

Influencia del grado de desacetilación del quitosano en la síntesis de nanopartículas para aplicaciones farmacéuticas

Influence of the degree of deacetylation of chitosan in the synthesis of nanoparticles for pharmaceutical applications

Hector Hernández-Parra,* Stephany Celeste Gutiérrez-Ruíz,** Nancy Lizbeth Rodríguez-Morales,* H. Adrián García-Gasca,* Sheila I. Peña-Corona,** Juan I. Chávez-Corona,** Benjamín Florán,*** Hernán Cortés,* Gerardo Leyva-Gómez**,*

ABSTRACT: Chitosan is a versatile biopolymer with applications in nanotechnology, of broad interest in the synthesis of nanoparticles for drug delivery. Its degree of deacetylation (DD) is a key parameter that influences nanoparticle properties such as surface charge, size, and colloidal stability. However, its impact on nanoparticle functionality still requires detailed analysis. The objective of this study was to explore the relationship between chitosan's DD and its physico-chemical properties in nanoparticle synthesis, as well as its implications for pharmaceutical applications. To this end, a literature review was conducted in the PubMed, Google Scholar, and ScienceDirect databases, using the keywords chitosan, deacetylation, and nanoparticles, in both English and Spanish. These keywords are identified in the titles and abstracts of research articles. Studies published between 2000 and 2025 that addressed the synthesis, modification, or characterization of chitosan nanoparticles were included. Studies that did not explicitly report DD and its relationship to functional properties or biomedical applications, as well as duplicate publications, were excluded. The results show that a medium DD (70-85%) promotes adequate interaction with cell membranes, common in pharmaceutical applications. A low DD (< 70%) implies less interaction with biological membranes, making them of limited use in delivery systems. Although a high DD (86-95%) could promote greater adhesion to cell surfaces and greater encapsulation efficiency, it can also promote high reactivity and possible cytotoxicity due to its density of free amino groups. However, a very high DD (> 95%) could cause toxicity, in addition to reducing viscosity, affecting the stability of the formulations. These findings underscore the need to tailor the DD to the specific application, optimizing the functionality of chitosan nanoparticles. In conclusion, precise control of DD is essential to maximize chitosan's potential for the preparation of nanoparticles for drug delivery. Furthermore, future studies should focus on stan-

Recibido: 6 de febrero, 2025.

Aceptado: 8 de mayo, 2025.

Publicado: 27 de mayo, 2025.

* Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Departamento de Farmacología, Ciudad de México, México.

** Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, Departamento de Farmacia, Ciudad de México, México.

*** Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, Ciudad de México, México.

• Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra, Departamento de Genómica, Laboratorio de Medicina Genómica, Ciudad de México, México.

† Autor de correspondencia: leyva@quimica.unam.mx



dardizing chitosan production methods with specific deacetylation levels and on their application in novel nanotechnological therapies.

KEYWORDS: degree of deacetylation, biological interaction, drug release, nanoparticles, chitosan.

RESUMEN: El quitosano es un biopolímero versátil con aplicaciones en nanotecnología, de amplio interés en la síntesis de nanopartículas para administración de fármacos. Su grado de desacetilación (DD, por sus siglas en inglés) es un parámetro clave que influye en las propiedades de las nanopartículas tales como carga superficial, tamaño, y estabilidad coloidal. Sin embargo, su impacto en la funcionalidad de las nanopartículas aún requiere de un análisis detallado. El objetivo de este estudio fue explorar la relación entre el DD del quitosano y sus propiedades físicoquímicas en la síntesis de nanopartículas, así como sus implicaciones en aplicaciones farmacéuticas. Para ello se realizó una revisión de la literatura en las bases de datos PubMed, Google Scholar y ScienceDirect, utilizando las palabras clave *chitosan*, *deacetylation* y *nanoparticles*, tanto en inglés como en español. Estas palabras clave se identificaron en los títulos y resúmenes de artículos de investigación. Se incluyeron estudios publicados entre el año 2000 y el 2025, que abordan la síntesis, modificación o caracterización de nanopartículas de quitosano. Se excluyeron estudios sin reportar explícitamente el DD y su relación con propiedades funcionales o aplicaciones biomédicas, así como publicaciones duplicadas. Los resultados evidencian que un DD medio (70-85%) promueve una adecuada interacción con membranas celulares, común en aplicaciones farmacéuticas. Un DD bajo (< 70%) implica una menor interacción con membranas biológicas, por lo que tienen limitada utilidad en sistemas de liberación. Aunque un DD alto (86-95%) podría promover mayor adhesión a superficies celulares y mayor eficiencia de encapsulación, también pueden promover alta reactividad y posible citotoxicidad por su densidad de grupos amino libres. No obstante, un DD muy alto (> 95%) podría causar toxicidad, además de reducir la viscosidad, afectando la estabilidad de las formulaciones. Estos hallazgos subrayan la necesidad de ajustar el DD según la aplicación específica, optimizando la funcionalidad de las nanopartículas de quitosano. En conclusión, el control preciso del DD es esencial para maximizar el potencial del quitosano para la preparación de nanopartículas destinadas a la administración de fármacos. Además, futuros estudios deben enfocarse en la estandarización de métodos de producción de quitosano con grados de desacetilación específicos, y en su aplicación en nuevas terapias nanotecnológicas.

PALABRAS CLAVE: grado de desacetilación, interacción biológica, liberación de fármacos, nanopartículas, quitosano.

Introducción

En las últimas décadas, el avance de la nanotecnología ha revolucionado el diseño de materiales y sistemas con aplicaciones biomédicas, particularmente mediante el uso de polímeros. El quitosano es un polímero, el cual ofrece una plataforma versátil para la síntesis de nanopartículas, gracias a su conocida biocompatibilidad, biodegradabilidad y capacidad de ser modificado químicamente (Almada *et al.*, 2023).

El quitosano es un biopolímero natural derivado de la desacetilación de la quitina, un componente estructural abundante en los exoesqueletos de crustáceos y en las paredes celulares de los hongos (Iqbal *et al.*, 2024). El grado de desacetilación (DD, por sus siglas en inglés) del quitosano es un parámetro crítico que determina su comportamiento funcional, pues influye directamente en sus características físicoquímicas, como la solubilidad, la carga superficial y la interacción molecular (Giraldo, 2015). Su estructura química,

rica en grupos amino primarios, está directamente relacionada con su DD. Se ha encontrado que cadenas poliméricas de quitosano con diferentes grados de desacetilación permiten la síntesis de nanopartículas con diversas propiedades y diferentes aplicaciones.

Algunos estudios sugieren que un DD medio (70-85%) mejora la interacción con las membranas biológicas, mejorando la absorción del fármaco (Foster *et al.*, 2015; Mura *et al.*, 2022). También se ha demostrado que un DD alto (86-95%) aumenta la solubilidad y la densidad de carga positiva del quitosano, mejorando su interacción con moléculas bioactivas y su capacidad para formar nanopartículas estables (Franca *et al.*, 2011; H. Wang y Roman, 2023). Por otra parte, también se ha informado que un DD muy alto (> 95%) puede reducir la viscosidad, afectando negativamente la estabilidad de ciertas formulaciones (Hamdi *et al.*, 2019). Un DD bajo (< 70%) puede resultar en una menor solubilidad y actividad biológica, limitando sus aplicaciones (Kim, 2018; Kumirska *et al.*, 2011). Estos datos resaltan la importancia de ajustar y controlar el DD del quitosano para optimizar su desempeño en diversas aplicaciones farmacéuticas y nanotecnológicas, considerando no solo el DD promedio, sino también la distribución de grupos funcionales y otras propiedades estructurales pudiendo influir en su desempeño. Por lo tanto, la elección del DD óptimo debe basarse en un equilibrio entre solubilidad, viscosidad y funcionalidad específica para la aplicación deseada.

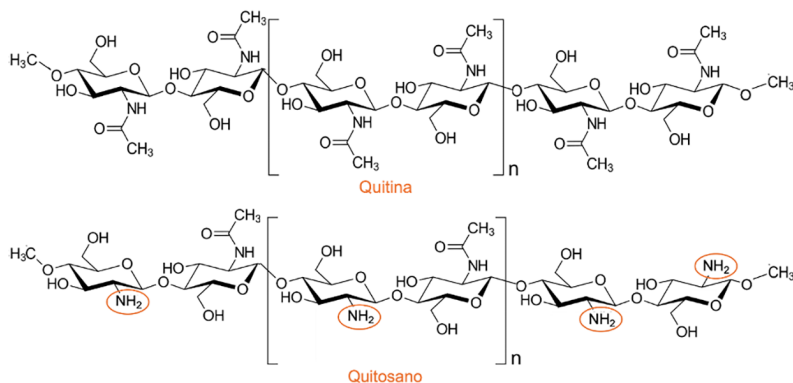
Se destaca la capacidad del quitosano para formar nanopartículas que permiten una fácil funcionalización de su superficie. Esto posiciona al quitosano como un polímero de amplio interés en la nanoformulación de sistemas avanzados de liberación de fármacos (Duceppe y Tabrizian, 2010; Hashad *et al.*, 2017; Jhaveri *et al.*, 2021). Sin embargo, la síntesis y el rendimiento de estas nanopartículas dependen en gran medida del DD, que podría afectar factores clave como el tamaño, la estabilidad coloidal y la eficiencia de encapsulación.

Debido a la creciente importancia de la nanotecnología en la mejora de sistemas biomédicos y farmacéuticos, el principal objetivo de este trabajo es la comprensión de la relación del DD de quitosano utilizado en el desarrollo de nanopartículas con sus propiedades biológicas y aplicaciones farmacéuticas. Exploramos el impacto del DD del quitosano en la síntesis de nanopartículas, y analizamos cómo este parámetro puede ser optimizado para abordar desafíos en la liberación controlada de fármacos. Para ello, consultamos artículos en las bases de datos PubMed, Google Scholar y ScienceDirect con las palabras clave *chitosan*, *deacetylation* y *nanoparticles*, tanto en inglés como en español. Estas palabras clave se identificaron en los títulos y resúmenes de artículos de investigación. Se incluyeron estudios publicados entre el año 2000 y el 2025, los cuales abordaran la síntesis, modificación o caracterización de nanopartículas de quitosano. Se excluyeron estudios sin reportar explícitamente el DD y su relación con propiedades funcionales o aplicaciones biomédicas, así como publicaciones duplicadas.

Quitosano: un biopolímero versátil con aplicaciones farmacéuticas

El quitosano es un polímero de cadena lineal compuesto por unidades de D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina distribuidas aleatoriamente y unidas mediante enlaces glucosídicos β -1,4 (Ardean *et al.*, 2021; Fabiano *et al.*, 2020; Jiménez-Gómez *et al.*, 2020). Se obtiene a partir de la desacetilación parcial o total de la quitina, el segundo polisacárido más abundante en la tierra, presente en el exoesqueleto de moluscos y crustáceos, así como en la cutícula de insectos y en las paredes celulares de los hongos (Fabiano *et al.*, 2020; Jiménez-Gómez *et al.*, 2020). Tiene una estructura rígida y desigual dada por la distribución aleatoria de sus unidades monoméricas (figura 1). Sus grupos funcionales, hidroxilo (-OH) y amino (-NH₂), le confieren alta reactividad química (Ardean *et al.*, 2021; Jiménez-Gómez *et al.*, 2020; W. Wang *et al.*, 2020). Dependiendo del tamaño de sus cadenas poliméricas se clasifica como de peso molecular (PM) bajo (< 100 kDa), PM medio (100-1000 kDa) y PM alto (> 1000 kDa) (Ardean *et al.*, 2021). El tamaño de estas cadenas también influye en su viscosidad, la cual disminuye a medida que se reduce su PM (Aranaz *et al.*, 2021). Es una base débil (pKa 6.3), por lo tanto, soluble en medios acuosos ácidos con un pH < 6.0 (Abourehab *et al.*, 2022; Jiménez-Gómez *et al.*, 2020).

FIGURA 1. Estructura química de quitina y quitosano.



En la estructura del quitosano se señalan los grupos amino que quedan expuestos después de un proceso de desacetilación.

Fuente: Elaboración de los autores. Creada en <https://BioRender.com>.

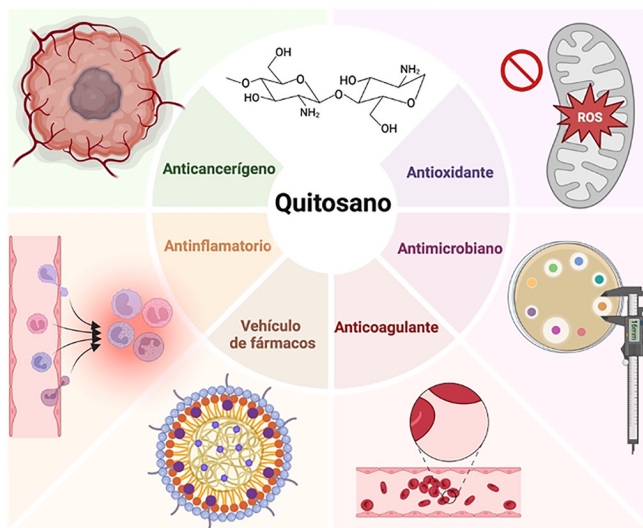
El quitosano es considerado como un biopolímero altamente biocompatible, bioactivo, biodegradable, bioadhesivo y no tóxico (Ardean *et al.*, 2021; Jiménez-Gómez *et al.*, 2020; Kluczka, 2024). Sus propiedades biológicas se deben a su estructura y función, similar a otros glicosaminoglicanos presentes en el cuerpo, como el ácido hialurónico (Harugade *et al.*, 2023). Además, puede

ser degradado por enzimas como las quitinasas o las lisozimas (Abourehab *et al.*, 2022; Aranaz *et al.*, 2021; Harugade *et al.*, 2023; A. Kumar y Zhang, 2019), y sus productos de degradación pueden ser absorbidos por el intestino y eliminados por vía renal (Abourehab *et al.*, 2022).

Las convenientes propiedades fisicoquímicas y potenciales biológicas del quitosano han llevado a que la FDA (Administración de Medicamentos y Alimentos de EUA) apruebe su uso como aditivo alimentario, al considerarlo seguro para el consumo humano (Abourehab *et al.*, 2022; Ardean *et al.*, 2021). Su potencial para diversas aplicaciones ha impulsado un número creciente de investigaciones en los últimos años (Kluczka, 2024).

El quitosano posee propiedades de gran interés en el campo farmacéutico, incluyendo su actividad antimicrobiana, antitumoral, anticancerígena, cicatrizante, antioxidante y su potencial como sistemas de administración de fármacos (figura 2).

FIGURA 2. Aplicaciones farmacéuticas del quitosano.



Fuente: Elaboración de los autores. Creada en <https://BioRender.com>.

- Actividad antimicrobiana: las interacciones electrostáticas entre los grupos funcionales del quitosano y los grupos carboxilo ($-\text{COO}-$), presentes en la superficie de diversas bacterias, alteran la permeabilidad celular e interfieren con sus procesos fisiológicos (Aranaz *et al.*, 2021; Ardean *et al.*, 2021).
- Actividad anticancerígena: el quitosano muestra actividad proapoptótica en células tumorales de cáncer de vejiga y células de osteosarcoma humano (Hasegawa *et al.*, 2001; Koski *et al.*, 2020).

- Actividad anticoagulante: se ha reportado que derivados de quitosano con amonio cuaternario presentan mejoras en la actividad anticoagulante (Fan *et al.*, 2012). Además, se ha observado que sistemas de administración de heparina basados en quitosano pueden prevenir la trombosis (Chandy *et al.*, 2002).
- Actividad antioxidante: los grupos funcionales del quitosano pueden reaccionar con radicales libres y neutralizarlos (Aranaz *et al.*, 2021).
- Actividad antiinflamatoria: el quitosano de bajo PM puede regular factores inflamatorios, como el óxido nítrico (NO) (Aranaz *et al.*, 2021).
- Sistemas de administración de fármacos: el quitosano es un excipiente versátil, el cual permite la liberación sostenida de fármacos orales (Fabiano *et al.*, 2020; Jiménez-Gómez *et al.*, 2020) y la liberación vectorizada (Blažević *et al.*, 2016). Su estructura permite la síntesis de sistemas como nanopartículas, hidrogeles, microesferas y micelas, funcionando como vehículos para la administración y liberación de fármacos (W. Wang *et al.*, 2020).

Estas propiedades, en conjunto, hacen del quitosano un material promotor tanto para el desarrollo de nuevos tratamientos como para su uso en la mejora de fármacos existentes.

Avances recientes en el uso del quitosano

La amplia versatilidad del quitosano en la industria farmacéutica permite su empleo en la síntesis de diversas plataformas para la liberación de fármacos, incluyendo vacunas, microesferas, tabletas, nanopartículas, hidrogeles y micelas (Cheung *et al.* 2015). Las características mencionadas del quitosano hacen que su administración sea adaptable y adecuada para superar los desafíos asociados con diferentes aplicaciones terapéuticas.

En la investigación de sistemas de liberación de medicamentos, se han estudiado múltiples enfoques destinados a dirigir de manera específica los fármacos hacia tejidos diana (L.-F. Huang *et al.*, 2024); en este contexto, el desarrollo del quitosano como base para la formulación de la nanoencapsulación adquiere un papel fundamental, consolidándose como un componente clave para alcanzar dicho propósito.

La efectividad biológica del quitosano está directamente vinculada con su PM y con el DD, el cual caracteriza la molécula. Es por ello que modificaciones químicas resultan en derivados con propiedades particulares convirtiéndolos en transportadores con aplicaciones biomédicas; estas modificaciones incluyen carboxilación, alquilación, esterificación y sulfonación, entre otras (Chen *et al.*, 2022).

Los métodos de modificación química del quitosano tienen como objetivo optimizar su solubilidad en agua mediante la incorporación de grupos funcio-

nales en los grupos amino e hidroxilo. Asimismo, la introducción de grupos hidrofóbicos permite su solubilidad en grasas (Suryani *et al.*, 2024). Estas modificaciones resaltan sus propiedades biológicas, destacando su actividad antitumoral, antibacteriana, hemostática y antioxidante (Chen *et al.*, 2022).

La incorporación de grupos funcionales en la estructura del quitosano potencia sus propiedades, por ejemplo: la introducción de grupos carboxilo aumenta su biocompatibilidad y potencia su actividad antibacteriana, lo que conduce a la formación de O-carboximetil quitosano, el cual ha sido utilizado como un acarreador en formulaciones dirigidas al tracto gastrointestinal (G. Q. Huang *et al.*, 2019). Por otro lado, la modificación mediante alquilación favorece el fortalecimiento de sus capacidades coagulantes y hemostáticas, ampliando así su funcionalidad en el ámbito biomédico, por ejemplo, en la preparación de gasas (Chen *et al.*, 2022).

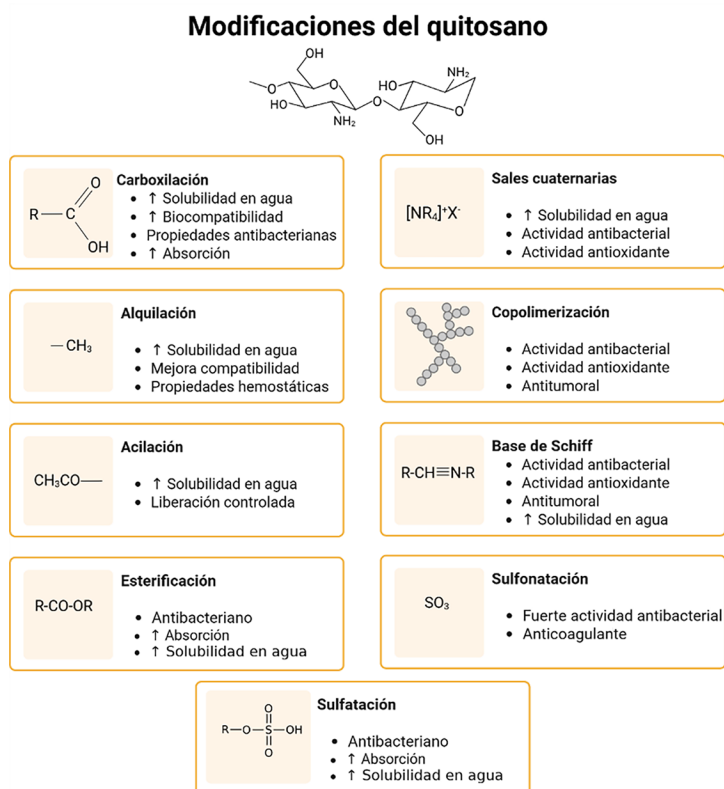
En el ámbito de su aplicación como portador farmacéutico, la modificación por acilación del quitosano optimiza esta propiedad al mejorar el control en la liberación de fármacos. De manera similar, la esterificación del quitosano favorece una mayor absorción en medios ácidos y potencia su actividad antibacteriana. La introducción del grupo sulfonato a través de la reacción con los grupos hidroxilo o amino presentes en la cadena molecular del quitosano incrementa sus propiedades antibacterianas y anticoagulantes (figura 3) (Chen *et al.*, 2022).

Los derivados cuaternizados de quitosano y los derivados de base de Schiff se caracterizan por tener excelentes propiedades antibacterianas (Zhang *et al.*, 2018). La cuaternización del quitosano se da a través de la introducción de grupos amonio cuaternario en los grupos hidroxilo (Chen *et al.*, 2022). Otra modificación que se ha realizado en la molécula de quitosano es la copolimerización por injerto (Bhavsar *et al.*, 2017). Este método es eficaz para mejorar las propiedades fisicoquímicas (estructura molecular, longitud y número de cadenas) y biológicas del quitosano, al poderse introducir grupos hidroxilo, carboxilo, éster y amida (D. Kumar *et al.*, 2020). Las propiedades del producto final dependen de la estructura molecular y las cadenas laterales. Adicionalmente, los copolímeros producidos por esta técnica han mostrado tener viscosidad más alta en dispersión acuosa que el quitosano original, convirtiéndolos en un espesante y estabilizador de emulsiones de grado alimenticio y aditivos con propiedades antioxidantes (İlyasoğlu *et al.*, 2019; Lavlinskaya *et al.*, 2024).

El quitosano se perfila como candidato para su combinación con diversos materiales. Por ejemplo, puede integrarse tanto en la fabricación como en la modificación de la superficie de nanopartículas metálicas y nanopartículas poliméricas; como polímero catiónico, puede ser adsorbido en la superficie de nanopartículas con carga negativa, formando una capa de quitosano alrededor de estas (Ben Amor *et al.*, 2024). Sus propiedades como agente reductor ecológico, controlador de tamaño y estabilizador favorecen la síntesis de nanopartículas metálicas y su integración en compuestos con características similares. En con-

secuencia, su aplicación beneficia procesos en la eliminación de metales y la purificación del agua, entre otras aplicaciones tecnológicas (Amor *et al.*, 2024). El quitosano beneficia la eliminación de metales pesados debido a la presencia de grupos funcionales NH_2 y -OH , los cuales quelan varios iones metálicos.

FIGURA 3. Modificaciones del quitosano más comunes y sus propiedades biológicas asociadas.



Fuente: Elaboración de los autores. Creada en <https://BioRender.com>.

Quitosano como polímero estratégico en la síntesis de nanopartículas

La nanotecnología ha despertado un gran interés en el uso de quitosano en la nanoencapsulación de agentes terapéuticos. En este sentido, el quitosano sobresale por su capacidad para encapsular compuestos de naturaleza proteica, oligosacáridos y sustancias con actividad anticancerígena, optimizando su aplicación en el desarrollo de sistemas de administración de fármacos (Grewal y Salar, 2024).

En biomedicina, las nanopartículas se clasifican en orgánicas, inorgánicas y compuestas. Dentro de las orgánicas, los polímeros naturales como el quitosano destacan por su estabilidad, flexibilidad, biocompatibilidad y facilidad de modificación. Además, su capacidad para la liberación controlada y la modulación de sus propiedades fisicoquímicas las hace ideales para aplicaciones en administración de fármacos (Grewal y Salar, 2024).

Las propiedades fisicoquímicas y la funcionalidad de las nanopartículas elaboradas con quitosano como parte estructural junto con otros materiales pueden diferir significativamente en función de los métodos de preparación empleados, lo cual influye en su aplicación en diversas áreas. En un medio ácido ($\text{pH} < 6.3$), los grupos amino del quitosano se protonan y adquieren carga positiva, permitiéndoles interactuar electrostáticamente con las superficies mucosas con cargas negativas, lo cual favorece su adhesión al tejido (Ways *et al.*, 2018). Los principales enfoques para su síntesis incluyen la reticulación iónica, la emulsificación, la precipitación, y combinaciones de estos procesos, permitiendo la obtención de nanopartículas con características específicas para distintos usos (Yanat y Schroën, 2021).

Desde el momento en que se empezó a utilizar el quitosano para la fabricación de nanopartículas, la gelificación iónica se ha consolidado como uno de los métodos más empleados, siendo descrito inicialmente por Calvo *et al.* (1997). Este proceso se fundamenta en la interacción entre cargas opuestas de los grupos funcionales, donde los grupos amino protonados del quitosano y las cargas aniónicas de un polianión favorecen la reticulación, permitiendo la formación de nanopartículas (Yanat y Schroën, 2021).

En la tabla 1 se presentan algunos ejemplos del empleo del quitosano como componente en la formulación de nanopartículas, considerando el método de fabricación utilizado y la naturaleza del compuesto nanoencapsulado.

TABLA 1. Aplicación del quitosano en la síntesis de nanopartículas para uso biomédico.

Objetivo	Materiales	Método de fabricación	Transformaciones	Referencias
Terapia génica	Quitosano glicol, ácido 5 β -colánico, ADN plasmídico (pDNA) (hidrofobizado).	Autoensamblaje	Injerto directo y nanoencapsulación espontánea.	Sang Yoo <i>et al.</i> (2005)
Terapia génica	Quitosano, pDNA.	Gelación iónica	Nanoencapsulación espontánea.	Özbaş-Turan y Akbuğa (2011)
Terapia de cáncer	Quitosano tiolado, curcumina, 5-fluorouracilo.	Gelación iónica	Tiolación y nanoencapsulación espontánea.	Anitha <i>et al.</i> (2014)
Administración de insulina	Quitosano, ftalato de hidroxipropil metilcelulosa, insulina.	Gelación iónica	Nanoencapsulación espontánea.	Makhlof <i>et al.</i> (2011)
Administración de insulina	Quitosano, insulina (con diferentes proporciones de masa).	Autoensamblaje	Nanoencapsulación espontánea.	Mukhopadhyay <i>et al.</i> (2013)

Fuente: Adaptada de Yanat y Schroën (2021).

¿Qué es el grado de desacetilación de quitosano y cómo se mide?

El DD del quitosano es un parámetro que indica el porcentaje de grupos acetamida ($-\text{CONH}_2$) que han sido convertidos en grupos amino (NH_2) mediante la eliminación de los grupos acetilo ($-\text{CH}_3\text{CO}$). Este proceso de desacetilación se realiza principalmente por métodos químicos, enzimáticos o mecánicos, y es fundamental para definir las propiedades físicas, químicas y biológicas del quitosano (Curbelo Hernández *et al.*, 2021; Sivashankari y Prabakaran, 2017; Wu y Zivanovic, 2008; Xue *et al.*, 2022). Existen diversos métodos para determinar el DD del quitosano, los cuales se describen brevemente a continuación:

- Espectroscopía UV-Vis: método sensible y rápido, involucra la preparación de soluciones de D-glucosamina y N-acetilglucosamina en diferentes proporciones para establecer una curva de concentración. La absorbancia de las muestras se mide utilizando espectroscopía UV-Vis, y el DD se determina mediante la siguiente fórmula (D. Liu *et al.*, 2006):

$$\text{DD (\%)} = \left(\frac{[\text{GlcN}]}{[\text{GlcN}] + [\text{GlcN Ac}]} \right) \times 100$$

Donde:

[GlcN]: concentración de glucosamina (desacetilado)

[GlcN Ac]: concentración de N-acetilglucosamina (acetilado)

- FTIR: método rápido, basado en el análisis de las bandas de absorción de los grupos amida y amino. El DD se determina por las variaciones en la intensidad de las bandas (Czechowska-Biskup *et al.*, 2012).
- Análisis potenciométrico: emplea la titulación potenciométrica del quitosano, midiendo la cantidad de ácido necesaria para protonar los grupos NH_2 libres. Para calcular el DD, se utilizan los cambios en el pH durante la titulación. Aunque este método proporciona una medida directa del contenido de grupos amino, puede ser afectado por el grado de pureza del quitosano (Dutta y Priyanka, 2022; Hussain *et al.*, 2013).
- Resonancia magnética nuclear (RMN): mediante la RMN del hidrógeno (^1H) o del carbono (^{13}C) es posible identificar la presencia y proporción de los grupos.
- CONH_2 y $-\text{NH}_2$ en la estructura molecular del quitosano y así establecer el DD (De Alvarenga *et al.*, 2010). Este método es de alta precisión, lo cual proporciona información detallada sobre la estructura química del quitosano.

La elección del método para determinar el DD dependerá de varios factores como, la precisión requerida, el grado de pureza y solubilidad del quito-

sano, disponibilidad de recursos y equipos, así como el tiempo disponible, debido a que métodos espectroscópicos avanzados pueden requerir más tiempo en procesamiento y/o análisis (Sánchez-Machado *et al.*, 2024).

Se ha determinado que el DD afecta significativamente las propiedades del quitosano. Por ejemplo, un alto porcentaje de DD mejora la solubilidad del quitosano debido al número de grupos -NH_2 que pueden protonarse, lo cual mejora su biocompatibilidad y biodegradabilidad, aspectos clave en aplicaciones biomédicas (Minagawa *et al.*, 2007; Montenegro *et al.*, 2019). Además, el DD influye en la capacidad del quitosano para quelar metales, lo cual es crucial en aplicaciones como la remoción de contaminantes (Unagolla y Adikary, 2015). Un aspecto relevante del quitosano es su interacción biológica en función de su DD; un DD $> 70\%$ promueve una mayor carga positiva en el polímero, favoreciendo su adhesión a superficies celulares y matrices extracelulares (H. Y. Zhou *et al.*, 2008). Sin embargo, una interacción fuerte puede alterar la integridad de las membranas celulares, aumentar la permeabilidad y desencadenar respuestas inflamatorias, lo cual conduce a citotoxicidad (Berger *et al.*, 2004; Kean y Thanou, 2010). Esta citotoxicidad puede ser más pronunciada en condiciones fisiológicas donde los grupos amino están altamente protonados, generando interacciones electrostáticas con otros componentes celulares. Por lo anterior, es fundamental optimizar el DD para cada aplicación específica, logrando un equilibrio entre la eficacia funcional y compatibilidad biológica. La optimización del DD debe considerar factores como el método de desacetilación, el tiempo y temperatura del tratamiento con álcalis, y la fuente original de quitina, ya que estos pueden influir directamente en la estructura y propiedades finales del quitosano (Rinaudo, 2006). Por ejemplo, un DD moderado (60-85%) puede ser preferible en aplicaciones donde se desea reducir la citotoxicidad sin comprometer la funcionalidad del quitosano.

Relación entre el grado de desacetilación del quitosano y las propiedades de las nanopartículas

Actualmente, muchos estudios relacionan directa o indirectamente el DD del quitosano con las principales propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas como el tamaño, índice de polidispersión (PDI) y potencial Z. Estos últimos, son parámetros importantes en la aplicabilidad de nanopartículas de quitosano, que van desde la encapsulación y entrega de fármacos/ADN hasta efectos biológicos como anticancerígenos, antibacterianos, antifúngicos, y cicatrización de heridas (tabla 2).

Diversos estudios han confirmado una correlación positiva entre la actividad biológica y el DD del quitosano utilizado en la síntesis de nanopartículas (tabla 2). Se ha demostrado que el DD del quitosano está directamente relacionado con la interacción electrostática entre las membranas celulares y los grupos amino del polímero, lo cual se vería potenciado cuando se encuentre en soluciones con un valor de pH menor que la constante de protonación (pK_a) del quitosano.

Tabla 2. Principales estudios que relacionan el grado de desacetilación del quitosano con las principales propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas poliméricas.

Nanopartículas		Propiedades quitosano		Propiedades nanopartículas						Referencias
Composición	Aplicación objetivo	PM (kDa)	DD (%)	Tamaño (nm)	Potencial Z (mV)	PDI	EE (%)	Efecto probado		
Quitosano/ siRNA	Silenciamiento de genes	114-170	84	200	+20	-	-	80% eficacia de silenciamiento		X. Liu et al. (2007)
		12	77	500	+15	-	-	Bajo o nulo silenciamiento		
		9	95	3500	+13	-	-	Bajo o nulo silenciamiento		
Quitosano/ TPP (0.57 mM)	Cinética de agregación de nanopartículas	76	72	120	-	0.25	-	Agregación lenta ($r_0/r_t = 1.00-1.05$ en más de 1 h)		Y. Huang y Lapitsky (2017)
		73	82	150	-	0.28	-	Agregación rápida ($r_0/r_t = 1.00-1.30$ en 3 min)		
Quitosano/ TPP (0.065 mM)	Cinética de agregación de nanopartículas	80	91	120	-	0.35	-	Agregación media ($r_0/r_t = 1.00-1.15$ en 1 h)		Y. Huang y Lapitsky (2017)
		57	95	450	-	0.7	-	Agregación rápida ($r_0/r_t = 1.25$ en 10 min)		
Quitosano/ pDNA	Eficiencia de transfección	213	88	181	+22.2	-	>90	Eficiencia de transfección alta (12.1%)		M. Huang et al. (2005)
		213	46	239	+9.6	-	>90	Eficiencia de transfección baja (0.05%)		
Quitosano/ pDNA	Eficiencia de transfección	10	92	600-1000	+5 a +13	-	-	Eficiencia de transfección alta ($\approx 40\%$)		Lavertu et al. (2006)
		10	80	200-800	+3 a +10	-	-	Eficiencia de transfección alta ($\approx 30\%$)		

Continúa ▼

Tabla 2. Principales estudios que relacionan el grado de desacetilación del quitosano con las principales propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas poliméricas (continuación).

Nanopartículas		Propiedades quitosano		Propiedades nanopartículas					Referencias
Composición	Aplicación objetivo	PM (kDa)	DD (%)	Tamaño (nm)	Potencial Z (mV)	PDI	EE (%)	Efecto probado	
Quitosano	Actividad antimicrobiana	50-190	75-85	267	+36.8	0.83	–	Alta reproducibilidad en los valores de MIC (0.04 mg/ml)	Pereira <i>et al.</i> (2023)
		90-190	≥75	607	+27.03	0.84	–	Alta variabilidad en los valores de MIC (0.03-0.20 mg/ml)	
Quitosano/Fluconazol	<i>Candida</i> spp. resistente a fármacos	112.4	88.7	82	+3.36	–	79	Aumento de efecto antimicótico (MIC < 2.75 mg/ml)	El Rabey <i>et al.</i> (2019)
Quitosano/Albumina de suero bovino	Transporte de proteínas	210	75.5	–	–	12		Eficiencia de encapsulación disminuida (12%)	Xu y Du (2003)
		210	86	–	–	19		Eficiencia de encapsulación aumentada (19%)	
		210	92	–	–	19		Eficiencia de encapsulación aumentada (19%)	
Quitosano/Curcumina	Actividad anticancerígena	112.4	88.7	115	+33.8	–	84	Reducción de viabilidad de células cancerosas (hasta 73.8 % en A-546 tras 96 h)	Almutairi <i>et al.</i> (2020)
Quitosano	Efecto antiproliferativo	–	80.3	73.96	+41.5	< 0.3	–	Menor efecto citotóxico (viabilidad celular ≈ 50%)	Taher <i>et al.</i> (2019))
		–	89.5	91.68	+26.6	< 0.3	–	Mayor efecto citotóxico (viabilidad celular ≈ 40%)	

Continúa ▼

Tabla 2. Principales estudios que relacionan el grado de desacetilación del quitosano con las principales propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas poliméricas (continuación).

Nanopartículas		Propiedades quitosano		Propiedades nanopartículas					Referencias
Composición	Aplicación objetivo	PM (kDa)	DD (%)	Tamaño (nm)	Potencial Z (mV)	PDI	EE (%)	Efecto probado	
Quitosano/ Lecitina/ Melatonina	Cicatrización de heridas	50-150	75-90	245.2	+23.4	0.35	-	Tasa de cierre de herida medio (49.2%)	Blažević et al. (2016)
		50-150	>90	255	+24.5	0.38	-	Tasa de cierre de herida alto (59.4%)	
		150-400	75-90	256.1	+29.3	0.29	-	Tasa de cierre de herida medio (43.4%)	
		150-400	>90	277.1	+32.5	0.45	-	Tasa de cierre de herida bajo (< 40%)	
Quitosano/ Oligodesoxirribonucleótidos CpG	Captación intracelular	7.05	76.1	+29.93	+29.93	0.14	97.34	Captación celular media (nMFI ≈ 1.2)	Babii et al. (2020)
		15.01	74.4	+23.78	+23.78	0.09	88.84	Captación celular alta (nMFI ≈ 1.4)	
		6.54	49.5	+30.1	+30.1	0.12	96.78	Captación celular baja (nMFI ≈ 1.1)	
		18.36	51.2	+27.98	+27.98	0.13	91.97	Captación celular media (nMFI ≈ 1.25)	

nMFI: intensidad de fluorescencia mediana normalizada; MIC: concentración mínima inhibitoria; pDNA: plásmido de ADN; r0/rt: radio de partícula hidrodinámico normalizado; siRNA: ARN de interferencia pequeño.
 Fuente: Elaboración de los autores.

En estudios de encapsulación de material genético (siRNA, pDNA), el silenciamiento génico y la eficiencia de transfección *in vitro* mediante nanopartículas de quitosano dependen en gran medida del DD. Por ejemplo, el quitosano con un DD de 84% permitió la formación de nanopartículas estables de aproximadamente 200 nm, las cuales mostraron una eficiencia de silenciamiento génico del 80% frente a la expresión de la proteína fluorescente verde endógena (EGFP) en células de carcinoma pulmonar humano H1299 (X. Liu *et al.*, 2007). Si bien este resultado sugiere una influencia positiva del alto DD, cabe preguntarse si la eficiencia observada se debe primariamente al mayor contenido de grupos amino que mejoran la interacción electrostática con el material genético y facilitan la internalización celular, o si el tamaño de las nanopartículas (dentro del rango óptimo para endocitosis) también desempeñó un papel determinante. Aunque seguramente en una combinación de los dos parámetros, estudios comparativos que controlen el tamaño manteniendo constante el DD (y viceversa) serían necesarios para discernir cuál de estas variables tiene mayor peso en la eficiencia de transfección.

El DD alrededor de 80% pareciera óptimo para la afinidad celular y lograr la transfección. Aunque se ha sugerido que para obtener complejos estables con pDNA que transfecten las células diana *in vitro* el DD debe superar el 65% (Lavertu *et al.*, 2006). En ese sentido, se establece que un DD medio (> 70%) da como resultado una mayor carga positiva, la cual, a su vez, permite una mayor capacidad de unión con especies polianiónicas. Es importante señalar que otro parámetro a deber ser estudiado quizá como un factor conjunto al DD es el PM, pues se ha visto que el quitosano de alto PM y alto DD tienen suficiente longitud de cadena y densidad de carga para formar complejos eficientemente con el material genético en nanopartículas.

Nanopartículas con un diámetro medio más grande se prepararon con quitosano de un DD > 90% y un PM de 150-400 kDa. Nanopartículas con el diámetro medio más pequeño se prepararon con un quitosano de DD 75-90% y un PM de 50-150 kDa (Blažević *et al.*, 2016). Por otro lado, se ha informado que las moléculas de quitosano de alto PM pueden formar enlaces de hidrógeno internos, lo cual reduciría el número de grupos amino capaces de interactuar con las membranas (Poznanski *et al.*, 2023). Por lo anterior, se resalta que el tamaño, la carga superficial y las interacciones biológicas de las nanopartículas pueden depender también del PM además del DD del quitosano.

El PDI de las nanopartículas se puede disminuir al reducir el DD del quitosano, siendo sensible incluso a pequeñas diferencias en los valores del DD. Un estudio reveló que las distribuciones de tamaño se volvieron más uniformes cuando la cinética de agregación fue más lenta y se tenía un DD de 72%, comparado con un DD mayor (82-95%) (Y. Huang y Lapitsky, 2017).

También se ha demostrado que la eficiencia de encapsulación (EE%) aumenta a medida que crece el DD del quitosano, al menos cuando se encapsulan moléculas con grupos ácidos como la albúmina de suero bovino (BSA) (Xu y Du, 2003). Relacionándose lo mencionado con el mayor contenido de grupos

amino, los cuales fácilmente forman complejos con los grupos ácidos. Por lo tanto, se establece que el DD también influye en la formación de enlaces electrostáticos con fármacos o biomoléculas, afectando la eficiencia de encapsulación.

El DD del quitosano es un parámetro relevante que puede influir significativamente en las propiedades fisicoquímicas y biológicas de las nanopartículas, aunque su efecto depende también de otros factores como el PM y el tipo de carga del fármaco o biomolécula. En términos generales, un DD elevado suele asociarse con una mayor densidad de carga positiva en el polímero, lo cual puede favorecer las interacciones electrostáticas con membranas celulares o con moléculas de carga opuesta, como algunos ácidos nucleicos o fármacos aniónicos.

Impacto del grado de desacetilación en aplicaciones farmacéuticas y biomédicas de las nanopartículas de quitosano

El DD influye directamente en las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas y estas, asimismo, en sus aplicaciones biomédicas (figura 4). El ajuste en el DD pudiera permitir optimizar los nanosistemas conforme a los requisitos terapéuticos específicos. A continuación, detallamos la implicación del DD de quitosano y sus principales aplicaciones biomédicas.

Liberación controlada de fármacos:

Las propiedades fisicomecánicas del quitosano, en parte reguladas por su DD, son determinantes en su aplicación como nanoportador para la liberación controlada de fármacos. Un mayor DD aumenta la densidad de cargas positivas, potenciando las interacciones electrostáticas con polímeros de carga opuesta (Jhaveri *et al.*, 2021; Sharkawy *et al.*, 2022). Estas interacciones favorecen una mayor interconexión entre las cadenas poliméricas, lo cual da lugar a sistemas más compactos y, en consecuencia, a sistemas encapsuladores de fármacos.

El incremento del DD no solo reduce la tasa de liberación debido a las interacciones polielectrolíticas complejas, sino también por la reorganización de la microestructura polimérica. A mayor DD, el quitosano adquiere un carácter más cristalino (Jhaveri *et al.*, 2021), disminuyendo su susceptibilidad a la degradación. Paralelamente, la reducción en la cantidad de grupos acetilo disminuye la afinidad del quitosano por enzimas como la lisozima, lo cual retrasa su biodegradación (V. Kumar *et al.*, 2023; Luo *et al.*, 2018).

Cabe mencionar que el pH del medio influye significativamente en la cinética de liberación de sistemas nanoestructurados de quitosano. En condiciones ácidas, un DD elevado incrementa la protonación de los grupos amino libres, favoreciendo una mayor hidratación e hinchamiento de la matriz polimérica (Hussain *et al.*, 2013; X. Zhou *et al.*, 2014). Este fenómeno puede ace-

lerar la liberación del principio activo al facilitar la difusión a través de una red más expandida y permeable. Sin embargo, el efecto no puede ser universal, pues en algunos casos el incremento en la interacción electrostática entre el polímero cargado positivamente y el principio activo puede retardar la liberación, dependiendo de la naturaleza de la molécula encapsulada. Por tanto, el impacto del DD sobre la liberación debe evaluarse considerando el pH del entorno, el tipo de carga del fármaco y las condiciones de formulación.

Terapias génicas y basadas en ARN:

Un grado reducido de desacetilación (< 60%) disminuye la afinidad de los complejos por el ADN o siRNA (Kiang *et al.*, 2004; Mao *et al.*, 2010), lo cual puede inducir inestabilidad en las estructuras nanométricas, provocando la liberación prematura del material genético antes de su internalización celular y una mayor susceptibilidad a la degradación. En consecuencia, se requiere una mayor cantidad de quitosano para lograr una unión completa al material genético, equilibrando las cargas de los grupos amino y fosfato (Kiang *et al.*, 2004).

Aunque una tasa rápida de disociación extracelular no es óptima en modelos *in vitro*, puede ofrecer ventajas en aplicaciones *in vivo*, como la transfección muscular, debido a la rápida absorción. Y dado que las partículas sintetizadas con quitosano altamente desacetilado no se degradan fácilmente, pueden ser transportadas por células presentadoras de antígeno u otras células migratorias presentes, por lo cual un DD medio (70-85%) puede proporcionar una liberación más controlada de ADN al mismo tiempo que ofrece protección evitando la degradación del material genético (Kiang *et al.*, 2004).

Lavertu y colaboradores demostraron que la expresión transgénica óptima se obtiene al modular simultáneamente el PM y el DD del quitosano (Lavertu *et al.*, 2006). A menor PM es necesario un aumento en el DD, o viceversa. Estos parámetros interactúan de forma compleja, influenciados además por el pH del medio (Kritchenkov *et al.*, 2017; Lavertu *et al.*, 2006). Por ejemplo, un aumento en el pH desplaza el rango óptimo de PM hacia valores superiores, para compensar las cargas.

La interacción del quitosano con material genético, regulada por su DD, destaca su alta versatilidad para aplicaciones biomédicas.

Nanopartículas antimicrobianas:

Una de las cualidades más representativas del quitosano es su actividad antimicrobiana, atribuida a su capacidad para adherirse a la superficie bacteriana, debido a la carga negativa de los lipopolisacáridos y fosfolípidos en las células bacterianas (Amor *et al.*, 2024).

La evidencia sugiere que el aumento del DD y la disminución del pH optimizan sus propiedades antimicrobianas, tanto contra bacterias grampositivas como gramnegativas, mediante diversas interacciones que dependen de las diferencias en la composición de las paredes celulares (Mania *et al.*, 2023).

Además, su integración en nanopartículas potencia su actividad antimicrobiana, gracias al incremento del área superficial y su alta reactividad (Luo *et al.*, 2018).

Los mecanismos propuestos para su acción antimicrobiana incluyen: 1) bloqueo directo de la superficie bacteriana, impidiendo el paso de nutrientes y oxígeno al espacio intracelular; 2) penetración del quitosano a través de la membrana celular, ocasionando lisis celular o interfiriendo en la síntesis de ARNm, y, 3) quelación de iones metálicos, un proceso favorecido a pH alcalino, debido a la capacidad del grupo amino desprotonado para formar complejos estables (Amor *et al.*, 2024; Mania *et al.*, 2023).

Recientemente, Lu *et al.* desarrollaron un quitosano cuaternizado de alta desacetilación, mostrando una actividad antimicrobiana de amplio espectro, eficaz incluso a dosis mucho menores que los antibióticos convencionales. Inhibiendo también la formación de biopelículas y erradicando biopelículas maduras (Nasaj *et al.*, 2024).

Las nanoestructuras de quitosano representan una estrategia prometedora frente a la resistencia antimicrobiana a nivel global. Sin embargo, se requieren mayores esfuerzos para optimizar su aplicación, asegurando su eficacia mientras se mitiga la citotoxicidad.

Terapias antitumorales:

Las nanopartículas de quitosano destacan por su potencial terapéutico al interactuar con células tumorales. Su carga positiva, modulada por el DD, favorece la internalización celular, aumenta la citotoxicidad y reduce la resistencia eléctrica transepitelial (Garg *et al.*, 2019). Además, presentan actividad anticancerígena dependiente del PM y el DD, con baja toxicidad en células no cancerosas y eficacia variable según la línea celular (H. S. Adhikari y Yadav, 2018).

El quitosano, al presentar mayor carga positiva por sus grupos amino, se asocia preferentemente con la membrana de células cancerosas, las cuales son más negativas que las células sanas. Se ha observado que un mayor efecto citotóxico en células cancerosas se correlaciona con una mayor carga catiónica superficial (Je *et al.*, 2006; Luo *et al.*, 2018). Por ejemplo, un derivado de quitosano aumentó su efectividad en células de adenocarcinoma humano al incrementar su DD del 50 al 90% (Je *et al.*, 2006).

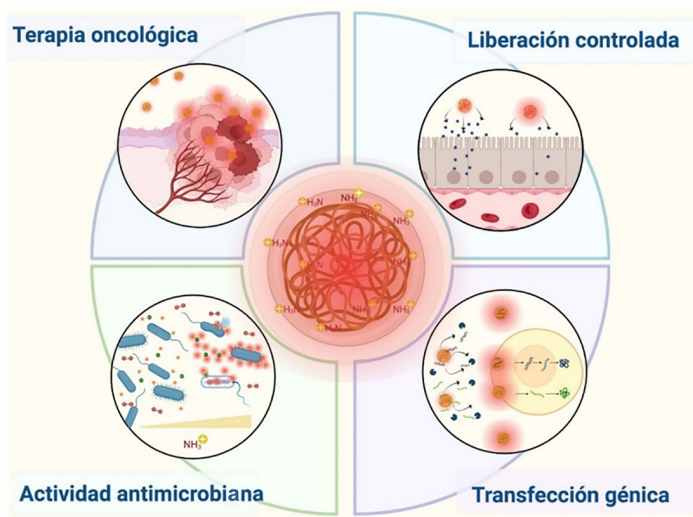
Los mecanismos de acción, influenciados por la carga electrónica, incluyen: 1) permeabilidad selectiva de la membrana celular; 2) inducción de apoptosis; 3) actividad antiangiogénica; 4) modulación del sistema inmunitario, y, 5) defensa antioxidante (H. S. Adhikari y Yadav, 2018).

El quitosano aumenta la permeabilidad epitelial al interactuar con proteínas de unión estrecha y desestabilizar la membrana plasmática, facilitando el transporte de fármacos (Garg *et al.*, 2019).

La incorporación de quitosano en sistemas nanotecnológicos ha demostrado un notable potencial para mejorar la eficacia de los tratamientos contra el cáncer. Y su combinación con estrategias de administración dirigidas pueden

optimizar la liberación en los tejidos diana, mejorando la efectividad terapéutica y minimizando efectos adversos sistémicos.

FIGURA 4. El grado de desacetilación influye en las propiedades de las nanopartículas y en sus aplicaciones biomédicas.



Fuente: Elaboración de los autores. Creada en <https://BioRender.com>.

Grado de desacetilación y su interacción con células objetivo

El DD influye directamente en su capacidad de biocompatibilidad y afinidad celular, debido a estar estrechamente relacionada con sus propiedades fisicoquímicas y biológicas (Akpan *et al.*, 2020). Por ejemplo, la adherencia y la proliferación celular se pueden ver favorecidas por el aumento en el DD del quitosano, mostrando una mejor biocompatibilidad a valores de entre 72-85% (Foster *et al.*, 2015; Prasitsilp *et al.*, 2000; Seda Tıgılı *et al.*, 2007). Esto se debe a que en quitosanos con mayor DD existe un mayor número de grupos amino libres, favoreciendo interacciones más estables entre el quitosano y las células (Bełdowski *et al.*, 2022).

En este contexto el creciente interés en el uso del quitosano como biopolímero para aplicaciones biomédicas por su afinidad celular ha impulsado la realización de múltiples ensayos *in vitro*, en los cuales diferentes tipos celulares han sido expuestos a quitosano con distintos grados de desacetilación, mostrando propiedades distintas según el tipo celular estudiado.

En un estudio realizado por Chatelet *et al.*, se evaluó el efecto de películas de quitosano con distintos grados de desacetilación en queratinocitos y fibro-

blastos. Los resultados mostraron que la adhesión celular decrecía conforme disminuía el DD, y que todas las películas (DD de 97.5, 92.5, 85.5, 75 y 53%) fueron citocompatibles con ambos tipos celulares. Además, los queratinocitos mostraron mayor proliferación a mayor DD. En cambio, los fibroblastos mostraron una menor proliferación celular, sin importar el DD. Este comportamiento puede deberse a su alta adhesión al quitosano, siendo casi el doble que en queratinocitos, lo cual podría interferir con su crecimiento (Chatelet *et al.*, 2001). Estos hallazgos sugieren que la proliferación celular en películas de quitosano varía según el tipo celular y su interacción con la superficie.

Variaciones en el DD también pueden inducir respuestas biológicas diferenciadas incluso en células del mismo tipo. En un estudio realizado por Freier *et al.* se evaluó la viabilidad de neuronas primarias del ganglio de la raíz dorsal (DRG) de pollo cultivadas sobre películas de quitosano con distintos grados de desacetilación. Los resultados mostraron que las películas con DD de 53.9% y 33.6% promovían una menor viabilidad celular en comparación con aquellas formuladas con un DD de 89.1% (Freier *et al.*, 2005). Los autores atribuyeron esta diferencia a la mayor cantidad de grupos amino libres presentes en los polímeros con alto DD, los cuales incrementan la densidad de carga positiva en la superficie del material. Esta carga pudiera favorecer la interacción electrostática con las membranas celulares cargadas negativamente. Estas interacciones pudieran facilitar la adhesión inicial de las células al sustrato y potenciar procesos y factores que en conjunto promueven la supervivencia celular.

De manera similar, un estudio sobre cultivos tridimensionales de células osteoblásticas humanas mostró una mejor adhesión y proliferación celular en esponjas de quitosano con un mayor DD ≥ 87 , mientras que con valores más bajos de DD $\leq 78\%$ se mostró una menor adhesión y proliferación celular (Amaral *et al.*, 2006).

Igualmente, otro estudio demostró que, al aumentar el DD en películas de quitosano, de un 72% a un 85%, se observa un incremento lineal en la proliferación de células gliales envoltantes del bulbo olfatorio (OECs), así como un incremento en la rugosidad superficial y en la cristalinidad de las películas. Estos cambios podrían facilitar la adhesión y mejorar la proliferación celular (Foster *et al.*, 2015).

Estos hallazgos podrían sugerir que la biocompatibilidad del quitosano aumenta con el DD. No obstante, aunque la proliferación y viabilidad celular promovidas por el quitosano muestran un comportamiento similar en múltiples tipos celulares, es fundamental considerar el DD del quitosano al realizar ensayos, pues incluso pequeñas variaciones pueden generar efectos biológicos distintos que podrían no ser los adecuados para ciertas aplicaciones. Por ejemplo, se ha descrito que los oligosacáridos de quitosano con mayor DD se asocian con una mayor actividad antitumoral en células cancerígenas de próstata, pulmón y hepatoma (Park *et al.*, 2011). En contraste, para aplicaciones de injertos óseos a base de hidrogeles de quitosano / β -glicerofosfato, el DD del quitosano influye en la viabilidad celular de las células estromales multi-

potentes (CEM), observándose un incremento en la proliferación celular cuando el DD del quitosano se incrementa de 72% a 85% (Vasilyev *et al.*, 2021).

Los resultados de estos estudios permiten construir un panorama general sobre la relación entre el DD del quitosano y su afinidad celular, entendida como su capacidad para interactuar de manera específica con ciertos tipos de células, promoviendo su adhesión, proliferación y diferenciación celular. Además, esta afinidad también se manifiesta en su capacidad para inducir una respuesta biológica.

Desafíos y oportunidades: futuro del quitosano en la nanotecnología

El futuro del quitosano en la nanotecnología parece prometedor, sin embargo, existen retos y limitaciones a ser superados para poder maximizar su potencial en diversas aplicaciones.

Entre las principales limitaciones del uso del quitosano en nanotecnología se encuentra su heterogeneidad estructural. Como se ha mencionado, tanto el DD como el PM varían según la fuente de obtención y el método de procesamiento, lo cual afecta directamente sus propiedades físicas, químicas y biológicas. Esta variabilidad influye en la estabilidad, la solubilidad y la capacidad de interacción con otras moléculas, comprometiendo el rendimiento de las nanopartículas resultantes (Carrasco-Sandoval *et al.*, 2023; Jaferník *et al.*, 2023). Otra limitante son los métodos de síntesis, actualmente estos métodos enfrentan dificultades en la reproducibilidad y escalabilidad; por lo tanto, la optimización de estos métodos es un elemento clave para permitir un control estricto del tamaño, la morfología y las modificaciones superficiales de las nanopartículas, permitiendo así su producción a mayor escala con fines industriales (Jaferník *et al.*, 2023; Nguyen *et al.*, 2022). Finalmente, las técnicas disponibles para determinar y controlar el DD pueden ser costosas, de difícil acceso o ser relativamente complejas. Además, no siempre proporcionan la precisión necesaria, generando inconsistencias en el comportamiento del quitosano en aplicaciones nanotecnológicas (Ahsan *et al.*, 2018; Mikušová y Mikuš, 2021; Sánchez-Machado *et al.*, 2024).

Optimización del DD para aplicaciones específicas:

Para poder optimizar el DD del quitosano en aplicaciones que requieran alta especificidad se pueden considerar varios enfoques (H. Y. Zhou *et al.*, 2008). Por ejemplo, desarrollar nuevos métodos analíticos que tengan mayor precisión obteniendo mediciones más exactas y reproducibles (Trung *et al.*, 2006). Otra opción sería tener un mayor control en las condiciones de síntesis, ajustando parámetros en el proceso de desacetilación como el tiempo, la temperatura y el uso de catalizadores, con la finalidad de obtener un producto más uniforme (Dutta y Priyanka, 2022; Hussain *et al.*, 2013).

Potencial para el desarrollo de quitosano personalizado para aplicaciones específicas:

Actualmente, el uso de quitosano modificado ha despertado gran interés en la investigación científica, permitiendo aplicaciones con alta especificidad en una amplia variedad de ámbitos. La modificación del quitosano ya sea por medios químicos como la inserción de grupos funcionales (D. Kumar *et al.*, 2020), o por medios físicos como la radiación (C. Adhikari, 2021; Hernández-Parra *et al.*, 2024) han demostrado mejorar su interacción con otras moléculas. Además, la combinación de quitosano con otros polímeros o metales (Jaiyakumar *et al.*, 2005) contribuye a obtener propiedades específicas como conductividad e incluso aumentar su especificidad. Otro uso del quitosano modificado es la creación de sistemas que ayuden a dirigir fármacos a tejidos o células específicas (Mirajkar *et al.*, 2021; Saikia *et al.*, 2015).

Por lo tanto, aunque el quitosano presenta limitaciones en su aplicación en nanotecnología, el desarrollo de nuevas técnicas de caracterización y modificación ha garantizado nuevas oportunidades de aplicación, incrementando su valor añadido.

Conclusión

El DD del quitosano es un parámetro crítico en la síntesis y funcionalidad de nanopartículas con aplicaciones farmacéuticas y biomédicas. Un alto DD confiere mayor carga positiva a la cadena polimérica, mejorando su interacción con membranas celulares y biomoléculas; sin embargo, un muy alto DD (cerca al 100%) pudiera resultar en una afinidad tan fuerte que se puede volver tóxica. Mientras que un bajo DD puede afectar la solubilidad y estabilidad coloidal de nanoformulaciones. La optimización del DD permite ajustar propiedades clave como el tamaño, la carga superficial y la eficiencia de encapsulación, influyendo directamente en la biodisponibilidad y en la liberación controlada de fármacos.

Los estudios analizados en esta revisión destacan que el equilibrio entre DD y PM es esencial para maximizar el desempeño de las nanopartículas en aplicaciones que van desde terapia génica hasta administración de fármacos y actividades antimicrobianas y antitumorales.

Sin embargo, persisten desafíos en la estandarización de métodos de caracterización y en la optimización de producción de quitosano con determinados grados de desacetilación a gran escala. En este sentido, futuras investigaciones deben enfocarse en comprender la relación entre el DD y la bioactividad del quitosano, así como en desarrollar estrategias que permitan su personalización para aplicaciones específicas.

El potencial del quitosano como nanomaterial estratégico sigue en expansión, consolidándose como un candidato versátil para el desarrollo de tecnologías avanzadas en el campo farmacéutico y biomédico.

Contribución de autorías

Hector Hernández-Parra: concepción y diseño del artículo, desarrollo metodológico, redacción del borrador original, revisión y edición final del texto.
Stephany Celeste Gutiérrez-Ruiz, Nancy Lizbeth Rodríguez-Morales, H. Adrián García-Gasca, Sheila I. Peña-Corona, Juan I. Chávez-Corona, Benjamín Florán, Hernán Cortés, Gerardo Leyva-Gómez: redacción del borrador original, revisión y edición final del texto.

Referencias

- Abourehab, M. A. S., Pramanik, S., Abdelgawad, M. A., Abualsoud, B. M., Kadi, A., Ansari, M. J. y Deepak, A. (2022). Recent advances of chitosan formulations in biomedical applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18): 10975. <https://doi.org/10.3390/IJMS231810975>.
- Adhikari, C. (2021). Polymer nanoparticles-preparations, applications and future insights: a concise review. *Polymer-Plastics Technology and Materials*, 60(18): 1996-2024. <https://doi.org/10.1080/25740881.2021.1939715>.
- Adhikari, H. S. y Yadav, P. N. (2018). Anticancer activity of chitosan, chitosan derivatives, and their mechanism of action. *International Journal of Biomaterials*, 2018(1): 2952085. <https://doi.org/10.1155/2018/2952085>.
- Ahsan, S. M., Thomas, M., Reddy, K. K., Sooraparaju, S. G., Asthana, A. y Bhatnagar, I. (2018). Chitosan as biomaterial in drug delivery and tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, 110: 97-109. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2017.08.140>.
- Akpan, E. I., Gbenebor, O. P., Adeosun, S. O. y Cletus, O. (2020). Solubility, degree of acetylation, and distribution of acetyl groups in chitosan. *Handbook of chitin and chitosan: Vol. 1: Preparation and properties*, 131-164. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817970-3.00005-5>.
- Almada, M., Luna, M., Gastelum Cabrera, M., Beltrán, O., Martínez Flores, P. D., García Mar, J. A., Topete, A., López Mata, M. A., Reyes Márquez, V., Burboa, M. G., Valdés, M. A. y Juárez-Onofre, J. E. (2023). Nanopartículas basadas en quitosano con potenciales aplicaciones en biomedicina. *TECNOCIENCIA Chihuahua*, 17(4): e1293. <https://doi.org/10.54167/tch.v17i4.1293>.
- Almutairi, F. M., El Rabey, H. A., Tayel, A. A., Alalawy, A. I., Al-Duais, M. A., Sakran, M. I. y Zidan, N. S. (2020). Augmented anticancer activity of curcumin loaded fungal chitosan nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 155: 861-867. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.11.207>.
- Amaral, I. F., Sampaio, P. y Barbosa, M. A. (2006). Three-dimensional culture of human osteoblastic cells in chitosan sponges: the effect of the degree of acetylation. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 76A(2): 335-346. <https://doi.org/10.1002/JBM.A.30522>.
- Amor, I. Ben, Hemmami, H., Laouini, S. E., Abdelaziz, A. G. y Barhoum, A. (2024). Influence of chitosan source and degree of deacetylation on antibacterial activity and

- adsorption of AZO dye from water. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(14): 16245-16255. <https://doi.org/10.1007/S13399-023-03741-9/TABLES/2>.
- Anitha, A., Deepa, N., Chennazhi, K. P., Lakshmanan, V.-K. y Jayakumar, R. (2014). Combinatorial anticancer effects of curcumin and 5-fluorouracil loaded thiolated chitosan nanoparticles towards colon cancer treatment. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*, 1840(9): 2730-2743. <https://doi.org/10.1016/j.bba-gen.2014.06.004>.
- Aranaz, I., Alcántara, A. R., Civera, M. C., Arias, C., Elorza, B., Caballero, A. H., Acosta, N., Velasco, H., Mecerreyes, D., Antonio, R., Gimeno, B., María Díez-Pascual, A., Moreno, V. C. y Serra, A. (2021). Chitosan: an overview of its properties and applications. *Polymers*, 13(19): 3256. <https://doi.org/10.3390/POLYM13193256>.
- Ardean, C., Davidescu, C. M., Nemeş, N. S., Negrea, A., Ciopec, M., Duteanu, N., Negrea, P., Duda-seiman, D. y Musta, V. (2021). Factors influencing the antibacterial activity of chitosan and chitosan modified by functionalization. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(14): 7449. <https://doi.org/10.3390/IJMS22147449>.
- Babii, O., Wang, Z., Liu, G., Martínez, E. C., Van Drunen Littel-Van den Hurk, S. y Chen, L. (2020). Low molecular weight chitosan nanoparticles for CpG oligodeoxynucleotides delivery: impact of molecular weight, degree of deacetylation, and mannosylation on intracellular uptake and cytokine induction. *International Journal of Biological Macromolecules*, 159: 46-56. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.05.048>.
- Bełdowski, P., Przybyłek, M., Sionkowska, A., Cysewski, P., Gadomska, M., Musiał, K. y Gadomski, A. (2022). Effect of chitosan deacetylation on its affinity to type III collagen: a molecular dynamics study. *Materials*, 15(2): 463. <https://doi.org/10.3390/MA15020463>.
- Ben Amor, I., Hemmami, H., Grara, N., Aidat, O., Ben Amor, A., Zeghoud, S. y Bellucci, S. (2024). Chitosan: a green approach to metallic nanoparticle/nanocomposite synthesis and applications. *Polymers*, 16(18): 2662. <https://doi.org/10.3390/polym16182662>.
- Berger, J., Reist, M., Mayer, J. M., Felt, O., Peppas, N. A. y Gurny, R. (2004). Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 57(1): 19-34. [https://doi.org/10.1016/S0939-6411\(03\)00161-9](https://doi.org/10.1016/S0939-6411(03)00161-9).
- Bhavsar, C., Momin, M., Gharat, S. y Omri, A. (2017). Functionalized and graft copolymers of chitosan and its pharmaceutical applications. *Expert opinion on drug delivery*, 14(10): 1189-1204. <https://doi.org/10.1080/17425247.2017.1241230>.
- Blažević, F., Milekić, T., Romić, M. D., Juretić, M., Pepić, I., Filipović-Grčić, J., Lovrić, J. y Hafner, A. (2016). Nanoparticle-mediated interplay of chitosan and melatonin for improved wound epithelialisation. *Carbohydrate Polymers*, 146: 445-454. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2016.03.074>.
- Carrasco-Sandoval, J., Aranda, M., Henríquez-Aedo, K., Fernández, M., López-Rubio, A. y Fabra, M. J. (2023). Impact of molecular weight and deacetylation degree of chitosan on the bioaccessibility of quercetin encapsulated in alginate/chitosan-

- coated zein nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 242: 124876. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.124876>.
- Chandy, T., Rao, G. H. R., Wilson, R. F. y Das, G. S. (2002). Delivery of LMW heparin via surface coated chitosan/peg-alginate microspheres prevents thrombosis. *Drug Delivery*, 9(2): 87-96. <https://doi.org/10.1080/10426500290095584>.
- Chatelet, C., Damour, O. y Domard, A. (2001). Influence of the degree of acetylation on some biological properties of chitosan films. *Biomaterials*, 22(3): 261-268. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00183-6](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00183-6).
- Chen, Q., Qi, Y., Jiang, Y., Quan, W., Luo, H., Wu, K., Li, S. y Ouyang, Q. (2022). Progress in research of chitosan chemical modification technologies and their applications. *Marine Drugs*, 20(8): 536. <https://doi.org/10.3390/md20080536>.
- Cheung, R., Ng, T., Wong, J. y Chan, W. (2015). Chitosan: an update on potential biomedical and pharmaceutical applications. *Marine Drugs*, 13(8): 5156-5186. <https://doi.org/10.3390/md13085156>.
- Curbelo Hernández, C., Palacio Dubois, Y. y Fanego Hernández, S. (2021). Desacetilación de quitina obtenida por vía química de exoesqueletos de camarón *litopenaeus vannamei*. *Centro Azúcar*, 48(3): 53-61. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2223-48612021000300053&lng=es&nrm=iso&tlng=es.
- Czechowska-Biskup, R., D. Jarosinska, B. Rokita, P. Ulanski, J. M. Rosiak, (2012). Determination of degree of deacetylation of chitosan – Comparison of methods. *Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivates. Volume XVII. Sociedad Polaca de Quitina*.
- De Alvarenga, E. S., Pereira de Oliveira, C. y Roberto Bellato, C. (2010). An approach to understanding the deacetylation degree of chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 80(4): 1155-1160. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2010.01.037>.
- Duceppe, N. y Tabrizian, M. (2010). Advances in using chitosan-based nanoparticles for *in vitro* and *in vivo* drug and gene delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 7(10): 1191-1207. <https://doi.org/10.1517/17425247.2010.514604>.
- Dutta, J. y Priyanka. (2022). A facile approach for the determination of degree of deacetylation of chitosan using acid-base titration. *Heliyon*, 8(7): e09924. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09924>.
- El Rabey, H. A., Almutairi, F. M., Alalawy, A. I., Al-Duais, M. A., Sakran, M. I., Zidan, N. S. y Tayel, A. A. (2019). Augmented control of drug-resistant *Candida* spp. via fluconazole loading into fungal chitosan nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 141: 511-516. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.09.036>.
- Fabiano, A., Beconcini, D., Migone, C., Piras, A. M. y Zambito, Y. (2020). Quaternary ammonium chitosans: the importance of the positive fixed charge of the drug delivery systems. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(18): 6617. <https://doi.org/10.3390/IJMS21186617>.
- Fan, L., Wu, P., Zhang, J., Gao, S., Wang, L., Li, M., Sha, M., Xie, W. y Nie, M. (2012). Synthesis and anticoagulant activity of the quaternary ammonium chitosan sulfates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50(1): 31-37. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2011.09.024>.

- Foster, L. J. R., Ho, S., Hook, J., Basuki, M. y Marçal, H. (2015). Chitosan as a biomaterial: influence of degree of deacetylation on its physiochemical, material and biological properties. *PLOS ONE*, 10(8): e0135153. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0135153>.
- Franca, E. F., Freitas, L. C. G. y Lins, R. D. (2011). Chitosan molecular structure as a function of N-acetylation. *Biopolymers*, 95(7): 448-460. <https://doi.org/10.1002/BIP.21602>.
- Freier, T., Koh, H. S., Kazazian, K. y Shoichet, M. S. (2005). Controlling cell adhesion and degradation of chitosan films by N-acetylation. *Biomaterials*, 26(29): 5872-5878. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMATERIALS.2005.02.033>.
- Garg, U., Chauhan, S., Nagaich, U. y Jain, N. (2019). Current advances in chitosan nanoparticles based drug delivery and targeting. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 9(2): 195. <https://doi.org/10.15171/APB.2019.023>.
- Giraldo, J. (2015). *Propiedades, obtención, caracterización y aplicaciones del quitosano*. University of Concepcion, mayo. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3350.9287>.
- Grewal, A. K. y Salar, R. K. (2024). Chitosan nanoparticle delivery systems: an effective approach to enhancing efficacy and safety of anticancer drugs. *Nano TransMed*, 3: 100040. <https://doi.org/10.1016/j.ntm.2024.100040>.
- Hamdi, M., Nasri, R., Hajji, S., Nigen, M., Li, S. y Nasri, M. (2019). Acetylation degree, a key parameter modulating chitosan rheological, thermal and film-forming properties. *Food Hydrocolloids*, 87: 48-60. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2018.07.027>.
- Harugade, A., Sherje, A. P. y Pethe, A. (2023). Chitosan: a review on properties, biological activities and recent progress in biomedical applications. *Reactive and Functional Polymers*, 191, 105634. <https://doi.org/10.1016/J.REACTFUNCT-POLYM.2023.105634>.
- Hasegawa, M., Yagi, K., Iwakawa, S. y Hirai, M. (2001). Chitosan induces apoptosis via caspase-3 activation in bladder tumor cells. *Japanese Journal of Cancer Research*, 92(4): 459-466. <https://doi.org/10.1111/J.1349-7006.2001.TB01116.X>.
- Hashad, R. A., Ishak, R. A. H., Geneidi, A. S. y Mansour, S. (2017). Surface functionalization of methotrexate-loaded chitosan nanoparticles with hyaluronic acid/human serum albumin: comparative characterization and *in vitro* cytotoxicity. *International Journal of Pharmaceutics*, 522(1-2): 128-136. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2017.03.008>.
- Hernández-Parra, H., Cortés, H., Romero-Montero, A., Borbolla-Jiménez, F. V., Magaña, J. J., Del Prado-Audelo, M. L., Florán, B. y Leyva-Gómez, G. (2024). Polymeric nanoparticles decorated with fragmented chitosan as modulation systems for neuronal drug uptake. *Carbohydrate Polymers*, 336: 122121. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2024.122121>.
- Huang, G. Q., Zhang, Z. K., Cheng, L. Y. y Xiao, J. X. (2019). Intestine-targeted delivery potency of O-carboxymethyl chitosan-coated layer-by-layer microcapsules: an *in vitro* and *in vivo* evaluation. *Materials Science and Engineering C*, 105. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110129>.

- Huang, L. -F., Ye, Q. -R., Chen, X. -C., Huang, X. -R., Zhang, Q. -F., Wu, C. -Y., Liu, H. -F. y Yang, C. (2024). Research progress of drug delivery systems targeting the kidneys. *Pharmaceuticals*, 17(5): 625. <https://doi.org/10.3390/ph17050625>.
- Huang, M., Fong, C. W., Khor, E. y Lim, L. Y. (2005). Transfection efficiency of chitosan vectors: effect of polymer molecular weight and degree of deacetylation. *Journal of Controlled Release*, 106(3): 391-406. <https://doi.org/10.1016/J.JCONREL.2005.05.004>.
- Huang, Y. y Lapitsky, Y. (2017). On the kinetics of chitosan/tripolyphosphate micro- and nanogel aggregation and their effects on particle polydispersity. *Journal of Colloid and Interface Science*, 486: 27-37. <https://doi.org/10.1016/J.JCIS.2016.09.050>.
- Hussain, Md. R., Iman, M. y Maji, T. (2013). Determination of degree of deacetylation of chitosan and their effect on the release behavior of essential oil from chitosan and chitosan- gelatin complex microcapsules. *International Journal of Advanced Engineering Applications*, 1(4): 4-12.
- İlyasoğlu, H., Nadzieja, M. y Guo, Z. (2019). Caffeic acid grafted chitosan as a novel dual-functional stabilizer for food-grade emulsions and additive antioxidant property. *Food Hydrocolloids*, 95: 168-176. <https://doi.org/10.1016/J.FOOD-HYD.2019.04.043>.
- Iqbal, N., Ganguly, P., Yildizbakan, L., Raif, E. M., Jones, E., Giannoudis, P. V. y Jha, A. (2024). Chitosan scaffolds from crustacean and fungal sources: a comparative study for bone-tissue-engineering applications. *Bioengineering*, 11(7): 720. <https://doi.org/10.3390/bioengineering11070720>.
- Jaferník, K., Ładniak, A., Blicharska, E., Czarnek, K., Ekiert, H., Wiącek, A. E. y Szopa, A. (2023). Chitosan-based nanoparticles as effective drug delivery systems – A review. *Molecules*, 28(4):1963. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES28041963>.
- Jayakumar, R., Prabakaran, M., Reis, R. L. y Mano, J. F. (2005). Graft copolymerized chitosan—Present status and applications. *Carbohydrate Polymers*, 62(2): 142-158. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2005.07.017>.
- Je, J. Y., Cho, Y. S. y Kim, S. K. (2006). Cytotoxic activities of water-soluble chitosan derivatives with different degree of deacetylation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 16(8): 2122-2126. <https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2006.01.060>.
- Jhaveri, J., Raichura, Z., Khan, T., Momin, M., Omri, A., Stancanelli, R., Tommasini, S., Anna Ventura, C., Crupi, V. y Majolino, D. (2021). Chitosan nanoparticles-insight into properties, functionalization and applications in drug delivery and theranostics. *Molecules*, 26(2): 272. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26020272>.
- Jiménez-Gómez, C. P., Cecilia, J. A., Guidotti, M. y Soengas, R. (2020). Chitosan: a natural biopolymer with a wide and varied range of applications. *Molecules*, 25(17): 3981. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25173981>.
- Kean, T. y Thanou, M. (2010). Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62(1): 3-11. <https://doi.org/10.1016/J.ADDR.2009.09.004>.
- Kiang, T., Wen, J., Lim, H. W. y Leong, K. W. (2004). The effect of the degree of chitosan deacetylation on the efficiency of gene transfection. *Biomaterials*, 25(22): 5293-5301. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMATERIALS.2003.12.036>.

- Kim, S. (2018). Competitive biological activities of chitosan and its derivatives: antimicrobial, antioxidant, anticancer, and anti-inflammatory activities. *International Journal of Polymer Science*, 1: 1708172. <https://doi.org/10.1155/2018/1708172>.
- Kluczka, J. (2024). Chitosan: structural and chemical modification, properties, and application. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(1): 554. <https://doi.org/10.3390/IJMS25010554>.
- Koski, C., Vu, A. A. y Bose, S. (2020). Effects of chitosan-loaded hydroxyapatite on osteoblasts and osteosarcoma for chemopreventative applications. *Materials Science and Engineering: C*, 115: 111041. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2020.111041>.
- Kritchenkov, A. S., Andranovits, S. y Skorik, Y. A. (2017). Chitosan and its derivatives: vectors in gene therapy. *Russian Chemical Reviews*, 86(3): 231-239. <https://doi.org/10.1070/RCR4636>.
- Kumar, A. y Zhang, K. Y. J. (2019). Human chitinases: structure, function, and inhibitor discovery. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1142: 221-251. https://doi.org/10.1007/978-981-13-7318-3_11.
- Kumar, D., Gihar, S., Shrivash, M. K., Kumar, P. y Kundu, P. P. (2020). A review on the synthesis of graft copolymers of chitosan and their potential applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163: 2097-2112. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.09.060>.
- Kumar, V., Sharma, N., Janghu, P., Pasrija, R., Umesh, M., Chakraborty, P., Sarojini, S. y Thomas, J. (2023). Synthesis and characterization of chitosan nanofibers for wound healing and drug delivery application. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 87: 104858. <https://doi.org/10.1016/J.JDDST.2023.104858>.
- Kumirska, J., Weinhold, M. X., Thöming, J. y Stepnowski, P. (2011). Biomedical activity of chitin/chitosan based materials – Influence of physicochemical properties apart from molecular weight and degree of N-acetylation. *Polymers*, 3(4): 1875-1901. <https://doi.org/10.3390/POLYM3041875>.
- Lavertu, M., Méthot, S., Tran-Khanh, N. y Buschmann, M. D. (2006). High efficiency gene transfer using chitosan/DNA nanoparticles with specific combinations of molecular weight and degree of deacetylation. *Biomaterials*, 27(27): 4815-4824. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMATERIALS.2006.04.029>.
- Lavinskaya, M. S., Sorokin, A. V., Mikhaylova, A. A., Kuznetsov, E. I., Baidamshina, D. R., Saranov, I. A., Grechkina, M. V., Holyavka, M. G., Zuev, Y. F., Kayumov, A. R. y Artyukhov, V. G. (2024). The low-waste grafting copolymerization modification of chitosan is a promising approach to obtaining materials for food applications. *Polymers*, 16(11): 1596. <https://doi.org/10.3390/POLYM16111596>.
- Liu, D., Wei, Y., Yao, P. y Jiang, L. (2006). Determination of the degree of acetylation of chitosan by UV spectrophotometry using dual standards. *Carbohydrate Research*, 341(6): 782-785. <https://doi.org/10.1016/J.CARRES.2006.01.008>.
- Liu, X., Howard, K. A., Dong, M., Andersen, M., Rahbek, U. L., Johnsen, M. G., Hansen, O. C., Besenbacher, F. y Kjems, J. (2007). The influence of polymeric properties on chitosan/siRNA nanoparticle formulation and gene silencing. *Biomaterials*, 28(6): 1280-1288. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMATERIALS.2006.11.004>.

- Luo, L. J., Huang, C. C., Chen, H. C., Lai, J. Y. y Matsusaki, M. (2018). Effect of deacetylation degree on controlled pilocarpine release from injectable chitosan-g-poly(N-isopropylacrylamide) carriers. *Carbohydrate Polymers*, 197: 375-384. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2018.06.020>.
- Makhlof, A., Tozuka, Y. y Takeuchi, H. (2011). Design and evaluation of novel pH-sensitive chitosan nanoparticles for oral insulin delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 42(5): 445-451. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2010.12.007>.
- Mania, S., Banach-Kopeć, A., Staszczuk, K., Kulesza, J., Augustin, E. y Tylingo, R. (2023). An influence of molecular weight, deacetylation degree of chitosan xerogels on their antimicrobial activity and cytotoxicity. Comparison of chitosan materials obtained using lactic acid and CO₂ saturation. *Carbohydrate Research*, 534: 108973. <https://doi.org/10.1016/J.CARRES.2023.108973>.
- Mao, S., Sun, W. y Kissel, T. (2010). Chitosan-based formulations for delivery of DNA and siRNA. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62(1): 12-27. <https://doi.org/10.1016/J.ADDR.2009.08.004>.
- Mikušová, V. y Mikuš, P. (2021). Advances in chitosan-based nanoparticles for drug delivery. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17): 9652. <https://doi.org/10.3390/IJMS22179652>.
- Minagawa, T., Okamura, Y., Shigemasa, Y., Minami, S. y Okamoto, Y. (2007). Effects of molecular weight and deacetylation degree of chitin/chitosan on wound healing. *Carbohydrate Polymers*, 67(4): 640-644. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2006.07.007>.
- Mirajkar, S., Rathod, P., Pawar, B., Penna, S. y Dalvi, S. (2021). γ -Irradiated chitosan mediates enhanced synthesis and antimicrobial properties of chitosan-silver (Ag) nanocomposites. *ACS Omega*, 6(50): 34812-34822. https://doi.org/10.1021/ACSOMEGA.1C05358/SUPPL_FILE/AO1C05358_SI_001.PDF.
- Montenegro, H. E., Vega, D. y Hernández, A. (2019). Preparación y caracterización de algunos derivados del quitosano. *Scientia*, 29: 10-33. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=651769120002>.
- Mukhopadhyay, P., Sarkar, K., Chakraborty, M., Bhattacharya, S., Mishra, R. y Kundu, P. P. (2013). Oral insulin delivery by self-assembled chitosan nanoparticles: *in vitro* and *in vivo* studies in diabetic animal model. *Materials Science and Engineering: C*, 33(1): 376-382. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2012.09.001>.
- Mura, P., Maestrelli, F., Cirri, M. y Mennini, N. (2022). Multiple roles of chitosan in mucosal drug delivery: an updated review. *Marine Drugs*, 20(5): 335. <https://doi.org/10.3390/md20050335>.
- Nasaj, M., Chehelgerdi, M., Asghari, B., Ahmadih-Yazdi, A., Asgari, M., Kabiri-Samani, S., Sharifi, E. y Arabestani, M. (2024). Factors influencing the antimicrobial mechanism of chitosan action and its derivatives: a review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 277: 134321. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2024.134321>.
- Nguyen, H. T. T., Tran, T. N., Ha, A. C. y Huynh, P. D. (2022). Impact of deacetylation degree on properties of chitosan for formation of electrosprayed nanoparticles. *Journal of Nanotechnology*, 2022(1): 2288892. <https://doi.org/10.1155/2022/2288892>.

- Özbaş-Turan, S. y Akbuğa, J. (2011). Plasmid DNA-loaded chitosan/TPP nanoparticles for topical gene delivery. *Drug Delivery*, 18(3): 215-222. <https://doi.org/10.3109/10717544.2010.544688>.
- Park, J. K., Chung, M. J., Choi, H. N. y Park, Y. Il. (2011). Effects of the molecular weight and the degree of deacetylation of chitosan oligosaccharides on antitumor activity. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(1): 266-277. <https://doi.org/10.3390/IJMS12010266>.
- Pereira, S., Costa-Ribeiro, A., Teixeira, P., Rodríguez-Lorenzo, L., Prado, M., Cerqueira, M. A. y Garrido-Maestu, A. (2023). Evaluation of the antimicrobial activity of chitosan nanoparticles against *Listeria monocytogenes*. *Polymers*, 15(18): 3759. <https://doi.org/10.3390/POLYM15183759>.
- Poznanski, P., Hameed, A. y Orczyk, W. (2023). Chitosan and chitosan nanoparticles: parameters enhancing antifungal activity. *Molecules*, 28(7): 2996. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES28072996>.
- Prasitsilp, M., Jenwithisuk, R., Kongsuwan, K., Damrongchai, N. y Watts, P. (2000). Cellular responses to chitosan *in vitro*: the importance of deacetylation. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 11(12): 773-778. <https://doi.org/10.1023/A:1008997311364/METRICS>.
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31(7): 603-632. <https://doi.org/10.1016/J.PROGPOLYMS-CL.2006.06.001>.
- Saikia, C., Gogoi, P. y Maji, T. (2015). Chitosan: a promising biopolymer in drug delivery applications. *Journal of Molecular and Genetic Medicine*, s4. <https://doi.org/10.4172/1747-0862.S4-006>.
- Sánchez-Machado, D. I., López-Cervantes, J., Escárcega-Galaz, A. A., Campas-Baypoli, O. N., Martínez-Ibarra, D. M. y Rascón-León, S. (2024). Measurement of the degree of deacetylation in chitosan films by FTIR, 1H NMR and UV spectrophotometry. *MethodsX*, 12: 102583. <https://doi.org/10.1016/J.MEX.2024.102583>.
- Sang Yoo, H., Eun Lee, J., Chung, H., Chan Kwon, I. y Young Jeong, S. (2005). Self-assembled nanoparticles containing hydrophobically modified glycol chitosan for gene delivery. *Journal of Controlled Release*, 103(1): 235-243. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2004.11.033>.
- Seda Tıghı, R., Karakeçili, A. y Gümüşderelioglu, M. (2007). *In vitro* characterization of chitosan scaffolds: influence of composition and deacetylation degree. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 18(9): 1665-1674. <https://doi.org/10.1007/S10856-007-3066-X/METRICS>.
- Sharkawy, A., Barreiro, F. y Rodrigues, A. (2022). Pickering emulsions stabilized with chitosan/gum Arabic particles: effect of chitosan degree of deacetylation on the physicochemical properties and cannabidiol (CBD) topical delivery. *Journal of Molecular Liquids*, 355: 118993. <https://doi.org/10.1016/J.MOL-LIQ.2022.118993>.
- Sivashankari, P. R. y Prabakaran, M. (2017). Deacetylation modification techniques of chitin and chitosan. *Chitosan based biomaterials: fundamentals: Volume 1*, 1, 117-133. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100230-8.00005-4>.

- Suryani, S., Chaerunisaa, A., Joni, I. M., Ruslin, R., Aspadiah, V., Anton, A., Sartinah, A. y Ramadhan, L. O. A. (2024). The chemical modification to improve solubility of chitosan and its derivatives application, preparation method, toxicity as a nanoparticles. *Nanotechnology, Science and Applications*, 17: 41-57. <https://doi.org/10.2147/NSA.S450026>.
- Taher, F. A., Ibrahim, S. A., El-Aziz, A. A., Abou El-Nour, M. F., El-Sheikh, M. A., El-Husseiny, N. y Mohamed, M. M. (2019). Anti-proliferative effect of chitosan nanoparticles (extracted from crayfish *Procambarus clarkii*, Crustacea: Cambaridae) against MDA-MB-231 and SK-BR-3, human breast cancer cell lines. *International Journal of Biological Macromolecules*, 126: 478-487. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2018.12.151>.
- Trung, T. S., Thein-Han, W. W., Qui, N. T., Ng, C. H. y Stevens, W. F. (2006). Functional characteristics of shrimp chitosan and its membranes as affected by the degree of deacetylation. *Bioresource Technology*, 97(4): 659-663. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2005.03.023>.
- Unagolla, J. M. y Adikary, S. U. (2015). Adsorption characteristics of cadmium and lead heavy metals into locally synthesized chitosan biopolymer. *Tropical Agricultural Research*, 26(2): 395. <https://doi.org/10.4038/TAR.V26I2.8102>.
- Vasilyev, A. V., Kuznetsova, V. S., Bukharova, T. B., Grigoriev, T. E., Zagoskin, Y. D., Nedorubova, I. A., Babichenko, I. I., Chvalun, S. N., Goldstein, D. V. y Kulakov, A. A. (2021). Influence of the degree of deacetylation of chitosan and BMP-2 concentration on biocompatibility and osteogenic properties of BMP-2/PLA granule-loaded chitosan/ β -glycerophosphate hydrogels. *Molecules*, 26(2): 261. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26020261>.
- Wang, H. y Roman, M. (2023). Effects of chitosan molecular weight and degree of deacetylation on chitosan – Cellulose nanocrystal complexes and their formation. *Molecules*, 28(3): 1361. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES28031361>.
- Wang, W., Meng, Q., Li, Q., Liu, J., Zhou, M., Jin, Z. y Zhao, K. (2020). Chitosan derivatives and their application in biomedicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(2): 487. <https://doi.org/10.3390/IJMS21020487>.
- Ways, T. M. M., Lau, W. M. y Khutoryanskiy, V. V. (2018). Chitosan and its derivatives for application in mucoadhesive drug delivery systems. *Polymers*, 10(3): 267. <https://doi.org/10.3390/POLYM10030267>.
- Wu, T. y Zivanovic, S. (2008). Determination of the degree of acetylation (DA) of chitin and chitosan by an improved first derivative UV method. *Carbohydrate Polymers*, 73(2): 248-253. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2007.11.024>.
- Xu, Y. y Du, Y. (2003). Effect of molecular structure of chitosan on protein delivery properties of chitosan nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 250(1): 215-226. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(02\)00548-3](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(02)00548-3).
- Xue, T., Wang, W., Yang, Z., Wang, F., Yang, L., Li, J., Gan, H., Gu, R., Wu, Z., Dou, G. y Meng, Z. (2022). Accurate determination of the degree of deacetylation of chitosan using UPLC-MS/MS. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15): 8810. <https://doi.org/10.3390/IJMS23158810/S1>.

- Yanat, M. y Schroën, K. (2021). Preparation methods and applications of chitosan nanoparticles; with an outlook toward reinforcement of biodegradable packaging. *Reactive and Functional Polymers*, 161: 104849. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2021.104849>.
- Zhang, J., Tan, W., Luan, F., Yin, X., Dong, F., Li, Q. y Guo, Z. (2018). Synthesis of quaternary ammonium salts of chitosan bearing halogenated acetate for antifungal and antibacterial activities. *Polymers*, 10(5): 530. <https://doi.org/10.3390/POLYM10050530>.
- Zhou, H. Y., Chen, X. G., Kong, M., Liu, C. S., Cha, D. S. y Kennedy, J. F. (2008). Effect of molecular weight and degree of chitosan deacetylation on the preparation and characteristics of chitosan thermosensitive hydrogel as a delivery system. *Carbohydrate Polymers*, 73(2): 265-273. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2007.11.026>.
- Zhou, X., Kong, M., Cheng, X. J., Feng, C., Li, J., Li, J. J. y Chen, X. G. (2014). *In vitro* and *in vivo* evaluation of chitosan microspheres with different deacetylation degree as potential embolic agent. *Carbohydrate Polymers*, 113: 304-313. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2014.06.080>.