

## TABLA DE CONTENIDO

<i>Resumen</i>	<b>6</b>
<i>Resum</i>	<b>8</b>
<i>Abstract</i>	<b>10</b>
<i>Publicaciones científicas</i>	<b>12</b>
<i>Abreviaturas y acrónimos</i>	<b>13</b>
<b>CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN GENERAL</b>	<b>17</b>
<b>I.1 NANOTECNOLOGÍA Y NANOMATERIALES: CONCEPTOS BÁSICOS</b>	<b>19</b>
<b>I.2 NANOMEDICINA</b>	<b>22</b>
I.2.1 Requisitos para la aplicación de los nanomateriales en nanomedicina	22
I.2.2 Nanomateriales más usados en nanomedicina	24
I.2.2.1 Nanomateriales lipídicos para la liberación de fármacos	25
I.2.2.2 Nanomateriales poliméricos para la liberación de fármacos	26
I.2.2.3 Estructuras virales para la liberación de fármacos	27
<b>I.3 NANOPARTÍCULAS MESOPOROSAS DE SÍLICE PARA LIBERACIÓN DE FÁRMACOS</b>	<b>27</b>
I.3.1. Síntesis de las nanopartículas mesoporosas de sílice	27
I.3.2. Propiedades de las nanopartículas mesoporosas de sílice	28
I.3.3. Biocompatibilidad, biodistribución y relevancia clínica de las nanopartículas mesoporosas de sílice	29
I.3.4. Funcionalización de las nanopartículas mesoporosas de sílice	31
I.3.5 Liberación de fármacos en respuesta a estímulos: «puertas moleculares»	32
I.3.5.1 Puertas moleculares sensibles a cambios en el potencial redox	34
I.3.5.2 Puertas moleculares sensibles a cambios en el pH	35
I.3.5.3 Puertas moleculares sensibles a enzimas	36
I.3.5.4 Puertas moleculares sensibles a moléculas y biomoléculas	36
I.3.5.5 Puertas moleculares sensibles a temperatura	37
I.3.5.6 Puertas moleculares sensibles a luz	37
I.3.5.7 Puertas moleculares sensibles a campos magnéticos	38
I.3.5.8 Puertas moleculares sensibles a ultrasonidos	38
<b>I.4 BARRERAS BIOLÓGICAS: PRINCIPAL OBSTÁCULO PARA LOS NANOSISTEMAS DE LIBERACIÓN DE FÁRMACOS</b>	<b>39</b>
I.4.1 Matriz extracelular de biopelículas	39
I.4.2 Matriz extracelular de tumores	40
<b>I.5 NANO- Y MICROMOTORES: UN AVANCE FRENTE A LOS SISTEMAS PASIVOS DE LIBERACIÓN DE FÁRMACOS</b>	<b>41</b>
I.5.1 Motores propulsados por métodos físicos	43
I.5.1.1 Motores propulsados por luz	43
I.5.1.2 Motores propulsados por campos magnéticos	44
I.5.1.3 Motores propulsados por ultrasonidos	45
I.5.1.4 Motores propulsados por campos eléctricos	47

I.5.2 Motores biohíbridos	47
I.5.3 Motores propulsados por reacciones químicas	49
I.5.3.1 Mecanismos de propulsión de los motores catalíticos	50
I.5.3.2 Motores metálicos	52
I.5.3.3 Motores enzimáticos	55
I.5.4 Otras aplicaciones de los nano- y micromotores	59
<b><u>CAPÍTULO II: OBJETIVOS</u></b>	<b>61</b>
<b><u>CAPÍTULO III: DISEÑO, SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOMOTORES</u></b>	
<b>JANUS PT-MSN</b>	<b>64</b>
<b>III.1 RESUMEN GRÁFICO</b>	<b>65</b>
<b>III.2 RESUMEN</b>	<b>65</b>
<b>III.3 INTRODUCCIÓN</b>	<b>67</b>
III.3.1 Nanomotores catalíticos: importancia de romper la simetría	67
III.3.1.1 Técnicas de síntesis	67
III.3.1.2 Nanopartículas Janus	69
III.3.2 Movimiento en la nanoescala	70
III.3.2.1 Factores que afectan al movimiento	70
III.3.2.2 Técnicas para estudiar el movimiento	71
III.3.2.3 Parámetros que definen el movimiento	73
<b>III.4 OBJETIVOS</b>	<b>77</b>
<b>III.5 MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>78</b>
III.5.1 Reactivos	78
III.5.2 Síntesis de nanopartículas	78
III.5.2.1 Síntesis de Pt	78
III.5.2.2 Síntesis de MSN	79
III.5.2.3 Síntesis de NM	79
III.5.2.4 Síntesis de NM <sub>Ru-PEG</sub>	80
III.5.3 Técnicas de caracterización de nanomateriales	81
III.5.3.1 Microscopía electrónica	82
III.5.3.2 Espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo	82
III.5.3.3 Difracción de rayos X de polvo	82
III.5.3.4 Porosimetría: análisis de isothermas de adsorción-desorción de N <sub>2</sub>	82
III.5.3.5 Espectroscopía de infrarrojos por transformada de Fourier	83
III.5.3.6 Análisis termogravimétrico	83
III.5.3.7 Dispersión dinámica de luz	84
III.5.3.8 Espectroscopía UV-visible	84
III.5.3.9 Espectroscopía de fluorescencia	84
III.5.4 Caracterización del movimiento de los nanomotores	84
III.5.4.1 Ensayo de actividad peroxidasa	84

III.5.4.2 Adquisición de vídeos ópticos y cálculo del desplazamiento cuadrático medio y el coeficiente de difusión	85
III.5.4.3 Estudio de los cambios en el diámetro hidrodinámico por DLS	85
III.5.5 Ensayos de liberación	86
III.5.6 Ensayos <i>in vitro</i>	87
III.5.6.1 Líneas celulares y condiciones de cultivo	87
III.5.6.2 Ensayos de viabilidad celular	87
III.5.7 Análisis estadístico	88
<b>III.6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>89</b>
III.6.1 Diseño y síntesis del nanomotor	89
III.6.2 Caracterización estructural del nanomotor	92
III.6.3 Caracterización funcional del nanomotor	103
III.6.3.1 El nanomotor se autopropulsa en respuesta a la catálisis de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	103
III.6.3.2 El nanomotor libera la carga encapsulada ante el reconocimiento de un estímulo específico	111
III.6.4 Caracterización de la biocompatibilidad del nanomotor	113
<b>III.7 CONCLUSIONES</b>	<b>116</b>
<b><u>CAPÍTULO IV: NANOMOTORES JANUS PT-MSN PARA EL TRATAMIENTO DE</u></b>	
<b>    <u>    BIOPELÍCULAS BACTERIANAS</u></b>	<b>117</b>
<b>    IV.1 RESUMEN GRÁFICO</b>	<b>119</b>
<b>    IV.2 RESUMEN</b>	<b>119</b>
<b>    IV.3 INTRODUCCIÓN</b>	<b>121</b>
IV.3.1 Biopelículas: importancia de perturbar su ECM	121
IV.3.1.1 Biopelículas en salud dental: infecciones endodónticas	122
IV.3.2 Abordaje de las infecciones mediadas por biopelículas mediante el uso de nanomotores	125
<b>    IV.4 OBJETIVOS</b>	<b>127</b>
<b>    IV.5 MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>128</b>
IV.5.1 Reactivos	128
IV.5.2 Síntesis de nanopartículas	128
IV.5.2.1 Síntesis de NM <sub>CHX-F</sub>	128
IV.5.2.2 Síntesis de NM <sub>CHX-βCD</sub>	129
IV.5.2.3 Síntesis de NM <sub>F</sub>	129
IV.5.2.4 Síntesis de MSN <sub>CHX-F</sub>	129
IV.5.3 Técnicas de caracterización de nanomateriales	130
IV.5.3.1 Determinación de la cantidad de βCD unida a ficina	130
IV.5.3.2 Determinación de la actividad proteasa	130
IV.5.4 Caracterización del movimiento de los nanomotores	130
IV.5.5 Ensayos de liberación	131
IV.5.5.1 Determinación de la carga	131
IV.5.6 Ensayos de toxicidad <i>in vitro</i>	131
IV.5.6.1 Líneas celulares y condiciones de cultivo	131

IV.5.6.2 Ensayos de citotoxicidad	132
IV.5.7 Ensayos de toxicidad <i>in vivo</i>	132
IV.5.7.1 Modelo animal y administración de los nanomotores	132
IV.5.7.2 Análisis sanguíneo e histológico	133
IV.5.8 Ensayos antimicrobianos	133
IV.5.8.1 Modelo <i>ex vivo</i> de biopelículas polimicrobianas orales derivadas de saliva	133
IV.5.8.2 Modelo <i>ex vivo</i> de biopelículas endodónticas de <i>Streptococcus mutans</i> crecidas sobre dentina	135
IV.5.9 Análisis estadístico	136
<b>IV.6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>137</b>
IV.6.1 Diseño y síntesis del nanomotor	137
IV.6.2 Caracterización estructural del nanomotor	139
IV.6.3 Caracterización funcional del nanomotor	144
IV.6.3.1 NM <sub>CHX-F</sub> se autopropulsa por la descomposición catalítica de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	144
IV.6.3.2 NM <sub>CHX-F</sub> libera CHX a pH ácido	150
IV.6.4 Caracterización de la biocompatibilidad del nanomotor	152
IV.6.5 Caracterización de las habilidades antimicrobianas del nanomotor	156
IV.6.5.1 NM <sub>CHX-F</sub> elimina biopelículas orales derivadas de saliva	158
IV.6.5.2 NM <sub>CHX-F</sub> elimina biopelículas endodónticas crecidas sobre dentina	160
<b>IV.7 CONCLUSIONES</b>	<b>165</b>
<b><u>CAPÍTULO V: NANOMOTORES JANUS PT-MSN PARA EL TRATAMIENTO DE TUMORES SÓLIDOS</u></b>	<b>167</b>
<b>V.1 RESUMEN GRÁFICO</b>	<b>169</b>
<b>V.2 RESUMEN</b>	<b>169</b>
<b>V.3 INTRODUCCIÓN</b>	<b>171</b>
V.3.1 Tumores sólidos: importancia de penetrar en su ECM	171
V.3.2 Nanomotores para terapia oncológica: necesidad de emplear combustibles biocompatibles y biodisponibles	174
<b>V.4 OBJETIVOS</b>	<b>177</b>
<b>V.5 MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>178</b>
V.5.1 Reactivos	178
V.5.2 Síntesis de nanopartículas	178
V.5.2.1 Síntesis de NM <sub>Doxo-GOx</sub>	178
V.5.2.2 Síntesis de NM <sub>GOx</sub>	179
V.5.2.3 Síntesis de NM <sub>Doxo-BSA</sub>	179
V.5.2.4 Síntesis de NM <sub>Doxo-GOx-IN</sub>	179
V.5.2.5 Síntesis de NM <sub>PA-GOx</sub> y NM <sub>PA-GOx-IN</sub>	179
V.5.3 Técnicas de caracterización de nanomateriales	180
V.5.3.1 Determinación de la cantidad de enzima	180
V.5.4 Caracterización del movimiento inducido por glucosa	181
V.5.4.1 Ensayo de actividad enzimática GOx	181

V.5.4.2 Cálculo del MSD y el $D_0/D_{eff}$	181
V.5.4.3 Estudio del movimiento en un entorno similar a la ECM	182
V.5.5 Ensayos de liberación	182
V.5.5.1 Determinación de la carga	182
V.5.6 Ensayos <i>in vitro</i>	183
V.5.6.1 Cultivo de células cancerosas 2D	183
V.5.6.2 Esferoides tumorales 3D	184
V.5.7 Ensayos <i>in vivo</i>	185
V.5.7.1 Modelo animal	185
V.5.7.2 Formación de los tumores y administración de los tratamientos	185
V.5.7.3 Evaluación de la penetración de los nanomotores en tumores	186
V.5.7.4 Evaluación de la liberación de Doxo en tumores	186
V.5.7.5 Evaluación de la muerte celular en tumores	187
V.5.7.6 Evaluación de la generación de ROS en tumores	187
V.5.8 Análisis estadístico	187
<b>V.6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>188</b>
V.6.1 Diseño y síntesis del nanomotor	188
V.6.2 Caracterización estructural del nanomotor	190
V.6.3 Caracterización funcional del nanomotor	195
V.6.3.1 $NM_{Doxo-GOx}$ se autopropulsa por la transformación enzimática de glucosa	195
V.6.3.2 $NM_{Doxo-GOx}$ libera Doxo en respuesta a actividad proteolítica	205
V.6.4 Caracterización de las habilidades antitumorales del nanomotor	207
V.6.4.1 $NM_{Doxo-GOx}$ reduce la población de células cancerosas	208
V.6.4.2 El nanomotor exhibe una mayor penetración tumoral que las nanopartículas pasivas	213
V.6.4.3 $NM_{Doxo-GOx}$ exhibe actividad anticancerígena <i>in vivo</i>	216
<b>V.7 CONCLUSIONES</b>	<b>223</b>
<b><u>CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES GENERALES</u></b>	<b>225</b>
<b>REFERENCIAS</b>	<b>229</b>