favorece mayores tamaños cuando la relación es mayor. La caracterización de las SiO<sub>2</sub>NP mediante las técnicas de DLS, FT-IR, SEM, y TEM evidenciaron la formación de las SiO<sub>2</sub>NP. Para la deposición de AuNP sobre la superficie de las SiO<sub>2</sub>NP, se realizó una funcionalización con APTES, la cual permite grupos amino en la superficie, lo cual fue evidenciado mediante FT-IR.

A fin de comparar las propiedades ópticas y fototérmicas de las SiO<sub>2</sub>@AuNP se sintetizaron AuNP las cuales obtuvieron un PSR de  $\lambda \approx 518$  nm, con un tamaño de  $10 \pm 5$  nm.

El procedimiento de síntesis MII permitió la formación de SiO<sub>2</sub>@AuNP con un *core* de  $182 \pm 66$  nm, por el aporte que puede generar el *core* en el desplazamiento del RPS, dicha metodología presentó un desplazamiento del RPS hacia zonas del NIR ( $\lambda \approx 775$  nm) y un mayor aumento de temperatura ( $\Delta T \approx 12$  °C) respecto a la solución de solo AuNP ( $\Delta T \approx 6$  °C), al estar expuestas a un láser de 808 nm.

Se obtuvieron SiO<sub>2</sub>@AuNP con una mayor deposición de AuNP sobre la superficie de las SiO<sub>2</sub>NP (*core*) modificando el procedimiento MII, sin embargo, a pesar de que se forman

SiO<sub>2</sub>@AuNP al tener un *shell* más gruesa no se pueden evidenciar corrimientos significativos en el RPS ( $\lambda \approx 525$  nm).

La funcionalización de las SiO<sub>2</sub>@AuNP con AF se estudió por las espectroscopias de fluorescencia, FTIR, y XPS, y se deduce una interacción entre las SiO<sub>2</sub>@AuNP y el AF. Además, se evidencia que la funcionalización disminuye los efectos citotóxicos de las NP en células tipo HeLa, sin embargo a concentraciones por debajo de 45  $\mu$ M para las SiO<sub>2</sub>@AuNP, no se observa citotoxicidad por parte de estas aun sin funcionalizar.

Finalmente, los sistemas de MIs mostraron ser eficientes en la síntesis de SiO<sub>2</sub>NP, AuNP, y SiO<sub>2</sub>@AuNP, permitiendo la formación de las NP a temperatura ambiente y presión atmosférica, además permitiendo la realización de reacciones que en medio homogéneo serian improbables de realizar, como por ejemplo la reacción de TEOS, y APTES con el NH<sub>4</sub>OH, ya que al poseer solubilidades opuestas no se permitiría su reacción directa, sin embargo, las MIs permiten llevarla a cabo aprovechando la interface micelar. Por tanto, las MIs muestran ser sistemas promisorios para la síntesis de nanocompuestos con propiedades fisicoquímicas mejoradas y a condiciones de trabajo más sencillas.

## 9. Recomendaciones

Se recomienda inicialmente establecer los parámetros máximos de trabajo para las MIs a fin de evitar la ruptura de estos sistemas o la desestabilización de los mismos. Los viales de trabajo

deben estar en completamente limpios debido a que las trazas de SiO<sub>2</sub>NP, AuNP, y SiO<sub>2</sub>@AuNP que permanecen se convierten en contaminantes para posteriores síntesis.

Las técnicas de fluorescencia, FTIR y XPS sugieren una evidencia de la interacción entre las SiO<sub>2</sub>@AuNP<sub>s</sub> y el AF, sin embargo se recomienda complementar con técnicas como espectroscopia RAMAN y RMN.

Adicionalmente, se recomienda usar la concentración más baja para las SiO<sub>2</sub>@AuNP como la apropiada para ser evaluada en los estudios de muerte celular por irradiación en células HeLa, ya que sería observable solo los cambios asociados al efecto fototérmico y no los generados por citotoxicidad.

### Referencias bibliográficas

- Åkerman, M. E., Chan, W. C. W., Laakkonen, P., Bhatia, S. N., & Ruoslahti, E. (2002). Nanocrystal targeting in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(20), 12617-12621. doi: 10.1073/pnas.152463399
- Alicante, U. d. (2017). Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X. España. Recuperado de: <https://ssti.ua.es/es/instrumentacion-cientifica/unidad-de-rayos-x/espectroscopia-fotoelectronica-de-rayos-x.html>
- Araujo, C., Onega, G., Ponce, S., & Martínez, R. (2000). Análisis de las reacciones de hidrólisis y condensación en muestras de sílica xerogeles usando espectroscopía infrarroja. *Revista Mexicana de Física*, 46.
- Arriagada, F. J., & Osseo-Asare, K. (1995). Synthesis of Nanosize Silica in Aerosol OT Reverse Microemulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 170(1), 8-17. doi: <http://dx.doi.org/10.1006/jcis.1995.1064>
- Asaf Kleopas, S., Diwakar, S., Heeres, H. J., & Anurag, M. (2007). CaCO<sub>3</sub> nanoparticle synthesis by carbonation of lime solution in microemulsion systems. *Nanotechnology*, 18(3), 035607.
- Atkins, P. W., & Jones, L. (2006). *Principios de química: los caminos del descubrimiento*: Médica Panamericana.
- Ayala-Orozco, C., Urban, C., Knight, M. W., Urban, A. S., Neumann, O., Bishnoi, S. W., Joshi, A. (2014). Au Nanomatryoshkas as Efficient Near-Infrared Photothermal Transducers for Cancer Treatment: Benchmarking against Nanoshells. *ACS Nano*, 8(6), 6372-6381. doi: 10.1021/nn501871d

- Bardhan, R., Lal, S., Joshi, A., & Halas, N. J. (2011). Theranostic Nanoshells: From Probe Design to Imaging and Treatment of Cancer. *Accounts of Chemical Research*, 44(10), 936-946. doi: 10.1021/ar200023x
- Bardhan, R., Mukherjee, S., Mirin, N. A., Levit, S. D., Nordlander, P., & Halas, N. J. (2010). Nanosphere-in-a-Nanoshell: A Simple Nanomatryushka. *The Journal of Physical Chemistry C*, 114(16), 7378-7383. doi: 10.1021/jp9095387
- Berman, D., Aceves, M., PETERS, M., Berriel, L., & Luna, J. (2000). Fluorescencia y termoluminiscencia en películas de Oxido de Silicio Rico en Silicio. Recuperado de: [http://www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/\\_Public/40/106/40106617.pdf](http://www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/_Public/40/106/40106617.pdf)
- Cardoso Avila, P. E., Rangel Mendoza, A., Pichardo Molina, J. L., Flores Villavicencio, L. L., Castruita Dominguez, J. P., Chilakapati, M. K., & Sabanero Lopez, M. (2017). Biological response of HeLa cells to gold nanoparticles coated with organic molecules. *Toxicology in Vitro*, 42, 114-122. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2017.04.013>
- Cornejo, D., Sanchez, J., Rojas, J., & Herrera, J. (2009). Nanoesferas monodispersas de SiO<sub>2</sub>: síntesis controlada y caracterización. *Superficies y Vacío*. 22(3) 44-48 Recuperado de: [http://smcsyv.fis.cinvestav.mx/supyvac/22\\_3/SV2234409.pdf](http://smcsyv.fis.cinvestav.mx/supyvac/22_3/SV2234409.pdf)
- Chen, D., Liu, S., Li, J., Zhao, N., Shi, C., Du, X., & Sheng, J. (2009). Nanometre Ni and core/shell Ni/Au nanoparticles with controllable dimensions synthesized in reverse microemulsion. *Journal of Alloys and Compounds*, 475(1-2), 494-500. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2008.07.115>
- Chen, R.-J., Chen, P.-C., Prasannan, A., Vinayagam, J., Huang, C.-C., Chou, P.-Y., Lin, S.-Y. (2016). Formation of gold decorated porphyrin nanoparticles and evaluation of their

- photothermal and photodynamic activity. *Materials Science and Engineering: C*, *63*, 678-685. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2016.03.034>
- Chung, S.-H., Lee, D.-W., Kim, M.-S., & Lee, K.-Y. (2011). The synthesis of silica and silica-ceria, core-shell nanoparticles in a water-in-oil (W/O) microemulsion composed of heptane and water with the binary surfactants AOT and NP-5. *Journal of Colloid and Interface Science*, *355*(1), 70-75. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2010.12.009>
- Domingo, P. A. S. (2010). *La nanotecnología*: Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid, España. Editorial CSIC.
- Epling, W. S., Hoflund, G. B., Weaver, J. F., Tsubota, S., & Haruta, M. (1996). Surface Characterization Study of Au/ $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and Au/Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Low-Temperature CO Oxidation Catalysts. *The Journal of Physical Chemistry*, *100*(23), 9929-9934. doi: 10.1021/jp960593t
- Estelrich, J. P., M. (1991). *La espectroscopía de correlación fotónica y sus aplicaciones, Industria farmacéutica: Equipos, procesos y tecnología*. Madrid, España.
- Fischella, M., Dabboue, H., Bhattacharyya, S., Saboungi, M.-L., Salvétat, J.-P., Hevor, T., & Guerin, M. (2009). Mesoporous silica nanoparticles enhance MTT formazan exocytosis in HeLa cells and astrocytes. *Toxicology in Vitro*, *23*(4), 697-703. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tiv.2009.02.007>
- Francisco, J., Garcia, V., & Moreno, L. (2008). Plasmones superficiales. *Investigación y ciencia*. pp 68-76. Recuperado de: <http://www.investigacionyciencia.es/files/8619.pdf>
- Ghoroghchian, P. P., Therien, M. J., & Hammer, D. A. (2009). In vivo fluorescence imaging: a personal perspective. *Wiley interdisciplinary reviews. Nanomedicine and nanobiotechnology*, *1*(2), 156-167. doi: 10.1002/wnan.7

- Ghosh Chaudhuri, R., & Paria, S. (2012). Core/Shell Nanoparticles: Classes, Properties, Synthesis Mechanisms, Characterization, and Applications. *Chemical Reviews*, 112(4), 2373-2433. doi: 10.1021/cr100449n
- Glazer, E. S., & Curley, S. A. (2011). The Ongoing History of Thermal Therapy for Cancer. *Surgical oncology clinics of North America*, 20(2), 229-235. doi: 10.1016/j.soc.2010.11.001
- Granmayeh Rad, A., Abbasi, H., & Afzali, M. H. (2011). Gold Nanoparticles: Synthesising, Characterizing and Reviewing Novel Application in Recent Years. *Physics Procedia*, 22, 203-208. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phpro.2011.11.032>
- Guerrero-Martínez, A., Pérez-Juste, J., & Liz-Marzán, L. M. (2010). Recent Progress on Silica Coating of Nanoparticles and Related Nanomaterials. *Advanced Materials*, 22(11), 1182-1195. doi: 10.1002/adma.200901263
- Gutiérrez-Becerra, A., Barcena-Soto, M., Soto, V., Arellano-Ceja, J., Casillas, N., Prévost, S., . . . Escalante, J. I. (2012). Structure of reverse microemulsion-templated metal hexacyanoferrate nanoparticles. *Nanoscale Research Letters*, 7(1), 83-83. doi: 10.1186/1556-276x-7-83
- Han, W., Yi, L., Zhao, N., Tang, A., Gao, M., & Tang, Z. (2008). Synthesis and Shape-Tailoring of Copper Sulfide/Indium Sulfide-Based Nanocrystals. *Journal of the American Chemical Society*, 130(39), 13152-13161. doi: 10.1021/ja8046393
- Hernández, L. H., & Pérez, C. G. (2002). *Introducción al análisis instrumental*: Ariel.
- Hirsch, L. R., Stafford, R. J., Bankson, J. A., Sershen, S. R., Rivera, B., Price, R. E., . . . West, J. L. (2003). Nanoshell-mediated near-infrared thermal therapy of tumors under magnetic

- resonance guidance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *100*(23), 13549-13554. doi: 10.1073/pnas.2232479100
- Huang, X., El-Sayed, I. H., Qian, W., & El-Sayed, M. A. (2006). Cancer Cell Imaging and Photothermal Therapy in the Near-Infrared Region by Using Gold Nanorods. *Journal of the American Chemical Society*, *128*(6), 2115-2120. doi: 10.1021/ja057254a
- Husein, M. M., Rodil, E., & Vera, J. H. (2005). A novel method for the preparation of silver chloride nanoparticles starting from their solid powder using microemulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, *288*(2), 457-467. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2005.03.023>
- Jain, P. K., Huang, X., El-Sayed, I. H., & El-Sayed, M. A. (2008). Noble Metals on the Nanoscale: Optical and Photothermal Properties and Some Applications in Imaging, Sensing, Biology, and Medicine. *Accounts of Chemical Research*, *41*(12), 1578-1586. doi: 10.1021/ar7002804
- Jaque, D., Martinez Maestro, L., del Rosal, B., Haro-Gonzalez, P., Benayas, A., Plaza, J. L., Garcia Sole, J. (2014). Nanoparticles for photothermal therapies. *Nanoscale*, *6*(16), 9494-9530. doi: 10.1039/c4nr00708e
- Jeong, U., Joo, J. B., & Kim, Y. (2015). Au nanoparticle-embedded SiO<sub>2</sub>-Au@SiO<sub>2</sub> catalysts with improved catalytic activity, enhanced stability to metal sintering and excellent recyclability. *RSC Advances*, *5*(69), 55608-55618. doi: 10.1039/c5ra07175e
- Jørgensen, J. T., Norregaard, K., Tian, P., Bendix, P. M., Kjaer, A., & Oddershede, L. B. (2016). Single Particle and PET-based Platform for Identifying Optimal Plasmonic Nano-Heaters for Photothermal Cancer Therapy. *Scientific Reports*, *6*, 30076. doi: 10.1038/srep30076

- Kharissova, O. V., Kharisov, B. I., Jimenez-Perez, V. M., Munoz Flores, B., & Ortiz Mendez, U. (2013). Ultrasmall particles and nanocomposites: state of the art. *RSC Advances*, 3(45), 22648-22682. doi: 10.1039/c3ra43418d
- Koshima, H., Ojima, N., & Uchimoto, H. (2009). Mechanical Motion of Azobenzene Crystals upon Photoirradiation. *Journal of the American Chemical Society*, 131(20), 6890-6891. doi: 10.1021/ja8098596
- Law, W.-C., Yong, K.-T., Roy, I., Xu, G., Ding, H., Bergey, E. J., Prasad, P. N. (2008). Optically and Magnetically Doped Organically Modified Silica Nanoparticles as Efficient Magnetically Guided Biomarkers for Two-Photon Imaging of Live Cancer Cells. *The Journal of Physical Chemistry C*, 112(21), 7972-7977. doi: 10.1021/jp712090y
- Li, G., Li, D., Zhang, L., Zhai, J., & Wang, E. (2009). One-Step Synthesis of Folic Acid Protected Gold Nanoparticles and Their Receptor-Mediated Intracellular Uptake. *Chemistry – A European Journal*, 15(38), 9868-9873. doi: 10.1002/chem.200900914
- Lisiecki, I., & Pileni, M. P. (1995). Copper Metallic Particles Synthesized "in Situ" in Reverse Micelles: Influence of Various Parameters on the Size of the Particles. *The Journal of Physical Chemistry*, 99(14), 5077-5082. doi: 10.1021/j100014a030
- Liu, B. R., Huang, Y.-W., Chiang, H.-J., & Lee, H.-J. (2010). Cell-Penetrating Peptide-Functionized Quantum Dots for Intracellular Delivery. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 10(12), 7897-7905.
- Liu, G., Swierczewska, M., Lee, S., & Chen, X. (2010). Functional Nanoparticles For Molecular Imaging Guided Gene Delivery. *Nano today*, 5(6), 524-539. doi: 10.1016/j.nantod.2010.10.005

- Loo, C., Lin, A., Hirsch, L., Lee, M.-H., Barton, J., Halas, N., . . . Drezek, R. (2004). Nanoshell-Enabled Photonics-Based Imaging and Therapy of Cancer. *Technology in Cancer Research & Treatment*, 3(1), 33-40. doi: 10.1177/153303460400300104
- Maestro, L. M., Camarillo, E., Sanchez-Gil, J. A., Rodriguez-Oliveros, R., Ramiro-Bargueno, J., Caamano, A. J., Jaque, D. (2014). Gold nanorods for optimized photothermal therapy: the influence of irradiating in the first and second biological windows. *RSC Advances*, 4(96), 54122-54129. doi: 10.1039/c4ra08956a
- Martínez, F. (2014). Calentamiento por Fotoactivación de NanoTubos de Carbono de pared simple Funcionalizados con Ácido Fólico (NTC-AF). *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 38 (41.):152-66. Recuperado de: <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/download/161/71>
- Moran, P. D., Bowmaker, G. A., Cooney, R. P., Bartlett, J. R., & Woolfrey, J. L. (1995). Vibrational spectra of metal salts of bis(2-ethylhexyl)sulfosuccinate (AOT). [10.1039/JM9950500295]. *Journal of Materials Chemistry*, 5(2), 295-302. doi: 10.1039/jm9950500295
- N. Sanchez-Dominguez, C., L. Gallardo-Blanco, H., A. Rodriguez-Rodriguez, A., V. Vela-Gonzalez, A., & Sanchez-Dominguez, M. (2014). Nanoparticles vs Cancer: A Multifunctional Tool. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 14(5), 664-675.
- Nagarajan, S., & Yong, Z. (2008). Use of Core/Shell Structured Nanoparticles for Biomedical Applications. *Recent Patents on Biomedical Engineering (Discontinued)*, 1(1), 34-42. doi: <http://dx.doi.org/10.2174/1874764710801010034>
- Nikabadi, H. R., Shahtahmasebi, N., Rokn-Abadi, M. R., Mohagheghi, M. M. B., & Goharshadi, E. K. (2013). Gradual growth of gold nanoseeds on silica for SiO<sub>2</sub>@gold homogeneous

- nano core/shell applications by the chemical reduction method. *Physica Scripta*, 87(2), 025802.
- Oldenburg, S. J., Averitt, R. D., Westcott, S. L., & Halas, N. J. (1998). Nanoengineering of optical resonances. *Chemical Physics Letters*, 288(2), 243-247. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0009-2614\(98\)00277-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0009-2614(98)00277-2)
- Ortega, M. A., Echevarría, L., Castillo, J., & Fernández, A. (2009). Sensor de mercurio basado en nanopartículas coloidales de oro. Recuperado de: [https://www.researchgate.net/publication/228689919\\_Sensor\\_de\\_mercurio\\_basado\\_en\\_nanoparticulas\\_coloidales\\_de\\_oro](https://www.researchgate.net/publication/228689919_Sensor_de_mercurio_basado_en_nanoparticulas_coloidales_de_oro)
- Pelaz, B., Alexiou, C., Alvarez-Puebla, R. A., Alves, F., Andrews, A. M., Ashraf, S., . . . Parak, W. J. (2017). Diverse Applications of Nanomedicine. *ACS Nano*, 11(3), 2313-2381. doi: 10.1021/acsnano.6b06040
- Pham, T. A., Kumar, N. A., & Jeong, Y. T. (2010). Facile preparation of boronic acid functionalized Fe-core/Au-shell magnetic nanoparticles for covalent immobilization of adenosine. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 370(1), 95-101. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2010.08.053>
- Pileni, M. P., Motte, L., & Petit, C. (1992). Synthesis of cadmium sulfide in situ in reverse micelles: influence of the preparation modes on size, polydispersity, and photochemical reactions. *Chemistry of Materials*, 4(2), 338-345. doi: 10.1021/cm00020a021
- Poole, C. P., & Owens, F. J. (2007). *Introducción a la nanotecnología*: Editorial Reverté.
- Priyanto, U., Sakanishi, K., Okuma, O., & Mochida, I. (2001). Catalytic Activity of FeMoNi Ternary Sulfide Supported on a Nanoparticulate Carbon in the Liquefaction of Indonesian

- Coals. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 40(3), 774-780. doi: 10.1021/ie000432i
- Qian, X., Peng, X.-H., Ansari, D. O., Yin-Goen, Q., Chen, G. Z., Shin, D. M., . . . Nie, S. (2008). In vivo tumor targeting and spectroscopic detection with surface-enhanced Raman nanoparticle tags. *Nat Biotech*, 26(1), 83-90. doi: [http://www.nature.com/nbt/journal/v26/n1/supinfo/nbt1377\\_S1.html](http://www.nature.com/nbt/journal/v26/n1/supinfo/nbt1377_S1.html)
- Radi, A., Pradhan, D., Sohn, Y., & Leung, K. T. (2010). Nanoscale Shape and Size Control of Cubic, Cuboctahedral, and Octahedral Cu–Cu<sub>2</sub>O Core–Shell Nanoparticles on Si(100) by One-Step, Templateless, Capping-Agent-Free Electrodeposition. *ACS Nano*, 4(3), 1553-1560. doi: 10.1021/nn100023h
- Sabín Fernández, J. D. (2007). *Estabilidad coloidal de nanoestructuras liposómicas*. (Tesis de doctorado). Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España.
- Santos, C., Gomes, P., Duarte, J. A., Almeida, M. M., Costa, M. E. V., & Fernandes, M. H. (2017). Development of hydroxyapatite nanoparticles loaded with folic acid to induce osteoblastic differentiation. *International Journal of Pharmaceutics*, 516(1–2), 185-195. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.11.035>
- Schartl, W. (2010). Current directions in core-shell nanoparticle design. [10.1039/C0NR00028K]. *Nanoscale*, 2(6), 829-843. doi: 10.1039/c0nr00028k
- Sega, E. I., & Low, P. S. (2008). Tumor detection using folate receptor-targeted imaging agents. *Cancer and Metastasis Reviews*, 27(4), 655. doi: 10.1007/s10555-008-9155-6
- Selvan, S. T. (2010). Silica-coated quantum dots and magnetic nanoparticles for bioimaging applications. *Biointerphases*, 5(3), 110-115. doi: 10.1116/1.3516492

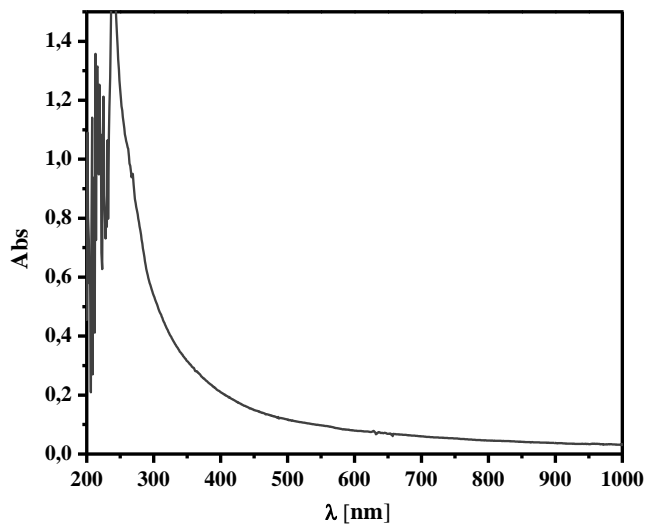
- Selvan, S. T., Tan, T. T., & Ying, J. Y. (2005). Robust, Non-Cytotoxic, Silica-Coated CdSe Quantum Dots with Efficient Photoluminescence. *Advanced Materials*, 17(13), 1620-1625. doi: 10.1002/adma.200401960
- Shen, L. (2011). Biocompatible Polymer/Quantum Dots Hybrid Materials: Current Status and Future Developments. *Journal of Functional Biomaterials*, 2(4), 355-372. doi: 10.3390/jfb2040355
- Shukla, R., Hill, E., Shi, X., Kim, J., Muniz, M. C., Sun, K., & Baker, J. R. (2008). Tumor microvasculature targeting with dendrimer-entrapped gold nanoparticles. *Soft matter*, 4(11), 2160-2163. doi: 10.1039/b810885d
- Skoog, D. A., West, D. M., & Holler, F. J. (1997). *Fundamentos de química analítica*: Reverté.
- Smith, A. M., Mancini, M. C., & Nie, S. (2009). Second window for in vivo imaging. *Nature nanotechnology*, 4(11), 710-711. doi: 10.1038/nnano.2009.326
- Sun, K., Qiu, J., Liu, J., & Miao, Y. (2009). Preparation and characterization of gold nanoparticles using ascorbic acid as reducing agent in reverse micelles. *Journal of Materials Science*, 44(3), 754-758. doi: 10.1007/s10853-008-3162-4
- Sun, L., Wang, J., & Wang, Z. (2010). Recognition and transmembrane delivery of bioconjugated Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>@Au nanoparticles with living cells. *Nanoscale*, 2(2), 269-276. doi: 10.1039/b9nr00152b
- Taylor, R., Coulombe, S., Otanicar, T., Phelan, P., Gunawan, A., Lv, W., Tyagi, H. (2013). Small particles, big impacts: A review of the diverse applications of nanofluids. *Journal of Applied Physics*, 113(1), 011301. doi: 10.1063/1.4754271
- Vázquez, D. A. (2000). *Diccionario de ciencias*: Editorial Complutense.

- Vlahov, I. R., & Leamon, C. P. (2012). Engineering Folate–Drug Conjugates to Target Cancer: From Chemistry to Clinic. *Bioconjugate Chemistry*, 23(7), 1357-1369. doi: 10.1021/bc2005522
- Wang, H., Brandl, D. W., Nordlander, P., & Halas, N. J. (2007). Plasmonic Nanostructures: Artificial Molecules. *Accounts of Chemical Research*, 40(1), 53-62. doi: 10.1021/ar0401045
- Wang, H., Han, J., Lu, W., Zhang, J., Li, J., & Jiang, L. (2015). Facile preparation of gold nanocages and hollow gold nanospheres via solvent thermal treatment and their surface plasmon resonance and photothermal properties. *Journal of Colloid and Interface Science*, 440, 236-244. doi: 10.1016/j.jcis.2014.11.004
- Wang, R., Ji, X., Huang, Z., Xue, Y., Wang, D., & Yang, W. (2016). Citrate-Regulated Surface Morphology of SiO<sub>2</sub>@Au Particles To Control the Surface Plasmonic Properties. *The Journal of Physical Chemistry C*, 120(1), 377-385. doi: 10.1021/acs.jpcc.5b10454
- Weininger, S. J., & Stermitz, F. R. (1988). *Química orgánica*: Reverté.
- Wijnhoven, J. E. G. J., & Vos, W. L. (1998). Preparation of Photonic Crystals Made of Air Spheres in Titania. *Science*, 281(5378), 802.
- Xuan, S., Wang, Y.-X. J., Yu, J. C., & Leung, K. C.-F. (2009). Preparation, Characterization, and Catalytic Activity of Core/Shell Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@Polyaniline@Au Nanocomposites. *Langmuir*, 25(19), 11835-11843. doi: 10.1021/la901462t
- Zech, T., Ejsing, C. S., Gaus, K., de Wet, B., Shevchenko, A., Simons, K., & Harder, T. (2009). Accumulation of raft lipids in T-cell plasma membrane domains engaged in TCR signalling. *The EMBO Journal*, 28(5), 466-476. doi: 10.1038/emboj.2009.6

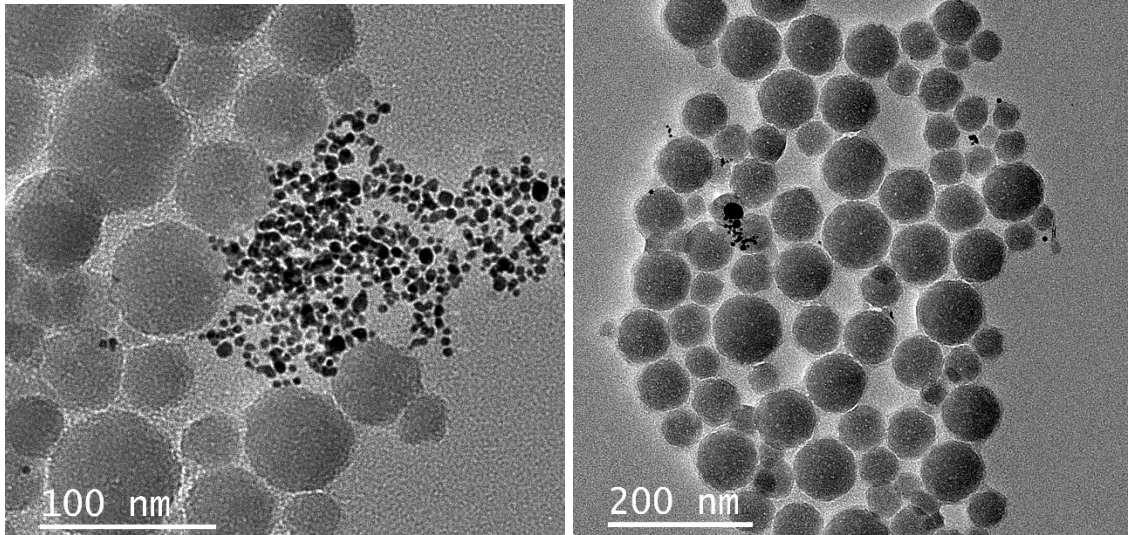
- Zhang, Z., Jia, J., Lai, Y., Ma, Y., Weng, J., & Sun, L. (2010). Conjugating folic acid to gold nanoparticles through glutathione for targeting and detecting cancer cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 18(15), 5528-5534. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2010.06.045>
- Zhao, D., Feng, J., Huo, Q., Melosh, N., Fredrickson, G. H., Chmelka, B. F., & Stucky, G. D. (1998). Triblock Copolymer Syntheses of Mesoporous Silica with Periodic 50 to 300 Angstrom Pores. *Science*, 279(5350), 548.
- Zhu, B., Ma, J., Wang, J., Wu, J., & Peng, D. (2012). Thermal, dielectric and compressive properties of hollow glass microsphere filled epoxy-matrix composites. *Journal of Reinforced Plastics and Composites*, 31(19), 1311-1326. doi: 10.1177/0731684412452918

## Apéndices

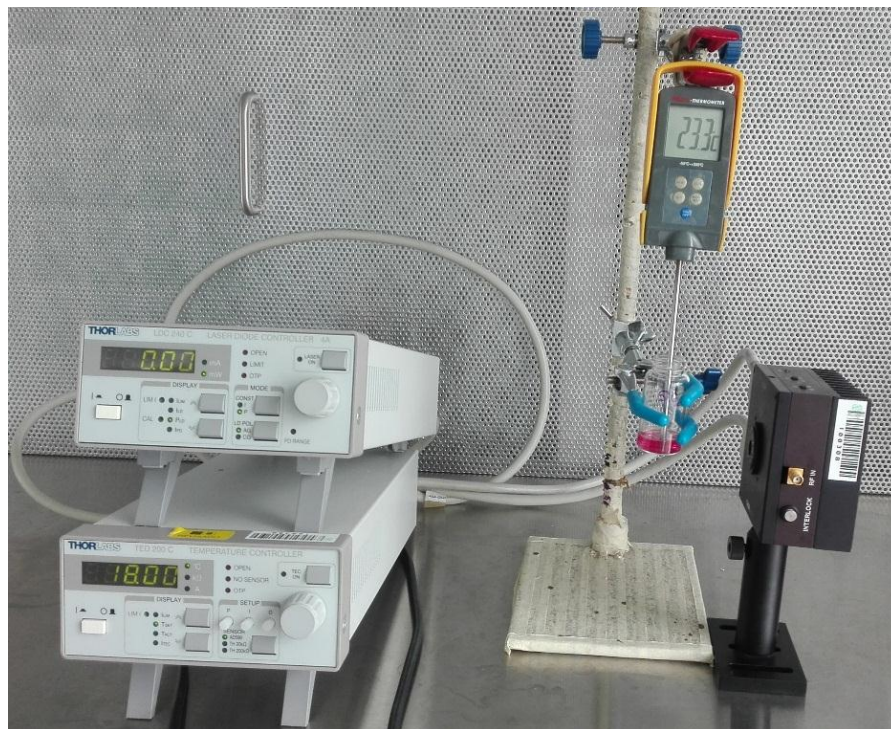
*Apéndice A.* Espectro UV-Vis de las SiO<sub>2</sub>NP (core) sintetizadas a una relación [NH<sub>4</sub>OH]/[TEOS]=9,5 y w=6 con D<sub>app</sub>=198±67 nm. A la derecha fotografía de la apariencia física de la solución de las SiO<sub>2</sub>NP (core).



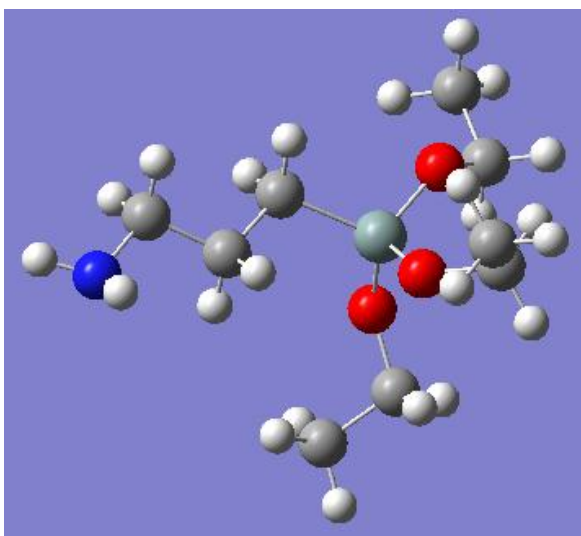
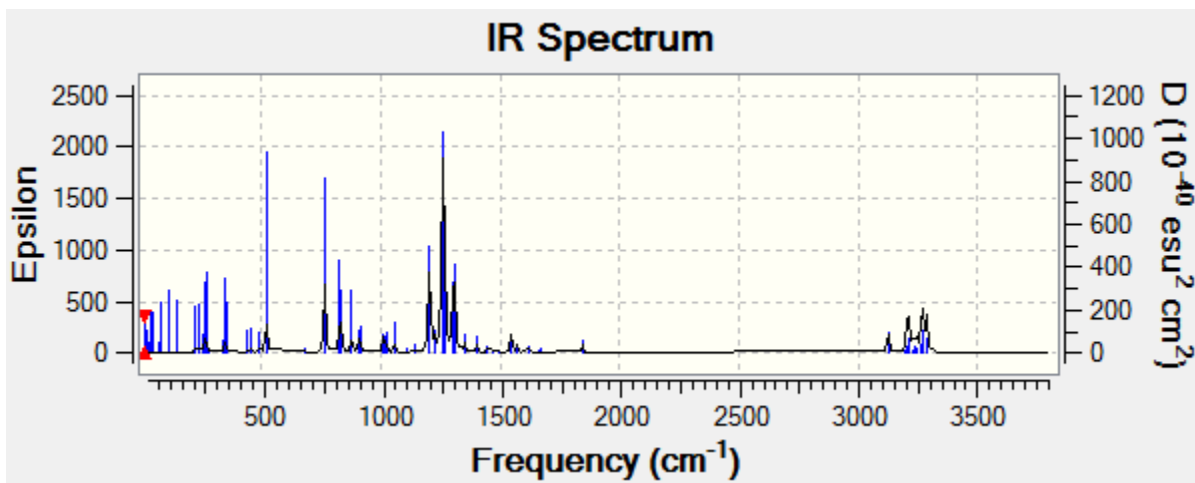
*Apéndice B.* Micrografía TEM de la no formación de SiO<sub>2</sub>@AuNP por falta de la funcionalización de APTES en las SiO<sub>2</sub>NP.



*Apéndice C.* Montaje experimental para la evaluación de respuesta térmica de las NP en solución.

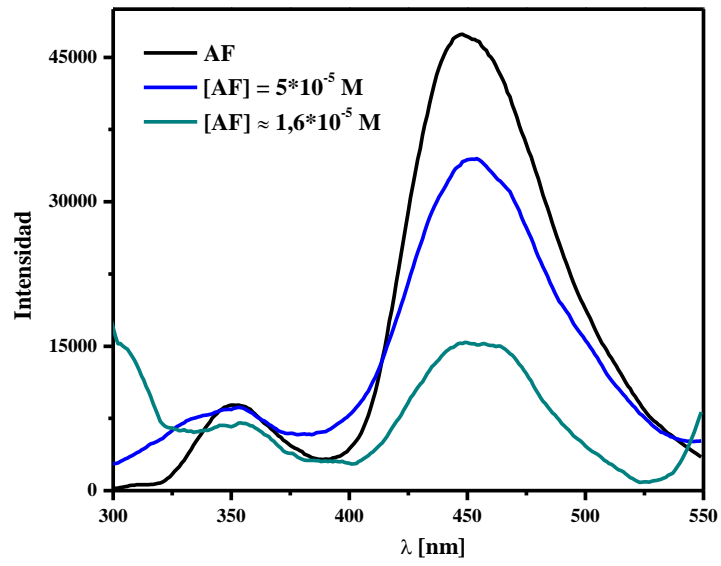


Apéndice D. Modulación espectro vibracional IR mediante GaussView 5.0.8 del APTES, algunos modos de vibración son mostrados y la molécula con la cual se desarrolló la modulación. Se resalta la señal a 1061 cm<sup>-1</sup> perteneciente a la vibración Si-OCH<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>.



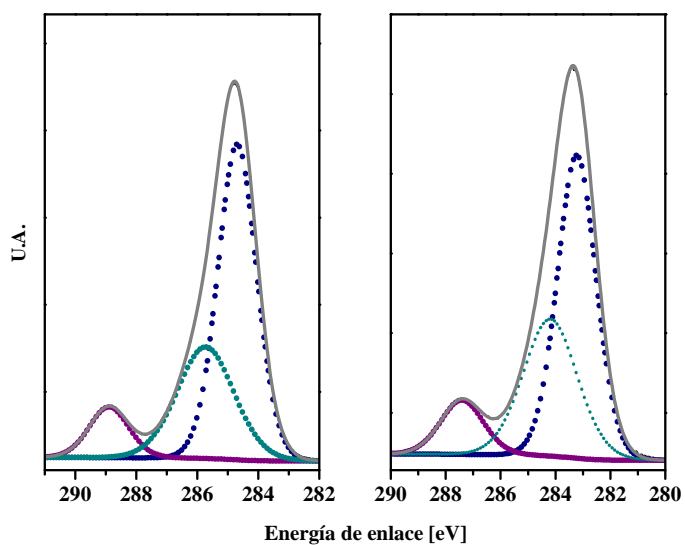
Mode #	Freq	Infrared
38	1006.11	16.3657
39	1009.80	22.2985
40	1014.17	20.4792
41	1021.76	25.6187
42	1061.30	37.5953
43	1110.72	6.1245
44	1138.24	10.5948
45	1199.29	35.7024

Apéndice E. Espectro de fluorescencia de SiO<sub>2</sub>@AuNP funcionalizadas con AF ( $\lambda_{\text{ext.}}$  280 nm)

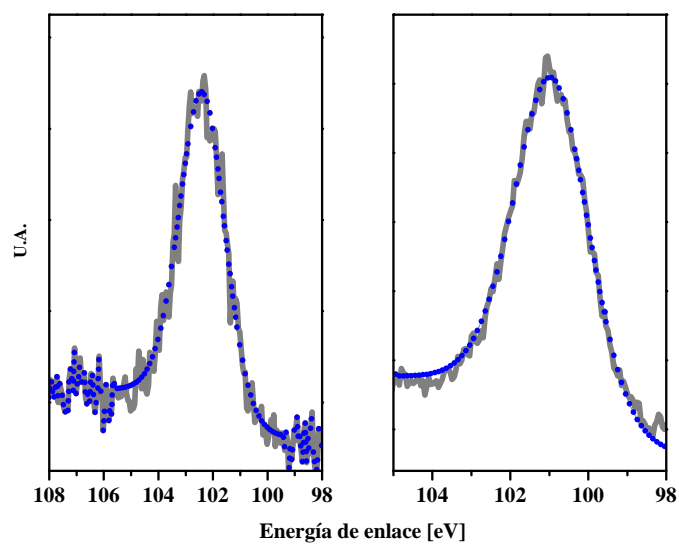


*Apéndice F. Espectros XPS (= Envolvente, - - - componentes) lado izquierdo SiO<sub>2</sub>@AuNP y lado derecho SiO<sub>2</sub>@AuNP con AF para: a.) C 1s b.) Si 2p c.) Na 1s c.) S 2p.*

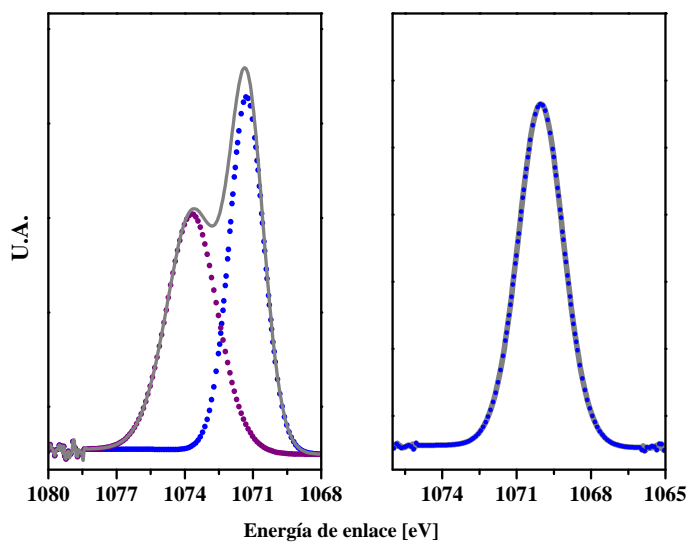
a.)



b.)



c.)



d.)

