

Nanomateriales como sistemas de liberación de fármacos y biomoléculas

- **Nanoacarreadores, sílices mesoporosas y sistemas auto-nanoemulsionables de liberación de fármacos**
- **Desacetilación del quitosano en la síntesis de nanopartículas para aplicaciones farmacéuticas**
- **Nanotecnología verde: una revisión de nanopartículas áuricas**
- **Actividad antimicrobiana de un gel antiséptico de nanopartículas de plata**

Mundo Nano

Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología

Vol. 18, Núm. 35, julio–diciembre 2025

www.mundonano.unam.mx

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Leonardo Lomelí Vanegas

Rector

Patricia Dolores Dávila Aranda

Secretaria General

Hugo Alejandro Concha Cantú

Abogado General

Miguel Armando López Leyva

Coordinador de Humanidades

María Soledad Funes Argüello

Coordinadora de la Investigación Científica

Jorge Manuel Vázquez Ramos

Coordinador de Vinculación y Transferencia Tecnológica

Ma. Herlinda Montiel Sánchez

Directora del Instituto de Ciencias Aplicadas y Tecnología

Mauricio Sánchez Menchero

Director del Centro de Investigaciones Interdisciplinarias en Ciencias y Humanidades

Fernando Rojas Íñiguez

Director del Centro de Nanociencias y Nanotecnología

Mundo Nano

Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología

Editor en jefe

Rodolfo Zanella Specia

• <https://orcid.org/0000-0002-2118-5898>

• rodolfo.zanella@icat.unam.mx

Editores

Gian Carlo Delgado Ramos

• <https://orcid.org/0000-0001-6851-9309>

• gíandelgado@unam.mx

Leonel Cota Araiza

• leonel@ens.cnyn.unam.mx

Editor asociado

Mario Rogelio López Torres

• mrlt@unam.mx

Editor técnico

Isauro Uribe Pineda

• isauribe@unam.mx

Cuidado de la edición

Concepción Alida Casale Núñez



Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología, Vol. 18, Núm. 35, julio–diciembre 2025, es una publicación semestral, en versión electrónica, editada por la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Ciudad Universitaria, alcaldía Coyoacán, 04510, Ciudad de México, México, a través del Instituto de Ciencias Aplicadas y Tecnología (ICAT), el Centro de Nanociencias y Nanotecnología (CNyN) y el Centro de Investigaciones Interdisciplinarias en Ciencias y Humanidades (CEIICH), Torre II de Humanidades, 5º piso, Circuito Escolar, Ciudad Universitaria, alcaldía Coyoacán, 04510, Ciudad de México, <https://www.mundonano.unam.mx>, mundonano@unam.mx. Editores responsables: Gian Carlo Delgado Ramos y Mario Rogelio López Torres. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo Núm. 04-2015-06251212 2500-203, otorgado por el Instituto Nacional del Derecho de Autor, ISSN 2448-5691. Responsable de la última actualización de este número: Isauro Uribe Pineda. Fecha de la última actualización: 26 de junio de 2025. Servicios que indexan a Mundo Nano: Latindex, Periódica, Biblat, REDIB, CONAHCYT, SciELO-México, Dialnet, Redalyc, DOAJ.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura de los editores. Prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin la previa autorización por escrito de los editores responsables.



Atribución-NoComercial (CC BY-NC 4.0 Internacional)

Comité Científico**Rodolfo Omar Arellano Aguilar**<https://orcid.org/0000-0001-9519-6533>• omar.arellano@encit.unam.mx

Universidad Nacional Autónoma de México. México

Simone Arnaldi<https://orcid.org/0000-0003-1889-050X>• simonearnaldi@gmail.com

Universidad de Padova. Italia

Sergio Fuentes Moyado<https://orcid.org/0000-0002-9843-408X>• fuentes@ens.cnyn.unam.mx

Universidad Nacional Autónoma de México. México

Jesús González Hernández<https://orcid.org/0000-0002-6906-5465>• jesus.gonzalez@cidesi.edu.mx

Centro de Ingeniería y Desarrollo Industrial. México

Emmanuel Haro Poniatowski<https://orcid.org/0000-0002-6906-5465>• haro@xanum.uam.mx

Universidad Autónoma Metropolitana. México

Issac Hernández Calderón<https://orcid.org/0000-0002-7606-4807>• Isaac.Hernandez@fis.cinvestav.mx

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados. México

Catherine Louis• catherine.louis@upmc.fr

Sorbonne Université, UPMC Univ Paris 06. Francia

Eugenio R. Méndez Méndez<https://orcid.org/0000-0002-7042-8622>• emendez@cicese.mx

Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. México

Luis Mochán Backal<https://orcid.org/0000-0003-0418-5375>• mochan@em.fis.unam.mx

Universidad Nacional Autónoma de México. México

José Saniger Blesa<https://orcid.org/0000-0001-8024-2541>• jose.saniger@icat.unam.mx

Universidad Nacional Autónoma de México. México

Pedro Amalio Serena Domingo<https://orcid.org/0000-0001-8174-4252>

Consejo Superior de Investigaciones Científicas. España

Roger Strand<https://orcid.org/0000-0001-6159-1586>• roger.strand@svt.uib.no

Universidad de Bergen. Noruega

Julia Tagüña Parga<http://orcid.org/0000-0002-8312-285X>• jtp@ier.unam.mx

Universidad Nacional Autónoma de México. México

Sergio Ulloa<https://orcid.org/0000-0002-3091-4984>• ulloa@ohio.edu

Universidad de Ohio. Estados Unidos

Fern Wickson<https://orcid.org/0000-0002-2841-4155>• fern.wickson@uit.no

GenØk Center for Biosafety. Noruega

Miguel José Yacamán<https://orcid.org/0000-0001-5124-7116>• miguel.yacamán@utsa.edu

Universidad de Texas en Austin. Estados Unidos

José Roberto Vega-Baudrit<https://orcid.org/0000-0002-2002-1744>• jvegab@gmail.com

Centro Nacional de Alta Tecnología CeNAT. Costa Rica

Comité Editorial**Mónica Anzaldo Montoya**<https://orcid.org/0000-0002-0164-2772>• monica.anzaldo@colsan.edu.mx

EL Colegio de San Luis, México

Norma Blazquez Graf<https://orcid.org/0000-0002-1713-5214>• blazquez@unam.mx

Universidad Nacional Autónoma de México. México

Ricardo Castaño• alekostato@yahoo.es

Universidad Distrital Francisco José de Caldas.

Colombia

Gabriela Alicia Díaz Guerrero<https://orcid.org/0000-0003-2160-2732>• diaz@fisica.unam.mx

Universidad Nacional Autónoma de México. México

Roberto Escudero Derat• escu@unam.mx

Universidad Nacional Autónoma de México. México

Jonathan Guerrero Sánchez<https://orcid.org/0000-0003-1457-9677>• guerrero@ens.cnyn.unam.mx

Universidad Nacional Autónoma de México. México

Karla Oyuky Juárez Moreno<http://orcid.org/0000-0002-6171-8601>• kjuarez@fata.unam.mx

Universidad Nacional Autónoma de México. México

Ruben J. Lazos Martínez• rlazos@cenam.mx

Centro Nacional de Metrología. México

Louis Lemkow• Louis.Lemkow@uab.es

Universidad Autónoma de Barcelona. España

Sofía Liberman Shkolnikoff• liberman@unam.mx

Universidad Nacional Autónoma de México. México

Paulo Martins• marpaulo@ipt.br

Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de

São Paulo. Brasil

Aquiles Negrete Yankelevich• aqny@unam.mx

Universidad Nacional Autónoma de México. México

Gerko Oskam• oskam@mda.cinvestav.mx

Instituto Politécnico Nacional. México

Fernando Rojas Iñiguez<https://orcid.org/0000-0002-3893-1850>• frojas@ens.cnyn.unam.mx

Universidad Nacional Autónoma de México. México

Noboru Takeuchi Tan<https://orcid.org/0009-0005-5907-9969>• takeuchi@ens.cnyn.unam.mx

Universidad Nacional Autónoma de México. México

Joaquín Tutor Sánchez• jdtutor@upcomillas.es

Universidad Pontificia Comillas. España

CONTENIDO / CONTENTS

Nanomateriales como sistemas de liberación de fármacos y biomoléculas

Nanomaterials as drug and biomolecule delivery systems

e69852 **PRESENTACIÓN / PRESENTATION**

e18351 **EDITORIAL / EDITORIAL**

ARTÍCULOS DE INVESTIGACIÓN / RESEARCH ARTICLES

e69819 **Efecto citotóxico de nanopartículas de MgO y ZnO en cultivo con células de cáncer oral: nanoacarreadores para tratamientos quimioterapéuticos**

Valeria Estefanía Flores-Ramírez, Benjamín Aranda-Herrera, Dulce Guzmán-Rocha, René García-Contreras

e69831 **Calcium crystal formation in the epileptic focus of an *in vivo* epilepsy model**

Tessy López-Goerne, Rafael Valiente, Emilio Chávez, Antonella González-Bondani, Joaquín Manjarrez, Francisco Javier Padilla-Godínez

e69843 **Transesterificación de aceite de canola con Sr/CaO mediante el método Box-Behnken**

David Marín-Lugo, Rodrigo Barrera-Gutiérrez, Gabriela Alejandra Vázquez-Rodríguez, Gerardo Chávez-Esquivel, Jesús Andrés Tavizón-Pozos

e69866 **Evaluation of the antimicrobial activity of an antiseptic hydrogel prepared with silver nanoparticles (AgNPs) against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa***

Alejandra Saraí Espinosa Vega, Grecia Nuñez Tahuilán, María de Lourdes Moreno Ribera, María Isabel García-Ventura, José Abraham Balderas López, Blanca Estela Chávez Sandoval

ARTÍCULOS DE REVISIÓN / REVIEW ARTICLES

e69845 **Nanopartículas viromiméticas para la entrega de ácidos nucleicos en el estudio del parásito *Trypanosoma cruzi***

Rosa Elena Cárdenas-Guerra, David Silverio Moreno-Gutiérrez,
Armando Hernández-García

e69860 **Influencia del grado de desacetilación del quitosano en la síntesis de nanopartículas para aplicaciones farmacéuticas**

Hector Hernández-Parra, 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

e69856 **Sílices mesoporosas: del mundo inorgánico a la entrega de fármacos**

Mariana Giselle Flores Cruz, Luz María López Marín

e69850 **Sistemas auto-nanoemulsionables de liberación de fármacos en el desarrollo de medicamentos**

Adriana Estela Hernández Tenorio, Diana Vanessa Mendoza Varela,
José Juan Escobar Chávez, Luis Alfonso Moreno Rocha,
Luis Camilo Ríos Castañeda, Jorge Esteban Miranda Calderón

e69848 **Factores para considerar en el diseño y síntesis de nanopartículas poliméricas para la entrega dirigida de moléculas anticancerígenas**

Karla Oyuky Juárez Moreno, Jorge Herrera-Ordóñez

e69858 **Green nanotechnology: a review for aurum nanoparticles**

Williams de Jesús Jiménez Martínez, Juan Carlos Vázquez Lira

e18352 **POLÍTICA EDITORIAL / EDITORIAL POLICY**



DISEÑO DE PORTADA: Martha Laura Martínez Cuevas.

Ilustración de Mariana Giselle Flores Cruz.

Representación esquemática de nanopartículas de sílice mesoporosa, funcionalizadas con lípidos como nanotransportadores para la liberación de material genético (ADN) como tratamiento contra células tumorales.

CORRESPONDENCIA:

Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología

Centro de Investigaciones Interdisciplinarias en Ciencias y Humanidades, Torre II de Humanidades 5º piso, Circuito Escolar, Ciudad Universitaria, alcaldía Coyoacán, 04510, Ciudad de México, México.

Correo-e: mundonano@unam.mx

Presentación

La nanotecnología es un campo multidisciplinario que manipula la materia a escala nanométrica (1 a 100 nm) para generar nuevas propiedades y aplicaciones. En este contexto, la nanomedicina surge como una de sus áreas más prometedoras. Gran parte de la investigación en nanomedicina se ha enfocado al diseño de nanosistemas avanzados de liberación de fármacos, los cuales apuntan a superar las limitaciones de las terapias convencionales. Por ejemplo, la nanomedicina ha permitido diseñar sistemas identificadores de un sitio blanco (un tejido, una célula o incluso un organelo), se dirijan a él, y entreguen su carga terapéutica. De igual manera, nanosistemas con funciones de entrega del fármaco de manera controlada, es decir, en respuesta a un estímulo interno o externo; o bien nanoestructuras que pueden transportar y entregar simultáneamente varios fármacos y/o biomoléculas (péptidos, proteínas y ácidos nucleicos), incluyendo vacunas. Otra ventaja fundamental de la nanomedicina es la posibilidad de co-transportar múltiples agentes terapéuticos en un mismo nanoconjugado. Se han desarrollado plataformas capaces de encapsular de forma simultánea moléculas pequeñas, péptidos, proteínas, ácidos nucleicos e incluso antígenos vacunales, liberándolos de manera orquestada para ejercer terapias combinatorias o efectos sinérgicos (Anselmo y Mitragotri, 2019; Lammers, 2013).

Estos nanosistemas, a los cuales les llamaremos indistintamente nanomedicinas, pueden prolongar la circulación sistémica del principio activo, protegerlo de la degradación prematura y favorecer su acumulación en determinados tejidos blancos, con la consiguiente reducción de efectos secundarios sistémicos. Además, las nanomedicinas pueden superar barreras biológicas y dirigirse selectivamente a tejidos o células específicas mediante ligandos de reconocimiento o aprovechando condiciones del microambiente patológico, lo cual permite aumentar la concentración del fármaco en el sitio de acción, limitar su toxicidad en órganos sanos y, en última instancia, incrementar la precisión terapéutica. De este modo, es posible desarrollar sistemas diseñados para responder a estímulos endógenos (variaciones de pH o presencia de enzimas en entornos tumorales) o exógenos (temperatura, luz o campos magnéticos), desencadenando la liberación del fármaco solo cuando y donde es necesario; esta liberación controlada activada por estímulos permite elevar el índice terapéutico al concentrar la actividad biológica en el tejido afectado y minimizar los efectos adversos sistémicos en comparación con las terapias convencionales (Anchordoquy *et al.*, 2024; Dasgupta *et al.*, 2024; Lammers, 2013).



En las últimas décadas, la promesa de la nanomedicina generó un enorme entusiasmo, evidenciado por un crecimiento exponencial en la publicación de artículos científicos. Existen, al día de hoy, miles de publicaciones en el área reflejando el interés y las expectativas puestas en este campo. Sin embargo, si comparamos la cantidad de publicaciones *versus* las relativamente pocas nanomedicinas aprobadas para su uso en la clínica, pareciera que los resultados tangibles obtenidos hasta ahora son modestos en proporción a la investigación que se lleva a cabo en el área (Park, 2019).

Es importante precisar que esta visión no es justa si consideramos los retos presentados en la entrega de un fármaco. De hecho, análisis críticos de la nanomedicina han destacado que el campo no está estancado ni “condenado al fracaso”, sino que se encuentra en una fase de transición hacia una ciencia más madura y orientada a aplicaciones reales. Así, lejos de agotarse, la nanomedicina está sentando bases más sólidas para trasladar sus hallazgos en innovaciones clínicas tangibles, integrando lecciones de décadas de exploración básica para afrontar los retos que antes limitaban su impacto (Anchor-douky *et al.*, 2024; Lammers y Ferrari, 2020; Martins *et al.*, 2020; Prasad *et al.*, 2025).

Desde sus inicios conceptuales en los años 60, cuando se propusieron las primeras nanopartículas como sistemas de liberación de fármacos, la nanomedicina atravesó una prolongada etapa exploratoria antes de alcanzar un hito clave: la aprobación en 1995 de Doxil®, la primera nanomedicina autorizada por la FDA. Doxil (doxorubicina liposomal) inauguró la era de las terapias basadas en nanomateriales al demostrar que la encapsulación en liposomas podía mejorar la eficacia de la quimioterapia (Barenholz, 2012).

A partir de allí, el campo fue ganando tracción lentamente. Hoy, tras dos décadas desde la aprobación de Doxil, existen alrededor de 50 nanomedicinas aprobadas por agencias regulatorias para uso clínico. Una proporción considerable de estas nanomedicinas se concentra en el área de la oncología, aprovechando las ventajas de la liberación dirigida para mejorar tratamientos contra el cáncer. De hecho, nanomedicinas como paclitaxel unido a albúmina (Abraxane®, aprobado en 2005) o irinotecán liposomal (Onivyde®, aprobado en 2015) han optimizado las quimioterapias correspondientes. Asimismo, la nanomedicina ha impactado enfermedades no oncológicas: por ejemplo, Am-Bisome® (anfotericina B liposomal, aprobada en 1990) revolucionó el tratamiento de infecciones fúngicas sistémicas al reducir la nefrotoxicidad del fármaco libre; otro ejemplo es patisiran (Onpattro®), un complejo de ácidos nucleicos (siRNAs) encapsulado en nanopartículas lipídicas, el cual se convirtió en la primera terapia génica basada en nanopartículas aprobada (2018) para tratar las polineuropatías derivadas de la amiloidosis hereditaria (Anselmo y Mitragotri, 2019). Finalmente, un caso emblemático son las vacunas de RNA contra la COVID-19 desarrolladas en 2020, pero basadas en dos décadas de investigaciones para la liberación de ácidos nucleicos. Tanto la vacuna de Pfizer-BioNTech como la de Moderna emplean nanopartículas lipí-

dicas como vehículos para proteger y entregar eficientemente un RNA que permite desplegar una respuesta inmunitaria eficaz sin ninguna exposición a infección alguna. Las vidas salvadas durante la pandemia gracias a estas nanovacunas han permitido confirmar el potencial de las nanomedicinas en la lucha contra enfermedades.

Si bien el camino desde el laboratorio hasta la clínica ha sido largo y a veces irregular, las nanomedicinas ya son una realidad clínica en diversas áreas (oncología, infecciones, enfermedades genéticas) y han beneficiado a un número creciente de pacientes en el mundo real (Anchordoquy *et al.*, 2024).

Sin embargo, y a pesar de sus logros, la nanomedicina también enfrenta desafíos importantes que deben ser abordados para explotar todo su potencial. Aspectos como la reproducibilidad entre lotes, la estabilidad a largo plazo de las nanopartículas, la escala de producción bajo estándares farmacéuticos y la adaptación de las normativas regulatorias son asuntos críticos aún en desarrollo. De igual manera, se ha advertido que en algunos casos los modelos preclínicos tradicionales (por ejemplo, ciertos modelos animales) no representan fielmente la interacción nanomaterial-organismo humano, lo cual dificulta predecir los resultados clínicos. Para afrontar estos retos, se propone que las investigaciones se enfoquen en un diseño racional de las nanomedicinas y una validación sistemática de las mismas, priorizando solucionar problemas específicos, ya sea asociados con un fármaco o con una enfermedad (Anchordoquy *et al.*, 2024; Joyce *et al.*, 2024; Prasad *et al.*, 2025). Igualmente, se exploran nuevos modelos para estudios de toxicidad o inmunogenicidad, como el gusano *Caenorhabditis elegans*, el pez cebra (*Danio rerio*), o sistemas de cultivos 3D, de mayor complejidad que el tradicional cultivo celular en monocapa (Silbergeld *et al.*, 2011.; Thomas *et al.*, 2025). Bajo este contexto, resulta crucial orientar la investigación de manera *interdisciplinaria*, combinando la química de materiales, la biología, la medicina clínica, la ingeniería y otros campos y fomentar colaboraciones público-privadas, las cuales faciliten la llegada de las nanoterapias al paciente para que la nanomedicina progrese de forma sostenida y transforme la salud de la población.

En conclusión, el advenimiento de la nanomedicina representa una nueva frontera en las ciencias de la salud. La capacidad de la nanomedicina para mejorar la selectividad, eficacia y perfil de seguridad de las terapias convencionales ofrece esperanzas de abordar necesidades médicas insatisfechas en diferentes padecimientos. Hoy disponemos de un cúmulo de conocimientos y experiencia mucho mayor que hace 20 años, lo cual aumenta la probabilidad de éxito de las nanoterapias de nueva generación. Se espera entonces que la nanomedicina se consolide como una herramienta generadora de estrategias terapéuticas superiores en un gran espectro de padecimientos, así como la acogida de nuevas tecnologías en la mejora de la salud de la población.

Finalmente, queremos agradecer a *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* por la oportunidad de coordinar este número y por su interés en este importante tema de estudio. De igual modo,

agradecemos a las autoras y los autores por sus valiosas contribuciones, y especialmente a las y los dictaminadores, quienes realizaron un trabajo excepcional en la revisión de los artículos.

Dra. Luz María López Marín, Dr. José Juan Escobar Chávez,
Dra. Yareli Rojas Aguirre
Editoras/or invitados

Referencias

- Anchordoquy, T., Artzi, N., Balyasnikova, I. V., Barenholz, Y., La-Beck, N. M., Brenner, J. S., Chan, W. C. W., Decuzzi, P., Exner, A. A., Gabizon, A., Godin, B., Lai, S. K., Lammers, T., Mitchell, M. J., Moghimi, S. M., Muzykantov, V. R., Peer, D., Nguyen, J., Popovtzer, R., ... Simberg, D. (2024). Mechanisms and barriers in nanomedicine: progress in the field and future directions. *ACS Nano*, 18(22): 13983-13999. American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acsnano.4c00182>.
- Anselmo, A. C. y Mitragotri, S. (2019). Nanoparticles in the clinic: an update. *Bioengineering and Translational Medicine*, 4(3). <https://doi.org/10.1002/btm2.10143>.
- Barenholz, Y. (2012). Doxil® – The first FDA-approved nano-drug: lessons learned. *Journal of Controlled Release*, 160(2): 117-134. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.03.020>.
- Dasgupta, A., Sofias, A. M., Kiessling, F. y Lammers, T. (2024). Nanoparticle delivery to tumours: from EPR and ATR mechanisms to clinical impact. *Nature Reviews Bioengineering*. <https://doi.org/10.1038/s44222-024-00203-3>.
- Joyce, P., Allen, C. J., Alonso, M. J., Ashford, M., Bradbury, M. S., Germain, M., Kavalalis, M., Langer, R., Lammers, T., Peracchia, M. T., Popat, A., Prestidge, C. A., Rijcken, C. J. F., Sarmiento, B., Schmid, R. B., Schroeder, A., Subramaniam, S., Thorn, C. R., Whitehead, K. A., ... Santos, H. A. (2024). A translational framework to DELIVER nanomedicines to the clinic. *Nature Nanotechnology*. Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41565-024-01754-7>.
- Lammers, T. (2013). SMART drug delivery systems: back to the future vs clinical reality. *International Journal of Pharmaceutics*, 454(1): 527-529. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.02.046>.
- Lammers, T. y Ferrari, M. (2020). The success of nanomedicine. *Nano Today*, 31. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2020.100853>.
- Martins, J. P., Das Neves, J., De la Fuente, M., Celia, C., Florindo, H., Günday-Türeli, N., Popat, A., Santos, J. L., Sousa, F., Schmid, R., Wolfram, J., Sarmiento, B. y Santos, H. A. (2020). The solid progress of nanomedicine. *Drug Delivery and Translational Research*, 10(3): 726-729. <https://doi.org/10.1007/s13346-020-00743-2>.
- Park, K. (2019). The beginning of the end of the nanomedicine hype. *Journal of Controlled Release*, 305: 221-222. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.05.044>.

- Prasad, R., Ghosh, A., Patel, V., Peng, B., Mendes, B. B., Win, E. H. A., Delogu, L. G., Wong, J. Y., Pischel, K. J., Bellare, J. R., Bar-Shir, A., Thakor, A. S., Parak, W. J., Bhujwalla, Z. M., Zhang, Y. S., Kommineni, N., Rotello, V. M., Cai, W., Lammers, T., ... Conde, J. (2025). Voices of nanomedicine: blueprint guidelines for collaboration in addressing global unmet medical needs. *ACS Nano*. American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acsnano.4c13513>.
- Silbergeld, E. K., Contreras, E. Q., Hartung, T., Hirsch, C., Hogberg, H., Jachak, A. C., Jordan, W., Landsiedel, R., Morris, J., Patri, A., Pounds, J. G., De Vizcaya Ruiz, A., Shvedova, A., Tanguay, R., Tatarazako, N., Van Vliet, E., Walker, N. J., Wiesner, M., Wilcox, N. y Zurlo, J. (2011). t 4 Workshop report nanotoxicology: "The end of the beginning" – Signs on the roadmap to a strategy for assuring the safe application and use of nanomaterials. *Altex*, 28(11).
- Thomas, J., Kumar, V., Sharma, N., John, N., Umesh, M., Kumar Dasarahally Huli-gowda, L., Kaur, K. y Utreja, D. (2025). Recent approaches in nanotoxicity assessment for drug delivery applications: challenges and prospects. *Medicine in DrugDiscovery*, 25. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.medidd.2025.100204>.

Editorial

Esta nueva entrega de *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* está dedicada a los nanomateriales como sistemas de liberación de fármacos y biomoléculas. Además, incluye trabajos relacionados con otras aplicaciones en salud y química de nanomateriales.

Desde hace varios años, el desarrollo de nanomateriales ha impulsado el diseño de sistemas de liberación controlada capaces de mejorar la biodisponibilidad, la estabilidad y la especificidad terapéutica de fármacos y biomoléculas. Diversos tipos de nanopartículas, como las poliméricas, inorgánicas, liposomales y dendriméricas, permiten transportar compuestos terapéuticos directamente a las células o tejidos objetivo, aumentando su eficacia y reduciendo los efectos secundarios.

En este número se presentan avances que están transformando la forma en la cual se administran tratamientos para enfermedades complejas. Por ejemplo, la enfermedad de Chagas, causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, continúa siendo una de las enfermedades más desatendidas, especialmente en su fase crónica. Uno de los grandes retos es estudiar sus genes debido a la complejidad del parásito y a la falta de métodos eficaces para introducir material genético. En este contexto, surgen las nanopartículas viromiméticas, diseñadas para imitar a los virus y entregar material genético de manera segura y específica. El primer artículo de revisión de este número destaca el sistema viromimético C₄BK¹², capaz de introducir oligonucleótidos en *T. cruzi*, mostrando el gran potencial de esta tecnología para entender mejor la biología del parásito y desarrollar terapias innovadoras.

Uno de los mayores desafíos en medicina es lograr que los medicamentos lleguen con precisión al sitio donde se necesitan. Otro de los artículos de este número destaca el uso de sílice mesoporosa, un material económico y de fácil producción, cuyas estructuras porosas permiten encapsular desde pequeñas moléculas hasta proteínas y ácidos nucleicos. Analiza cómo modificar su superficie para controlar la liberación del fármaco y mejorar su compatibilidad con el organismo. Gracias a su versatilidad, la sílice mesoporosa se perfila como una plataforma prometedora para terapias más seguras y personalizadas.

Del mismo modo, para que un medicamento contra el cáncer funcione eficazmente, debe superar múltiples barreras y llegar al interior de las células tumorales. Una estrategia clave es el uso de nanomateriales como vehículos que transporten el fármaco con precisión. Otro de los trabajos presentados

explora cómo adaptar el tamaño, la forma y la funcionalización química de estos nanoportadores para optimizar su eficacia. Se destaca el uso de la polimerización en emulsión como técnica de síntesis, así como un método de funcionalización física desarrollado por el equipo de investigación.

Por otro lado, el quitosano, un biopolímero derivado de crustáceos, ha cobrado relevancia por su utilidad en la fabricación de nanopartículas para transportar medicamentos. Un factor fundamental en su desempeño es el grado de desacetilación (DD), que influye en características como el tamaño, la carga y la estabilidad de las partículas. Uno más de los artículos de revisión analiza literatura reciente sobre cómo el DD afecta la eficacia de estas nanopartículas. Se encontró que un DD medio (70–85 %) ofrece un buen equilibrio para la interacción con células humanas, mientras que valores extremos pueden comprometer la seguridad o funcionalidad del sistema. Estos resultados resaltan la importancia de controlar este parámetro con precisión para desarrollar tratamientos más seguros y eficaces.

Otro desafío en farmacología es que muchos medicamentos no se disuelven bien en agua, lo cual limita su absorción y efectividad. Uno de los artículos de revisión explora los sistemas auto-nanoemulsionables (SNEDDS), una tecnología basada en mezclas de aceites y tensioactivos que, al llegar al intestino, forman nanoemulsiones mejorando la absorción del fármaco. Además de ser eficaces, los SNEDDS son escalables y no requieren equipos sofisticados, convirtiéndolos en una alternativa accesible. Su aplicación incluso se extiende a terapias avanzadas como la terapia génica, posicionándolos como herramientas clave para el futuro de la nanomedicina.

En la sección de artículos de investigación, se presenta un estudio sobre el uso de nanopartículas de MgO y ZnO para el tratamiento del cáncer oral. Los investigadores que lo presentan evaluaron sus efectos en cultivos celulares de cáncer oral linfoblástico, observando una leve pero significativa disminución en la viabilidad celular con concentraciones crecientes de nanopartículas. Aunque el efecto citotóxico fue moderado, los resultados abren la puerta a terapias combinadas con agentes quimioterapéuticos tradicionales.

Otro estudio revela la presencia de diminutos cristales de carbonato cálcico en el hipocampo de ratas con epilepsia inducida químicamente. Mediante microscopía electrónica, se observó que, a mayor número de convulsiones, mayor era la cantidad de cristales, lo cual sugiere una relación entre la actividad epiléptica y un desequilibrio en los niveles de calcio cerebral. Estos resultados abren nuevas líneas de investigación para comprender la epilepsia y explorar posibles métodos de diagnóstico o tratamiento basados en nanotecnología.

En el ámbito de la medicina regenerativa, se reporta el desarrollo de un hidrogel con nanopartículas de plata para el tratamiento de heridas, quemaduras y pie diabético. Este gel mostró estabilidad durante 30 días y mayor eficacia que una crema comercial de sulfadiazina de plata para inhibir bacterias como *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Estos resultados res-

paldan el uso de nanomateriales como alternativa a los antibióticos convencionales.

También se incluye un artículo de revisión sobre la síntesis verde de nanopartículas de oro, una alternativa sostenible a los métodos tradicionales que emplean agentes químicos más tóxicos. Mediante el uso de extractos naturales de plantas y microorganismos como agentes reductores y estabilizantes, estos métodos minimizan los residuos tóxicos y mejoran la biocompatibilidad de estas nanopartículas, haciéndolas más adecuadas para aplicaciones médicas. Además, permiten un mayor control del tamaño y forma de las nanopartículas, facilitando su diseño para dirigirse a células específicas con mayor eficacia y menos efectos secundarios.

Finalmente, aunque no directamente relacionado con temas de salud, se presenta un artículo de gran relevancia sobre el desarrollo de catalizadores a base de Sr/CaO obtenidos a partir de cascarones de huevo, con el fin de mejorar la producción de biodiesel. Este enfoque no solo incrementa la eficiencia del proceso de transesterificación, sino que también aprovecha residuos comunes como materia prima, en línea con los principios de sostenibilidad.

Como en cada entrega, *Mundo Nano* presenta una selección de temas apasionantes en el campo de la nanotecnología. En esta ocasión, el enfoque está centrado en aplicaciones en salud y medicina. Invitamos a nuestros lectores a explorar los artículos de este número y descubrir los avances que se presentan. Agradecemos a los doctores Luz María López Marín, José Juan Escobar Chávez y Yareli Rojas Aguirre, editores invitados, por esta valiosa recopilación y por el trabajo dedicado a la preparación de este número.

Los próximos números estarán dedicados al estudio toxicológico de los nanomateriales, su regulación e implicaciones sociales, por lo cual invitamos a los autores interesados a seguir enviando sus trabajos relacionados con este y otros temas dentro del amplio campo de la nanociencia y la nanotecnología.

Efecto citotóxico de nanopartículas de MgO y ZnO en cultivo con células de cáncer oral: nanoacarreadores para tratamientos quimioterapéuticos

Cytotoxic effect of MgO and ZnO nanoparticles on oral cancer cell culture: nanocarriers for chemotherapeutic treatments

Valeria Estefanía Flores-Ramírez,* Benjamín Aranda-Herrera,*
Dulce Guzmán-Rocha,* René García-Contreras*,†

ABSTRACT: Oral cancer, one of the main causes of mortality worldwide, is commonly treated with chemoradiotherapy. However, these therapies have limitations. Recent research focuses on the use of nanoparticles like MgO and ZnO to improve treatment and to evaluate the nanocytotoxic effect of MgO and ZnO nanoparticles on lymphoblastic-origin cancer cells. Lymphoblastic-origin primary culture cancer cells characterized by immunohistochemistry (IHC) were used, and nanocytotoxicity tests were performed using MgO and ZnO nanoparticles at concentrations ranging from 0 to 1.33 mg/mL. Cell viability was measured using the MTT assay by UV-Vis. Statistical analysis was carried out using the t-student test and ANOVA ($p \leq 0.05$). Histopathological analyses confirmed the presence of oral lymphoblastic neoplastic lesions with specific characteristics, positive for cyclin D1 and negative for CD3. The results showed slight toxicity at the maximum dose for both nanoparticles (80% for MgO and 94% for ZnO) with statistically significant dose-dependent reduction ($p < 0.05$). MgO and ZnO nanoparticles have a slight cytotoxic effect on lymphoblastic cancer cells, so it is necessary to develop more effective chemotherapeutic treatments based on nanoparticles in combination with antitumor agents to confirm this hypothesis.

KEYWORDS: oral cancer, nanoparticles, anti-tumor, dose-response.

RESUMEN: El cáncer oral, una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial, se trata comúnmente con quimiorradioterapia. No obstante, estas terapias tienen limitaciones. Investigaciones recientes se enfocan en el uso de nanopartículas (NPs) como MgO y ZnO para mejorar el tratamiento. Y, para evaluar el efecto citotóxico de NPs de MgO y ZnO en células cancerígenas de origen linfoblástico, se utilizaron células cancerígenas de cultivo primario de origen linfoblástico caracterizadas por inmunohistoquímica (HIC) y se realizaron pruebas de citotoxicidad utilizando NPs de MgO y ZnO en concentraciones de 0 a 1.33 mg/mL. La viabilidad celular se midió mediante el ensayo MTT por UV-Vis. El análisis estadístico fue mediante la prueba de *t-student* y ANOVA ($p \leq 0.05$). Los análisis histopatológicos confirmaron la presencia de lesiones neoplásicas linfoblásticas orales con características específicas, positivo a ciclina D1 y negativo a CD3. Los resultados mostraron ligera toxicidad a la máxima dosis para ambas NPs (80% MgO y 94% ZnO) reducción estadísticamente significativa ($p < 0.05$) dosis-dependiente. Las NPs de MgO y ZnO tienen un ligero efecto citotóxico en células cancerosas linfoblásticas, por lo cual es

Recibido: 19 de febrero, 2024. Aceptado: 5 de agosto, 2024. Publicado: 26 de noviembre, 2024.

* Universidad Nacional Autónoma de México, Escuela Nacional de Estudios Superiores (ENES) Unidad León, Laboratorio de Investigación Interdisciplinaria (LIJ), Área de nanoestructuras y Biomateriales.

† Autor de correspondencia: rgarcia@enes.unam.mx

necesario desarrollar tratamientos quimioterapéuticos más efectivos basados en nanopartículas en combinación con agentes antitumorales para confirmar esta hipótesis.

PALABRAS CLAVE: nanopartículas, cáncer oral, anti-tumor, dosis-respuesta.

Introducción

El cáncer continúa siendo un significativo problema de salud pública y una de las principales causas de mortalidad y morbilidad a nivel mundial. En Estados Unidos, se proyecta para el año 2023 un registro de aproximadamente 1,958,310 nuevos casos de cáncer y 609,820 fallecimientos debido a esta enfermedad (Siegel *et al.*, 2023). Las neoplasias hematológicas ocupan el tercer lugar en incidencia, después de los cánceres de pulmón y mama. En México, el cáncer es la novena causa de muerte, siendo los linfomas, las leucemias y los mielomas los tipos más comunes, representando el 10% de todos los diagnósticos de cáncer (Alsahafi *et al.*, 2019; Song *et al.*, 2022).

En los últimos tiempos, la nanotecnología ha ganado cada vez más importancia en el diagnóstico y tratamiento del cáncer, con el objetivo de mejorar la calidad de vida de los pacientes. Este campo ha experimentado un significativo avance, con la aprobación de más de 50 fármacos, basados en nanotecnología, por la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA). Estos fármacos han demostrado su potencial para mejorar la eficacia del tratamiento del cáncer y reducir al mínimo los efectos secundarios (Song *et al.*, 2022). Las neoplasias malignas de cabeza y cuello son tradicionalmente tratadas mediante cirugía, radioterapia o una combinación de ambas, dependiendo del tamaño, tipo y ubicación del tumor (Taneja *et al.*, 2021; Yang *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2008). En años recientes, las nanopartículas (NPs) han recibido una atención creciente debido a sus características únicas y prometedoras.

Las terapias convencionales para el cáncer oral, como la cirugía, radioterapia y quimioterapia, han sido pilares en el tratamiento durante años. Sin embargo, presentan limitaciones haciéndolas menos idóneas para este propósito. El tratamiento intensivo del cáncer puede generar efectos tóxicos en las células normales, y la mucosa oral es particularmente vulnerable debido a su rápida renovación celular (Keefe *et al.*, 2007; Lalla *et al.*, 2011). Tanto la quimioterapia como la radioterapia pueden impactar directa e indirectamente en la cavidad oral, debido a factores como la alta tasa de renovación celular, la compleja microflora y el trauma asociado con la función oral. Estos tratamientos pueden desencadenar complicaciones orales reflejando los efectos en todo el sistema gastrointestinal.

La nanotecnología ha emergido como una herramienta innovadora en este campo, superando las restricciones de las terapias convencionales. La literatura científica actual ha demostrado que diversas NPs, tanto orgánicas como inorgánicas, se han empleado como vehículos o acarreadores para liberar fármacos en diversos tipos de cáncer, incluyendo el carcinoma de cé-

lulas escamosas en lengua y cabeza y cuello, entre otros. Estos estudios han indicado que medicamentos como cisplatino, 5-fluoracilo, metotrexato, doxorubicina, entre otros, al ser recubiertos con nanopolímeros ofrecen resultados superiores en comparación con las drogas convencionales para el tratamiento del cáncer de interés (Yang *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2008).

Las NPs y los nanoacarreadores (NCs) son prometedores para inhibir el crecimiento de células cancerosas al inducir la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y activar rutas de apoptosis. Esto los convierte en una opción atractiva en el tratamiento del cáncer y ha llevado a investigaciones adicionales. Evaluar sus propiedades y mecanismos en condiciones de laboratorio es crucial antes de su uso clínico. Junto con la nanomedicina, estos tratamientos aprovechan nanomateriales inorgánicos como NPs ZnO y NPs MgO, demostrando selectividad citotóxica e inducción de ROS. Los NCs reducen células cancerosas viables, afectando su morfología y expresión de proteínas tumorales (García-Contreras *et al.*, 2014; Behzadi *et al.*, 2018; Mendoza-Martínez *et al.*, 2023). Sin embargo, la literatura sobre estudios relacionados con estos nanoacarreadores es limitada, lo cual resalta la necesidad de más investigación para comprender completamente su potencial en la terapia contra el cáncer.

El objetivo de la presente investigación fue el de evaluar el efecto citotóxico de las NPs de MgO y ZnO en contacto con las células cancerígenas de origen linfoblástico en un modelo de cultivo celular primario y proponer el mecanismo celular de la muerte celular de la interacción célula con las NPs.

Materiales y métodos

Caracterización NPs ZnO y MgO

Las NPs de ZnO [≤ 50 nm, peso molecular (g/mol): 81.39, Sigma-Aldrich] y MgO [≤ 50 nm, peso molecular (g/mol): 40.31, Sigma-Aldrich] en polvo comerciales se caracterizaron por difracción de rayos X (DRX) para verificar su estructura cristalina con los patrones de difracción establecidos en las cartas cristalográficas correspondientes a estos materiales.

Los patrones de difracción de rayos X para todas las muestras sintetizadas se obtuvieron usando un equipo D2 Phaser (Bruker, Billerica, MA, EUA), con barridos en el rango 2θ de 20° a 80° e incrementos de 0.02° , con una fuente de radiación $\text{CuK}\alpha 1$ ($\lambda = 0.15405$ nm) a 30 kV, 20 mA. Las muestras se usaron en forma de polvos.

Subcultivo celular

Las células fueron aisladas, cultivadas y caracterizadas como se reportó por Mendoza-Martínez *et al.* (2023), en una investigación previa del grupo de investigación. El protocolo de aislamiento celular, registrado bajo el número CE_16_004_SN, fue aprobado por el comité de bioética. Esta aprobación garantiza el cumplimiento de las leyes nacionales de salud y la Declaración de

Helsinki, incluyendo los procedimientos de consentimiento informado obtenidos antes del procedimiento de extracción. Se obtuvieron las células cancerígenas de origen linfoblástico del *stock* del banco del Laboratorio de Investigación Interdisciplinaria (LII) de la ENES Unidad León, UNAM. Se descongelaron y se subcultivaron en un plato para cultivo celular de 10 cm con medio de cultivo MEM suplementado (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), el cual contenía 10% de suero fetal bovino (SFB, Sigma-Aldrich), 1% antibiótico (penicilina G y estreptomicina, 100,000 UI/mL 100 mg/mL, Penstrep, Sigma-Aldrich), 1% de aminoácido (L-Glutamina, Sigma-Aldrich). Se dejó 15 días en la incubadora realizando un cambio de medio cada 48 horas para el mantenimiento de la viabilidad y confluencia celulares del 90%.

Ensayo de citotoxicidad

Las células fueron subcultivadas, con una división celular 9-12, en placas de 96 pocillos a una densidad celular de 1×10^5 células/mL por exclusión de azul de tripano (Sigma-Aldrich) en un microscopio invertido de contraste de fases (Leica, Wetzlar, Germany) durante 48 horas para lograr un adhesión y confluencia celular. Las NPs de ZnO y MgO fueron expuestas a radiación ultravioleta (253.7 nm, $52 \mu\text{W}/\text{cm}^2$, Germicidal T8, General Electric, Lynn, Massachusetts, USA), durante 30 minutos para su esterilización. Las NPs de ZnO y MgO fueron suspendidas en medio de cultivo MEM e inoculadas en las células de forma independiente con una dosis de 0 a 1.33 mg/mL (Mendoza-Martínez *et al.*, 2023). La viabilidad celular se evaluó con bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio (MTT, Sigma-Aldrich), el cual se incubó con las células durante 7 horas. Después de la incubación, el formazán producido se disolvió con dimetilsulfóxido (DMSO, Karal, León, Guanajuato, México), y la absorbancia a 570 nm se midió utilizando un lector de espectrofotometría de microplacas (Multiskan Go, Thermo-scientific, Helsinki, Finlandia). La citotoxicidad se evaluó de acuerdo con la norma ISO 10993-5:2009.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante el cálculo de la media, desviación estándar y porcentaje. Posteriormente, se sometieron a pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk y pruebas de *t-student* y ANOVA. La significación se estableció con un $p \leq 0.05$.

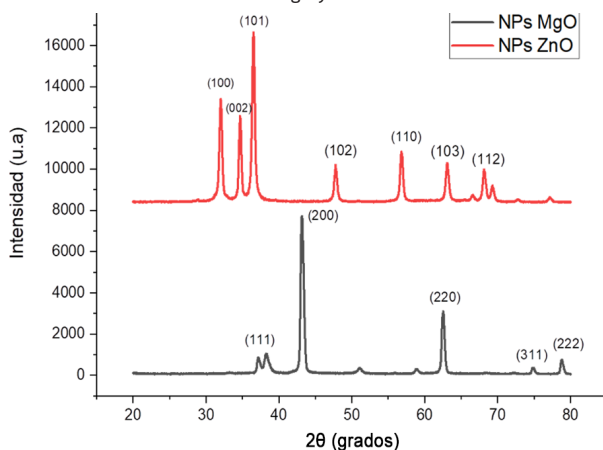
Resultados

Caracterización estructural de las NPs ZnO y MgO

La figura 1 muestra los patrones de difracción de las NPs de ZnO y MgO. El difractograma obtenido para MgO presenta a los ángulos 2θ a 36.80° , 42.85° , 62.23° , 74.56° y 78.52° y los planos corresponde a las reflexiones

(111), (200), (220), (311) y (222), respectivamente. Todos estos datos corresponden a la carta cristalográfica N°00-045-0946 de la JCPDS de una fase periclase, la cual es típica para materiales a base de magnesio. Para el caso del difractograma de ZnO se observan los siguientes ángulos en 2θ : 31° , 34° , 36° , 48° , 56° , 63° y 68° , los planos correspondientes a estos ángulos son: (100), (002), (101), (102), (110), (103) y (112), respectivamente. Estos patrones de difracción corresponden a una estructura cristalina Wurtzita de acuerdo con la carta cristalográfica N°36-1451.

FIGURA 1. Patrones de difracción de las NPs de MgO y ZnO.



Los picos característicos corresponden a las fases periclase y Wurtzita, respectivamente, según las cartas cristalográficas JCPDS N° 00-045-0946 y N° 36-1451.

Fuente: Elaboración de los autores.

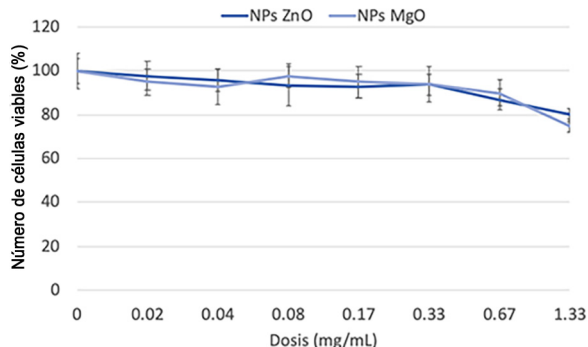
Ensayo de citotoxicidad

La figura 2 muestra la actividad citotóxica en cultivo con células cancerígenas de origen linfoblástico con una reducción estadísticamente significativa ($p < 0.05$) dosis-dependiente en contacto con NPs ZnO y MgO (viabilidad a $1.33 \text{ mg/mL} = 80 \pm 3.3\%$ y $73 \pm 3.5\%$, respectivamente) en comparación con el grupo control y con una ligera citotoxicidad (50-75%) a la dosis máxima y sin diferencia significativa entre NPs ZnO y MgO en las mismas concentraciones.

Discusión

El uso de NPs de óxidos metálicos ha sido estudiado anteriormente (Kumar *et al.*, 2015; DeLong *et al.*, 2019; Singh *et al.*, 2020;), especialmente las de ZnO, en el tratamiento de varios tipos de cáncer, como el cervical, de mama, de pulmón y de cabeza y cuello, con resultados prometedores. No obstante, se destaca la escasez de estudios con exploración en el uso de nanopartículas

FIGURA 2. Actividad citotóxica de las NPs ZnO y MgO en cultivo con células cancerígenas de origen linfoblástico.



Las células se inocularon a una densidad 1×10^5 células/mL las cuales se pusieron en contacto con las NPs de 0-1.33 mg/mL durante 24 horas. Después de la incubación, se determinó el número relativo de células viables mediante el ensayo MTT. Cada valor representa la media $\pm$ desviación estándar de ensayos triplicados ($n = 9$), prueba *t-student* (NPs ZnO y MgO), ANOVA (Control, NPs ZnO y MgO), MTT = Bromuro de tetrazolio 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio; NPs ZnO = nanopartículas de óxido de zinc; NPs MgO = nanopartículas de óxido de magnesio.
 Fuente: Elaboración de los autores.

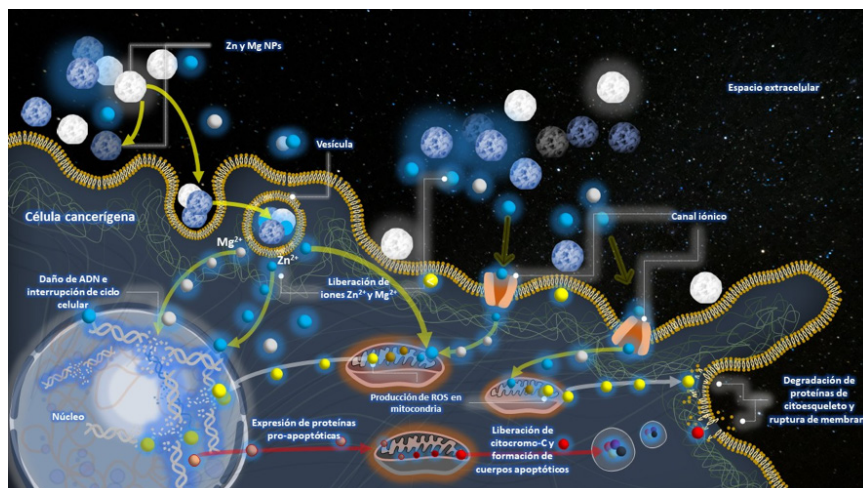
de ZnO como nanoacarreadores de fármacos antineoplásicos y evaluando su eficacia. De manera similar, Deng *et al.* (2021) llevaron a cabo un estudio en esferoides tumorales tratados con doxorrubicina conjugada con NPs de Zn y Cu y encontraron ser los conjugados de antineoplásicos con NPs de Zn significativamente más citotóxicos a una concentración de 0.01 mg/mL (10 μ g/mL).

Mientras tanto, se ha observado (Chia *et al.*, 2015) una disminución de la viabilidad celular a dosis de 6.12 y 12.5 μ g/mL en cultivo celular 2D utilizando NPs impregnadas con platino, mostrando citotoxicidad significativa a partir de una dosis mayor a 0.25 mg/mL (250 μ g/mL), indicando diferencias en la efectividad de las dos formulaciones de NPs. En otro estudio (Franke *et al.*, 2018), la administración de cisplatino a través de NPs resultó en una inducción significativa de daño al ADN a dosis bajas (0.015 mg/mL), contrastando con nuestros hallazgos, los cuales mostraron un efecto citotóxico a una concentración mayor de 0.03 mg/mL, resaltando la importancia de comprender los matices de las diferentes formulaciones de nanopartículas-fármacos para lograr los resultados terapéuticos deseados. Mendoza-Martínez *et al.* reportaron en 2023 el uso de nanoportadores de NPs de ZnO y MgO en combinación con agentes antineoplásicos como el 5-fluorouracilo y el cisplatino en cultivos 3D de esferoides de células cancerígenas. Observaron una reducción en la viabilidad celular y una disminución en la actividad tumoral en los esferoides de células cancerígenas de origen linfoide.

Se ha reportado que las NPs de ZnO y MgO reducen significativamente la viabilidad de células cancerígenas mediante el mecanismo de apoptosis por la vía intrínseca, también conocida como la vía mitocondrial (figura 3),

(Wong *et al.*, 2011; Carneiro *et al.*, 2020; Kashyap *et al.*, 2021), el cual es un mecanismo celular complejo y altamente regulado activándose en respuesta a señales de estrés intracelular tales como daño al ADN, estrés en el retículo endoplásmico (RER), o la falta de factores de crecimiento (Xu *et al.*, 2019). Este proceso comienza con la detección de estrés celular, el cual desencadena cambios en el equilibrio de las proteínas de la familia BCL-2 en la membrana mitocondrial. Estas proteínas son clave en la regulación de la apoptosis y son sintetizadas en la célula a través del proceso de expresión génica que involucra la transcripción y traducción del gen BCL2 (Rautureau *et al.*, 2010; Goldar *et al.*, 2015).

FIGURA 3. Internalización celular de las NPs de ZnO y MgO y muerte celular.



Se ilustra la vía de internalización en células tumorales a través de la vía endocítica, y el destino intracelular de los iones de Zn²⁺ y/o Mg²⁺ liberados, con consecuencia en la integridad del ADN y de la actividad mitocondrial. El núcleo celular, muestra daño en el ADN, correlacionándose con las alteraciones en el ciclo celular asociadas con el cáncer; además, la liberación de iones de zinc y magnesio de las NPs perturban la homeostasis iónica y junto con el daño al ADN y el aumento de especies reactivas de oxígeno (ROS), se activa la proteína p53. Esta activación conduce a la expresión de proteínas pro-apoptóticas como Bax y Bak. Se destacan los sitios de producción de ROS en las mitocondrias induciendo a estrés oxidativo inducido por las NPs y la liberación de citocromo C, dando paso a la formación del apoptosoma, como resultado de la activación de la caspasa-9 y la formación de cuerpos apoptóticos, lo cual indica el proceso de muerte celular programada en acción. Por último, se visualiza la ruptura de la membrana celular y la degradación del citoesqueleto, como las etapas finales de la apoptosis.

Fuente: Elaboración de los autores.

Cuando se activan las proteínas pro-apoptóticas de la familia Bcl-2, como Bax, Bak y Bid, estas translocan la membrana mitocondrial y pueden formar poros o alterar su permeabilidad, llevando a la liberación de factores pro-apoptóticos desde el espacio intermembrana mitocondrial al citosol. El citocromo c es el más significativo de estos factores, y una vez liberado en el citosol, se une a Apaf-1 en presencia de ATP o dATP. Esta unión induce a

Apaf-1 a oligomerizar y formar el apoptosoma, un complejo que sirve como plataforma para la activación de la caspasa-9. La caspasa-9, al activarse, procesa las caspasas ejecutoras, como la caspasa-3 y la caspasa-7, que son responsables de desencadenar la serie de eventos bioquímicos y morfológicos los cuales caracterizan la apoptosis, incluyendo la fragmentación del ADN y la formación de cuerpos apoptóticos (Kiraz *et al.*, 2016; Rautureau *et al.*, 2010). Este proceso está regulado por varios puntos de control, incluyendo las proteínas inhibidoras de la apoptosis (IAP) y factores de supervivencia que pueden modular la actividad de las proteínas BCL-2 y la integridad de la membrana mitocondrial. La función de BCL-2 es inhibir la apoptosis y mantener la integridad de la membrana mitocondrial, previniendo la liberación de citocromo c y otros factores pro-apoptóticos. Las proteínas BCL-2, esenciales en células del sistema inmunitario como los linfocitos, también se encuentran en otras células que experimentan alto estrés o renovación. La expresión de BCL2 es inducida por factores de crecimiento y citoquinas a través de rutas de señalización como la vía PI3K/AKT y la vía RAS/RAF/MEK/ERK, así como por la activación transcripcional dependiente de NF- κ B. La traducción de BCL-2 puede ocurrir tanto en el citosol como en el RER, y la localización subcelular de la proteína BCL-2 puede variar, encontrándose en la membrana mitocondrial externa, el RER y la membrana nuclear (Mohammadinejad *et al.*, 2019). La regulación de la actividad de BCL-2 y su expresión es crítica, pues las alteraciones pueden llevar a patologías como el cáncer, donde la resistencia a la apoptosis representa un problema clínico significativo. Por ende, BCL-2 es un importante objetivo terapéutico para tratar ciertos tipos de cáncer y enfermedades donde la regulación de la apoptosis es fundamental. La formación del apoptosoma, si bien está vinculada con la función mitocondrial, ocurre en el citosol y no en la mitocondria, convirtiendo la liberación de citocromo c en un enlace crucial entre el estrés celular y la activación de la maquinaria apoptótica citosólica.

El equilibrio entre la supervivencia y la muerte celular es esencial para el desarrollo de los organismos. Sin embargo, su alteración conduce a enfermedades, incluyendo el cáncer. La muerte celular programada, en particular la apoptosis, observada por primera vez en el desarrollo de sapos en la década de 1840, es fundamental en este equilibrio. La apoptosis tiene dos vías principales: la extrínseca, iniciada a través de receptores de muerte, y la intrínseca o mitocondrial, la cual involucra una interacción compleja entre las proteínas proapoptóticas y antiapoptóticas de la familia BCL-2. Las células cancerosas evaden la apoptosis utilizando proteínas anti-apoptóticas BCL-2. Este proceso es regulado finamente por varios mecanismos en las células cancerígenas. Un regulador clave es el supresor tumoral p53, conocido como el *guardián del genoma*, el cual juega un papel crucial en la prevención de la tumorigénesis e inhibición del progreso del cáncer (Hao *et al.*, 2023), funciona como un factor de transcripción y un inductor de apoptosis. Sin embargo, la activación inapropiada de p53 puede causar anomalías en el desarrollo y en-

fermedades como las ribosomopatías. El papel de p53 en la apoptosis ha sido extensamente estudiado, con investigaciones recientes descubriendo nuevos genes objetivo de p53 los cuales mejoran la interacción entre p53 y BCL-XL en las mitocondrias, aumentando la apoptosis (Marei *et al.*, 2021).

Conclusiones

Las nanopartículas de ZnO y MgO muestran un gran potencial en el tratamiento del cáncer cuando se combinan con agentes antineoplásicos, sugiriendo así una terapia primaria contra la mayoría de los tumores malignos. Un punto crucial para considerar en relación con los nanotransportadores es su capacidad de internalización en las células cancerosas a través de la endocitosis. Por lo tanto, numerosos informes destacan la eficacia de las NPs inorgánicas como vehículos de agentes anticancerígenos, y están impulsando la investigación hacia el futuro de la nanomedicina.

Contribución de autorías

Conceptualización, diseño del artículo, desarrollo metodológico: Valeria Estefanía Flores-Ramírez, egresada de la licenciatura en odontología.

Desarrollo metodológico, análisis e interpretación, revisión y edición final del texto: Benjamín Aranda-Herrera, Dulce Araceli Guzmán-Rocha.

Conceptualización, diseño del artículo, desarrollo metodológico, minería de datos, análisis e interpretación, redacción del borrador original y revisión y edición final del texto: René García-Contreras.

Referencias

- Alsahafi, E., Begg, K., Amelio, I., Raulf, N., Lucarelli, P., Sauter, T., Tavassoli, M. (2019). Clinical update on head and neck cancer: molecular biology and ongoing challenges. *Cell Death and Disease*, 10(8): 540. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1769-9>.
- Behzadi, E., Sarsharzadeh, R., Nouri, M., Attar, F., Akhtari, K., Shahpasand, K., Falahati, M. (2018). Albumin binding and anticancer effect of magnesium oxide nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*, 14: 257-270. <https://doi.org/10.2147/IJN.S186428>.
- Carneiro, B. A., El-Deiry, W. S. (2020). Targeting apoptosis in cancer therapy. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 17(7): 395-417. <https://doi.org/10.1038/s41571-020-0341-y>.
- Chia, S. L., Tay, C. Y., Setyawati, M. I., Leong, D. T. (2015). Biomimicry 3D gastrointestinal spheroid platform for the assessment of toxicity and inflammatory effects of zinc oxide nanoparticles. *Small*, 11(6): 702-712. <https://doi.org/10.1002/smll.201401915>.
- DeLong, R. K., Comer, J., Mathew, E. N., Jaber-Douraki, M. (2019). Comparative

- molecular immunological activity of physiological metal oxide nanoparticle and its anticancer peptide and RNA complexes. *Nanomaterials*, 9(12): 1670, Basilea, Suiza. <https://doi.org/10.3390/nano9121670>.
- Deng, H., Yang, Y., Zuo, T., Fang, T., Xu, Y., Yang, J., Zhang, J., Shen, Q. (2021). Multifunctional ZnO@CuS nanoparticles cluster synergize chemotherapy and photothermal therapy for tumor metastasis. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 34: 102399. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2021.102399>.
- Franke, C. E., Czapar, A. E., Patel, R. B., Steinmetz, N. F. (2018). Tobacco mosaic virus-delivered cisplatin restores efficacy in platinum-resistant ovarian cancer cells. *Molecular Pharmaceutics*, 15(8): 2922-2931. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.7b00466>.
- García-Contreras, R., Scougall-Vilchis, R. J., Contreras-Bulnes, R., Ando, Y., Kanda, Y., Hibino, Y., Nakajima, H., Sakagami, H. (2014). Effects of TiO₂ nanoparticles on cytotoxic action of chemotherapeutic drugs against a human oral squamous cell carcinoma cell line. *In Vivo*, 28(2): 209-215.
- Goldar, S., Khaniani, M. S., Derakhshan, S. M., Baradaran, B. (2015). Molecular mechanisms of apoptosis and roles in cancer development and treatment. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16(6): 2129-44. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2015.16.6.2129>.
- Hao, Q., Chen, J., Lu, H., Zhou, X. (2023). The ARTS of p53-dependent mitochondrial apoptosis. *Journal of Molecular Cell Biology*, 29: 14(10):mjac074. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjac074>.
- Kashyap, D., Garg, V. K., Goel, N. (2021). Intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis: Role in cancer development and prognosis. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 125: 73-120. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2021.01.003>.
- Keefe, D. M., Schubert, M. M., Elting, L. S., Sonis, S. T., Epstein, J. B., Raber-Durlacher, J. E., Migliorati, C. A., McGuire, D. B., Hutchins, R. D., Peterson, D. E. (2007). Updated clinical practice guidelines for the prevention and treatment of mucositis. *Cancer*, 109(5): 820-831. <https://doi.org/10.1002/cncr.22484>.
- Kiraz, Y., Adan, A., Kartal Yandim, M., Baran, Y. (2016). Major apoptotic mechanisms and genes involved in apoptosis. *Tumour Biology*, 37(7): 8471-86. <https://doi.org/10.1007/s13277-016-5035-9>.
- Kumar, R., Gokulakrishnan, N., Kumar, R., Krishna, V. M., Saravanan, A., Supriya, S., Somanathan, T. (2015). Can be a bimetal oxide ZnO-MgO nanoparticles anticancer drug carrier and deliver? Doxorubicin adsorption/release study. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 15(2): 1543-1553. <https://doi.org/10.1166/jnn.2015.8915>.
- Lalla, R. V., Brennan, M. T., Schubert, M. M. (2011). Oral complications of cancer therapy. En Yagiela, J. A., Dowd, F. J., Johnson, B. S. *et al.* (eds.), *Pharmacology and therapeutics for dentistry*. 6a ed. Mosby Elsevier, 782-98.
- Li, X., Li, R., Qian, X., Ding, Y., Tu, Y., Guo, R., Hu, Y., Jiang, X., Guo, W., Liu, B. (2008). Superior antitumor efficiency of cisplatin-loaded nanoparticles by intratumoral delivery with decreased tumor metabolism rate. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 70(3): 726-34. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2008.06.016>.

- Marei, H. E., Althani, A., Afifi, N. (2021). p53 signaling in cancer progression and therapy. *Cancer Cell International*, 21: 703. <https://doi.org/10.1186/s12935-021-02396-8>.
- Mendoza-Martínez, N. L., Cadena-Galeana, A. D., Villanueva-Sánchez, F. G., Pérez-Cornejo, N., Avelar-Juárez, K. M., Ramos-Baena, J. D., Cruz-Monroy, E. A., Vázquez-Zúñiga, U., García-Contreras, R. (2023). Efficacy of antineoplastic nanocarriers on 3D oral cancer spheroids. *In Vivo*, 37(4): 1658-1665. <https://doi.org/10.21873/invivo.13251>.
- Mohammadinejad, R., Moosavi, M. A., Tavakol, S., Vardar, D. Ö., Hosseini, A., Rahmati, M., Dini, L., Hussain, S., Mandegary, A., Klionsky, D. J. (2019). Necrotic, apoptotic and autophagic cell fates triggered by nanoparticles. *Autophagy*, 15(1): 4-33. <https://doi.org/10.1080/15548627.2018.1509171>.
- Rautureau, G. J., Day, C. L., Hinds, M. G. (2010). Intrinsically disordered proteins in bcl-2 regulated apoptosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(4): 1808-24. <https://doi.org/10.3390/ijms11041808>.
- Siegel, R. L., Miller, K. D., Wagle, N. S., Jemal, A. (2023). Cancer statistics, 2023. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 73(1): 17-48. <https://doi.org/10.3322/caac.21763>.
- Singh, T. A., Das, J., Sil, P. C. (2020). Zinc oxide nanoparticles: a comprehensive review on its synthesis, anticancer and drug delivery applications as well as health risks. *Advances in Colloid and Interface Science*, 286: 102317. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102317>.
- Song, W., Jia, P., Zhang, T., Dou, K., Liu, L., Ren, Y., Liu, F., Xue, J., Hasanin, M. S., Qi, H. y Zhou, Q. (2022). Cell membrane-camouflaged inorganic nanoparticles for cancer therapy. *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1): 289. <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01475-w>.
- Taneja, N., Alam, A., Patnaik, R. S., Taneja, T., Gupta, S., Sunil, M. K. (2021). Understanding nanotechnology in the treatment of oral cancer: a comprehensive review. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 38(6): 1-48. <https://doi.org/10.1615/CritRevTherDrugCarrierSyst.2021036437>.
- Wong, R. S. (2011). Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 30: 87. <https://doi.org/10.1186/1756-9966-30-87>.
- Xu, X., Lai, Y., Hua, Z. C. (2019). Apoptosis and apoptotic body: disease message and therapeutic target potentials. *Bioscience Reports*, 18(1): 39. <https://doi.org/10.1042/BSR20180992>.
- Yang, L., Xu, J., Xie, Z., Song, F., Wang, X., Tang, R. (2021). Carrier-free prodrug nanoparticles based on dasatinib and cisplatin for efficient antitumor *in vivo*. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16(6): 762-771. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2021.08.001>.

Calcium crystal formation in the epileptic focus of an *in vivo* epilepsy model[◇]

Formación de cristales de calcio dentro del foco epiléptico de un modelo de epilepsia *in vivo*

Tessy López-Goerne,^{*,†} Rafael Valiente,^{*} Emilio Chávez,^{*} Antonella González-Bondani,^{*} Joaquín Manjarrez,^{**} Francisco J. Padilla-Godínez^{*, ***}

ABSTRACT: Epilepsy represents a significant health concern, affecting an estimated 2 million individuals in Mexico —patients enduring more than 70 seizures daily—. In the present study, refractory epilepsy was induced in Wistar rats by repeated stimulation with pentylenetetrazol (PTZ), ranging from one to one hundred stimulations. Hippocampal tissue was analyzed via scanning electron microscopy (SEM) and energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS). The formation of solid calcium carbonate (CaCO_3) crystals within the epileptic focus were observed. Notably, the concentration of CaCO_3 exhibited a direct correlation with the number of stimulations, suggesting a progressive increase over the course of these events. This study puts forth a hypothesis elucidating the mechanism behind CaCO_3 crystal formation in response to PTZ-induced seizures. Further research is needed to ascertain whether there exists a correlation between the dysregulation of calcium ions (Ca^{2+}) in epilepsy and the formation of CaCO_3 . This inquiry opens avenues for deeper understanding and potential advancements in the diagnosis of epilepsy and related neurological disorders.

KEYWORDS: calcification, calcium carbonate, epilepsy, Kindling model, SEM, EDS.

RESUMEN: La epilepsia representa un importante problema de salud, al estimarse su afectación a 2 millones de individuos en México —los pacientes sufren más de 70 convulsiones diarias—. En el presente estudio se indujo epilepsia refractaria en ratas Wistar mediante estimulación repetida con pentilentetrazol (PTZ), de una a cien estimulaciones. El tejido del hipocampo se analizó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) y espectroscopía de rayos X de energía dispersiva (EDS). Se observó la formación de cristales sólidos de carbonato cálcico

Received: April 28, 2024.

Accepted: October 8, 2024.

Published: November 26, 2024.

[◇] Funding: This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Declaration of Competing Interest: None.

Acknowledgements: None to be declared.

Institutional Review Board Statement: All studies were conducted in accordance with the National Institute of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals and were approved by the Local Animal Care and Use Committee of the Department of Health Care of the Autonomous Metropolitan University Xochimilco. Animal numbers were kept to a minimum and all efforts were made to reduce animal suffering. All methods are reported in concurrence with ARRIVE guidelines for describing animal experiments.

^{*} Autonomous Metropolitan University-Xochimilco. Laboratory of Nanotechnology and Nanomedicine, Department of Health Care, Mexico.

^{**} National Institute of Neurology and Neurosurgery, Mexico.

^{***} Western Institute of Technology and Higher Education Department of Mathematics and Physics, Tlaquepaque, Jalisco, Mexico.

[†] Author for correspondence: tessy3@prodigy.net.mx



(CaCO₃) dentro del foco epiléptico. En particular, la concentración de CaCO₃ mostró una correlación directa con el número de estimulaciones, lo cual sugiere un aumento progresivo en el curso de estos eventos. Este estudio plantea una hipótesis, la cual elucida el mecanismo subyacente a la formación de cristales de CaCO₃ en respuesta a las convulsiones inducidas por PTZ. Es necesario seguir investigando para determinar si existe una correlación entre la desregulación de los iones de calcio (Ca²⁺) en la epilepsia y la formación de CaCO₃. Esta investigación abre vías para una comprensión más profunda y posibles avances en el diagnóstico de la epilepsia y los trastornos neurológicos relacionados.

PALABRAS CLAVE: calcificación, carbonato de calcio, epilepsia, modelo Kindling, SEM, EDS.

Introduction

Epilepsy is a chronic neurological disorder that manifests in recurrent, unprovoked seizures, profoundly affecting the lives of millions worldwide (Beghi, 2020; Begley *et al.*, 2022; Falco-Walter, 2020). According to the World Health Organization (WHO), epilepsy affects approximately 50 million people globally, making it one of the most common neurological conditions (WHO, 2024). In Mexico alone, an estimated 2 million individuals are affected by epilepsy, with some patients enduring as many as 70 seizures daily (Pesqueira *et al.*, 2023; Guzmán-Jiménez *et al.*, 2020; Rubio *et al.*, 2021). Such frequent seizures can lead to significant cognitive, emotional, and social impairments, exacerbating the overall burden of the disease on both patients and healthcare systems (Strzelczyk *et al.*, 2023; Vonck *et al.*, 2023; Rozensztrauch and Kołtuniuk, 2022). The management of epilepsy typically involves anticonvulsant medications, which help control seizures in the majority of cases (Riva *et al.*, 2021; E. Perucca 2021; Ghosh *et al.*, 2021). However, about 30% of patients do not respond to these medications, a condition known as refractory or drug-resistant epilepsy (Guery and Rheims, 2021; Lerche, 2020; Sultana *et al.*, 2021; Kwan *et al.*, 2010). Refractory epilepsy represents a particularly challenging aspect of the disorder, as it often results in frequent and severe seizures that are difficult to manage, leading to progressive neurological damage over time (Janson and Bainbridge, 2021; Anzellotti *et al.*, 2020; Singh, Mishra and Goel, 2021). The development of effective treatments for refractory epilepsy requires a deeper understanding of the underlying mechanisms that contribute to the persistence of seizures and the failure of pharmacological interventions.

One of the primary challenges in epilepsy research is elucidating the complex pathophysiological processes that underlie seizure activity. Several factors, including genetic predisposition, abnormal neuronal firing, and imbalances in neurotransmitter systems, have been implicated in the development of epilepsy (Rho and Boison, 2022; P. Perucca, Bahlo and Berkovic, 2020; Symonds and McTague, 2020). Seizures induce alterations in mesial-temporal structures, leading to neuronal loss and hippocampal size reduction, with 80% of complex partial seizures originating in the temporal lobe (Toro Pérez *et al.*, 2020). The hippocampus, a region of the brain critically in-

volved in memory formation and spatial navigation, is also one of the most affected areas during seizures (Wu *et al.*, 2020; Pires *et al.*, 2021; Girardi-Schappo *et al.*, 2021). Repeated seizure activity can lead to significant damage in this region, which has been linked to cognitive decline and memory impairments in both animal models and human patients with epilepsy (Ives-Deliperi and Butler, 2021; Novak, Vizjak and Rakusa, 2022; Engel *et al.*, 2013).

Seizures have a profound impact on the normal ion flow in the brain, particularly in the temporal lobe, as the region frequently involved in epilepsy. During a seizure, there is an excessive, synchronized firing of neurons, disrupting the delicate balance of intracellular and extracellular ions that is essential for normal neuronal function (Grisar, 1984; Spampinato *et al.*, 2004; Scharfman, 2007). This disruption primarily involves key ions such as sodium (Na^+) (Catterall 2014), potassium (K^+) (Brenner and Wilcox, 2012), chloride (Cl^-) (Auer *et al.* 2020), and calcium (Ca^{2+}) (Dreier and Heinemann, 1991; Steinlein, 2014), with modifications on the intracellular and extracellular concentration of the ions as depicted in table 1. Normally, the flow of these ions across neuronal membranes is tightly regulated by ion channels and transporters to maintain resting membrane potential and to propagate action potentials in a controlled manner. However, during seizure activity, this regulation breaks down. For instance, there is a massive influx of Na^+ and Ca^{2+} into neurons, which leads to depolarization and the uncontrolled firing of action potentials (Oyrer *et al.*, 2018; Sun *et al.*, 2022). The excessive influx of Ca^{2+} into neurons is particularly damaging, as calcium plays a critical role in various intracellular signaling pathways, including neurotransmitter release, gene expression, and activation of enzymes like proteases and phospholipases, which can lead to neuronal injury and cell death if dysregulated (Raimondo *et al.*, 2015; Benaim *et al.*, 2020). Concurrently, the efflux of K^+ and accumulation of extracellular K^+ contribute to further depolarization and prolong seizure activity by lowering the threshold for subsequent action (Ding *et al.*, 2024; Heinemann *et al.*, 1986). This imbalance between intracellular and extracellular ion concentrations creates a vicious cycle of excitotoxicity, wherein excessive excitatory neurotransmitter release, particularly glutamate, further exacerbates ionic imbalances and neuronal hyperexcitability (Chen *et al.*, 2023; Sarlo and Holton, 2021; Ben-Ari, 2002). The temporal lobe, due to its dense network of excitatory circuits, is especially vulnerable to these changes, and prolonged or recurrent seizures can lead to long-term alterations in ion channel function, synaptic plasticity, and even structural damage, contributing to the development of chronic epilepsy (Helmstaedter *et al.*, 2003; Elger, Helmstaedter and Kurthen, 2004; Lévesque, Ragsdale and Avoli, 2019). Understanding these ion imbalances is crucial for developing therapeutic interventions aimed at restoring ionic homeostasis in epilepsy patients.

Table 1. $[ion]_{intra}$ and $[ion]_{extra}$ (intracellular and extracellular, free ion concentrations). And E_{pds} energy potential gradient.

Typical rest				The typical peak during a seizure			Reference
Ion	$[ion]_i$	$[ion]_e$	E_{ion}	$[ion]_i$	$[ion]_e$	E_{ion}	
K ⁺	96 mM	4 mM	−85 mV	94 mM	12 mM	−55 mV	Jiang and Haddad (1991)
Na ⁺	10 mM	145 mM	+71 mV	55 mM	139 mM	+25 mV	Dreier and Heinemann (1991)
Ca ²⁺	70 nM	2 mM	+137 mV	700 nM	100 μM	+66 mV	Jiang and Haddad (1991)
Cl [−]	7 mM	145 mM	−80 mV	26 mM	152 mM	−47 mV	Raimondo <i>et al.</i> (2015)

Source: Author's elaboration.

In the current study, the effects of repeated seizures on calcium homeostasis and its potential link to the formation of calcium compounds crystals within the brain, specifically in the hippocampus, were evaluated in a well-established animal model of epilepsy, in which seizures were induced in Wistar rats through repeated administrations of pentylenetetrazol (PTZ), a chemical convulsant (Samokhina and Samokhin, 2018; Dhir, 2012). PTZ has been widely used in epilepsy research to induce seizures in rodents, as it reliably produces seizure activity that mimics certain aspects of human epilepsy, including both acute and chronic phases (Löscher, 2017). The hippocampal tissue from the rats was analyzed using scanning electron microscopy (SEM) and energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS) to investigate potential structural changes in response to PTZ-induced seizures. SEM and EDS are powerful tools for the observation and quantification of mineral formations in brain tissue, providing high-resolution imaging and precise elemental analysis (Lewis *et al.*, 2019; Cheville and Stasko, 2014). SEM enables detailed visualization of the ultrastructure of tissues, including the identification of abnormal mineral deposits, such as calcium crystals, by producing images with a resolution far beyond that of light microscopy. The high magnification and depth of field in SEM make it ideal for studying the three-dimensional morphology of mineral formations at the micro- and nanoscale (Goldstein *et al.*, 2018). Complementing SEM, EDS provides the ability to perform elemental analysis by detecting the characteristic X-rays emitted from a sample when it is bombarded by an electron beam (Wyroba *et al.*, 2015). This allows for the precise identification and quantification of specific elements, such as calcium, in biological tissues (Newbury, 2005). EDS operates based on the principle that each element emits X-rays at unique energy levels when excited by an electron beam, thus enabling the detection of the elemental composition of the sample (Schneider *et al.*, 2010). The combination of SEM and EDS is particularly beneficial for studying pathological mineralization in brain tissue, as it not only reveals the spatial distribution and structure of these deposits but also allows for the quantitative analysis of their elemental makeup (Tsolaki and Bertazzo, 2019). This dual capability is crucial for understanding

the role of mineral formations in neurological conditions, such as epilepsy, where calcium dysregulation may contribute to disease progression.

The findings of the study revealed the formation of solid calcium carbonate (CaCO_3) crystals within the epileptic foci of the hippocampus, a novel observation in epilepsy research. Interestingly, the concentration of CaCO_3 crystals was found to correlate directly with the number of PTZ stimulations, suggesting that the repeated seizure activity led to a progressive accumulation of these crystals over time. This raises several important questions regarding the potential mechanisms underlying CaCO_3 crystal formation and its implications for the pathophysiology of epilepsy.

Materials and methods

In vivo refractory epilepsy model

The kindling animal model was used as an *in vivo* refractory epilepsy model (Singh, Mishra and Goel, 2021). A total of 30 Wistar rats (180–260 g) were injected intraperitoneally with subconvulsive doses (35 mg/kg) of pentylenetetrazol (PTZ) dissolved in saline water daily. Following every injection, seizure activity was monitored for a duration of 20 minutes. The resultant seizures were categorized as follows: stage 0 denoting no observable response; stage 1 involving twitching of the face and ears; stage 2 consisting of jerking in the forelimbs and face; stage 3 encompassing myoclonic jerks and lifting; stage 4 characterized by clonic convulsions leading to the animal falling onto its side; stage 5 involving intense, repetitive tonic-clonic seizures. Animals were deemed to have undergone kindling once they displayed a sequence of three consecutive episodes at stage 4 or 5 (Spiller and Racine, 1994). Five groups ($n = 6$) were designated according to the number of kindling stimulations (K) that were induced: (i) $K = 5$; (ii) $K = 8$; (iii) $K = 22$; (iv) $K = 34$; (v) $K = 60$. The groups were compared to a control group ($n = 6$) that did not receive any treatment.

Histological procedures

At the 6-month mark after the analysis, the rats were euthanized with sodium pentobarbital (60 mg/kg) and intracardially perfused with 100 mL of 0.1 M phosphate buffer, followed by 100 mL of paraformaldehyde (4% w/v in 0.1 M PBS, PFA). Following fixation in 4% PFA for 12 hours, the brains were subjected to cryoprotection by undergoing consecutive 24-hour incubations in solutions containing 10%, 20% and 30% sucrose (dissolved in phosphate buffer). Subsequently, the brains were coronally sliced at a thickness of 10 μm using a cryostat and then preserved in an antifreeze solution. The sections were dyed using the Hematoxylin-eosin technique.

Measurement of crystals in brain tissue

Scanning electron microscopy (SEM) and energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS) techniques were used to measure crystal formation in extracted tissues.



For this, sections extracted from the frontal lobe were carefully chosen and treated with osmium tetroxide (1% in PB) for an hour at 4 °C. They were subsequently dehydrated using increasing concentrations of 70% ethanol supplemented with 1% uranyl acetate. After complete dehydration, the sections were immersed in propylene oxide and then exposed to a mixture of propylene oxide and Durcupan resin. Following a 48-hour polymerization period at 56 °C, the sections were observed under a light microscope to identify areas of interest. These areas were chosen for further processing: re-embedding and cutting into ultrathin sections for electron microscopy. To determine the appropriate region of the frontal lobe for ultrathin sectioning, semithin sections (500 nm thick) were stained using toluidine blue. The ultrathin sections (60 nm) were sliced using a Leica Ultracut UCT microtome, placed onto Formvar-coated single slot copper grids, and then stained with uranyl acetate and lead citrate.

The morphological characteristics and chemical composition of the crystals in the tissues were examined using a JEOL 5600 LV microscope, which was equipped with energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS) for elemental analysis. The SEM's ability to detect electron beam interactions with both organic and inorganic materials enabled detailed exploration of contrast variations and morphologies (Knott *et al.*, 2008; Knott, Rosset and Cantoni, 2011; Kempen *et al.*, 2015). For semi-quantification, the sample was measured at 20 kV, and secondary electrons (SE) were used to capture micrographs. Using a magnification of 2000x, initial micrographs were taken on which EDS analysis was performed to quantify signal intensity as counts per second based on the study area (2000 μm^2). For each Kindling stimulus value, three tissue samples were measured, and three micrographs were taken from different areas to ensure the measurements were representative of the entire tissue. The standard deviation of the intensities was used as the relative error. The signal intensity for each measured element was taken as its concentration over the standardized area, allowing for a correlation between intensity and the quantity of crystals present in the study area.

The determination of the compound type comprising the crystal was performed using point-based EDS, with the largest crystals used as reference points. The compound type was identified by consulting relevant literature and correlating the elements with their relative concentrations.

Statistical analysis

The statistical value was represented as the mean $\pm$ the standard deviation associated with the counts per second for each element in the 2000 μm^2 measurement area. Once the data were obtained, logarithmic regressions were performed in the form $I_{\text{Ca}} = k \ln(K) + I_0$ where I_{Ca} represents the signal intensity of calcium in the measurement area, K is the number of Kindling stimulations, k is a constant that relates K , the PTZ concentration and the intensity, and I_0 is the initial calcium concentration at 0 Kindling stimulations. The logarithmic relationship that yielded a coefficient of determination greater

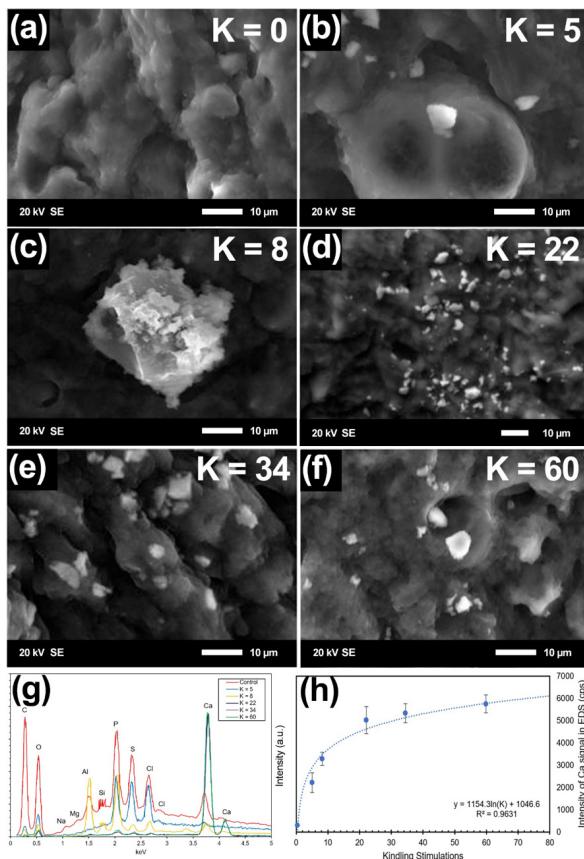
than 0.96 was identified. For determination of statistical differences in intensity, a one-way ANOVA was carried with a significance of 0.95.

Results

Calcium crystals analysis

Figure 1 shows representative microscopies obtained for the different groups according to the number of stimulations: K = 0 (1a); K = 5 (1b); K = 8 (1c); K = 22 (1d); K = 34 (1e) and K = 60 (1f). Control rats did not exhibit microscopic calcium crystal formation (figure 1a). In contrast, crystals in a wide range of sizes, from 5 to 20 μm in width, were observed in the rest of the tissues.

Figure 1. Representative SEM micrographs showing calcium carbonate crystals in brain tissue of epileptic rats at different Kindling stimulations.



(a) Healthy Wistar rat amygdala (K = 0); (b) K = 5; (c) K = 8; (d) K = 22; (e) K = 34; (f) K = 60; (g) EDS spectra of samples, and, (h) calcium intensity per 2000 μm^2 of tissue as a function of Kindling stimulations. SE = secondary electrons.

Source: Author's elaboration.

An EDS analysis was performed to identify and quantify the elements present in the identified crystals. Figure 1g shows the EDS spectra of the tissues analyzed as a function of the number of stimulations performed. Similarly, figure 1h presents a comparison between calcium intensity in counts per second and the number of stimulations (average values $\pm$ standard deviation): the dotted line reflects the fitted curve after a logarithmic regression. The graph suggests that calcium concentration (as determined by signal intensity) increases as a matter of the number of Kindling stimulations, suggesting a relationship between Ca^{2+} dysregulation and the severity of the epileptic seizures in the animal. The fitted curve reflects that calcium intensity follows a logarithmic behavior in relation to the number of Kindling stimulations, with a constant value of 1154.3 that correlates the concentration of PTZ and the number of Kindling stimulations.

Point EDS on the largest crystals observed for each tissue made it possible to identify the proportion of the remaining elements with respect to the amount of calcium observed. Table 2 shows the comparison of elemental ratios for rat tissues with $K = 0$, 22 and 34.

From the stoichiometric quantification of the atomic ratios for each element (table 2) it was determined that the crystals could be calcium carbonates or carboxylates, since only significant differences in calcium intensity were identified with respect to the control group without Kindling stimulations. Other potential calcium compounds include hydroxyapatite, a common compound found in bone structures with formula $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$; however, the significant decrease in the phosphorous signal associated with the increase in Kindling stimulations could indicate that crystals are not composed of such element. Since these were organic compounds, key elements such as carbon or oxygen were ruled out given the incapacity of the equipment to discern between organic and inorganic elements between the crystal formation.

Table 2. Punctual EDS quantification of elements present in calcium crystals.

Element	K = 0 (cps)*	K = 22 (cps)*	K = 34 (cps)*
Na	6.4 $\pm$ 1.5	10.9 $\pm$ 1.1	12.1 $\pm$ 1.3
Mg	2.8 $\pm$ 0.6	1.7 $\pm$ 0.2	1.5 $\pm$ 0.2
Al	21.3 $\pm$ 5.8	12.8 $\pm$ 1.3	30.4 $\pm$ 3.2
S	74.1 $\pm$ 12.1	36.1 $\pm$ 13.0	46.9 $\pm$ 7.0
Cl	77.4 $\pm$ 16.2	47.9 $\pm$ 23.8	49.1 $\pm$ 15.4
P	80.1 $\pm$ 32.1	1.8 $\pm$ 0.1 [†]	2.1 $\pm$ 1.4 [†]
Ca	72.6 $\pm$ 12.0	4000.1 $\pm$ 2600 [†]	5006.6 $\pm$ 1466 [†]
K	5.3 $\pm$ 0.8	8.5 $\pm$ 0.9	9.1 $\pm$ 0.8

* Values are expressed as the average cps $\pm$ standard deviation.

[†] Statistically significant values with $p < 0.05$.

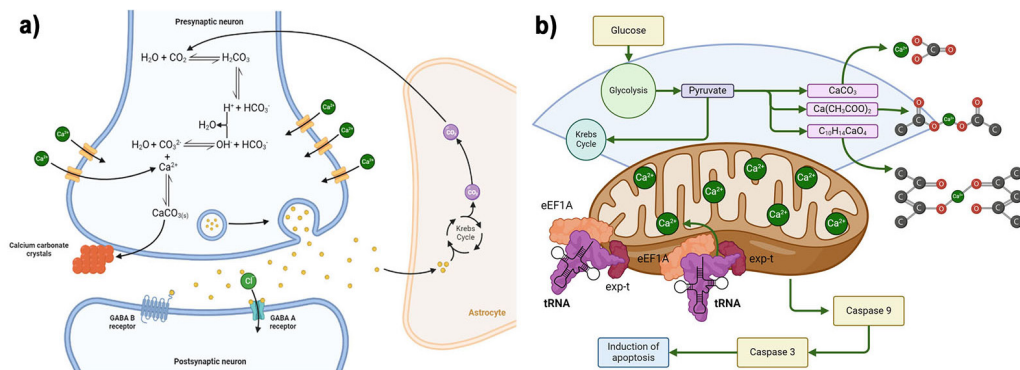
Source: Author's elaboration.

Discussion

Calcium carbonate is a common inorganic compound that is typically associated with skeletal structures in the human body, such as bones and teeth (Ohgushi *et al.*, 1992; Bushinsky and Lechleider, 1987; Harvey, Zobitz and Pak, 1988). The presence of CaCO_3 crystals in brain tissue, however, is highly unusual and has not been extensively documented in the context of epilepsy. We observed large solid crystals in epileptic seizure-induced rats. Detailed spectroscopic analysis showed that these structures were mainly composed of CaCO_3 . One possible explanation for the formation of these crystals is related to the dysregulation of calcium ions (Ca^{2+}) during seizure activity (Wojda, Salinska and Kuznicki, 2008; Akita and Fukuda, 2020; Kovac *et al.*, 2017). Seizures are known to cause excessive neuronal firing, leading to an influx of Ca^{2+} into neurons and astrocytes (Steinlein, 2014b; Siesjö, 1986). This influx can trigger a cascade of events, including the activation of calcium-dependent enzymes and signaling pathways that may contribute to neuronal damage (Yu, Chang and Tan, 2009; Zündorf and Reiser, 2011; Gleichmann and Mattson, 2011). The prolonged dysregulation of calcium homeostasis during recurrent seizures could potentially create conditions conducive to the precipitation of CaCO_3 crystals within the brain tissue.

A literature analysis suggests a hypothesis on the formation of CaCO_3 crystals. Synaptic processes are highly regulated under normal conditions. However, metabolism in the epileptic patient has as its main cellular manifestation what is known as the paroxysmal depolarizing shift (PDS) (Kubista, Boehm and Hotka, 2019; Hotka and Kubista, 2019; Tryba *et al.*, 2019; Tian *et al.*, 2005). Electrophysiological studies have shown evidence associated with a calcium ion (Ca^{2+})-mediated depolarization, which results in voltage gated sodium channels opening and action potentials (Hotka and Kubista, 2019b). This depolarization is followed by a process of hyperpolarization mediated by Ca^{2+} -dependent potassium channels, resulting in a massive entrance of Ca^{2+} in neurons (Tryba *et al.*, 2019b).

Carbon dioxide (CO_2) molecules released throughout the citric acid cycle may interact with intracellular water to produce carbonic acid (H_2CO_3); this same acid dissociates into protons (H^+) and acid carbonate (HCO_3^-), which reacts with hydroxyl ions (OH^-) generated by the same dissociation of the existing water to produce water (H_2O) and bicarbonate ions (CO_3^{2-}) (Becker, 1936). The high internalization of Ca^{2+} during PDS favors the interaction of CO_3^{2-} ions with Ca^{2+} ions, a reaction that culminates in the formation of CaCO_3 species, which are susceptible to their own polymerization and, thus, the formation of defined crystalline superstructures that fixes in the extra-neuronal tissue (Wiechers, Sturrock and Marais, 1975). In this sense, although H_2CO_3 acts as a defense mechanism in an attempt to compensate the polarization imbalance by calcium ions, the attempt is insufficient, and the charge decompensation leads to the appearance of epileptic seizures. The above is summarized in figure 2.

Figure 2. Hypothesis on the formation of calcium carbonate crystals.

(a) Formation of calcium carbonate crystals from Ca^{2+} and HCO_3^- . (b) Mitochondria function during a series of epileptic seizures and the impact of Ca^{2+} dysregulation on cell death through apoptosis. Source: Author's elaboration.

Other groups have reported the formation of calcium superstructures derived from CNS conditions (Froberg, Dorion and McMartin, 2006; Campbell *et al.*, 1999). However, until the present study, calcium crystal formation of any kind had not been reported in brains with epilepsy. As indicated above, dysregulation of neurotransmission mechanisms attributable to the calcium ion can lead to the formation of these crystals, and this phenomenon is not exclusive to epilepsy and can occur in other CNS pathologies.

The formation of CaCO_3 crystals could represent a protective response by the brain to sequester excess Ca^{2+} ions, thereby preventing further damage. Calcium sequestration mechanisms have been observed in other tissues, such as muscle and bone, where excess calcium is stored in the form of calcium salts (Kraus-Friedmann, 1990; Lenton *et al.*, 2015; Moore *et al.*, 1975; Movsesian, 1998). It is plausible that a similar mechanism may be at play in the brain during prolonged seizure activity, although further research is needed to confirm this hypothesis. Furthermore, such crystal formation in the hippocampus also raises the possibility that these crystals could serve as a biomarker for epilepsy progression or severity. The direct correlation between the number of Kindling stimulations and the concentration of CaCO_3 suggests that the accumulation of these crystals may reflect the cumulative effects of repeated seizures on the brain. If confirmed in human studies, CaCO_3 crystals could potentially be used as a diagnostic tool to monitor disease progression in patients with epilepsy. Additionally, the presence of CaCO_3 could offer insights into the long-term effects of refractory epilepsy and may inform the development of new therapeutic strategies aimed at restoring calcium homeostasis in the brain.

Notably, the identification of CaCO_3 crystals in the hippocampus further opens new avenues for investigating the broader implications of calcium dysregulation in neurological disorders. Calcium is a key signaling molecule in

volved in various physiological processes, including synaptic transmission, gene expression, and cell death (Clapham, 1995; Dodd, Kudla and Sanders, 2010). Dysregulation of calcium signaling has been implicated in a wide range of neurological conditions, including Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and amyotrophic lateral sclerosis (ALS) (Bojarski, Herms and Kuznicki, 2008; Wang, Shi and Wei, 2017; Calvo-Rodriguez, Kharitonova and Bacskai, 2020; Cali, Ottolini and Brini, 2014; Ludtmann and Abramov, 2018; Schapira, 2013; Leal and Gomes, 2015; Grosskreutz, Van Den Bosch and Keller, 2010; Kawamata and Manfredi, 2010). The findings of the current study suggest that calcium dysregulation may also play a central role in the pathophysiology of epilepsy, potentially through the formation of CaCO_3 crystals. Further research into the molecular mechanisms governing calcium homeostasis in the brain could provide important insights into the development of novel treatments for epilepsy and other neurological disorders.

Finally, further analyses are needed by means of SEM and spectroscopy evaluation (such as EDS) in tissues of neurodegenerative diseases, neoplasms, among others, that due to their nature associated to calcium metabolism could lead to the formation of these complexes. Similarly, it is necessary to continue research on the formation of CaCO_3 crystals observed in the present work to corroborate the mechanism of formation and determine whether it is a neuroprotective process or a symptom of the deregulatory process.

Conclusions

The present work reports the formation of solid CaCO_3 was observed for the first time in an animal model of epilepsy, determining a direct relationship in the increase of calcium concentration as a function of the number of stimulations. It is hypothesized that CaCO_3 is synthesized from calcium and carbonate ions present in synapses during the dysregulation observed in the pathological molecular processes of epilepsy. It remains unknown whether this phenomenon is a process of neuroprotection against the massive depolarization that occurs during epileptic seizures, so it is necessary to further investigate this hypothesis. However, the discovery of calcium carbonate (CaCO_3) crystals in the hippocampal tissue of PTZ-treated rats represents a significant advancement in our understanding of the pathophysiological changes that occur in response to repeated seizure activity. The correlation between the number of PTZ stimulations and the concentration of CaCO_3 crystals suggests that calcium dysregulation may play a key role in the progression of epilepsy. While the precise mechanisms underlying CaCO_3 crystal formation remain unclear, this study opens new avenues for research into the role of calcium homeostasis in epilepsy and other neurological disorders. Further investigation is needed to determine whether CaCO_3 crystals could serve as a biomarker for epilepsy progression and to explore the potential therapeutic implications of restoring calcium balance in the brain.

Contributions by author

Tessy López-Goerne: Conception and design of the article, methodological development, data mining, analysis and interpretation, writing of the original draft. Review and final editing of the text.

Rafael Valiente: Writing the original draft, review and final editing of the text.

Emilio Chávez: Writing the original draft, review and final editing of the text.

Antonella González-Bondani: Writing the original draft, review and final editing of the text.

Joaquín Manjarrez: Methodological development, data mining, analysis and interpretation.

Francisco J. Padilla-Godínez: Data mining, analysis and interpretation, writing of the original draft. Review and final editing of the text.

References

- Akita, Tenpei and Atsuo Fukuda. (2020). Intracellular Cl⁻ Dysregulation causing and caused by pathogenic neuronal activity. *Pflügers Archiv – European Journal of Physiology*, 472(7): 977-87. <https://doi.org/10.1007/s00424-020-02375-4>.
- Anzellotti, Francesca, Fedele Dono, Giacomo Evangelista, Martina Di Pietro, Claudia Carrarini, Mirella Russo, Camilla Ferrante, Stefano L. Sensi and Marco Onofri. (2020). Psychogenic non-epileptic seizures and pseudo-refractory epilepsy, a management challenge. *Frontiers in Neurology*, 11(June). <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00461>.
- Auer, Theresa, Philipp Schreppel, Thomas Erker and Christoph Schwarzer. (2020). Impaired chloride homeostasis in epilepsy: molecular basis, impact on treatment and current treatment approaches. *Pharmacology & Therapeutics*, 205(January): 107422. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.107422>.
- Becker, Z. E. (1936). A comparison between the action of carbonic acid and other acids upon the living cell. *Protoplasma* 25(1): 161-75. <https://doi.org/10.1007/BF01839067>.
- Beghi, Ettore. (2020). The epidemiology of epilepsy. *Neuroepidemiology*, 54(2): 185-91. <https://doi.org/10.1159/000503831>.
- Begley, Charles, Ryan G. Wagner, Annette Abraham, Ettore Beghi, Charles Newton, Churl-Su Kwon, David Labiner and Andrea S. Winkler. (2022). The global cost of epilepsy: a systematic review and extrapolation. *Epilepsia*, 63(4): 892-903. <https://doi.org/10.1111/epi.17165>.
- Benaim, Gustavo, Alberto E. Paniz-Mondolfi, Emilia Mia Sordillo and Nathalia Martínez-Sotillo. (2020). Disruption of intracellular calcium homeostasis as a therapeutic target against trypanosoma cruzi. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10(February). <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00046>.
- Ben-Ari, Yehezkel. (2002). Excitatory actions of gaba during development: the nature of the nurture. *Nature Reviews Neuroscience*, 3 (9): 728-39. <https://doi.org/10.1038/nrn920>.

- Bojarski, Lukasz, Jochen Herms and Jacek Kuznicki. (2008). Calcium dysregulation in Alzheimer's disease. *Neurochemistry International*, 52(4-5): 621-33. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2007.10.002>.
- Brenner, Robert, Karen S. Wilcox, Jeffrey L. Noebels, Massimo Avoli, Michael A. Rogawski, Richard W. Olsen, Antonio V. Delgado-Escueta (eds.). (2012). Potassium channelopathies of epilepsy. En *Jasper's basic mechanisms of the epilepsies*. 4a ed. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US).
- Bushinsky, D. A. and R. J. Lechleider. (1987). Mechanism of proton-induced bone calcium release: calcium carbonate-dissolution. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 253(5): F998-1005. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1987.253.5.F998>.
- Cali, Tito, Denis Ottolini and Marisa Brini. (2014). Calcium signaling in Parkinson's disease. *Cell and Tissue Research*, 357(2): 439-54. <https://doi.org/10.1007/s00441-014-1866-0>.
- Calvo-Rodríguez, María, Elizabeth K. Kharitonova and Brian J. Bacska. (2020). Therapeutic strategies to target calcium dysregulation in Alzheimer's disease. *Cells*, 9(11): 2513. <https://doi.org/10.3390/cells9112513>.
- Campbell, Iain L., Thomas Krucker, Scott Steffensen, Yvette Akwa, Henry C. Powell, Thomas Lane, Daniel J. Carr, Lisa H. Gold, Steven J. Henriksen and George R. Siggins. (1999). Structural and functional neuropathology in transgenic mice with CNS expression of IFN- α 1 published on the World Wide Web on 17 March, 1999.1. *Brain Research*, 835(1): 46-61. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)01328-1](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(99)01328-1).
- Catterall, William A. (2014). Sodium channels, inherited epilepsy y antiepileptic drugs. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 54(1): 317-38. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-011112-140232>.
- Chen, Tsang-Shan, Tzu-Hsin Huang, Ming-Chi Lai and Chin-Wei Huang. (2023). The role of glutamate receptors in epilepsy. *Biomedicine*, 11(3): 783. <https://doi.org/10.3390/biomedicine11030783>.
- Cheville, N. F. and J. Stasko. (2014). Techniques in electron microscopy of animal tissue. *Veterinary Pathology*, 51(1): 28-41. <https://doi.org/10.1177/0300985813505114>.
- Clapham, David E. (1995). Calcium signaling. *Cell*, 80(2): 259-68. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90408-5](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90408-5).
- Dhir, Ashish. (2012). Pentylenetetrazol (PTZ) kindling model of epilepsy. *Current Protocols in Neuroscience*, 58(1). <https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0937s58>.
- Ding, Fengfei, Qian Sun, Carter Long, Rune Nguyen Rasmussen, Sisi Peng, Qiwu Xu, Ning Kang et al. (2024). Dysregulation of extracellular potassium distinguishes healthy ageing from neurodegeneration. *Brain*, 147(5): 1726-39. <https://doi.org/10.1093/brain/awae075>.
- Dodd, Antony N., Jörg Kudla and Dale Sanders. (2010). The language of calcium signaling. *Annual Review of Plant Biology*, 61(1): 593-620. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-070109-104628>.
- Dreier, J. P. and U. Heinemann. (1991). Regional and time dependent variations of low Mg²⁺ induced epileptiform activity in rat temporal cortex slices. *Experi-*

- mental Brain Research*, 87(3). <https://doi.org/10.1007/BF00227083>.
- Elger, Christian E., Christoph Helmstaedter and Martin Kurthen. (2004). Chronic epilepsy and cognition. *The Lancet Neurology*, 3(11): 663-72. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(04\)00906-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(04)00906-8).
- Engel, Jerome, Asla Pitkänen, Jeffrey A. Loeb, F. Edward Dudek, Edward H. Bertram, Andrew J. Cole, Solomon L. Moshé *et al.* (2013). Epilepsy biomarkers. *Epilepsia*, 54(s4): 61-69. <https://doi.org/10.1111/epi.12299>.
- Falco-Walter, Jessica. (2020). Epilepsy – Definition, classification, pathophysiology and epidemiology. *Seminars in Neurology*, 40(06): 617-23. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1718719>.
- Froberg, K., R. P. Dorion and K. E. McMartin. (2006). The role of calcium oxalate crystal deposition in cerebral vessels during ethylene glycol poisoning. *Clinical Toxicology*, 44(3): 315-18. <https://doi.org/10.1080/15563650600588460>.
- Ghosh, Shampa, Jitendra Kumar Sinha, Tarab Khan, Kuramkote Shivanna Devaraju, Prabhakar Singh, Kumar Vaibhav and Pankaj Gaur. (2021). Pharmacological and therapeutic approaches in the treatment of epilepsy. *Biomedicines*, 9(5): 470. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9050470>.
- Girardi-Schappo, Mauricio, Fatemeh Fadaie, Hyo Min Lee, Benoit Caldaïrou, Viviane Sziklas, Joelle Crane, Boris C. Bernhardt, Andrea Bernasconi and Neda Bernasconi. (2021). Altered communication dynamics reflect cognitive deficits in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*, 62(4): 1022-33. <https://doi.org/10.1111/epi.16864>.
- Gleichmann, Marc and Mark P. Mattson. (2011). Neuronal calcium homeostasis and dysregulation. *Antioxidants & Redox Signaling*, 14(7): 1261-73. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3386>.
- Goldstein, Joseph I., Dale E. Newbury, Joseph R. Michael, Nicholas W. M. Ritchie, John Henry J. Scott and David C. Joy. (2018). *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*. Nueva York, NY: Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6676-9>.
- Grisar, Thierry. (1984). Glial and neuronal Na⁺-K⁺ pump in epilepsy. *Annals of Neurology*, 16(S1): S128-34. <https://doi.org/10.1002/ana.410160719>.
- Grosskreutz, Julian, Ludo van den Bosch and Bernhard U. Keller. (2010). Calcium dysregulation in amyotrophic lateral sclerosis. *Cell Calcium*, 47(2): 165-74. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2009.12.002>.
- Guery, Deborah and Sylvain Rheims. (2021). Clinical management of drug resistant epilepsy: a review on current strategies. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 17(July): 2229-42. <https://doi.org/10.2147/NDT.S256699>.
- Guzmán-Jiménez, Diana Elena, Jaime Berumen Campos, Carlos Alberto Venegas-Vega, Mariana Alejandre Sánchez and Ana Luisa Velasco. (2020). Familial mesial temporal lobe epilepsy in Mexico: inheritance pattern and clinical features. *Epilepsy Research*, 167(November): 106450. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2020.106450>.
- Harvey, Jean A., Margaret M. Zobitz and Charles Y. C. Pak. (1988). Dose dependency of calcium absorption: a comparison of calcium carbonate and calcium citrate. *Journal of Bone and Mineral Research*, 3(3): 253-58. <https://doi.org/10.1002/jbmr.5650030303>.

- Heinemann, U., A. Konnerth, R. Pumain y W. J. Wadman. (1986). Extracellular calcium and potassium concentration changes in chronic epileptic brain tissue. *Advances in Neurology*, 44: 641-61.
- Helmstaedter, Christoph, Martin Kurthen, Silke Lux, Markus Reuber and Christian Erich Elger. (2003). Chronic epilepsy and cognition: a longitudinal study in temporal lobe epilepsy. *Annals of Neurology*, 54(4): 425-32. <https://doi.org/10.1002/ana.10692>.
- Hotka, Matej and Helmut Kubista. (2019). The paroxysmal depolarization shift in epilepsy research. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 107(February): 77-81. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2018.12.006>.
- Ives-Deliperi, Victoria and James T. Butler. (2021). Mechanisms of cognitive impairment in temporal lobe epilepsy: a systematic review of resting-state functional connectivity studies. *Epilepsy & Behavior*, 115(February): 107686. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2020.107686>.
- Janson, Marnie T. and Jacquelyn L. Bainbridge. (2021). Continuing burden of refractory epilepsy. *Annals of Pharmacotherapy*, 55(3): 406-8. <https://doi.org/10.1177/1060028020948056>.
- Jiang, C. and G. G. Haddad. (1991). Effect of anoxia on intracellular and extracellular potassium activity in hypoglossal neurons *in vitro*. *Journal of Neurophysiology*, 66(1): 103-11. <https://doi.org/10.1152/jn.1991.66.1.103>.
- Kawamata, Hibiki and Giovanni Manfredi. (2010). Mitochondrial dysfunction and intracellular calcium dysregulation in ALS. *Mechanisms of Ageing and Development*, 131(7-8): 517-26. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2010.05.003>.
- Kempen, Paul J., Moritz F. Kircher, Adam de la Zerda, Cristina L. Zavaleta, Jesse V. Jokerst, Ingo K. Mellinghoff, Sanjiv S. Gambhir and Robert Sinclair. (2015). A correlative optical microscopy and scanning electron microscopy approach to locating nanoparticles in brain tumors. *Micron*, 68(January): 70-76. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2014.09.004>.
- Knott, Graham, Herschel Marchman, David Wall and Ben Lich. (2008). Serial section scanning electron microscopy of adult brain tissue using focused ion beam milling. *The Journal of Neuroscience*, 28(12): 2959-64. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3189-07.2008>.
- Knott, Graham, Stéphanie Rosset and Marco Cantoni. (2011). Focussed ion beam milling and scanning electron microscopy of brain tissue. *Journal of Visualized Experiments*, 53(July). <https://doi.org/10.3791/2588>.
- Kovac, Stjepana, Albenka Dinkova Kostova, Alexander Herrmann, Nico Melzer, Sven Meuth and Ali Gorji. (2017). Metabolic and homeostatic changes in seizures and acquired epilepsy – Mitochondria, calcium dynamics and reactive oxygen species. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(9): 1935. <https://doi.org/10.3390/ijms18091935>.
- Kraus-Friedmann, N. (1990). Calcium sequestration in the liver. *Cell Calcium*, 11(10): 625-40. [https://doi.org/10.1016/0143-4160\(90\)90017-O](https://doi.org/10.1016/0143-4160(90)90017-O).
- Kubista, Helmut, Stefan Boehm and Matej Hotka. (2019). The paroxysmal depolarization shift: reconsidering its role in epilepsy, epileptogenesis and beyond. *International*

- Journal of Molecular Sciences*, 20(3): 577. <https://doi.org/10.3390/ijms20030577>.
- Kwan, Patrick, Alexis Arzimanoglou, Anne T. Berg, Martin J. Brodie, W. Allen Hauser, Gary Mathern, Solomon L. Moshé, Emilio Perucca, Samuel Wiebe and Jacqueline French. (2010). Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the *ad hoc* task force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia*, 51(6): 1069-77. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02397.x>.
- Leal, Sonia S. and Claudio M. Gomes. (2015). Calcium dysregulation links ALS defective proteins and motor neuron selective vulnerability. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9(June). <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00225>.
- Lenton, Samuel, Tommy Nylander, Susana C. M. Teixeira and Carl Holt. (2015). A review of the biology of calcium phosphate sequestration with special reference to milk. *Dairy Science & Technology*, 95(1): 3-14. <https://doi.org/10.1007/s13594-014-0177-2>.
- Lerche, Holger. (2020). Drug-resistant epilepsy – Time to target mechanisms. *Nature Reviews Neurology*, 16(11): 595-96. <https://doi.org/10.1038/s41582-020-00419-y>.
- Lévesque, Maxime, David Ragsdale and Massimo Avoli. (2019). Evolving mechanistic concepts of epileptiform synchronization and their relevance in curing focal epileptic disorders. *Current Neuropharmacology*, 17(9): 830-42. <https://doi.org/10.2174/1570159X17666181127124803>.
- Lewis, Amanda J., Christel Genoud, Mélissa Pont, Wilma D. J. van de Berg, Stephan Frank, Henning Stahlberg, Sarah H. Shahmoradian and Ashraf Al-Amoudi. (2019). Imaging of post-mortem human brain tissue using electron and X-ray microscopy. *Current Opinion in Structural Biology*, 58(October):138-48. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2019.06.003>.
- Löscher, Wolfgang. (2017). Animal models of seizures and epilepsy: past, present and future role for the discovery of antiseizure drugs. *Neurochemical Research*, 42(7): 1873-88. <https://doi.org/10.1007/s11064-017-2222-z>.
- Ludtmann, Marthe H. R. and Andrey Y. Abramov. (2018). Mitochondrial calcium imbalance in Parkinson's disease. *Neuroscience Letters*, 663(January):86-90. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.08.044>.
- Moore, L., T. Chen, H. R. Knapp and E. J. Landon. (1975). Energy-dependent calcium sequestration activity in rat liver microsomes. *Journal of Biological Chemistry*, 250(12): 4562-68. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)41338-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)41338-0).
- Movsesian, M. (1998). Calcium sequestration by the sarcoplasmic reticulum in heart failure. *Cardiovascular Research*, 37(2): 352-59. [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(97\)00259-9](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(97)00259-9).
- Newbury, Dale E. (2005). Misidentification of major constituents by automatic qualitative energy dispersive X-ray microanalysis: a problem that threatens the credibility of the analytical community. *Microscopy and Microanalysis*, 11(6): 545-61. <https://doi.org/10.1017/S1431927605050531>.
- Novak, Ajda, Karmen Vizjak and Martin Rakusa. (2022). Cognitive impairment in people with epilepsy. *Journal of Clinical Medicine*, 11(1): 267. <https://doi.org/10.3390/jcm11010267>.

- Ohgushi, Hajime, Motoaki Okumura, Takafumi Yoshikawa, Keisuke Inboue, Norio Senpuku, Susumu Tamai and Edwin C. Shors. (1992). Bone formation process in porous calcium carbonate and hydroxyapatite. *Journal of Biomedical Materials Research*, 26(7): 885-95. <https://doi.org/10.1002/jbm.820260705>.
- Oyrer, Julia, Snezana Maljevic, Ingrid E. Scheffer, Samuel F. Berkovic, Steven Petrou and Christopher A. Reid. (2018). Ion channels in genetic epilepsy: from genes and mechanisms to disease-targeted therapies. *Pharmacological Reviews*, 70(1): 142-73. <https://doi.org/10.1124/pr.117.014456>.
- Perucca, Emilio. (2021). The pharmacological treatment of epilepsy: recent advances and future perspectives. *Acta Epileptologica*, 3(1): 22. <https://doi.org/10.1186/s42494-021-00055-z>.
- Perucca, Piero, Melanie Bahlo and Samuel F. Berkovic. (2020). The genetics of epilepsy. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 21(1): 205-30. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-120219-074937>.
- Pesqueira, Gerardo Quiñones, Daniel San-Juan, Rosana Huerta Albarrán, Máximo León Vázquez, Gerardo Quiñones Canales and Jorge González Pesqueira. (2023). A systematic review of the epidemiology of epilepsy in Mexico during 1970 to 2020. *Archivos de Neuro-Psiquiatria*, 81(01): 074-080. <https://doi.org/10.1055/s-0042-1758647>.
- Pires, Geoffrey, Dominique Leitner, Eleanor Drummond, Evgeny Kanshin, Shruti Nayak, Manor Askenazi, Arline Faustin *et al.* (2021). Proteomic differences in the hippocampus and cortex of epilepsy brain tissue. *Brain Communications*, 3(2). <https://doi.org/10.1093/braincomms/fcab021>.
- Pumain, R., C. Menini, U. Heinemann, J. Louvel and C. Silva-Barrat. (1985). Chemical synaptic transmission is not necessary for epileptic seizures to persist in the baboon *Papio papio*. *Experimental Neurology*, 89(1): 250-58. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(85\)90280-8](https://doi.org/10.1016/0014-4886(85)90280-8).
- Raimondo, Joseph V., Richard J. Burman, Arie A. Katz and Colin J. Akerman. (2015). Ion dynamics during seizures. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9(October). <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00419>.
- Rho, Jong M. and Detlev Boison. (2022). The metabolic basis of epilepsy. *Nature Reviews Neurology* 18(6): 333-47. <https://doi.org/10.1038/s41582-022-00651-8>.
- Riva, Antonella, Alice Golda, Ganna Balagura, Elisabetta Amadori, Maria Stella Vari, Gianluca Piccolo, Michele Iacomino *et al.* (2021). New trends and most promising therapeutic strategies for epilepsy treatment. *Frontiers in Neurology*, 12(December). <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.753753>.
- Rozensztrauch, Anna and Aleksandra Kołtuniuk. (2022). The quality of life of children with epilepsy and the impact of the disease on the family functioning. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(4): 2277. <https://doi.org/10.3390/ijerph19042277>.
- Rubio, Carmen, Rudy Luna, Monserrat Ibarra-Velasco and Ángel Lee. (2021). Epilepsy: a bibliometric analysis (1968-2020) of the Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía 'Manuel Velasco Suárez' in Mexico. *Epilepsy & Behavior*, 115(February): 107676. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2020.107676>.

- Samokhina, E. and Alexander Samokhin. (2018). Neuropathological profile of the pentylenetetrazol (PTZ) kindling model. *International Journal of Neuroscience*, 128(11): 1086-96. <https://doi.org/10.1080/00207454.2018.1481064>.
- Sarlo, Gabrielle L. and Kathleen F. Holton. (2021). Brain concentrations of glutamate and GABA in human epilepsy: a review. *Seizure*, 91(October): 213-27. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2021.06.028>.
- Schapiro, Anthony H. V. (2013). Calcium dysregulation in Parkinson's disease. *Brain*, 136(7): 2015-16. <https://doi.org/10.1093/brain/awt180>.
- Scharfman, Helen E. (2007). The neurobiology of epilepsy. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 7(4): 348-54. <https://doi.org/10.1007/s11910-007-0053-z>.
- Schneider, Gerd, Peter Guttman, Stefan Heim, Stefan Rehbein, Florian Mueller, Kunio Nagashima, J. Bernard Heymann, Waltraud G. Müller and James G. McNally. (2010). Three-dimensional cellular ultrastructure resolved by X-ray microscopy. *Nature Methods*, 7(12): 985-87. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1533>.
- Siesjö, Bo K. (1986). Cellular calcium metabolism, seizures y ischemia. *Mayo Clinic Proceedings*, 61(4): 299-302. [https://doi.org/10.1016/S0025-6196\(12\)61935-1](https://doi.org/10.1016/S0025-6196(12)61935-1).
- Singh, Tanveer, Awanish Mishra and Rajesh Kumar Goel. (2021). PTZ kindling model for epileptogenesis, refractory epilepsy, and associated comorbidities: relevance and reliability. *Metabolic Brain Disease*, 36(7): 1573-90. <https://doi.org/10.1007/s11011-021-00823-3>.
- Spampanato, Jay, Ildiko Aradi, Ivan Soltesz and Alan L. Goldin. (2004). Increased neuronal firing in computer simulations of sodium channel mutations that cause generalized epilepsy with febrile seizures plus. *Journal of Neurophysiology*, 91(5): 2040-50. <https://doi.org/10.1152/jn.00982.2003>.
- Spiller, Allison E. y Ronald J. Racine. (1994). The effect of kindling beyond the 'Stage 5' criterion on paired-pulse depression and hilar cell counts in the dentate gyrus. *Brain Research*, 635(1-2): 139-47. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)91433-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)91433-8).
- Steinlein, Ortrud K. (2014). Calcium signaling and epilepsy. *Cell and Tissue Research*, 357(2): 385-93. <https://doi.org/10.1007/s00441-014-1849-1>.
- Strzelczyk, Adam, Angel Aledo-Serrano, Antonietta Coppola, Adrien Didelot, Elizabeth Bates, Ricardo Sainz-Fuertes and Charlotte Lawthom. (2023). The impact of epilepsy on quality of life: findings from a European survey. *Epilepsy & Behavior*, 142(May): 109179. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2023.109179>.
- Sultana, Bushra, Marie-Andrée Panzini, Ariane Veilleux Carpentier, Jacynthe Comtois, Bastien Rioux, Geneviève Gore, Prisca R. Bauer *et al.* (2021). Incidence and prevalence of drug-resistant epilepsy. *Neurology*, 96(17): 805-17. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000011839>.
- Sun, Jinyi, Yang Zheng, Zhong Chen and Yi Wang. (2022). The role of Na⁺ – K⁺ – ATPase in the epileptic brain. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 28(9): 1294-1302. <https://doi.org/10.1111/cns.13893>.
- Symonds, Joseph D. and Amy McTague. (2020). Epilepsy and developmental disorders: next generation sequencing in the clinic. *European Journal of Paediatric Neurology*, 24(January):15-23. <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2019.12.008>.
- Tian, Guo-Feng, Hooman Azmi, Takahiro Takano, Qiwu Xu, Weiguo Peng, Jane Lin,

- NancyAnn Oberheim *et al.* (2005). An astrocytic basis of epilepsy. *Nature Medicine*, 11(9): 973-81. <https://doi.org/10.1038/nm1277>.
- Toro Pérez, Juan Enrique, Ana Suller Martí, Manuel Herrera Aramburu, Juan Botta and Jorge G. Burneo. (2020). Epilepsia del lóbulo temporal plus: revisión. *Revista de Neurología*, 71(06): 225. <https://doi.org/10.33588/rn.7106.2020339>.
- Tryba, Andrew K., Edward M. Merricks, Somin Lee, Tuan Pham, SungJun Cho, Douglas R. Nordli, Tahra L. Eissa *et al.* (2019). Role of paroxysmal depolarization in focal seizure activity. *Journal of Neurophysiology*, 122(5): 1861-73. <https://doi.org/10.1152/jn.00392.2019>.
- Tsolaki, Elena and Sergio Bertazzo. (2019). Pathological mineralization: the potential of mineralomics. *Materials*, 12(19): 3126. <https://doi.org/10.3390/ma12193126>.
- Vonck, Kristl, Arnaud Biraben, Magdalena Bosak, Poul Jørgen Jennum, Vasilios K. Kimiskidis, Petr Marusic, James W. Mitchell *et al.* (2023). Usage and impact of patient-reported outcomes in epilepsy. *Brain and Behavior*, 13(12). <https://doi.org/10.1002/brb3.3342>.
- Wang, Yong, Yun Shi and Huafeng Wei. (2017). Calcium dysregulation in Alzheimer's disease: a target for new drug development. *Journal of Alzheimer's Disease & Parkinsonism*, 7(5). <https://doi.org/10.4172/2161-0460.1000374>.
- WHO. (2024). *Epilepsy*. World Health Organization. February 7, 2024.
- Wiechers, H. N. S, P Sturrock and G. V. R. Marais. (1975). Calcium carbonate crystallization kinetics. *Water Research*, 9(9): 835-45. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(75\)90143-8](https://doi.org/10.1016/0043-1354(75)90143-8).
- Wojda, Urszula, Elzbieta Salinska and Jacek Kuznicki. (2008). Calcium ions in neuronal degeneration. *IUBMB Life*, 60(9): 575-90. <https://doi.org/10.1002/iub.91>.
- Wu, Dongyan, Feiyan Chang, Dantao Peng, Sheng Xie, Xiaoxuan Li and Wenjing Zheng. (2020). The morphological characteristics of hippocampus and thalamus in mesial temporal lobe epilepsy. *BMC Neurology*, 20(1): 235. <https://doi.org/10.1186/s12883-020-01817-x>.
- Wyroba, Elzbieta, Szymon Suski, Karolina Miller and Rafał Bartosiewicz. (2015). Biomedical and agricultural applications of energy dispersive X-ray spectroscopy in electron microscopy. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 20(3). <https://doi.org/10.1515/cmble-2015-0028>.
- Yu, Jin-Tai, Raymond Chuen-Chung Chang and Lan Tan. (2009). Calcium dysregulation in Alzheimer's disease: from mechanisms to therapeutic opportunities. *Progress in Neurobiology*, 89(3): 240-55. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2009.07.009>.
- Zündorf, Gregor and Georg Reiser. (2011). Calcium dysregulation and homeostasis of neural calcium in the molecular mechanisms of neurodegenerative diseases provide multiple targets for neuroprotection. *Antioxidants & Redox Signaling*, 14(7): 1275-88. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3359>.

Transesterificación de aceite de canola con Sr/CaO mediante el método Box-Behnken[◇]

Transesterification of canola oil with Sr/CaO using the Box-Behnken method

D. Marín-Lugo,* R. Barrera-Gutiérrez,* G. A. Vázquez-Rodríguez,*
G. Chavez-Esquivel,** J. A. Tavizón-Pozos**,†

ABSTRACT: This work aimed to optimize the transesterification of canola oil to generate biodiesel with Sr/CaO catalysts obtained from eggshells by studying the effect of the amount of strontium, calcination temperature, and the Box-Behnken method. Sr/CaO catalysts with 3, 6, and 9 wt% Sr calcined at 500, 650, and 800 °C were prepared by wet impregnation using $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ dissolved in methanol. As the amount of Sr and the calcination temperature of all series increases, so does the biodiesel yield. This is because more superficial active sites are generated with high Sr concentration and calcination temperature. Likewise, it was observed that SrCO_3 species are formed, which would limit the catalyst performance. Based on the results, the catalyst with 9 wt% Sr calcined at 800 °C was the most active and used in the optimization. To achieve this, Box-Behnken method was used with the methanol/oil molar ratio, temperature, and time were used as factors using 8 wt% catalyst to oil. The optimum yield was 90.81 % at a methanol/oil molar ratio=10, 68.58 °C for 2 h.

KEYWORDS: Sr/CaO, canola oil, transesterification, Box-Behnken, biodiesel, eggshell.

RESUMEN: Dada la necesidad de nuevos materiales catalíticos para la transesterificación de aceites para la generación de biodiesel, el objetivo de este trabajo fue optimizar esta reacción usando catalizadores de Sr/CaO obtenidos a partir de cascarón de huevo mediante el estudio del efecto de la cantidad de estroncio, temperatura de calcinación y el método Box-Behnken. Se prepararon catalizadores de Sr/CaO con 3, 6 y 9 %p/p de Sr por calcinación a 500, 650 y 800 °C usando el método de impregnación húmeda de $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ disuelto en metanol. Se encontró que, al aumentar la cantidad de Sr y la temperatura de calcinación de todas las series, también lo hace el rendimiento de biodiesel. Esto se debe a que con alta concentración de Sr y temperatura de calcinación se generan más sitios activos superficiales. Asimismo, se observó que se formarían especies SrCO_3 las cuales limitarían el rendimiento del catalizador. Considerando los resultados, el catalizador con 9 %p/p de Sr calcinado a 800 °C fue el más activo y usado en la optimización. Para esto se utilizó el método Box-Behnken tomando como factores la relación molar metanol/aceite, la temperatura y el tiempo usando 8 %p/p de catalizador respecto al aceite. Se encontró que el rendimiento óptimo fue del 90.81% con una relación metanol/aceite = 10, 68.58 °C por 2 h.

PALABRAS CLAVE: Sr/CaO, aceite de canola, transesterificación, Box-Behnken, biodiesel, cascarón de huevo.

Recibido: 21 de octubre, 2024. Aceptado: 4 de febrero, 2025. Publicado: 17 de febrero, 2025.

[◇] Los autores agradecen al apoyo de Conahcyt en el proyecto CIR/021/2024 de IxM.

* Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Área Académica de Química, Hidalgo, México.

** Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco, Departamento de Ciencias Básicas, Área de Química, México.

† Autor de correspondencia: jesus.tavizon@conahcyt.mx



Introducción

El biodiesel de primera generación ha mostrado beneficios tales como reducir el consumo de combustibles fósiles y mitigar la emisión y acumulación de CO₂, así como la descentralización de producción de energía; se obtiene principalmente de aceites vegetales comestibles, como los de canola, soya y girasol, los cuales presentan alta concentración de triglicéridos. Su producción no solo representa una alternativa sostenible a los combustibles fósiles, sino que también puede beneficiar a las industrias alimentaria y agropecuaria, impulsando el desarrollo rural sustentable y la economía circular.

El uso de biodiesel en entornos rurales ofrece ventajas significativas, pues puede emplearse en maquinaria agrícola o como aditivo en combustibles convencionales. Además, su proceso de producción es relativamente sencillo y requiere una inversión menor en materia prima y energía en comparación con los derivados petroquímicos. Sin embargo, su desarrollo plantea desafíos en términos de sostenibilidad, especialmente en lo que respecta al uso adecuado del suelo y el agua, así como a su competencia con la industria alimentaria (Mat *et al.*, 2020; Solomon, 2010; Mofijur *et al.*, 2021; Glisic *et al.*, 2016).

Los aceites vegetales, compuestos principalmente por triglicéridos (TG) y ácidos grasos libres (FFA, por sus siglas en inglés), son transformados en biodiesel por las reacciones de transesterificación y esterificación, respectivamente (Otera, 1993). En el proceso, el aceite se hace reaccionar con metanol (o etanol) a una temperatura cercana al punto de ebullición del alcohol; 65 °C para metanol u 80 °C para etanol. Para este proceso se requiere de un catalizador alcalino como el KOH o NaOH, el cual va diluido previamente en el alcohol. Como productos de esta reacción se obtiene una mezcla de ésteres alquilados de ácidos grasos (biodiesel) y glicerol (Rizwanul *et al.*, 2020). Dado que comúnmente se utiliza metanol por su bajo costo, los productos resultantes son ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME, por sus siglas en inglés).

Los hidróxidos de sodio o potasio al estar diluidos en alcohol actúan como catalizadores homogéneos, lo cual dificulta su recuperación y se requiere agua para separarlos de los productos líquidos. Además, la presencia de FFA y agua en combinación de los hidróxidos puede inducir reacciones de saponificación, afectando la producción de biodiesel (Tavizón-Pozos *et al.*, 2021). Para superar estos inconvenientes, se ha propuesto el uso de catalizadores heterogéneos alcalinos sustentables, fácilmente recuperables y reutilizables (Chouhan y Sarma, 2011). No obstante, dada la naturaleza de este sistema de reacción donde coexisten diferentes fases líquidas inmiscibles, como metanol y aceite, además de un catalizador sólido, la transferencia de materia del aceite hacia los sitios activos básicos se ve limitada. Por lo tanto, los catalizadores heterogéneos alcalinos deben poseer sitios altamente activos para contrarrestar estos efectos (Kibar *et al.*, 2023).

Entre los materiales sustentables propuestos, el CaO ha demostrado ser una opción viable debido a sus sitios básicos fuertes y su obtención a partir

de fuentes naturales, como piedra caliza o cascarón de huevo, convirtiéndolo en un material económico (Tavizón-Pozos *et al.*, 2021; Kouzu *et al.*, 2010). Particularmente, el cascarón de huevo destaca como un candidato prometededor, al ser un residuo de la industria alimentaria y poder ser eliminado de manera inocua al finalizar su vida útil como catalizador (Alemán-Ramírez *et al.*, 2022; Kumar *et al.*, 2022; Ashine *et al.*, 2023). Para aumentar la fuerza y cantidad de sitios básicos, así como la estabilidad del catalizador, se ha propuesto combinar el CaO con SrO (Tangy *et al.*, 2021). Con base en ello, se han desarrollado diversos sistemas catalíticos combinando SrO con CaO u otros soportes, con el objetivo de aumentar la estabilidad de los sitios activos y reducir la lixiviación (Tangy *et al.*, 2021).

El sistema SrO-CaO es interesante debido a su alta actividad, bajo costo y accesibilidad. No obstante, este sistema es sensible a los precursores de Sr y Ca usados, así como el método de síntesis del catalizador (Tavizón-Pozos y Cruz-Aburto, 2024). Por ejemplo, se ha reportado que el CaO obtenido a partir de acetato de calcio, combinado con estroncio (obtenido de $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$) en una proporción molar Sr/Ca = 0.5 y sintetizado mediante coprecipitación, alcanzó una conversión del 92% en la transesterificación del aceite de palma (Li *et al.*, 2016). En este estudio se concluyó que a una temperatura de calcinación de 800 a 900 °C se forman cristales imperfectos de $\text{Sr}_x\text{Ca}_{1-x}\text{O}$ y SrO, los cuales son los principales contribuyentes a los sitios básicos fuertes y, por ende, a la actividad catalítica. Además, este material mostró estabilidad y permitió realizar seis ciclos catalíticos. Asimismo, se observó que un sistema catalítico con una combinación másica de Sr:Ca de 1:6 y calcinado a 800 °C permitió eficientemente la transesterificación de aceite de *Jatropha* asistida por ultrasonido (95% en 30 min a 65 °C, con una relación molar metanol/aceite de 10 con 6% en peso de catalizador) (Ali *et al.*, 2017). Este comportamiento se atribuyó a la mejor dispersión de ambas fases y al aumento del contacto con los sitios activos superficiales. No obstante, usar ultrasonido de forma industrial llevaría a un mayor costo operacional.

Hay pocos estudios que se han enfocado en mejorar las condiciones de reacción usando este sistema catalítico (Hernández-Martínez *et al.*, 2023, Ramírez-Paredes *et al.*, 2024, Olvera-Ureña *et al.*, 2025). Desde el punto de vista ingenieril, la mejora y optimización de procesos permite lograr un equilibrio adecuado entre el consumo energético, el uso de materias primas y la eficiencia en la producción de biodiesel (Pavlović *et al.*, 2021; Khan y Singh, 2024). El sistema SrO-CaO obtenido a partir de la coprecipitación de SrCl_2 y $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ fue evaluado con diferentes proporciones másicas de estos precursores y calcinado a 900 °C en la transesterificación de aceite usado (Prokaewa *et al.*, 2022). Se encontró que el tamaño de partícula del catalizador aumenta con la cantidad de estroncio, mientras que su área disminuye. Además, todos los catalizadores estudiados dieron una fuerza básica de $9.8 < \text{H}_+ < 15$, lo cual disminuyó con el envejecimiento debido a la formación de $\text{Ca}(\text{OH})_2$. A través del método univariante, se determinó que una relación molar metanol/

aceite de 9, una temperatura de 80 °C, un tiempo de reacción de 3 horas y una carga de catalizador del 3 %p/p dieron como resultado un rendimiento del 99%. Sin embargo, se observó que la actividad catalítica disminuyó con cada ciclo, siendo el séptimo el último en el que se obtuvo un rendimiento superior al 60%. Cabe destacar que este estudio se realizó a 80 °C debido a que se utilizó aceite usado, lo cual requirió un mayor consumo energético para la formación del biodiesel.

En un estudio previo en el cual el Sr se incorporó con metanol a una matriz de CaO, se observó que la basicidad disminuyó ligeramente debido a la formación de SrCO_3 (Hernández-Martínez *et al.*, 2023). No obstante, para el sistema Sr/CaO no se evaluó el efecto de la temperatura ni el tiempo de reacción, los cuales son factores importantes por considerar para la dispersión o la incorporación de las nanopartículas de Sr en la matriz de CaO y, consecuentemente, efectos en la basicidad del catalizador. En ese sentido, este trabajo estudió la temperatura de calcinación y su relación con la carga de Sr y su dispersión en el soporte de CaO. Con el objetivo de optimizar las condiciones de reacción en este estudio se aplicó el método de superficie de respuesta Box-Behnken, pues este permite modelar relaciones no lineales entre los factores de entrada, en este caso las de operación tales como temperatura, la relación molar metanol/aceite y al tiempo con un número menor de experimentos en comparación con el univariante.

Experimental

Materiales

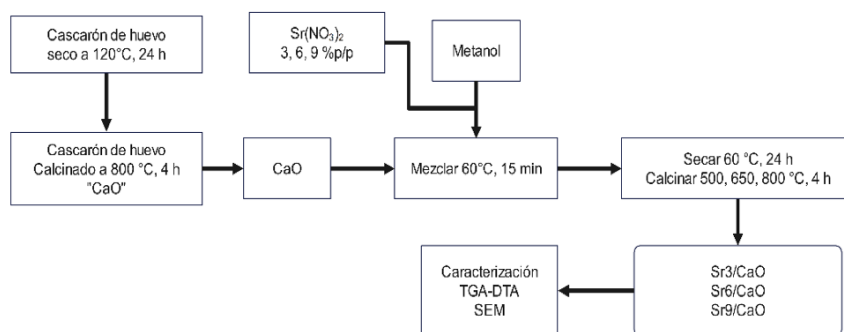
Se adquirió aceite de canola (Canoil®) en una tienda local y se consiguió cascarón de huevo desechada a nivel doméstico. También se usó metanol (99.5%, Meyer TM), n-hexano (99%, Sigma-Aldrich), y $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ (99%, Meyer TM).

Preparación de catalizadores

El cascarón de huevo se limpió con una solución de NaOH y agua y se secó a 120 °C por 24 h para luego ser triturado y calcinado a 800 °C durante 4 h. El CaO resultante, llamado así de ahora en adelante, se trituró hasta tener polvos finos. El CaO, se impregnó con $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ a distintas concentraciones de Sr: 3, 6 y 9 %p/p. Para hacer esto, 15 mL de metanol se agregaron a 15 g de CaO a 60 °C durante 10 min con agitación constante. Posteriormente, la cantidad adecuada de $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ para cada una de las concentraciones mencionadas se adicionaron a la mezcla y se dejaron macerar por 15 min. Al finalizar, se mantuvieron a 60 °C durante 24 h para eliminar el metanol. Los materiales secos se calcinaron a 500, 650 y 800 °C por 4 h. De esta manera, se obtuvieron tres series de catalizadores correspondientes a la carga de Sr llamadas Sr3/CaO, Sr6/CaO y Sr9/CaO; cada una de estas series se compuso de tres catalizadores de acuerdo con su temperatura de calcinación, dando un

total de nueve catalizadores. Dado que el catalizador Sr9/CaO fue el más activo, una muestra sin calcinar de este se analizó por TGA-DTA.¹ Para esto se utilizó un equipo TA Instruments Q600 (EUA). El material se calentó de temperatura ambiente a 900 °C a una velocidad de 10 °C/min en presencia de una atmósfera inerte de N₂. Este mismo catalizador calcinado a 800 °C se analizó por espectroscopía electrónica de barrido con espectroscopía de rayos-X de energía dispersa (SEM-EDS) usando un microscopio electrónico de ultra alta resolución JSM-7800F con una magnificación de 5,000x. Los pasos se resumen en la figura 1.

FIGURA 1. Diagrama del proceso de síntesis de los catalizadores



Fuente: Elaboración de los autores.

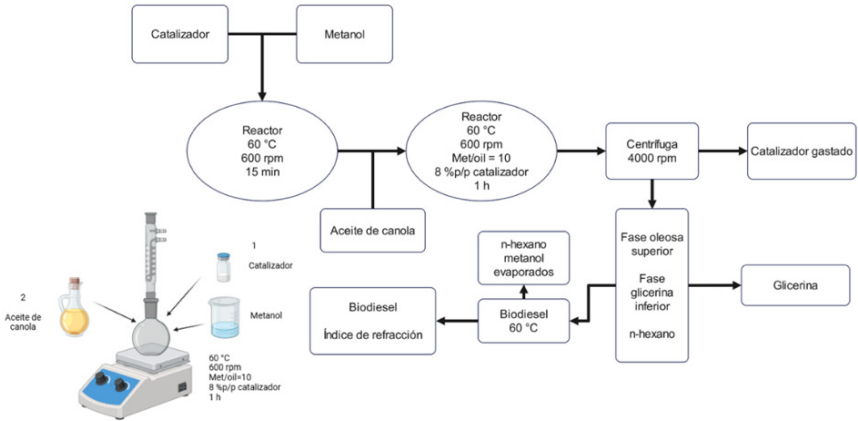
Transesterificación de aceite de canola

El sistema de reacción consistió en un matraz balón de fondo plano de una boca de 50 mL conectado a un condensador de serpentín y puesto en una mantilla de calentamiento con agitación magnética. El efecto de la calcinación y de la cantidad de estroncio se evaluó con una carga de catalizador de 8 %p/p a 60 °C con una relación molar metanol/aceite = 10 durante una hora (Ramírez-Paredes *et al.*, 2024). El metanol y el catalizador se mezclaron en el reactor a 60 °C y se dejaron en reflujo y agitación constante de 600 rpm durante 15 min. Posteriormente, se introdujeron 10 g del aceite de canola y se dejó transcurrir el tiempo de reacción. Al terminar, el contenido del matraz se pasó a un tubo de centrifuga de 50 mL y se centrifugó a 4,000 rpm durante 15 min. Las fases líquidas, glicerina-biodiesel, se vertieron en un embudo de separación, se agregaron 5 mL de n-hexano y se dejaron reposar por 30 min. La fase superior de biodiesel se separó y se calentó a 60 °C hasta que el

¹ TGA-DTA es una técnica de análisis térmico, la cual mide las propiedades de los materiales en función de la temperatura. TGA son las siglas de análisis termogravimétrico, mientras que DTA son las siglas de análisis térmico diferencial.

n-hexano y el metanol se evaporaran por completo. Finalmente, la determinación del rendimiento de biodiesel purificado se realizó con un refractómetro Abbe. Este proceso se resume en la figura 2.

FIGURA 2. Diagrama de flujo del proceso de reacción.



Fuente: Elaboración de los autores.

Optimización por superficie de respuesta Box-Behnken

El catalizador que más rendimiento mostró se usó para la optimización mediante un diseño de experimentos de método de superficie de respuesta Box-Behnken de tres factores. Los tres factores seleccionados fueron la relación metanol/aceite (met/oil; 10, 12.5 y 15), la temperatura (50, 60 y 70 °C), y el tiempo de reacción (1, 1.5, 2 h). Para realizar el tratamiento matemático, se utilizó el *software* Minitab 18. En la tabla 1 se muestran los factores y sus niveles codificados y decodificados.

TABLA 1. Niveles de las variables decodificadas para el diseño de experimentos.

Factores	Nivel			Codificados
	-1	0	+1	
Met/oil	10	12.5	15	Decodificados
Temperatura (°C)	50	60	70	
Tiempo (h)	1	1.5	2	

Fuente: Elaboración de los autores.

Con base en lo anterior, se planteó la ecuación 1 para obtener los valores teóricos de la respuesta:

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i x_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} x_{ij} \quad (\text{Ec.1})$$

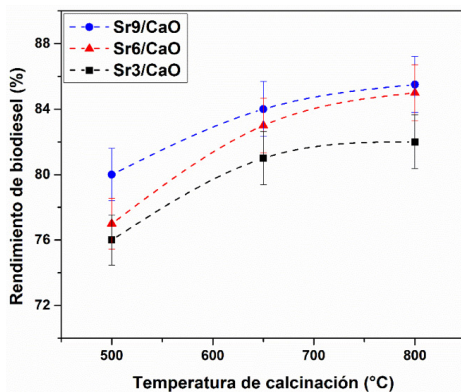
Donde: y = Rendimiento de biodiesel, x_i , x_{ij} = temperatura, metanol/aceite o tiempo, β_0 = término constante, β_i , β_{ii} , β_{ij} = coeficientes de los parámetros. Las condiciones de reacción óptimas para los respectivos valores de los factores se usaron para obtener biodiesel el cual fue caracterizado en su densidad, viscosidad e índice de acidez, mediante un picnómetro, un viscosímetro de Oswald y una valoración con KOH.

Resultados

Evaluación catalítica

En la figura 3 se muestra el rendimiento de biodiesel correspondiente al efecto de la calcinación de cada carga de estroncio en los catalizadores de Sr/CaO.

FIGURA 3. Rendimiento de biodiesel de los catalizadores de Sr/CaO con 3, 6 y 9 %p/p de Sr con diferentes temperaturas de calcinación a 60 °C, relación molar metanol/aceite = 10, durante 1 h y 8 %p/p de catalizador.

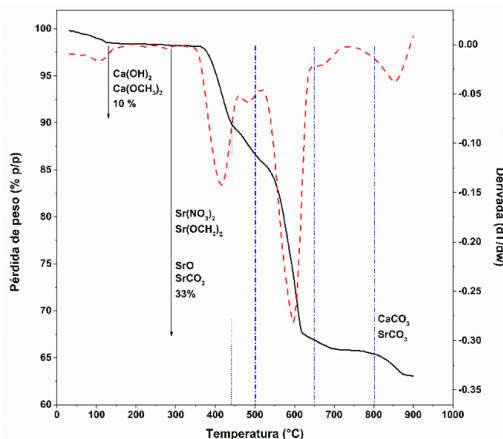


Fuente: Elaboración de los autores.

La figura 3 muestra que el rendimiento de biodiesel aumentó tanto con la cantidad de Sr como con la temperatura de calcinación. El soporte de CaO calcinado a 800 °C —no mostrado en la figura— tuvo un rendimiento del 35 % debido a haber estado en contacto con el aire y su carácter higroscópico generó $\text{Ca}(\text{OH})_2$ el cual es menos activo que el óxido (Kouzu *et al.*, 2008). En ese sentido, el catalizador Sr3/CaO calcinado a 500 °C, el cual fue el menos activo de todos, mostró un incremento significativo en el rendimiento de biodiesel del 40% alcanzando el 75.8%. El catalizador Sr9/CaO calcinado a 800 °C fue el más activo con un rendimiento del 84.5%. Todas las series mostraron un comportamiento similar, en el que aumenta aproximadamente 4-5% al incrementarse la temperatura de calcinación de 500 a 650 °C y luego un ligero incremento del 2-3% de 650 a 800 °C. Esta tendencia se debe a la

formación del SrO y del SrCO₃ en los catalizadores como se observó previamente por Hernández-Martínez *et al.* (2023). Con base en esto, dado que el catalizador Sr9/CaO fue el más activo, se tomó la decisión de caracterizarlo por TGA y SEM, para luego ser optimizado. En la figura 4 se presenta el TGA del sistema Sr9/CaO impregnado con metanol.

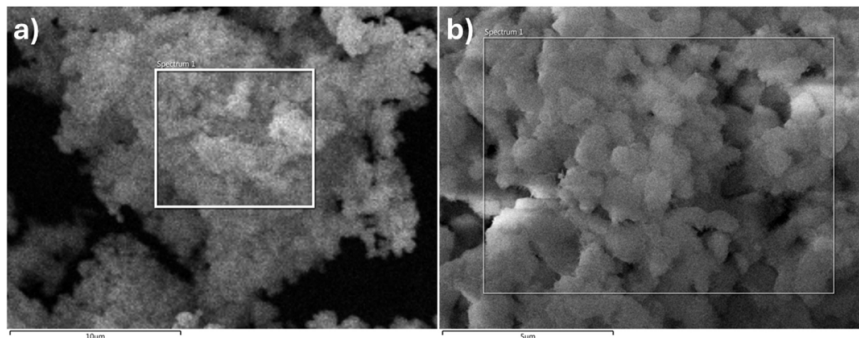
FIGURA 4. Análisis de TGA-DTA del catalizador Sr9/CaO impregnado con metanol sin calcinar.



Fuente: Elaboración de los autores.

De acuerdo con el perfil de TGA, tanto el Ca(OH)₂ como el Ca(OCH₃)₂ se descomponen a los 400 °C y corresponde al 10%. No obstante, la descomposición del metóxido de calcio daría lugar a carbonatos de calcio. Luego, el Sr(NO₃)₂ se descompone a los 500 °C; de acuerdo con la reacción: Sr(NO₃)₂ → SrO + 2NO₂ + 1/2O₂ (Culas *et al.*, 2013). Sin embargo, debido a que se ha impregnado con metanol, parte del Sr ha formado metóxido de estroncio el cual se descompondría a 600 °C en óxidos y carbonatos. Finalmente, a 800 °C se observa la descomposición de los carbonatos de calcio y estroncio. En ese sentido los catalizadores calcinados a 500 °C han formado nanopartículas de SrO a partir del nitrato, pero aun quedarían los remanentes de metóxido y carbonato (Ramírez-Paredes *et al.*, 2024, Olvera-Ureña *et al.*, 2025). Así, los catalizadores calcinados a 650 °C han consumido las especies nitrato y metóxido, pero han dejado una porción de SrCO₃. Por último, a 800 °C, una fracción de las especies de carbonato se transforman en SrO (Ptáček *et al.*, 2015). Ahora bien, al aumentar la cantidad de estroncio, y calcinarlo a 800 °C, se obtendría una mayor cantidad de estos sitios. Sin embargo, la presencia de los carbonatos limita el rendimiento de la reacción, de ahí que los rendimientos de los catalizadores calcinados a 650 y 800 °C sean similares (Ramírez-Paredes *et al.*, 2024, Olvera-Ureña *et al.*, 2025). La microscopía de barrido del catalizador Sr9/CaO se muestra en la figura 5.

FIGURA 5. Micro áreas de SEM con escala de 5 y 10 μm de: a) CaO, y, b) Sr9/CaO calcinado a 80 °C.



Fuente: Elaboración de los autores.

La figura 5 muestra la comparación morfológica del soporte de CaO con el catalizador de Sr9/CaO. Se observó que ambos catalizadores se componen de cúmulos microscópicos (0.6 - 1.5 μm) característicos del CaO (Unruean *et al.*, 2022). El hecho de que no sean muy distintos entre sí sugiere que incluso con una concentración de 9 %p/p de Sr se tiene una alta dispersión de las nanopartículas de este metal alcalinotérreo, sin además provocar cambios significativos en la morfología del catalizador. Ahora bien, los resultados de EDS se muestran en la tabla 2.

TABLA 2. Cantidades elementales obtenidas por EDS del soporte de CaO y el catalizador Sr9/CaO calcinados a 800 °C.

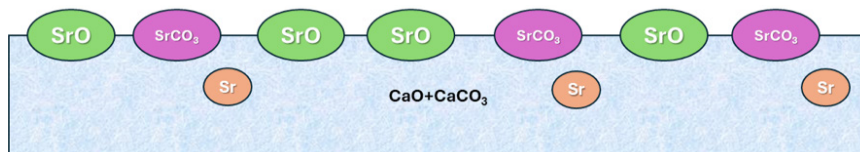
Catalizador	Porcentaje (%p/p)						Porcentaje (% mol)						Relaciones molares		
	O	Ca	C	Mg	Sr	S	O	Ca	C	Mg	Sr	S	O/Ca	Ca/C	O/C
CaO	48.9	40.4	7.7	0.8	–	2.2	63.6	21.0	13.3	0.7	–	1.4	3.03	1.57	4.77
Sr9/CaO	46.5	37.3	8.4	0.7	6.0	1.1	62.3	20.0	15.0	0.6	1.4	0.7	3.12	1.33	4.16

Fuente: Elaboración de los autores.

El análisis EDS mostró la presencia de O, Ca, C, Mg, y S en ambos materiales y la presencia de Sr en el dopado. El carbono puede venir de varias fuentes tales como carbonatos o bien carbono remanente de la materia orgánica de la cáscara de huevo; así como el Mg y el S. Las cantidades másicas y molares de O, Ca y C son muy similares entre sí, indicando pocas diferencias en la morfología y composición de la superficie. La relación molar O/Ca se mantuvo cercana a 3.0, mientras que Ca/C y O/C mostraron diferencias al incorporarse el Sr que podría estar alterando la proporción de oxígeno en la estructura, pues la formación de carbonatos no solo aumentaría la cantidad de C sino también la de O (Li *et al.*, 2016). Particularmente, el C aumentó ligeramente en el catalizador dopado posiblemente debido a mayor cantidad de car-

bonatos, entre ellos de Sr. El Sr mostró una presencia de 6.0 %p/p en la superficie, el cual en comparación con la carga teórica de 9 %p/p sugeriría que una tercera parte de este metal se introduce en la matriz del CaO (Olvera-Ureña *et al.*, 2025). Extrapolando este resultado, se puede proponer que, ante menor carga de Sr, habría menor cantidad de nanopartículas de este en la superficie, y, por lo tanto, menor actividad. Esto se debe a formarse, durante la síntesis con metanol, iones de Sr^{2+} y metóxido de calcio, el que, durante la calcinación, formaría óxidos y carbonatos de calcio los cuales atraparían parte del estroncio en su estructura (Hernández-Martínez *et al.*, 2023). De esta manera, la parte restante del estroncio quedaría en la superficie en forma de nanopartículas de SrO o SrCO_3 altamente dispersas. Por lo tanto, la impregnación con metanol es contraproducente para obtener SrO pues tiende a formar los carbonatos. El modelo propuesto para este sistema se presenta en la figura 6.

FIGURA 6. Modelo general propuesto de la dispersión de las partículas de SrO y SrCO_3 de los catalizadores de Sr/CaO calcinados a 800 °C.



Fuente: Elaboración de los autores.

No obstante, a pesar de la generación de SrCO_3 , el catalizador Sr9/CaO calcinado a 800 °C mostró el mayor rendimiento (84.5 %) y, en consecuencia, es interesante encontrar un punto óptimo modificando las condiciones de reacción y aplicando un diseño de experimentos de método de superficie de respuesta.

Optimización del catalizador Sr9/CaO

La tabla 3 exhibe la serie de experimentos de Box-Behnken realizados modificando la relación metanol/aceite (met/oil, x_1), temperatura (x_2) y tiempo de reacción (x_3). Se muestran las respuestas experimentales y simuladas por el modelo matemático expuesto en la ecuación 2.

$$\text{Rendimiento de BD (\%)} = 83.223 - 2.51 * x_1 + 4.115 * x_2 + 2.127 * x_3 + 0.213 * x_1^2 - 2.082 * x_2^2 + 1.388 * x_3^2 + 0.01 * x_1 * x_2 - 0.575 * x_1 * x_3 - 0.51 * x_2 * x_3 \quad (\text{Ec. 2})$$

Para los datos experimentales se aplicó el análisis estadístico de la t de Student de dos colas apareadas con 95% de confianza. Los resultados demostraron que no hay diferencias significativas debido a que el valor de la t crítica fue mayor que la t estadística, 2.14 y 0.0059, respectivamente. La tabla 4 presenta el análisis de varianza para el modelo obtenido.

TABLA 3. Resultados del diseño de experimentos Box-Behnken para la transesterificación de aceite de canola usando el catalizador de Sr9/CaO con las variables decodificadas en paréntesis y carga de 8 %p/p de catalizador.

Corrida	Met/oil	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Rendimiento de BD (%)	
				Simulada	Experimental
1	0 (12.5)	-1 (50)	1 (2)	81.05	81.67
2	0 (12.5)	-1 (50)	-1 (1)	75.77	76.59
3	1 (15)	-1 (70)	0 (1.5)	74.71	74.06
4	0 (12.5)	0 (60)	0 (1.5)	83.22	83.59
5	0 (12.5)	0 (60)	0 (1.5)	83.22	82.93
6	-1 (10)	0 (60)	1 (2)	90.03	90.19
7	-1 (10)	1 (70)	0 (1.5)	87.96	88.63
8	0 (12.5)	1 (70)	-1 (1)	85.02	84.41
9	0 (12.5)	0 (60)	0 (1.5)	83.22	83.15
10	-1 (10)	-1 (50)	0 (1.5)	79.75	78.99
11	1 (15)	0 (60)	1 (2)	83.86	83.91
12	0 (12.5)	1 (70)	1 (2)	88.26	87.45
13	1 (15)	1 (70)	0 (1.5)	82.96	83.74
14	1 (15)	0 (60)	-1 (1)	80.76	80.61
15	-1 (10)	0 (60)	-1 (1)	84.63	84.41

Fuente: Elaboración de los autores.

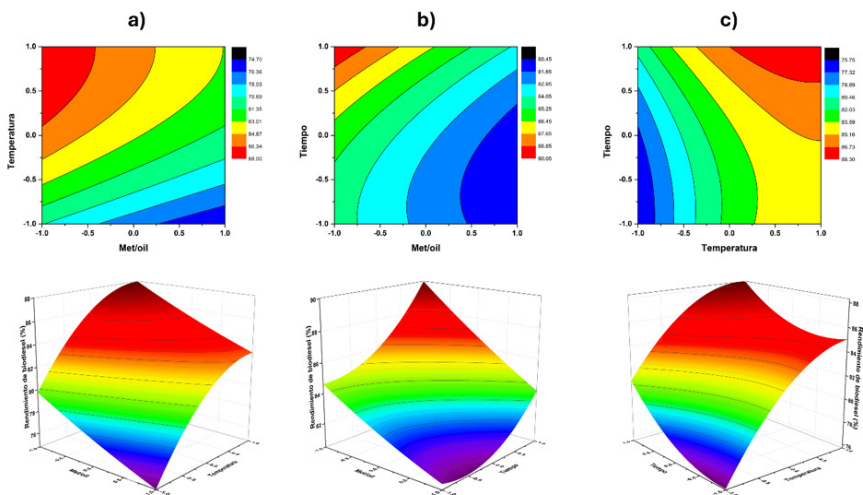
TABLA 4. Datos estadísticos del análisis de varianza del modelo de superficie de respuesta para el rendimiento de biodiesel.

Fuente	Suma de cuadrados ajustada	Grados de libertad	Media de cuadrados ajustada	Valor F	Valor p
Modelo	249.604	9	27.734	31.40	0.001
Met/oil (x1)	50.401	1	50.401	57.07	0.001
Temperatura (x2)	135.466	1	135.466	153.38	0.000
Tiempo (x3)	36.210	1	36.210	41.00	0.001
x1²	0.168	1	0.168	0.19	0.681
x2²	16.000	1	16.000	18.12	0.008
x3²	7.117	1	7.117	8.06	0.036
x1*x2	0.000	1	0.000	0.00	0.984
x1*x3	1.322	1	1.322	1.50	0.276
x2*x3	1.040	1	1.040	1.18	0.327
Error	4.416	5	0.883		
Falta de ajuste	4.19	3	1.397	12.37	0.076
Error puro	0.226	2	0.113		
Total	254.020	14			

Fuente: Elaboración de los autores.

El análisis de varianza aplicado al rendimiento de biodiesel muestra que el modelo obtenido es altamente significativo ya que $p = 0.001$ y explica el 98.2% de la variabilidad en los datos experimentales ($R^2 = 0.982$), con un ajuste corregido del 95.3% ($R^2_{\text{ajustado}} = 0.953$). De acuerdo con los datos estadísticos, el factor más influyente es la temperatura seguida de la relación metanol/aceite y el tiempo. Además, el término cuadrático de la temperatura indica una relación no lineal con el rendimiento. Por otro lado, las interacciones entre factores no son estadísticamente significativas, es decir, la relación entre esos factores no tiene un efecto considerable en el rendimiento de biodiesel según los datos expuestos. Aun así, el modelo se ajusta adecuadamente a los datos experimentales y capta bien las tendencias de los datos, dado que la variabilidad observada es mínima. No obstante, la capacidad predictiva del modelo es moderada ($R^2_{\text{predicho}} = 0.734$), por lo cual su precisión en el rango experimental es relativamente aceptable, aunque podría ser menos fiable fuera de él. En la figura 7, se muestran las gráficas de contorno y de superficie de respuesta de las interacciones de las variables.

FIGURA 7. Gráficas de contorno y de superficie de respuesta Box-Behnken: a) temperatura vs met/oil, a 1.5 h; b) tiempo vs met/oil a 60 °C; c) tiempo vs temperatura a met/oil = 12.5.



Fuente: Elaboración de los autores.

En las figuras 7a se observa que la relación molar metanol/aceite en exceso tiene un efecto contraproducente pues al haber más metanol en la mezcla se diluyen más los reactivos y el catalizador lo cual disminuye la probabilidad de choques con las especies activadas superficialmente (Liu *et al.*, 2008; Khattibi, *et al.* 2021; Lee *et al.* 2010). Por otro lado, la temperatura es un factor importante debido a proveer de la energía necesaria para este proceso. De esta manera, al incrementarse la temperatura también lo hace el rendimiento de

biodiesel sin importar la cantidad de metanol añadida. No obstante, el rendimiento máximo se obtiene a menor cantidad de metanol puesto que habría más energía y los reactivos estarían más disponibles para los sitios activos superficiales. Respecto a las figuras 7b, se observó un efecto similar al ya descrito, en el cual al aumentar la cantidad de metanol disminuye el rendimiento. Así, de manera lógica, al aumentar el tiempo de reacción también lo hace el rendimiento (Verma y Sharma, 2016; Dianursanti *et al.*, 2017). Lo observado en las figuras 7a y 7b se concreta en las figuras 7c, en las cuales se muestra un incremento del rendimiento de biodiesel con la temperatura y el tiempo, pues la primera provee la energía y la segunda es la duración de los reactivos en contacto. Estos resultados demuestran lo obtenido en el análisis de varianza en donde la temperatura es importante por su contribución energética, mientras que la cantidad de metanol debe mantenerse baja y el tiempo ser prolongado para asegurar los choques. De acuerdo con el modelo, el óptimo de 91.58% se encontraría con una relación met/oil = 10, a 68.5 °C por 2 h; a estas condiciones el valor experimental fue de 90.81%. Este resultado es aceptable y demuestra la capacidad del modelo. No obstante, este valor fue menor al obtenido mencionado en la literatura debido a que este sistema contiene SrCO₃ el cual no contribuye con actividad (Prokaewa *et al.*, 2022). Eso explicaría los valores del rendimiento por debajo del 90% en los resultados experimentales y en las gráficas de superficie de respuesta. Así, se podría sugerir que este método de síntesis limitaría la cantidad y fuerza de los sitios, dando lugar a que la temperatura de la reacción tenga un rol importante para proveer energía al sistema. Las propiedades del biodiesel y del aceite de canola fresco se muestran en la tabla 5, al igual que los límites y rangos establecidos por la norma ASTM.

TABLA 5. Propiedades del biodiesel producido a partir de aceite de canola comercial con el catalizador Sr9/CaO a las condiciones óptimas de reacción.

Propiedad	Biodiesel	Aceite de canola	ASTM D6751
Índice de acidez (mgKOH * g ⁻¹)	0.139	0.143	≤0.5
Densidad (25 °C, g * ml ⁻¹)	0.881	0.957	0.87-0.89
Viscosidad cinemática (40 °C, mm ² * s ⁻¹)	5.47	28.96	1.9-6

Elaboración de los autores.

Con base en estos resultados, se puede concluir que el biodiesel obtenido a las condiciones óptimas encontradas cumple con las propiedades fisicoquímicas estipuladas por la norma NMX-AA-174-SCFI-2015, la cual hace referencia directa a la norma ASTM D675. Se observó que la generación de los metil ésteres de ácidos grasos dan lugar a una menor densidad, viscosidad e índice de acidez del biodiesel respecto al aceite de canola.

Conclusiones

Este trabajo estudió el efecto de la cantidad de Sr en CaO obtenido de cascarrón de huevo, el efecto de la calcinación y se realizó un estudio de optimización en la transesterificación de aceite de canola para la producción de biodiesel. En la primera parte se concluyó que al aumentar la cantidad de Sr se tiene un mayor rendimiento de biodiesel debido a que habría más cantidad de sitios activos. Asimismo, el rendimiento de biodiesel también aumentó con la temperatura debido a que las especies de $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ se descomponen totalmente arriba de los 650 °C. Sin embargo, los rendimientos de biodiesel en las muestras calcinadas a 650 °C y 800 °C son similares, debido a que se generan metóxidos de estroncio debido a la impregnación con metanol. En ese sentido, se generaría SrCO_3 como lo sugiere la caracterización, e incluso a 800 °C quedarían remanentes de este compuesto los cuales serían poco activos. Así, se confirmaría que mediante este método de síntesis una parte significativa del Sr quedaría atrapado en la estructura cristalina mientras que dos terceras partes quedarían como nanopartículas dispersas en la superficie. El modelo propuesto por el método Box-Behnken demostró ser robusto y adecuado para predecir los valores del rendimiento de biodiesel en el rango escogido. Así, se concluyó que la temperatura juega un papel importante al proveer de la energía suficiente para realizar la transesterificación de los triglicéridos independientemente de la cantidad de metanol y el tiempo. Las condiciones óptimas encontradas con este planteamiento fueron de metanol/aceite = 10, 68.58 °C durante 2 h con una carga del 8 %p/p de catalizador. En otras palabras, se debe asegurar que ocurra la reacción con un volumen total bajo, con suficiente energía y tiempo debido a que es posible que los sitios del catalizador tengan actividad moderada.

Contribución de autorías

Concepción y diseño del artículo: Tavizón-Pozos.

Desarrollo metodológico: Marín-Lugo, Barrera-Gutiérrez.

Minería de datos, análisis e interpretación: Marín-Lugo, Vázquez-Rodríguez, Chavez-Esquivel.

Redacción del borrador original: Marín-Lugo, Tavizón-Pozos.

Revisión y edición final: Vázquez-Rodríguez, Chavez-Esquivel, Tavizón-Pozos.

Referencias

- Aleman-Ramirez, J. L., Patrick U. O., Torres-Arellano S., Paraguay-Delgado F., Mejía-López M., Moreira J. y Sebastian J. P. (2022). Development of reusable composite eggshell-moringa leaf catalyst for biodiesel production. *Fuel*, 324: 124601. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.124601>.
- Ali, S. D., Javed, I. N., Ran, a U. A., Nazar, M. F., Ahmed, W., Junaid, A., Pasha, M.,

- Nazir, R. y Nazir R. (2017). Novel SrO-CaO mixed metal oxides catalyst for ultrasonic-assisted transesterification of *Jatropha* oil into biodiesel. *Australian Journal of Chemistry*, 70(3): 258-64. <https://doi.org/10.1071/CH16236>.
- Ashine F., Kiflie Z., Prabhu S. V., Tizazu B. Z., Varadharajan V., Rajasimman M., Joo S. W., Vasseghian Y. y Jayakumar M. (2023). Biodiesel production from Argemone mexicana oil using chicken eggshell derived CaO catalyst. *Fuel*, 332: 126166. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.126166>.
- Chouhan, A. P. S. y Sarma A. K. (2011). Modern heterogeneous catalysts for biodiesel production: a comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(9): 4378-99. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.07.112>.
- Culas, S., Surendran, A., Jadu Samuel, J. (2013). Kinetic studies of the non-isothermal decomposition of strontium nitrate. *Asian Journal of Chemistry*, 25(7): 3855. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2013.13820>.
- Dianursanti, Delaamira M., Bismo S. y Muharam Y. (2017). Effect of reaction temperature on biodiesel production from chlorella vulgaris using CuO/zeolite as heterogeneous catalyst. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 55(1): 12033. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/55/1/012033>.
- Glisic, S. B., Pajnik, J. M. y Orlović, A. M. (2016). Process and techno-economic analysis of green diesel production from waste vegetable oil and the comparison with ester type biodiesel production. *Applied Energy*, 170: 176-85. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.02.102>.
- Hernández-Martínez, M. A., Rodríguez, J. A., Chavez-Esquivel, G., Ángeles-Beltrán, D. y Tavizón-Pozos, J. A. (2023). Canola oil transesterification for biodiesel production using potassium and strontium supported on calcium oxide catalysts synthesized from oyster shell residues. *Next Materials*, 1(4): 100033. <https://doi.org/10.1016/j.nxmte.2023.100033>.
- Khan, M. R. y Singh, H. N. (2024). Clean biodiesel production approach using waste swan eggshell derived heterogeneous catalyst: an optimization study employing box-behnken-response surface methodology. *Industrial Crops and Products*, 220: 119181. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.119181>.
- Khatibi, M., Khorasheh, F. y Larimi, A. (2021). Biodiesel production via transesterification of canola oil in the presence of Na-K doped CaO derived from calcined eggshell. *Renewable Energy*, 163: 1626-36. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.10.039>.
- Kibar, M. E., Hilal, L., Çapa, B. T., Bahçıvanlar, B. y Abdeljelil, B. B. (2023). Assessment of homogeneous and heterogeneous catalysts in transesterification reaction: a mini review. *ChemBioEng Reviews*, 10(4): 412-22. <https://doi.org/10.1002/cben.202200021>.
- Kouzu, M., Hidaka, J., Wakabayashi, K. y Tsunomori, M. (2010). Solid base catalysis of calcium glyceroxide for a reaction to convert vegetable oil into its methyl esters. *Applied Catalysis A: General*, 390(1): 11-18. <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2010.09.029>.
- Kouzu, M., Kasuno, T., Tajika, M., Sugimoto, Y., Yamanaka, S. y Hidaka, J. (2008). Calcium oxide as a solid base catalyst for transesterification of soybean oil and

- its application to biodiesel production. *Fuel*, 87(12): 2798-2806. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2007.10.019>.
- Kumar, J. D., Bhattacharjee, S., Roy, S., Dostál, P. y Bej, B. (2022). The optimization of biodiesel production from waste cooking oil catalyzed by ostrich-eggshell derived CaO through various machine learning approaches. *Cleaner Energy Systems*, 3: 100033. <https://doi.org/10.1016/j.cles.2022.100033>.
- Lee, S. B., Han, K. H., Lee, J. D. y Hong, I. K. (2010). Optimum process and energy density analysis of canola oil biodiesel synthesis. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 16(6):1006-10. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2010.09.015>.
- Li, H., Niu, S., Lu, C. y Li, J. (2016). Calcium oxide functionalized with strontium as heterogeneous transesterification catalyst for biodiesel production. *Fuel*, 176: 63-71. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.02.067>.
- Liu, X., He, H., Wang, Y., Zhu, S. y Piao, X. (2008). Transesterification of soybean oil to biodiesel using CaO as a solid base catalyst. *Fuel*, 87(2): 216-21. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2007.04.013>.
- Mat, A., Syahirah, N., Khoo, K. S., Chew, K. W., Show, P. L., Chen, W. H. y Nguyen, H.P. (2020). Sustainability of the four generations of biofuels – A review. *International Journal of Energy Research*, 44(12): 9266-82. <https://doi.org/10.1002/er.5557>.
- Mofijur, M., Siddiki, S. Y. A., Shuvho, M. B. A., Djavanroodi, F., Rizwanul Fattah, I. M., Ong, H. C., Chowdhury, M. A. y Mahlia, T. M. I. (2021). Effect of nanocatalysts on the transesterification reaction of first, second and third generation biodiesel sources – A mini-review. *Chemosphere* – 270: 128642. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128642>.
- Otera J. (1993). Transesterification. *Chemical Reviews*, 93(4): 1449-70. <https://doi.org/10.1021/cr00020a004>.
- Olvera-Ureña, E., Rodriguez, J. A., Díaz de León, J. N. y Tavizón-Pozos, J. A. (2025). Dispersion of Sr and K species supported on CaO eggshell-based catalysts for biodiesel production. *Topics in Catalysis*, 1-14. <https://doi.org/10.1007/s11244-025-02050-x>.
- Pavlović, S., Šelo, G., Marinković, D., Planinić, M., Tišma, M. y Stanković, M. (2021). Transesterification of sunflower oil over waste chicken eggshell-based catalyst in a microreactor: an optimization study. *Micromachines*. <https://doi.org/10.3390/mi12020120>.
- Prokaewa, A., Smith, S. M., Luengnaruemitchai, A., Kandiah, M. y Boonyuen, S. (2022). Biodiesel production from waste cooking oil using a new heterogeneous catalyst SrO doped CaO nanoparticles. *Journal of Metals, Materials and Minerals*, 32(1): 79-85. <https://doi.org/10.55713/jmmm.v32i1.1149>.
- Ptáček, P., Bartoníčková, E., Švec, J., Opravil, T., Šoukal, F. y Frajkorová, F. (2015). The kinetics and mechanism of thermal decomposition of SrCO₃ polymorphs. *Ceramics International*, 41(1, Part A): 115-26. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2014.08.043>.
- Ramírez-Paredes, E. A., Rodriguez, J. A., Chavez-Esquivel, G. y Tavizón-Pozos, J. A. (2024). Effect of Sr concentration in SrK/CaO oyster shell derived catalysts for

- biodiesel production, *International Journal of Chemical Reactor Engineering*, 22(6): 689-700. <https://doi.org/doi:10.1515/ijcre-2024-0021>.
- Rizwanul Fattah, I. M., Ong, H. C., Mahlia, T. M. I., Mofijur, M., Silitonga, A. S., Rahman, S. M. A. y Ahmad, A. (2020). State of the art of catalysts for biodiesel production. *Frontiers in Energy Research*, 8: 101. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fenrg.2020.00101>.
- Solomon, B. D. (2010). Biofuels and sustainability. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1185(1):119-34. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05279.x>.
- Tangy, A., Pulidindi, I. N., Dutta, A. y Borenstein, A. (2021). Strontium oxide nanoparticles for biodiesel production: fundamental insights and recent progress. *Energy & Fuels*, 35(1): 187-200. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.0c03815>.
- Tavizón-Pozos, J. A. y Cruz-Aburto, Z. G. (2024). A review of the use of SrO in catalysts for biodiesel production. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 18(2): 652-68. <https://doi.org/10.1002/bbb.2562>.
- Tavizón-Pozos, J. A., Chavez-Esquivel, G., Suárez-Toriello, V. A., Santolalla-Vargas, C. E., Luévano-Rivas, O. A., Valdés-Martínez, O. U., Talavera-López, A. y Rodríguez, J. A. (2021). State of art of alkaline earth metal oxides catalysts used in the transesterification of oils for biodiesel production. *Energies*. <https://doi.org/10.3390/en14041031>.
- Unruean, P., Nomura, K., Kitiyanan, B., (2022). High conversion of CaO-catalyzed transesterification of vegetable oils with ethanol. *Journal of Oleo Science*, 17(7) 1051-1062. <https://doi.org/10.5650/jos.ess21374>.
- Verma, P. y Sharma, M. P. (2016). Review of process parameters for biodiesel production from different feedstocks. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 62: 1063-71. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.04.054>.

Evaluation of the antimicrobial activity of an antiseptic hydrogel prepared with silver nanoparticles (AgNPs) against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*^{◇, ◇◇}

Evaluación de la actividad antimicrobiana de un hidrogel antiséptico elaborado con nanopartículas de plata (AgNPs) contra *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*

Alejandra Saraí Espinosa Vega,* Grecia Nuñez Tahuilán,*
María de Lourdes Moreno Ribera,* María Isabel García-Ventura,*
José Abraham Balderas López,* Blanca Estela Chávez Sandoval**,[†]

ABSTRACT: In both developed and developing countries, food and consumption habits have led us to a dead end where most of the population suffers alterations in metabolism, which leads to diseases such as type 2 diabetes mellitus (DM), high blood pressure and chronic inflammation. DM can increase the risk of having some skin problems, such as bacterial and fungal infections that lead to ulcers that are very difficult to heal, and a large percentage of patients even lose their lower extremities. A proposal for the care of ulcer wounds, diabetic foot, burns, among others, is to implement patches and/or bandages with a silver nanoparticle gel used as an antiseptic, as an alternative administration system to antibiotics to control and inhibit the colonization of microorganisms such as super bacteria. Since silver nanoparticles have great potential in biomedical applications such as bactericidal, fungicidal, antiviral or agent healing, among others. Of all its uses, one of the most important is his employment as an agent antiseptic for hygienic and medical purposes. In this work we prepared a hydrogel with a concentration of 1000 µg/mL of Ag NPs, and stability studies were carried out: pH study of the final formulation and physical study to corroborate that the hydrogel maintains its appearance, color, odor and pH for 30 days at 25 °C and 40 °C. Its antimicrobial activity was evaluated and compared against a commercial cream containing silver sulfadiazine. From the Kirby-Bauer test, an average diameter of the inhibition zones for our hydrogel was obtained that was greater than that of the inhibition zones for the commercial cream. Therefore, the hydrogel prepared with AgNPs has good antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and against *Pseudomonas aeruginosa*.

Received: October 17, 2024.

Accepted: April 1, 2025.

Published: April 11, 2025.

[◇] This article was published in preprint mode, with the following DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-4838660/v>.

^{◇◇} Acknowledgments: Blanca Estela Chávez Sandoval was awarded a grant from the National System of Researchers (SNI-Conahcyt) for 2022-2024 CVU 249131.

To Dr. Gerardo Zúñiga Bermúdez for his invaluable support in the Laboratory of Biological Variation and Evolution of the ENCB-IPN.

To Dra. Aura Chávez Recio for her support in the clinic and comments.

* Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología (UPIBI-IPN).

** Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB-IPN).

[†] Autora de correspondencia: bchavez@ipn.mx, blanchavez29@gmail.com



KEYWORDS: metabolic diseases, antibiotic resistant microorganisms, silver nanoparticles (Ag-NPs), medical applications, chronic wounds.

RESUMEN: Tanto en los países desarrollados como en los países en desarrollo, los hábitos alimentarios y de consumo han llevado a un callejón sin salida donde la mayoría de la población sufre alteraciones metabólicas, lo cual conlleva a sufrir enfermedades como la diabetes mellitus tipo 2 (DM), la hipertensión arterial y la inflamación crónica. La DM puede aumentar el riesgo de padecer algunos problemas cutáneos, como infecciones bacterianas y fúngicas, provocando úlceras muy difíciles de cicatrizar, e incluso un gran porcentaje de pacientes pierde las extremidades inferiores. Una propuesta para la atención de heridas ulcerosas, pie diabético, quemaduras, entre otras, es implementar parches y/o vendajes con gel de nanopartículas de plata utilizado como antiséptico, como sistema de administración alternativo a los antibióticos para controlar e inhibir la colonización de microorganismos como las súper bacterias. Dado que las nanopartículas de plata tienen un gran potencial en aplicaciones biomédicas como bactericidas, fungicidas, antivirales o cicatrizantes, entre otras. De todos sus usos, uno de los más importantes es su empleo como desinfectante con fines higiénicos y médicos. En este trabajo, preparamos un hidrogel con una concentración de 1000 µg/mL de nanopartículas de plata (Ag NPs), y se realizaron estudios de estabilidad: estudio de pH de la formulación final y estudio físico para corroborar que el hidrogel mantiene su apariencia, color, olor y pH durante 30 días a 25 °C y 40 °C. Su actividad antimicrobiana también se evaluó y se comparó con una crema comercial que contiene sulfadiazina de plata. A partir de la prueba de Kirby-Bauer, se obtuvo un diámetro promedio de las zonas de inhibición para nuestro hidrogel mayor que el de las zonas de inhibición para la crema comercial; por lo tanto, el hidrogel elaborado con nanopartículas de plata presenta buena actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* y contra *Pseudomonas aeruginosa*.

PALABRAS CLAVE: enfermedades metabólicas, microorganismos resistentes a antibióticos, nanopartículas de plata (AgNPs), aplicaciones médicas, heridas crónicas.

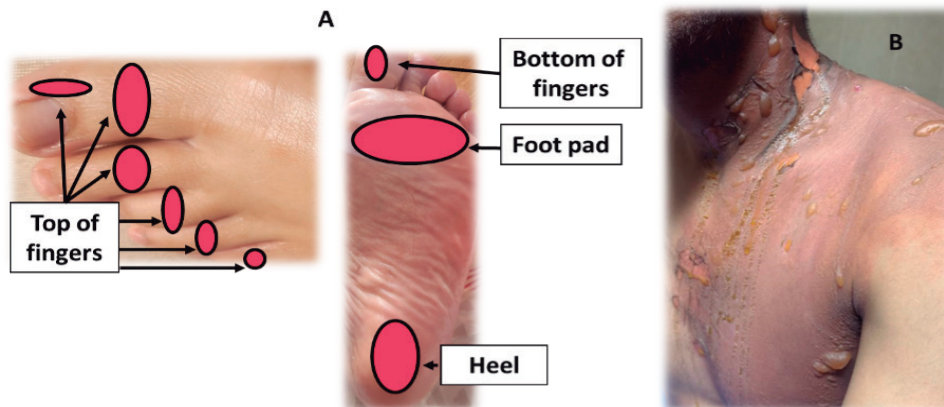
Introduction

Metabolic diseases, long considered of minor importance, are now taking place as the main threats to human health. DM is the most common non-communicable disease worldwide and the fourth to fifth cause of death in developed countries, and also now in developing countries. The global number of people with DM will increase from 220 million to 300 million people by 2025 (Tripathi *et al.*, 2006).

Chronic complications of diabetes mellitus affect many organ systems and are responsible for most morbidity and mortality. Chronic complications can be divided in vascular and non-vascular, a serious example of these complications is the important pressure zones for DM, since an untreated injury in these areas can lead to diabetic foot, others like burns or varicose ulcers (figure 1) are also relevant because chronic wounds promote a high colonization of microorganisms (Baczako *et al.*, 2019; Armstrong *et al.*, 2023).

Regarding bacterial infections and inflammation, it poses another severe threat to human health and the social economy in developed countries. In addition, the existence of super-bacteria and the increasingly severe phenomenon of antibiotic resistance highlight the development of new antibacterial agents (Fang *et al.*, 2023).

FIGURE 1. A) Important pressure zones for DM. B) Burns.



Source: Author's elaboration.

Staphylococcus aureus is the most relevant pathogenic species within its genus, since it is mainly responsible for causing various infections such as skin infections, pneumonia, endocarditis and osteomyelitis. *S. aureus* has a high level of antibiotic resistance and is a common cause of infections in hospitals and the community (Ahmad-Mansour *et al.*, 2021); It is also one of the most common bacteria found in chronic wounds.

Instead, *Pseudomonas aeruginosa* is a common, Gram-negative environmental organism due to its natural resistance to antibiotics and the ability to form biofilms. Infection with this pathogen can cause severe therapeutic problems like respiratory infections, urinary tract infections, wound infections, blood infections, eye infections, among others (Mielko *et al.*, 2019), principally in chronic wounds and especially in pressure ulcers and burns.

Although the use of topical antibiotics has been the frequently used treatment to control the colonization and proliferation of these pathogens in wounds, treatment with silver has revolutionized infection care due to its beneficial effects. However, it has been shown that treatments containing only the silver ion can alter healing, causing cosmetic abnormalities in the skin. Virulence factors and biofilms constitute attractive targets for the prevention of infections caused by multidrug-resistant bacteria (Kim *et al.*, 2019; Reese *et al.*, 2022).

Metallic nanoparticles of silver (AgNPs), gold (AuNPs), zinc oxide (ZnO NPs), copper and iron oxides, among others, have great potential in the pharmaceutical industry since these materials can be synthesized and modified in a relatively simple way (Chávez-Sandoval *et al.*, 2021; Medina-Solano *et al.*, 2024).

AgNPs have many advantages, such as the quantum confinement of electronic movement in semiconductor nanoparticles, surface plasmon reso-

nance in some metallic particles or super magnetism in magnetic nanomaterials. Although several theories have been formulated about the antimicrobial mechanism of silver nanoparticles, their bacteriostatic effect is related to various biological processes. These processes include the generation of reactive oxygen species (ROS) and the induction of oxidative stress (OS) through enzyme inactivation. One of the key mechanisms of action is the denaturation of disulfide bonds present in bacterial proteins, which ultimately leads to cell death. These properties confer great benefits to the use of nanoparticles compared to current commercial drugs.

In this work we prepared a hydrogel with a concentration of 1000 µg/mL of AgNPs, its antimicrobial activity was evaluated and compared against a commercial cream containing silver sulfadiazine in *S. Aureus* and *P. aeruginosa*, our results suggest that the combination of gels and AgNPs displays the great potential to manage superbug-infected trauma.

Materials and methods

All materials used in this work were reagent grade and all tests were done in triplicate.

Synthesis and characterization of AgNPs

The method described by Chávez-Sandoval *et al.* (2021) was used, with some modifications as described below.

Briefly: Sodium citrate was used as the reducing agent. JT Baker brand silver nitrate was used as the precursor.

Once the nanoparticles were obtained, they were stored at 4 °C for characterization and subsequent use.

- Sodium citrate (Na₃C₆H₅O₇) 0.5 g
- Silver nitrate (AgNO₃) 0.2 g
- Distilled water 50 mL

UV-visible spectrophotometry

A Perkin Elmer spectrophotometer, model Lambda XLS, was used.

Transmission electron microscopy (TEM)

The equipment used was a scanning electron microscope in transmission mode of the JEOL brand model JEM-ARM200F (Japan) of the Electron Microscopy Laboratory of the Center for Nanoscience and Micro and Nanotechnologies (CNMN) of the IPN in Mexico City.

Microorganisms

The *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* strains were obtained from the UPIBI-IPN strain collection.

Basic tests for the study of antimicrobial activity

Minimum inhibitory concentration (MIC)

This test measures antimicrobial susceptibility by determining the smallest amount of an agent, which is generally an antibiotic, capable of completely inhibiting the growth of a given bacterial strain.

It is ideal for non-demanding growth bacteria such as *S. aureus* and *P. aeruginosa*. In addition, it is a method that allows determining the inhibitory activity and the bactericidal activity (Andrews *et al.*, 2001).

Formulation and preparation of the hydrogel

The AgNPs have antimicrobial activity by themselves, however, they have a low binding affinity, so it is recommended to use hydrogels as an effective vehicle to improve this antimicrobial activity, since in combination with the appropriate polymers, their antimicrobial activity can be enhanced. The gel produced belongs to the classification of “hydrogel” which is a three-dimensional network composed of flexible polymer chains that absorb a large amount of water, although insoluble, they swell in the presence of it, significantly increasing its volume while maintaining its shape until reaching the physicochemical balance (Gao *et al.*, 2016).

In this work the hydrogel was prepared according to the methodology of Algin *et al.* (2020) and adding silver nanoparticles, according to the AgNPs concentrations obtained from the MIC test, for each microorganism.

Once the hydrogel was obtained, it was compared against a commercial cream using the Kirby-Bauer test.

Kirby-Bauer test

The Kirby-Bauer test was performed to compare the antimicrobial activity of the hydrogel, made from silver nanoparticles, against the antimicrobial activity of a commercial silver sulfadiazine cream, widely used to prevent and treat infections in wounds and burns (Reese *et al.*, 2022). The mechanism of action of sulfadiazine cream is based on the combination of sulfadiazine, which acts as an inhibitor of folic acid synthesis, and silver ions, which interfere with the function of bacterial enzymes and proteins (De Francesco *et al.*, 2022).

It is important to mention that the commercial cream is formulated with a higher proportion of silver ions, according to its secondary packaging, it contains 280 mg of silver sulfadiazine for each g of the final formulation. Thus a 1:100 dilution was made accordingly that its silver concentration was comparable to the hydrogel prepared.

This test consists of insertion paper discs impregnated with antimicrobial agents on the surface of agar previously inoculated with the bacteria in our case *S. aureus* and *P. aeruginosa*.



The antimicrobial agent (AgNPs or commercial cream) contained in the disks diffuses through the agar, and as it moves away from the disk, its concentration decreases logarithmically, thus generating a gradient of the antimicrobial agent in the agar surrounding the disk (Yin *et al.*, 2023).

Although there is still no standardized data regarding the inhibition diameter zones using silver nanoparticles, the sensitivity determination of the AgNPs was carried out by comparing their diameter with other antibiotics that are commonly used against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* (tables 1 and 2).

Table 1. Determination of antibiotic sensitivity and resistance by the disk method for *Staphylococcus aureus*.

<i>Staphylococcus aureus</i>				
Antimicrobial agent	Disk content µg	Inhibition halo (mm)		
		Sensitive	Intermediate	Resistant
Cefazolin	30	≥18	15-17	≤14
Clindamycin	2	≥21	15-20	≤14
Erythromycin	15	≥23	14-22	≤13
Gentamicin	10	≥15	13-14	≤12
Oxacilin	1	≥13	11-12	≤10
Penicilin G	10	≥29	–	≤28
Vancomycin	30	≥15	–	–

Source: Prepared by the authors based on data from American Society for Microbiology (2009).

Table 2. Determination of antibiotic sensitivity and resistance by the disk method for *Pseudomonas aeruginosa*.

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				
Antimicrobial agent	Disk content µg	Inhibition halo (mm)		
		Sensitive	Intermediate	Resistant
Cefazolin	30	≥17	15-16	≤14
Clindamycin	75	≥21	16-20	≤154
Erythromycin	30	≥23	15-22	≤14
Gentamicin	10	≥15	13-14	≤12
Oxacilin	30	≥19	15-18	≤14
Penicilin G	100	≥18	–	≤17
Vancomycin	10	≥15	13-14	≤12

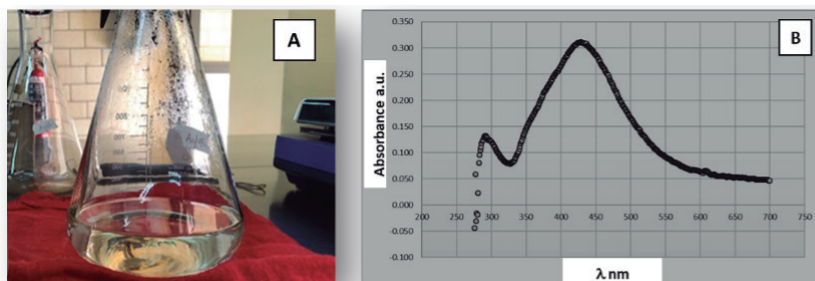
Source: Prepared by the authors based on data from American Society for Microbiology (2009).

Results and discussion

Synthesis and characterization of AgNPs

We obtained a yellow colloid characteristic of the silver nanoparticles (Medina-Solano *et al.*, 2024), and they were characterized by using a Perkin Elmer spectrophotometer, model Lambda XLS, from a wave sweeping in a range of 276 to 700 nm, obtaining a maximum lambda of 429 nm with an absorbance of 0.311 a.u. (figure 2). The appearance of absorption bands in the spectrum around wavelengths from 400 nm to 450 nm indicates the presence of Ag-NPs, the maximum lambda at these wavelengths is due to resonance absorption of surface plasmons.

FIGURE 2. A) Yellow colloid characteristic of AgNPs. B) UV-Vis characterization, the maximum lambda was 429 nm.



Source: Author's elaboration.

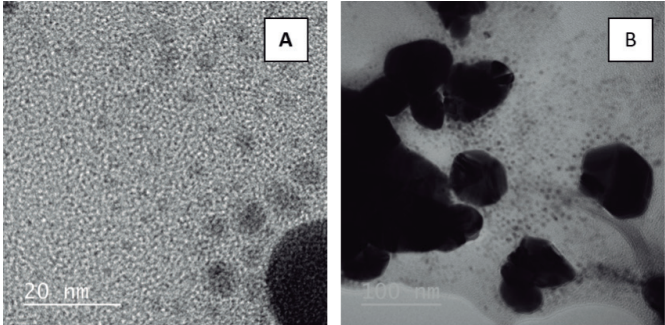
The color of the AgNPs can vary mainly due to the method used, as well as the concentration of the reducing agent, in this work we use sodium citrate as a reducing agent. Sodium citrate also acts as a stabilizer and pH mediator. The AgNPs thus obtained were kept refrigerated at a temperature of between 2-7 °C until their characterization.

Transmission electron microscopy (TEM) characterization

The TEM analysis allowed us to observe that the AgNPs synthesized in this work are spherical with a variable size from 5 to 100 nm (figure 3). Spherical, polymorphic AgNPs of different sizes were observed. The variation in the size of the AgNPs can be attributed to the temperature, since, in general, the size of the nanoparticles increases with the reaction time.

We observed some agglomeration, so it is advisable to use other stabilizing agents as well as surfactants, which can protect the nanoparticles and prevent their agglomeration.

FIGURE 3. Silver nanoparticles obtained with sizes ranging from approximately 5 nm, image A, to 100 nm, image B.



Source: Author’s elaboration.

Minimum inhibitory concentration (MIC)

The minimum inhibitory concentration test was carried out to know the lowest concentration at which silver nanoparticles inhibited the growth of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, to determine the concentration of AgNPs in the hydrogel formulation.

The concentration of the AgNPs in each tube is described in table 3.
A total of 11 concentrations were used.

Table 3. Concentration of AgNPs used for the MIC test.

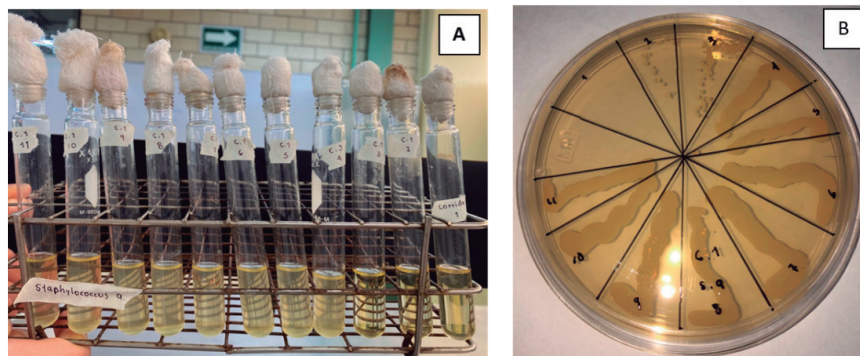
Tube	AgNPs Concentration ($\mu\text{g} / \text{mL}$)
1	1000.00
2	500.00
3	250.00
4	125.00
5	62.50
6	31.25
7	16.62
8	7.81
9	3.90
10	1.95
11	0.97

Source: Author’s elaboration.

Staphylococcus aureus

As seen in figure 4, the minimum concentration at which there is inhibition of *Staphylococcus aureus* corresponds to 1000 $\mu\text{g/mL}$ section number 1, and tube 1 in table 3.

FIGURE 4. A) Tube 1 contains the concentration of 1000 mg/mL and corresponds to the concentration where growth of *S. aureus* is no longer observed in panel B.

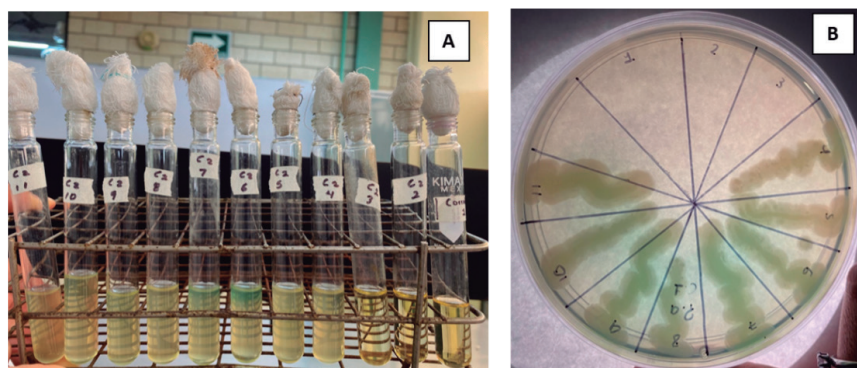


Source: Figure prepared by the authors.

Pseudomonas aeruginosa

In the case of *P. aeruginosa*, in figure 5, the minimum inhibitory concentration was 250 $\mu\text{g/mL}$, section 3, corresponding to tube 3 in table 3.

FIGURE 5. A) Battery tubes with different concentrations of AgNPs. B) Replating each concentration of AgNPs used.



Source: Author's elaboration.

Thus, it seems that the AgNPs synthesized in this work are more effective against *P. aeruginosa* than against *S. aureus*.

It is important to mention that the MIC test depends on the antibacterial activity of the AgNPs and this in turn is related to the synthesis method used, including reducing and stabilizing agents, since for cell disruption to be effective the concentration of the AgNPs, the charge in their surface, its morphology and especially its size, it has been reported that the smaller the AgNPs are, from 5 nm to 10 nm, the greater their antimicrobial effect (Nie *et al.*, 2023; Medina-Solano *et al.*, 2024).

Furthermore, there is no standardized data for the MIC test using silver nanoparticles and given that other protocols evaluate AgNPs with different characteristics, synthesized by various methods, a comparison cannot be made between the values obtained and those reported by previous research. Likewise, there is also no standardized MIC test data for antibiotics, since the articles reviewed works with different conditions and concluded that antibiotic therapy does not completely eradicate the bacteria *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, which could be because of the prescription of antibiotics in developing countries where the use of antibiotics is not yet well controlled (Sulis *et al.*, 2022). This has led to the evolution of bacteria to resist antibiotics even at high concentrations, which is why AgNPs hydrogel are an excellent therapeutic alternative.

Formulation and preparation of the hydrogel

In accordance with the Official Mexican Standard NOM-073-SSA1-2015, stability of drugs and medications, as well as herbal remedies, in section 7.5.1, the conditions are stipulated according to the type of stability study, whether accelerated or intermediate condition, or long-term with the objective of demonstrating the useful life of the new drug (table 4).

Table 4. General study conditions for new medication.

Type of study	Storage conditions	Minimum period	Analysis frequency
Accelerated stability	40 °C ± 2 °C / 75% ± 5% RH	3 months	1-3 months
Stability at intermediate condition	30 °C ± 2 °C / 65% ± 5% RH	6 months	3-6 months
Long term stability	25 °C ± 2 °C / 60% ± 5% RH	3 months (option 1)	3-6 months
	30 °C ± 2 °C / 65% ± 5% RH	12 months (option 2)	0, 3, 6, 9, and 12 months

Source: Author's elaboration.

These tests serve as quality control to ensure the effectiveness and safety of the medications. According to the results obtained, it is observed that our

hydrogel maintains its pH, appearance, color and smell for 30 days. The hydrogel must have a pH of 7.0 and this pH must be maintained throughout its useful life since a lower or higher value can cause undesirable side effects such as irritation, pain, burning or itching since the purpose of the hydrogel is to provide a mechanical barrier, that is, it remains on the application surface, avoiding colonization of the wound by opportunistic microorganisms.

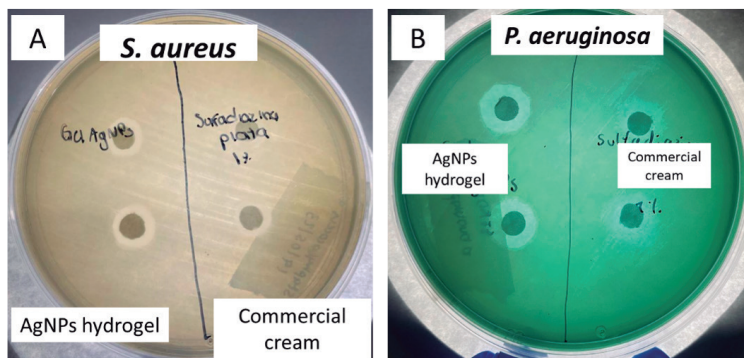
However, it is necessary to measure its viscosity, extensibility and extrusion for at least 6 months to evaluate its adhesion and extensibility on the skin, as well as determine its stability and expiration date. However, these tests go beyond the scope of this work.

Kirby-Bauer test

With Kirby-Bauer test we observe that after 48 hours there is antimicrobial effectiveness of both preparations against *P. aeruginosa*, however, a greater inhibition is observed by the AgNPs hydrogel that obtained an inhibition zone of up to 20 mm, with an average of 15 mm, against the sulfadiazine cream, whose resulting halo was 10 mm (table 2), demonstrating that the antibacterial action of the AgNPs hydrogel is greater than that of the commercial cream (figure 6).

During the analysis of the antimicrobial effectiveness test of the hydrogel and the commercial cream against *Staphylococcus aureus*, we observe that both products showed relatively low inhibition halos, however, it is notable that the hydrogel presented a slightly larger halo (13 mm) compared to cream (10 mm) (figure 6 and table 5).

FIGURE 6. Antibigram result of the Kirby-Bauer test for microorganisms studied, A) *S. aureus*, and, B) *P. aeruginosa* both treatment with AgNPs hydrogel and commercial cream.



Source: Author's elaboration.

Although we mention that our results are not comparable with results reported with antibiotics, the largest inhibition zone observed for the hy-

Table 5. The average diameter of the haloes generated for *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*.

Inoculum	Average diameter (mm)	
	AgNPs hydrogel	Commercial cream
<i>Staphylococcus aureus</i>	13.00	10.00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15.00	10.00

Source: Author's elaboration.

drogel against *Pseudomonas aeruginosa* was 15 mm, which could be considered like the values reported as sensitive for antibiotics such as gentamicin and tobramycin (≥ 15 mm).

On the other hand, the inhibition of *Staphylococcus aureus* was considerably lower, similar only with antibiotics such as oxacillin (tables 1-2).

The improved results of the AgNP hydrogel compared to the commercial cream may be because the silver nanoparticles integrate more efficiently into cells, inhibit microorganisms, and facilitate healing.

Conclusions

Silver nanoparticles were synthesized that showed a maximum lambda of 429 nm by UV-Vis spectrometry.

Transmission electron microscopy (TEM) revealed that the synthesized silver nanoparticles have a spherical morphology, with different sizes and some agglomeration.

A hydrogel was formulated with the silver nanoparticles obtained, which complies with the quality control of pH and stability after 30 days, according to Mexican regulations.

The hydrogel demonstrated higher antimicrobial effectiveness compared to commercial silver sulfadiazine cream at the same concentration, against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest of any kind.

Author contributions

Blanca Estela Chávez Sandoval: Conception and design of the article. Methodological development, writing of the original draft and review, and final editing of the text.

Alejandra Sarai Espinosa Vega and *Grecia Nuñez Tahuilán*: Data mining, analysis and interpretation.

María de Lourdes Moreno Ribera and María Isabel García-Ventura: Methodological development, data mining, analysis and interpretation.

José Abraham Balderas: Review and final editing of the text.

References

- Algin Yapar, E., Tuncay Tanriverdi, S., Aybar Tural, G., Gümüş, Z. P., Turunç, E., Gokce, E. H. (2020). An examination of carbopol hydrogel/organogel bigels of thymoquinone prepared by microwave irradiation method. *Drug Dev Ind Pharm*, October, 46(10): 1639-1646. <https://doi.org/10.1080/03639045.2020.1820031>. Epub 2020 Sep 16. PMID: 32935592.
- American Society of Microbiology. (2009). <https://asm.org/>.
- Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob Chemother*, July, 48, Suppl., 1: 5-16. https://doi.org/10.1093/jac/48.suppl_1.5. Erratum in: *J Antimicrob Chemother*, 2002 June, 49(6): 1049. PMID: 11420333.
- Ahmad-Mansour, N., Loubet, P., Pouget, C., Dunyach-Remy, C., Sotto, A., Lavigne, J. P., Molle, V. (2021). *Staphylococcus aureus* toxins: an update on their pathogenic properties and potential treatments. *Toxins (Basel)*, September 23, 13(10): 677. <https://doi.org/10.3390/toxins13100677>. PMID: 34678970; PMCID: PMC854901.
- Armstrong, D. G., Tan, T. W., Boulton, A. J. M., Bus, S. A. (2023). Diabetic foot ulcers: a review. *JAMA*. July 3, 330(1): 62-75. <https://doi.org/10.1001/jama.2023.10578>. PMID: 37395769; PMCID: PMC10723802.
- Baczako, A., Fischer, T., Konstantinow, A., Volz, T. (2019) . Chronische Wunden richtig behandeln [Chronic wounds]. *MMW Fortschr Med*, March, 161(5): 48-56. German. <https://doi.org/10.1007/s15006-019-0006-x>. PMID: 30887314.
- Chávez-Sandoval, B. E., Flores-Mendoza, N., Chávez-Recio, A., Balderas-López, J. A. & García-Franco, F. (2021). Biosynthesis of gold nanoparticles (AuNPs) and the reducing agents in the process. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología*, 14(27): 1e-11e. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2021.27.69658>.
- Chávez Sandoval, Blanca Estela, Alejandra Sarai Espinosa Vega, Grecia Nuñez Tahuilán, María de Lourdes Moreno Ribera, María Isabel García-Ventura, José Abraham Balderas López. (2024). Evaluation of the antimicrobial activity of an antiseptic hydrogel prepared with silver nanoparticles (AgNPs) against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Preprint in *Research Square*, August 2. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-4838660/v1>.
- De Francesco, F., Riccio, M., Jimi, S. (2022). Contribution of topical agents such as hyaluronic acid and silver sulfadiazine to wound healing and management of bacterial biofilm. *Medicina (Kaunas)*, June 20, 58(6): 835. <https://doi.org/10.3390/medicina58060835>. PMID: 35744098; PMCID: PMC9230176.
- Fang, M., Lin, L., Zheng, M., Liu, W., Lin, R. (2023). Antibacterial functionalized carbon dots and their application in bacterial infections and inflammation. *J Mater*

Chem B, October 11, 11(39): 9386-9403. <https://doi.org/10.1039/d3tb01543b>. PMID: 37720998.

- Gao, W., Zhang, Y., Zhang, Q., Zhang, L. (2016). Nanoparticle-hydrogel: a hybrid bio-material system for localized drug delivery. *Ann Biomed Eng*, June, 44(6): 2049-61. <https://doi.org/10.1007/s10439-016-1583-9>. Epub 2016 Mar 7. PMID: 26951462; PMCID: PMC4880511.
- Kim B., ParK, J. S., Choi, H. Y., Kwak, J. H., Kim, W. G. (2019). Differential effects of alkyl gallates on quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Sci Rep*. May 23, 9(1): 7741. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44236-w>. PMID: 31123307; PMCID: PMC6533263.
- Medina-Solano, A. M., Moreno-Rivera, M., García-Ventura, M. I. Balderas-López, J. A. & Chávez-Sandoval, B. E. (2024). Silver (AgNPs) and copper (CuSO₄NPs) nanofluids, synthesis, characterization and them antimicrobial properties against pathogenic microorganisms. *J. Bio.Innov*, 13(2(a)): 17-28, 2024 | ISSN 2277-8330 (Electronic) [https://doi.org/10.46344/JBINO.2023.v13i02\(a\).04](https://doi.org/10.46344/JBINO.2023.v13i02(a).04).
- Mielko, K. A., Jabłoński, S. J., Milczewska, J., Sands, D., Łukaszewicz, M., Młynarz, P. (2019). Metabolomic studies of *Pseudomonas aeruginosa*. *World J Microbiol Biotechnol*, November 7, 35(11):178. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2739-1>. PMID: 31701321; PMCID: PMC6838043.
- Nie, P., Zhao, Y., Xu, H. (2023). Synthesis, applications, toxicity and toxicity mechanisms of silver nanoparticles: a review. *Ecotoxicol Environ Saf*, March 15, 253: 114636. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114636>. Epub 2023 Feb 15. PMID: 36806822.
- Reese, A. D., Keyloun, J. W., Garg, G., McLawhorn, M. M., Moffatt, L. T., Travis, T. E., Johnson, L. S., Shupp, J. W. (2022). Compounded cerium nitrate-silver sulfadiazine cream is safe and effective for the treatment of burn wounds: a burn center's 4-year experience. *J Burn Care Res*, May 17, 43(3): 716-721. <https://doi.org/10.1093/jbcr/irab180>. PMID: 34543402; PMCID: PMC8499988.
- Secretary of Health. (2015). Secretaría de Salud, México. <https://www.gob.mx/salud>.
- Sulis, G., Sayood, S., Gandra, S. (2022). Antimicrobial resistance in low- and middle-income countries: current status and future directions. *Expert Rev Anti Infect Ther*, February, 20(2): 147-160. <https://doi.org/10.1080/14787210.2021.1951705>. Epub 2021 Jul 19. PMID: 34225545.
- Tripathi, B. K., Srivastava, A. K. (2006). Diabetes mellitus: complications and therapeutics. *Med Sci Monit*. July, 12(7): RA130-47. Epub Jun 28. PMID: 16810145.
- Yin, D., Guo, Y., Han, R., Yang, Y., Zhu, D., Hu, F. (2023). A modified Kirby-Bauer disc diffusion (mKB) method for accurately testing tigecycline susceptibility: a nation-wide multicenter comparative study. *J Med Microbiol*, August, 72(8). <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001671>. PMID: 37552058.

Nanopartículas viromiméticas para la entrega de ácidos nucleicos en el estudio del parásito *Trypanosoma cruzi*

Viromimetic nanoparticles for nucleic acid delivery in the study of parasite *Trypanosoma cruzi*

R. E. Cárdenas-Guerra,* D. S. Moreno-Gutiérrez,** A. Hernández-García*[†]

ABSTRACT: Chagas disease, caused by the parasite *Trypanosoma cruzi*, remains a neglected illness with high rates of underdiagnosis and limited therapeutic options, especially in the chronic phase. Despite advances in molecular biology, the functional study of genes in *T. cruzi* faces significant challenges due to its genetic diversity and the lack of efficient nucleic acid delivery tools. In this context, viromimetic nanoparticles (VNPs) emerge as bioinspired platforms that mimic the structural and functional properties of viruses, enabling safe, targeted, and minimally immunogenic delivery of genetic material. This work explores the design principles, functional characteristics, and biomedical applications of VNPs. The viromimetic system C_4B^{K12} is highlighted as an example of antisense oligonucleotide delivery in *T. cruzi*, demonstrating the potential of these platforms as emerging tools for functional research and the development of new targeted therapeutic strategies.

KEYWORDS: Chagas disease, *Trypanosoma cruzi*, viromimetic nanoparticles, antisense oligonucleotides, gene therapy.

RESUMEN: La enfermedad de Chagas, causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, sigue siendo una patología desatendida con altas tasas de subdiagnóstico y opciones terapéuticas limitadas, especialmente en la fase crónica. A pesar de los avances en biología molecular, el estudio funcional de genes en *T. cruzi* enfrenta grandes desafíos debido a su diversidad genética y a la falta de herramientas eficientes para la entrega de ácidos nucleicos. En este contexto, las nanopartículas viromiméticas (NPVM) se perfilan como plataformas bioinspiradas, las cuales imitan propiedades estructurales y funcionales de los virus, permitiendo una entrega segura, dirigida y poco inmunogénica de material genético. Se abordan los principios de diseño, características funcionales y aplicaciones biomédicas de las NPVM. Se destaca el caso del sistema viromimético C_4B^{K12} como ejemplo de entrega de oligonucleótidos antisentido en *T. cruzi*, evidenciado el potencial de estas plataformas como herramientas emergentes para la investigación funcional y el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas dirigidas.

PALABRAS CLAVE: enfermedad de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, nanopartículas viromiméticas, oligonucleótidos antisentido, terapia génica.

Recibido: 9 de noviembre, 2024.

Aceptado: 21 de abril, 2025.

Publicado: 6 de mayo, 2025.

* Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Química, Laboratorio de Ingeniería Biomolecular y Bionanotecnología, Departamento de Biomacromoléculas.

** Universidad de California Los Ángeles, Departamento de Química y Bioquímica. Los Ángeles, EUA.

[†] Autor de correspondencia: armandohg@iquimica.unam.mx



Introducción

La enfermedad de Chagas, también conocida como tripanosomiasis americana, es una enfermedad tropical desatendida y potencialmente mortal causada por el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi*. Como se observa en el cuadro 1, la propagación de la enfermedad de Chagas, considerada endémica en 21 países de América Latina, ha trascendido esta región debido a la migración de personas infectadas y a modos específicos de transmisión no vectorial, lo cual ha facilitado su expansión a países no endémicos de América y otras partes del mundo.

En la actualidad, se estiman infectadas en el mundo a más de entre 6 y 7 millones de personas, mientras 75 millones permanecen en riesgo de contraer la enfermedad. Cada año se reportan 30,000 nuevos casos y más de 12,000 muertes, subrayando su relevancia como una gran preocupación de salud pública a nivel global. Sin embargo, menos del 10% de los infectados han sido diagnosticados, lo cual dificulta su control y tratamiento oportuno.

En México, entre los estados con mayor incidencia se encuentran: Campeche, Chiapas, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Quintana Roo, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán, reflejando la distribución geográfica de los vectores transmisores en el país.

A pesar de los esfuerzos y avances importantes en el control de su transmisión, la enfermedad de Chagas se ha convertido en un problema de salud global (WHO, 2024; DNDi, 2024).

Cuadro 1. Impacto de la enfermedad de Chagas.

- Endémica en 21 países de América Latina* y también presente en América del Norte, Europa, Asia.
- > 6-7 millones de personas en el mundo tienen Chagas.
- > 75 millones de personas están en riesgo de contraerla.
- 30,000 casos nuevos son reportados anualmente.
- > 12,000 muertes al año.
- < 10% de los infectados han sido diagnosticados.
- Los estados con mayor incidencia en México** son: Campeche, Chiapas, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Quintana Roo, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán.

* Argentina, Belice, Bolivia (Estado Plurinacional de), Brasil, Chile, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, Guayana Francesa, Guatemala, Guyana, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, Surinam, Uruguay y Venezuela (República Bolivariana de).

** Dirección General de Epidemiología (2022), Tripanosomiasis. SUIVE/DGE/Secretaría de Salud/Estados Unidos Mexicanos (2022).

Fuente: Información tomada de WHO (2024); DNDi (2024).

La enfermedad de Chagas fue descubierta en 1909, por el brasileño Carlos Ribeiro Justiniano Chagas, y fue reconocida por la Asamblea Mundial de la Salud hasta 2019, declarando el 14 de abril como su día conmemorativo. La Organización Mundial de la Salud (OMS) la describe como una “enfermedad silenciosa”, al progresar a lo largo de varios años, y a menudo de manera asin-

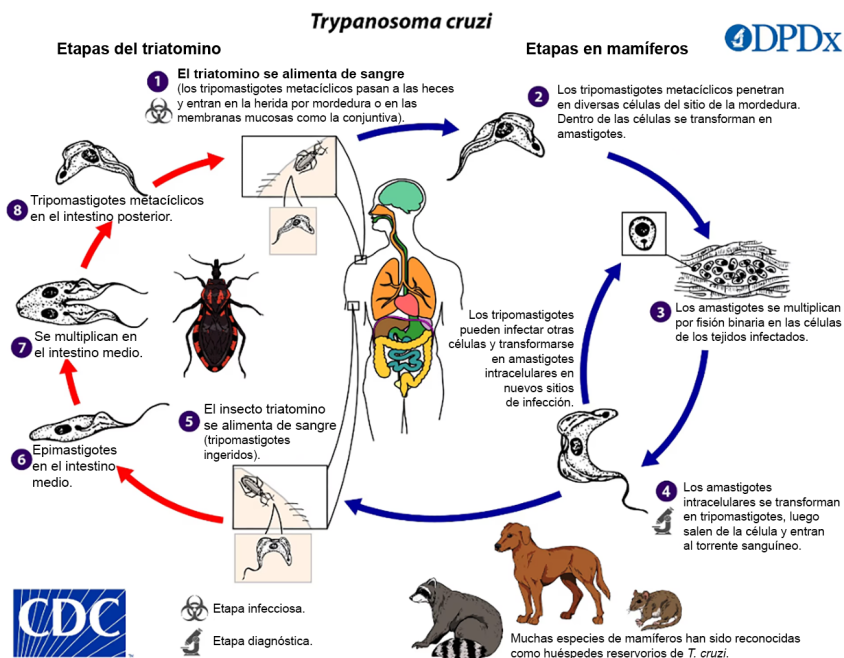
tomática. Sin tratamiento, la enfermedad de Chagas puede provocar alteraciones cardíacas y digestivas pudiendo ser estas fatales.

Su principal modo de transmisión es través de la picadura de chinches de la familia *Reduviidae* y subfamilia *Triatominae*, comúnmente conocidas como “chinches besuconas”, que estén infectadas con el parásito. Además de la transmisión vectorial, la infección se puede adquirir por vía oral (mediante alimentos o bebidas contaminados), por transfusiones de sangre o trasplantes de órganos, y, verticalmente, de madres infectadas a sus descendientes (WHO, 2024; DNDi, 2024; OPS, 2024).

Ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi*

El parásito tiene un ciclo de vida complejo y ocurre tanto en el vector insecto como en los hospederos mamíferos (figura 1). En humanos, se presenta en dos formas principales: tripomastigote y amastigote. Los tripomastigotes, presentes en la sangre, poseen un flagelo, el cual les permite moverse, pero no se dividen en el torrente sanguíneo; su función principal es diseminar la infección. Al invadir células del hospedador, se transforman en amastigotes, formas intracelulares sin flagelo que se replican activamente, preferentemente en células de origen mesenquimal.

Figura 1. Ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi*.



Fuente: Imagen tomada de CDC - DPDX - American Trypanosomiasis. Traducción de los editores.

En el vector insecto, los tripomastigotes ingeridos por la chinche *reduviidae* se transforman en epimastigotes, su forma replicativa en el intestino del vector. Luego, en la parte posterior del intestino, evolucionan a tripomastigotes metacíclicos, la forma infectiva para los mamíferos, la cual se libera en las heces del insecto. Cuando estas entran en contacto con la piel o membranas mucosas del hospedador, los tripomastigotes penetran en las células y reinician el ciclo al diferenciarse nuevamente en amastigotes replicativos, los cuales eventualmente regresan al torrente sanguíneo como tripomastigotes para continuar la propagación de la infección.

Manifestaciones clínicas y diagnóstico

La enfermedad de Chagas progresa en dos etapas clínicas: fase aguda y fase crónica (tabla 1). La fase aguda, que dura de semanas a meses, puede ser asintomática o manifestarse con síntomas leves o no específicos como fatiga, fiebre, dolor de cabeza, dolor muscular, dificultad para respirar, ganglios inflamados, palidez, hinchazón y dolor abdominal o torácico. En algunos casos, aparecen manifestaciones características como el chagoma (lesión cutánea en el sitio de la picadura de la chinche) y el signo de Romaña (hinchazón violácea en un ojo, debido a la entrada del parásito por la conjuntiva ocular). En situaciones graves, la infección puede derivar en miocarditis y meningoencefalitis. Aunque la mortalidad en esta es baja (0.2-5%) y menos del 1-5% de los pacientes desarrolla síntomas graves, la infección suele resolverse espontáneamente. No obstante, sin tratamiento, la infección persiste en forma crónica.

En la fase crónica, la mayoría de los individuos permanecen asintomáticos, en una condición conocida como fase indeterminada, la cual puede prolongarse durante años. Sin embargo, entre el 30 y 40% de pacientes desarrolla complicaciones severas entre 10 y 30 años después de la infección aguda, afectando principalmente al corazón (miocardiopatía, insuficiencia cardíaca, arritmias y riesgo de muerte súbita) y/o al sistema digestivo (megaesófago y megacolon). El diagnóstico en esta fase se basa en pruebas serológicas, electrocardiograma, ecocardiograma y PCR, aunque la sensibilidad de esta última disminuye en comparación con la fase aguda (tabla 1). Además, los pacientes inmunocomprometidos presentan un mayor riesgo de desarrollar manifestaciones graves en esta etapa (Pérez-Molina y Molina 2018; DNDi, 2024).

El diagnóstico de la fase crónica requiere la concordancia de dos pruebas serológicas, siendo los métodos más utilizados ELISA (Chagatest recombinante, BioELISA Chagas Abbott Prism, MultiCruzi) y pruebas rápidas (Chagas Stat-Pak, Chagas Detect Plus, BIOLINE Chagas Ab). Aunque el uso de antígenos serológicos específicos de *T. cruzi* ha mejorado la detección de la enfermedad, se han identificado variaciones geográficas en la sensibilidad de las pruebas, lo que subraya la necesidad de mejorar en el diagnóstico congénito, la supervisión del tratamiento y los antígenos específicos de cepas (Bhattacharya *et al.*, 2024).

Tabla 1. Fases de la enfermedad de Chagas.

Fase	Duración	Síntomas principales	Diagnóstico	Pronóstico
Aguda	Semanas a meses	Fiebre, fatiga, chagoma, signo de Romaña, hepatoesplenomegalia, linfadenopatía. En casos graves: miocarditis y meningoencefalitis.	Parasitológico directo, PCR.	Baja mortalidad (0.2-5%). Resolución espontánea en 4-8 semanas.
Crónica indeterminada	Años o toda la vida	Asintomática, ausencia de signos clínicos visibles.	Serología, PCR (baja sensibilidad).	Buen pronóstico; la mayoría no desarrolla complicaciones.
Crónica sintomática	10-30 años post infección	<i>Cardíaca:</i> Miocardiopatía, insuficiencia cardíaca, arritmias, muerte súbita. <i>Digestiva:</i> Disfagia, regurgitación, estreñimiento crónico, megacolon, megaesófago.	Serología, electrocardiograma, ecocardiograma, estudios de imagen (esofagograma, manometría).	Riesgo de muerte súbita, insuficiencia cardíaca o complicaciones digestivas graves.

Fuente: Elaboración de los autores, con base en Pérez-Molina y Molina (2018), y DNDi (2024).

Tratamiento actual para la enfermedad de Chagas

Durante más de 60 años, solo se han utilizado dos fármacos para tratar la enfermedad de Chagas: nifurtimox y benznidazol, cuya eficacia varía según la fase de la enfermedad. Ambos son compuestos nitro-heterocíclicos que actúan como prodrogras, siendo convertidos en su forma activa por la enzima específica del parásito, nitrorreductasa tipo I (TcNTR I), el cual los transforma en intermediarios con actividad antiparasitaria y produciendo especies reactivas de oxígeno (Cárdenas-Guerra *et al.*, 2022; Francisco *et al.*, 2020).

Sin embargo, el uso de estos fármacos está limitado por la aparición de efectos adversos significativos, incluyendo manifestaciones cutáneas, digestivas, neurológicas y hematológicas en el caso del benznidazol, y trastornos digestivos, psiquiátricos y neurológicos para el nifurtimox (tabla 2). Estos efectos adversos contribuyen a una alta tasa de abandono del tratamiento, lo cual afecta su eficacia terapéutica (De Sousa *et al.*, 2024).

Los estudios clínicos han demostrado que estos fármacos son más efectivos cuando se administran en etapas tempranas de la infección y han mostrado cierto grado de eficacia en la fase crónica asintomática. No obstante, presentan tres limitaciones principales: i) tratamientos prolongados de 60 a 90 días; ii) efectos adversos severos, los cuales afectan la adherencia al tratamiento, y, iii) baja eficiencia en la etapa crónica con síntomas severos (DNDi, 2024).

Las limitaciones de los tratamientos actuales resaltan la necesidad de desarrollar nuevas herramientas terapéuticas que optimicen la eficacia y tolerabilidad del manejo de la enfermedad de Chagas.

Tabla 2. Reacciones adversas de benznidazol y nifurtimox.

Benznidazol
• Cutáneas: Prurito, erupciones localizadas o generalizadas, eritema. En casos moderados: fiebre; raramente, síndrome de Stevens-Johnson. (Aparecen alrededor del día 10; se recomienda antihistamínicos o corticoides y evitar alcohol). • Digestivas: Náuseas, vómitos, dolor abdominal. En raros casos: coluria, hepatomegalia y/o ictericia. (Surgen en las dos primeras semanas; puede requerir ajuste en la administración o suspensión en casos graves). • Neurológicas (5% de los pacientes): Cefalea, neuropatía periférica y alteraciones sensoriales. (Aparecen después de 50 días; en casos graves, se suspende el tratamiento). • Hematológicas (raras, 1 en 2000 pacientes): Leucopenia, neutropenia y agranulocitosis. (Se presentan entre los días 20 y 30; es clave monitorear el recuento sanguíneo y suspender en caso grave).
Nifurtimox
• Digestivas (60% de los pacientes): Náuseas, anorexia y pérdida de peso. (Aparecen en 1-3 semanas; mantener tratamiento y ajustar alimentación). • Psiquiátricas (22%): Ansiedad, insomnio, ataques de pánico y agitación psicomotora. (Surgen en 1-3 semanas; puede ser necesario suspender el tratamiento temporalmente). • Neurológicas (18%): Cefalea, inestabilidad, mareos, neuropatía dolorosa. (Ocurren entre 2 y 10 días; en casos graves, suspender el tratamiento y derivar a atención especializada).
Dosis recomendadas: • Benznidazol: 5-10 mg/kg/día en adultos y niños, por 60 días (dosis ajustada según tolerancia). • Nifurtimox: 8-10 mg*kg/día en niños y 10 mg/kg/día en adultos, por 60-90 días.

Fuente: Elaboración de los autores, con base en De Sousa *et al.* (2024).

Desafíos en el estudio de *Trypanosoma cruzi*

El estudio de *T. cruzi* a nivel biológico y molecular ha sido particularmente desafiante debido a su complejo genoma, las complicadas interacciones con el huésped durante la etapa crónica y la falta de herramientas eficaces para su manipulación genética. Además, *T. cruzi*, clasificada como especie única, presenta una gran diversidad genética, la cual se ha reconocido y clasificado a través del análisis enzimático y genético de diferentes cepas en ambientes domésticos y silvestres, lo que ha llevado a la identificación de siete grupos genéticos o unidades de tipificación discretas (DTU, por sus siglas en inglés), denominadas TcI-TcVI y TcBat, agrupando cepas con características genéticas y biológicas comunes de acuerdo a la relación con la distribución geográfica, patogénesis, características clínicas y la respuesta a terapia (Zingales *et al.*, 2012; Bhattacharyya *et al.*, 2024). Aunque se han observado diferencias en la infectividad, virulencia y susceptibilidad a los fármacos entre las distintas cepas del parásito en estudios de laboratorio y en modelos animales, ha sido difícil relacionar de manera concreta estas diferencias genéticas con las manifestaciones clínicas en los pacientes (Gabaldón-Figueira *et al.*, 2023; Dumonteil *et al.*, 2023).

La entrega de ácidos nucleicos, tales como los ARN de interferencia pequeños (siARN), microRNAs, RNA mensajero y oligonucleótidos antisentido (AONs), ha demostrado ser efectiva en el desarrollo de fármacos, terapias génicas y vacunas. Estas terapias, conocidas por su capacidad de atacar enfermedades a nivel genético, han ampliado las opciones de tratamiento y han sido aprobadas por la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) debido a su eficiencia y seguridad (Gupta *et al.*, 2021).

A diferencia de otros parásitos como *Trypanosoma brucei*, *T. cruzi* carece de la maquinaria celular para procesar moléculas como siRNA (DaRocha *et al.* 2004). Por ello, una alternativa de entre los ácidos nucleicos para manipular la expresión genética de *T. cruzi* a nivel de traducción es el uso de AONs. Estos oligonucleótidos sintéticos de cadena sencilla, compuestos de 20-40 nucleótidos ADN o ARN, pueden ser diseñados para unirse a secuencias complementarias del mRNA del gen blanco mediante interacciones del tipo Watson-Crick. Al ingresar al parásito y unirse con su mRNA blanco, los AONs son reconocidos por ciertos factores celulares, los cuales inducen la degradación del mRNA, inhibiendo así la expresión de la proteína blanco. Esta estrategia destaca por su alta especificidad, permitiendo “silenciar” cualquier gen deseado con precisión, reduciendo así los efectos tóxicos inespecíficos (Kole *et al.*, 2012).

Sistemas de entrega en *Trypanosoma cruzi*

En *T. cruzi*, los métodos de entrega de AONs u otro material genético se han realizado principalmente por electroporación y difusión pasiva a través de la membrana celular. A pesar del potencial terapéutico de los AONs, su aplicación en *T. cruzi* sigue siendo limitada, con pocos estudios disponibles (Araya *et al.*, 2008; Hashimoto *et al.*, 2014 y 2016; Málaga *et al.*, 2001; Okura *et al.*, 2005, Orrego *et al.*, 2014; San Francisco *et al.*, 2017; Arroyo-Olarte *et al.*, 2020). Estos métodos presentan desventajas relativas a su baja eficiencia de entrega, y son poco prácticos para su uso en el parásito. La electroporación, en particular, causa una alta mortalidad celular, requiere mucho tiempo, necesita equipos costosos y especializados, y carece de viabilidad para futuros usos (DaRocha *et al.* 2004; Padmanabhan *et al.* 2014; Olmo *et al.* 2018).

Los enfoques nanotecnológicos representan los métodos químicos avanzados para la transfección. Diversos estudios han demostrado que las nanopartículas pueden transportar fármacos al interior de *T. cruzi* (Romero *et al.*, 2010; Arias *et al.*, 2015; de Freitas *et al.*, 2022; Muraca *et al.*, 2023). Entre estas, destacan las nanopartículas basadas en polímeros o lípidos catiónicos, como liposomas o polimerosomas, utilizadas para introducir fármacos de baja masa molecular, aunque no se han empleado para la entrega de ácidos nucleicos (Quijia-Quezada *et al.*, 2019; Mengarda *et al.*, 2023). Por ello, es esencial desarrollar vectores efectivos para la entrega de AONs en *T. cruzi*,

con el fin de ampliar su aplicabilidad en herramientas avanzadas de manipulación genética.

Nanopartículas viromiméticas como sistemas de entrega

Desde el enfoque de la nanotecnología, los virus representan plataformas altamente eficientes para el diseño de terapias avanzadas, nanomedicinas, diagnósticos y nanomateriales funcionales, gracias a su notable capacidad de transferir genes, fármacos u otras biomoléculas hacia células blanco. Estas entidades, que en su mayoría oscilan entre 16 y 300 nanómetros de diámetro, aunque existen excepciones como los mimivirus, los cuales alcanzan hasta 1.5 μm (Mondrow *et al.*, 2013), presentan una arquitectura organizada combinando ácidos nucleicos encapsulados por una cápside proteica. Esta estructura les confiere estabilidad frente a condiciones ambientales adversas y permite su ingreso al interior celular mediante estrategias como el escape endosomal y la translocación nuclear (Gao *et al.*, 2021).

Inspiradas por esta eficacia natural, han surgido las nanopartículas viromiméticas (NPVM), sistemas bioinspirados imitando aspectos clave de la estructura y funcionalidad viral, pero sin contener material genético infeccioso. Estas nanopartículas buscan reproducir, de forma controlada y segura, los mecanismos que hacen de los virus vectores tan efectivos.

A diferencia de las partículas similares a virus (VLPs), las cuales derivan directamente de proteínas virales, las NPVM se construyen mediante bloques sintéticos o naturales (proteína, péptidos, polímeros, lípidos o nanomateriales inorgánicos) racionalmente diseñados para autoensamblarse en estructuras con geometrías virales, funcionalidad dirigida, y capacidad de respuesta a estímulos fisiológicos (Ni *et al.*, 2016; Walls *et al.*, 2020; Moreno-Gutiérrez *et al.*, 2023). Esta aproximación permite combinar la eficiencia de los virus con la versatilidad y seguridad de los sistemas artificiales.

Diseño estructural y funcional de las NPVM

El diseño de NPVM se basa en replicar características clave de los virus como su morfología, su superficie organizada, su habilidad de encapsular ácidos nucleicos, dirigirse a células blanco y responder al entorno intracelular. Por ejemplo, se han desarrollado cápsides sintéticas con simetría icosaédrica utilizando proteínas diseñadas computacionalmente, las cuales imitan la organización jerárquica de los virus (Bale *et al.*, 2016). También se han empleados péptidos autoensamblables inspirados en dominios de virus como el adenovirus o el virus del mosaico del tabaco para formar nanocápsides capaces de encapsular y liberar material genético (Hernández-García *et al.*, 2014; Matsuura *et al.*, 2010).

En cuanto a la superficies, se han diseñado partículas viromiméticas que emulan la topografía viral mediante la repetición simétrica de subunidades, lo cual favorece la interacción con receptores celulares y la activación inmuni-

taria (Niu *et al.*, 2013). Algunas de estas nanopartículas han incorporado envolturas lipídicas o glicoproteínas para replicar los mecanismos de reconocimiento y evasión de virus como VIH o herpes (Zhang *et al.*, 2015; Perrault y Shih, 2014).

Aplicaciones biomédicas de las nanopartículas viromiméticas

Las NPVM tiene múltiples aplicaciones en el área de medicina y biotecnología, entre las cuales destacan:

Terapia génica y edición genética:

Las NPVM han demostrado ser vehículos eficaces para la entrega de ADN, ARN mensajero y oligonucleótidos terapéuticos. Gracias a su diseño modular, permiten proteger el material de la degradación, facilitar su liberación intracelular y dirigirlo al núcleo (Edwardson y Hilvert, 2019). Algunas plataformas han integrado señales de localización nuclear o dominios fusogénicos para emular rutas virales específicas (Yang *et al.*, 2017). Asimismo, nanopartículas basadas en péptidos derivados del adenovirus han sido diseñadas para promover el escape endosomal y la translocación nuclear (Alonso-Valente *et al.*, 2019).

Nanovacunas y presentación antigénica:

Inspiradas en la capacidad de los virus para activar el sistema inmune, diversas NPVM han sido desarrolladas como plataformas vacunales. Al presentar antígenos en una forma ordenada y multivalente, estas partículas promueven respuestas humorales y celulares más potentes que los antígenos solubles (Kanekiyo *et al.* 2013; Walls *et al.* 2020). Un ejemplo destacado es el uso de nanopartículas de ferritina que presentan proteínas hemaglutininas del virus de la influenza, generando anticuerpos neutralizantes de amplio espectro (Kanekiyo *et al.*, 2013).

Terapias antitumorales y antimicrobianas:

Se han desarrollado NPVM capaces de cruzar la barrera hematoencefálica, liberar fármacos de forma controlada en el microambiente tumoral, o combinar efectos fototérmicos y quimioterapéuticos en una sola plataforma (Zhuang *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2019). Por ejemplo, el sistema Vir-ZM@TD libera iones Zn y genera especies reactivas de oxígeno al degradarse por ATP, mejorando la terapia humoral (Zhao *et al.*, 2022). También existen diseños inspirados en virus bacteriófagos, los cuales actúan como antimicrobianos selectivos contra bacterias resistentes, donde un diseño inspirado en SARS-CoV-2 ha demostrado actividad antimicrobiana contra bacterias resistentes, integrando mecanismos de disrupción de membrana y activación por luz (Ni *et al.*, 2022).

Modelos simplificados de virus para investigación básica:

Las NPVM también sirven como herramientas para estudiar procesos virales como el ensamblaje de cápsides, el empaquetamiento de genomas, o la liberación intracelular, en un contexto no infeccioso pero funcionalmente comparable (Butterfield *et al.*, 2017; Terasaka *et al.*, 2018).

Nanopartículas (C_4B^{K12}) usadas para la transfección en *T. cruzi*

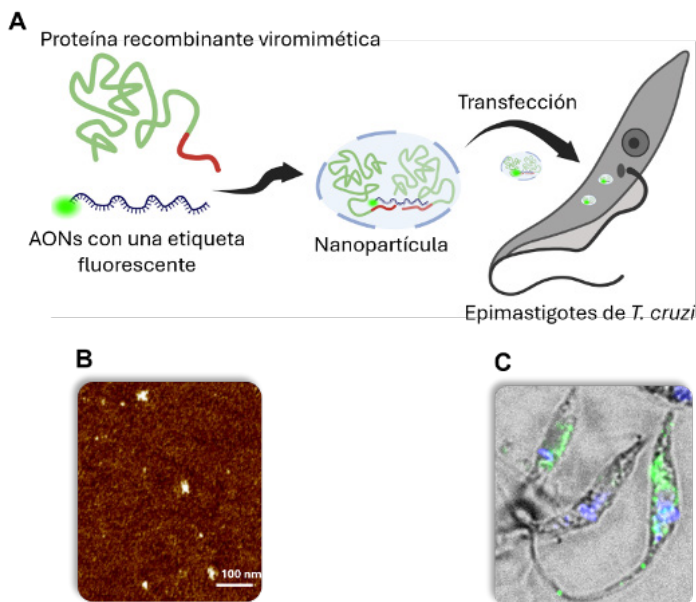
Hernández-García diseñó un conjunto de proteínas modulares con la capacidad de imitar las propiedades fundamentales estructurales de las proteínas de la cápside del virus del mosaico del tabaco, mostrando un gran potencial aplicativo (Hernández-García *et al.*, 2012 y 2014; Punter *et al.*, 2016). Estas proteínas han sido nombradas como C_4B^{K12} , $C_4S_2B^{K12}$, $C_4S_{10}B^{K12}$. En estas denominaciones, C se refiere a un bloque que proporciona estabilidad coloidal, lo cual significa que otorga solubilidad y previene la formación de agregados, y su secuencia está derivada de la colágena. En el caso de B, indica el bloque de unión compuesto por 12 lisinas (K12). Finalmente, S representa el bloque de autoensamblaje. Estas nuevas proteínas viromiméticas tienen la capacidad de interactuar con ácidos nucleicos y formar nanopartículas a través de un proceso de autoensamblado similar al de las proteínas de cápsides virales. Además, protegen a los ácidos nucleicos de la degradación en medios biológicos y provocan una respuesta inmune mínima, lo cual es ventajoso para su uso en terapias génicas, pues reduce el riesgo de efectos secundarios relacionados con la respuesta inmunitaria (Moreno-Gutiérrez *et al.*, 2021). Gracias a su diseño modular y producción recombinante, es posible modificar las nanopartículas de estas proteínas para optimizar la transfección, la internalización y el direccionamiento específico a células, abriendo grandes posibilidades para desarrollar acarreadores genéticos programables y eficientes (Moreno-Gutiérrez *et al.*, 2023).

Nuestro grupo de trabajo evaluó por primera vez el uso de una de las proteínas recombinantes viromiméticas (C_4B^{K12}) (Cárdenas-Guerra *et al.*, 2020) para transfectar AONs en *T. cruzi*. La proteína C_4B^{K12} se unió a AON dirigido al mRNA del receptor de IP_3 ($TcIP_3R$) (previamente caracterizado por Hashimoto *et al.*, 2014). Las nanopartículas formadas fueron de 10-25 nm, notablemente estables en medios biológicos, liberando hasta un 25% de los AONs. Para evaluar la internalización, se emplearon los AONs marcados con el fluoróforo ATTO488, lo cual permitió visualizar mediante microscopía de fluorescencia la entrada eficiente de las nanopartículas en los epimastigotes de *T. cruzi* (figura 2). Los ensayos de PCR en tiempo real corroboraron una disminución del 68% en la expresión del gen blanco, sin observarse efectos citotóxicos.

La capacidad de formar nanopartículas que sean estables bioquímicamente y que entreguen el material genético eficazmente y sin causar citotoxicidad al parásito hace de estas proteínas viromiméticas una opción prometedora para futuras investigaciones relacionadas con las funciones de los genes o

de blancos terapéuticos en *T. cruzi*. Además, debido a su diseño modular y producción recombinante, estas proteínas representan una plataforma flexible permitiendo su modificación sencilla con la capacidad de conferirle características que permitan una mayor eficiencia de transfección a blancos específicos como *T. cruzi*.

Figura 2. Nanopartículas viromiméticas para la entrega de AONs en *T. cruzi*.



A) Esquema representativo de la transfección en epimastigotes mediada por las nanopartículas. B) Imagen de la nanopartícula observada mediante microscopía de forma atómica; barra de escala, 100 nm. C) Imagen de la nanopartícula dentro del parásito mediante microscopía de fluorescencia. En la composición, el campo claro aparece en gris, el núcleo y cinetoplasto, en azul, y la nanopartícula con AONs fluorescente, en verde.

Fuente: Elaboración de los autores.

Conclusión y perspectivas

El control de la enfermedad de Chagas continúa limitado por desafíos tanto clínicos como experimentales, yendo desde la falta de tratamientos eficaces en etapas crónicas hasta las barreras metodológicas para el estudio genético de *T. cruzi*. En este escenario, las NPVM no solo representan una innovación en el ámbito de la nanotecnología, sino ofrecen, también, nuevas herramientas para abordar interrogantes biológicos aún no resueltos en este parásito. Su diseño modular, inspirado en mecanismos virales, permite explorar rutas alternativas de entrega de material genético que antes eran inaccesibles, abriendo posibilidades en modelos donde la transfección convencional resulta ineficiente.

te o inviable. Más allá de sus aplicaciones actuales, las NPVM se proyectan como una plataforma adaptable, capaz de integrarse a nuevas estrategias de diagnóstico, terapéuticas o de investigación básica en contextos de parásitos complejos. En consecuencia, su incorporación en el estudio de *T. cruzi* no solo aporta soluciones técnicas, sino que redefine los marcos posibles para investigar y enfrentar enfermedades desatendidas desde una perspectiva multidisciplinaria e innovadora.

Contribución de autorías:

Cárdenas-Guerra R. E. y Hernández-García A.: Concepción y diseño del artículo.
 Cárdenas-Guerra R. E., Moreno-Gutiérrez D. S. y Hernández-García A.: Revisión y edición final del texto.

Referencias

- Alonso-Valenteen, F., S. Pacheco, D. Srinivas, A. Rentsendorj, D. Chu, J. Lubow, J. Sims, T. Miao, S. Mikhael, J. Y. Hwang, R. Abrol y L. K. Medina Kauwe. (2019). HER3-targeted protein chimera forms endosomolytic capsomeres and self-assembles into stealth nucleocapsids for systemic tumor homing of RNA interference *in vivo*. *Nucleic Acids Res*, 47(21): 11020-11043. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz900>.
- Araya, J. E., A. Cornejo, P. R. Orrego, E. M. Cordero, M. Cortéz, H. Olivares, I. Neira, H. Sagua, J. F. da Silveira, N. Yoshida y J. González. (2008). Calcineurin B of the human protozoan parasite *Trypanosoma cruzi* is involved in cell invasion. *Microbes Infect*, 10(8): 892-900. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2008.05.003>.
- Arias, J. L., J. D. Unciti-Broceta, J. Maceira, T. del Castillo, J. Hernández-Quero, S. Magez, M. Soriano y J. A. García-Salcedo. (2015). Nanobody conjugated PLGA nanoparticles for active targeting of African trypanosomiasis. *J Control Release*, 197: 190-8. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.11.002>.
- Arroyo-Olarte, Rubén D., Ignacio Martínez, Eduardo Luján, Fela Mendlovic, Tzvetanka Dinkova y Bertha Espinoza. (2020). Differential gene expression of virulence factors modulates infectivity of TcI *Trypanosoma cruzi* strains. *Parasitology Research*, 119(11): 3803-3815. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06891-1>.
- Bale, Jacob B., Shane Gonen, Yuxi Liu, William Sheffler, Daniel Ellis, Chantz Thomas, Duilio Cascio, Todd O. Yeates, Tamir Gonen, Neil P. King y David Baker. (2016). Accurate design of megadalton-scale two-component icosahedral protein complexes. *Science*, 353(6297): 389-394. <https://doi.org/doi:10.1126/science.aaf8818>.
- Bhattacharyya, T., N. Murphy y M. A. Miles. (2024). Diversity of Chagas disease diagnostic antigens: successes and limitations. *PLoS Negl Trop Dis*, 18(10): e0012512. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012512>.
- Butterfield, G. L., M. J. Lajoie, H. H. Gustafson, D. L. Sellers, U. Nattermann, D. Ellis, J. B. Bale, S. Ke, G. H. Lenz, A. Yehdego, R. Ravichandran, S. H. Pun, N. P. King y D. Baker. (2017). Evolution of a designed protein assembly encapsulating its

- own RNA genome. *Nature*, 552(7685): 415-420. <https://doi.org/10.1038/nature25157>.
- Cárdenas-Guerra, R. E., Martínez, I. y Espinoza, B. (2022). Papel de la enzima nitroreductasa tipo I de *Trypanosoma cruzi* en el metabolismo de fármacos anti-chagásicos. *Revista Mexicana de Industria y Salud*, 2(15): 36-42. ISSN: 2594-1445.
- Cárdenas-Guerra, R. E., D. S. Moreno-Gutiérrez, O. J. Vargas-Dorantes, B. Espinoza y A. Hernández-García. (2020). Delivery of antisense DNA into pathogenic parasite *Trypanosoma cruzi* using virus-like protein-based nanoparticles. *Nucleic Acid Ther*, 30(6): 392-401. <https://doi.org/10.1089/nat.2020.0870>.
- CDC -DPDx- American Trypanosomiasis. <https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisamerican/index.html>.
- DaRocha, W. D., K. Otsu, S. M. Teixeira y J. E. Donelson. (2004). Tests of cytoplasmic RNA interference (RNAi) and construction of a tetracycline-inducible T7 promoter system in *Trypanosoma cruzi*. *Mol Biochem Parasitol*, 133(2): 175-86. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2003.10.005>.
- De Freitas Oliveira, J. W., M. F. A. da Silva, I. Z. Damasceno, H. A. O. Rocha, A. A. da Silva Júnior y M. S. Silva. (2022). *In vitro* validation of antiparasitic activity of PLA-nanoparticles of sodium diethyldithiocarbamate against *Trypanosoma cruzi*. *Pharmaceutics*, 14(3). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14030497>.
- De Sousa, A. S., D. Vermeij, A. N. Ramos, Jr. y A. O. Luquetti. (2024). Chagas disease. *Lancet*, 403(10422): 203-218. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(23\)01787-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(23)01787-7).
- Dirección General de Epidemiología. (2022). Tripanosomiasis. SUIVE/DGE / Secretaría de Salud / Estados Unidos Mexicanos 2022. https://epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/html/incidencia_enfermedad.html.
- DNDi. (2024). *Symptoms, transmission, and current treatments for Chagas disease* | DNDi <https://dndi.org/diseases/chagas/facts/>.
- Dumonteil, E., H. Desale, W. Tu, N. Hernández-Cuevas, M. Shroyer, K. Goff, P. A. Marx y C. Herrera. (2023). Intra-host *Trypanosoma cruzi* strain dynamics shape disease progression: the missing link in Chagas disease pathogenesis. *Microbiol Spectr*, 11(5): e0423622. <https://doi.org/10.1128/spectrum.04236-22>.
- Edwardson, T. G. W. y D. Hilvert. (2019). Virus-inspired function in engineered protein cages. *J Am Chem Soc*, 141(24): 9432-9443. <https://doi.org/10.1021/jacs.9b03705>.
- Francisco, A. F., S. Jayawardhana, F. Olmo, M. D. Lewis, S. R. Wilkinson, M. C. Taylor y J. M. Kelly. (2020). Challenges in Chagas disease drug development. *Molecules*, 25(12). <https://doi.org/10.3390/molecules25122799>.
- Gabaldón-Figueira, J. C., N. Martínez-Peinado, E. Escabia, A. Ros-Lucas, E. Chatelain, I. Scandale, J. Gascon, M. J. Pinazo y J. Alonso-Padilla. (2023). State-of-the-art in the drug discovery pathway for Chagas disease: a framework for drug development and target validation. *Res Rep Trop Med*, 14: 1-19. <https://doi.org/10.2147/rrtm.S415273>.
- Gao, X., J. Ding, Q. Long y C. Zhan. (2021). Virus-mimetic systems for cancer diagnosis and therapy. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 13(3): e1692. <https://doi.org/10.1002/wnan.1692>.

- Gupta, A., J. L. Andresen, R. S. Manan y R. Langer. (2021). Nucleic acid delivery for therapeutic applications. *Adv Drug Deliv Rev*, 178: 113834. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.113834>.
- Hashimoto, M., M. Doi, N. Kurebayashi, K. Furukawa, H. Hirawake-Mogi, Y. Ohmiya, T. Sakurai, T. Mita, K. Mikoshiba y T. Nara. (2016). Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor determines intracellular Ca(2+) concentration in *Trypanosoma cruzi* throughout its life cycle. *FEBS Open Bio*, 6(12): 1178-1185. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12126>.
- Hashimoto, M., T. Nara, H. Hirawake, J. Morales, M. Enomoto y K. Mikoshiba. (2014). Antisense oligonucleotides targeting parasite inositol 1,4,5-trisphosphate receptor inhibits mammalian host cell invasion by *Trypanosoma cruzi*. *Sci Rep*, 4: 4231. <https://doi.org/10.1038/srep04231>.
- Hernández-García, A., D. J. Kraft, A. F. Janssen, P. H. Bomans, N. A. Sommerdijk, D. M. Thies-Weesie, M. E. Favretto, R. Brock, F. A. de Wolf, M. W. Werten, P. van der Schoot, M. C. Stuart y R. de Vries. (2014). Design and self-assembly of simple coat proteins for artificial viruses. *Nat Nanotechnol*, 9(9): 698-702. <https://doi.org/10.1038/nnano.2014.169>.
- Hernández-García, A., M. W. Werten, M. C. Stuart, F. A. de Wolf y R. de Vries. (2012). Coating of single DNA molecules by genetically engineered protein diblock copolymers. *Small*, 8(22): 3491-501. <https://doi.org/10.1002/sml.201200939>.
- Kanekiyo, M., C. J. Wei, H. M. Yassine, P. M. McTamney, J. C. Boyington, J. R. Whittle, S. S. Rao, W. P. Kong, L. Wang y G. J. Nabel. (2013). Self-assembling influenza nanoparticle vaccines elicit broadly neutralizing H1N1 antibodies. *Nature*, 499(7456): 102-6. <https://doi.org/10.1038/nature12202>.
- Kole, R., A. R. Krainer y S. Altman. (2012). RNA therapeutics: beyond RNA interference and antisense oligonucleotides. *Nat Rev Drug Discov*, 11(2): 125-40. <https://doi.org/10.1038/nrd3625>.
- Li, Yang, Jinyan Lin, Peiyuan Wang, Qiang Luo, Huirong Lin, Yun Zhang, Zhenqing Hou, Jingfeng Liu y Xiaolong Liu. (2019). Tumor microenvironment responsive shape-reversal self-targeting virus-inspired nanodrug for imaging-guided near-infrared-II photothermal chemotherapy. *ACS Nano*, 13(11): 12912-12928. <https://doi.org/10.1021/acsnano.9b05425>.
- Málaga, S. y N. Yoshida. (2001). Targeted reduction in expression of *Trypanosoma cruzi* surface glycoprotein gp90 increases parasite infectivity. *Infect Immun*, 69(1): 353-9. <https://doi.org/10.1128/iai.69.1.353-359.2001>.
- Matsuura, Kazunori, Kenta Watanabe, Tsubasa Matsuzaki, Kazuo Sakurai y Nobuo Kimizuka. (2010). Self-assembled synthetic viral capsids from a 24-mer viral peptide fragment. *Angew Chem Int Ed*, 49(50): 9662-9665. <https://doi.org/10.1002/anie.201004606>.
- Mengarda, A. C., B. Iles, J. P. F. Longo y J. de Moraes. (2023). Recent approaches in nano-carrier-based therapies for neglected tropical diseases. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 15(2): e1852. <https://doi.org/10.1002/wnan.1852>.
- Modrow, S., D. Falke, U. Truyen y H. Schätzl. (2013). Viruses: definition, structure, classification. En *Molecular virology*, 17-30. https://doi.org/10.1007/978-3-642-20718-1_2.

- Moreno-Gutiérrez, D. S., X. Del Toro-Ríos, N. J. Martínez-Sulvaran, M. B. Pérez-Altamirano y A. Hernández-García. (2023). Programming the cellular uptake of protein-based viromimetic nanoparticles for enhanced delivery. *Biomacromolecules*, 24(4): 1563-1573. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.2c01295>.
- Moreno-Gutiérrez, D. S., J. Zepeda-Cervantes, L. Vaca y A. Hernández-García. (2021). An artificial virus-like triblock protein shows low *in vivo* humoral immune response and high stability. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 129: 112348. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112348>.
- Muraca, G., M. E. Ruiz, R. C. Gambaro, S. Scioli-Montoto, M. L. Sbaraglini, G. Padula, J. S. Cisneros, C. Y. Chain, V. A. Álvarez, C. Huck-Iriart, G. R. Castro, M. B. Piñero, M. I. Marchetto, C. Alba Soto, G. A. Islan y A. Talevi. (2023). Nanostructured lipid carriers containing benzimidazole: physicochemical, biopharmaceutical and cellular *in vitro* studies. *Beilstein J Nanotechnol*, 14: 804-818. <https://doi.org/10.3762/bjnano.14.66>.
- Ni, R., J. Zhou, N. Hossain y Y. Chau. (2016). Virus-inspired nucleic acid delivery system: linking virus and viral mimicry. *Adv Drug Deliv Rev*, 106(Pt A): 3-26. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.07.005>.
- Ni, Y., J. Wang, M. Wang, L. Liu, H. Nie, Q. Wang, J. Sun, T. Yue, M. Q. Zhu y J. Wang. (2022). COVID-19-inspired “artificial virus” to combat drug-resistant bacteria by membrane-intercalation- photothermal-photodynamic multistage effects. *Chem Eng J*, 446: 137322. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.137322>.
- Niu, Y., M. Yu, S. B. Hartono, J. Yang, H. Xu, H. Zhang, J. Zhang, J. Zou, A. Dexter, W. Gu y C. Yu. (2013). Nanoparticles mimicking viral surface topography for enhanced cellular delivery. *Adv Mater*, 25(43): 6233-7. <https://doi.org/10.1002/adma.201302737>.
- Okura, M., J. Fang, M. L. Salto, R. S. Singer, R. Docampo y S. N. Moreno. (2005). A lipid-modified phosphoinositide-specific phospholipase C (TcPI-PLC) is involved in differentiation of trypomastigotes to amastigotes of *Trypanosoma cruzi*. *J Biol Chem*, 280(16): 16235-43. <https://doi.org/10.1074/jbc.M414535200>.
- Olmo, F., F. C. Costa, G. S. Mann, M. C. Taylor y J. M. Kelly. (2018). Optimising genetic transformation of *Trypanosoma cruzi* using hydroxyurea-induced cell-cycle synchronisation. *Mol Biochem Parasitol*, 226: 34-36. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2018.07.002>.
- OPS. (2024). Enfermedad de Chagas - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud (paho.org). <https://www.paho.org/es/temas/enfermedad-chagas>.
- Orrego, P. R., H. Olivares, E. M. Cordero, A. Bressan, M. Cortez, H. Sagua, I. Neira, J. González, J. F. da Silveira, N. Yoshida y J. E. Araya. (2014). A cytoplasmic new catalytic subunit of calcineurin in *Trypanosoma cruzi* and its molecular and functional characterization. *PLoS Negl Trop Dis*, 8(1): e2676. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002676>.
- Padmanabhan, P. K., R. B. Polidoro, N. S. Barteneva, R. T. Gazzinelli y B. A. Burleigh. (2014). Transient transfection and expression of foreign and endogenous genes in the intracellular stages of *Trypanosoma cruzi*. *Mol Biochem Parasitol*, 198(2): 100-3. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2015.02.001>.

- Pérez-Molina, J. A. e I. Molina. (2018). Chagas disease. *Lancet*, 391(10115): 82-94. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(17\)31612-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(17)31612-4).
- Perrault, S. D. y W. M. Shih. (2014). Virus-inspired membrane encapsulation of DNA nanostructures to achieve *in vivo* stability. *ACS Nano*, 8(5): 5132-40. <https://doi.org/10.1021/nn5011914>.
- Punter, M. T., A. Hernández-García, D. J. Kraft, R. de Vries y P. van der Schoot. (2016). Self-assembly dynamics of linear virus-like particles: theory and experiment. *J Phys Chem B*, 120(26): 6286-97. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b02680>.
- Quijia Quezada, C., C. S. Azevedo, S. Charneau, J. M. Santana, M. Chorilli, M. B. Carneiro e I. M. D. Bastos. (2019). Advances in nanocarriers as drug delivery systems in Chagas disease. *Int J Nanomedicine*, 14: 6407-6424. <https://doi.org/10.2147/ijn.S206109>.
- Romero, E. L. y M. J. Morilla. (2010). Nanotechnological approaches against Chagas disease. *Adv Drug Deliv Rev*, 62(4-5): 576-88. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.11.025>.
- San Francisco, Juan, Iván Barria, Bessy Gutiérrez, Iván Neira, Christian Muñoz, Hernán Sagua, Jorge E. Araya, Juan Carlos Andrade, Aníbal Zailberger, Alejandro Catalán, Francisco Remonsellez, José Luis Vega y Jorge González. (2017). Decreased cruzipain and gp85/trans-sialidase family protein expression contributes to loss of *Trypanosoma cruzi* trypomastigote virulence. *Microbes Infect*, 19(1): 55-61. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2016.08.003>.
- Terasaka, N., Y. Azuma y D. Hilvert. (2018). Laboratory evolution of virus-like nucleocapsids from nonviral protein cages. *Proc Natl Acad Sci USA*, 115(21): 5432-5437. <https://doi.org/10.1073/pnas.1800527115>.
- Walls, A. C., B. Fiala, A. Schäfer, S. Wrenn, M. N. Pham, M. Murphy, L. V. Tse, L. Shehata, M. A. O'Connor, C. Chen, M. J. Navarro, M. C. Miranda, D. Pettie, R. Ravichandran, J. C. Kraft, C. Ogohara, A. Palser, S. Chalk, E. C. Lee, K. Guerriero, E. Kepl, C. M. Chow, C. Sydeman, E. A. Hodge, B. Brown, J. T. Fuller, K. H. Dinnon, 3rd, L. E. Gralinski, S. R. Leist, K. L. Gully, T. B. Lewis, M. Guttman, H. Y. Chu, K. K. Lee, D. H. Fuller, R. S. Baric, P. Kellam, L. Carter, M. Pepper, T. P. Sheahan, D. Veasler y N. P. King. (2020). Elicitation of potent neutralizing antibody responses by designed protein nanoparticle vaccines for SARS-CoV-2. *Cell*, 183(5): 1367-1382.e17. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.10.043>.
- WHO. (2024). Enfermedad de Chagas (trypanosomiasis americana). [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)).
- Yang, Y., Y. Hong, G. H. Nam, J. H. Chung, E. Koh e I. S. Kim. (2017). Virus-mimetic fusogenic exosomes for direct delivery of integral membrane proteins to target cell membranes. *Adv Mater*, 29(13). <https://doi.org/10.1002/adma.201605604>.
- Zhang, P., Y. Chen, Y. Zeng, C. Shen, R. Li, Z. Guo, S. Li, Q. Zheng, C. Chu, Z. Wang, Z. Zheng, R. Tian, S. Ge, X. Zhang, N. S. Xia, G. Liu y X. Chen. (2015). Virus-mimetic nanovesicles as a versatile antigen-delivery system. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112(45): E6129-38. <https://doi.org/10.1073/pnas.1505799112>.

- Zhao, Xiu, Yiyang Wang, Wenxiao Jiang, Qiongwei Wang, Jun Li, Zhiyang Wen, Airon Li, Kaixiang Zhang, Zhenzhong Zhang, Jinjin Shi y Junjie Liu. (2022). Herpesvirus-mimicking DNzyme-loaded nanoparticles as a mitochondrial DNA stress inducer to activate innate immunity for tumor therapy. *Adv Mater*, 34(37): 2204585. <https://doi.org/10.1002/adma.202204585>.
- Zhuang, R., M. Chen, Y. Zhou, W. Cheng, T. Zhang, Y. Ni, C. Guo, J. Tu y L. Jiang. (2021). Virus-mimicking liposomal system based on dendritic lipopeptides for efficient prevention ischemia/reperfusion injury in the mouse liver. *ACS Macro Lett*, 10(2): 215-222. <https://doi.org/10.1021/acsmacrolett.0c00743>.
- Zingales, B., M. A. Miles, D. A. Campbell, M. Tibayrenc, A. M. Macedo, M. M. Teixeira, A. G. Schijman, M. S. Llewellyn, E. Lages-Silva, C. R. Machado, S. G. Andrade y N. R. Sturm. (2012). The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: rationale, epidemiological relevance and research applications. *Infect Genet Evol*, 12(2): 240-53. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.12.009>.

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.

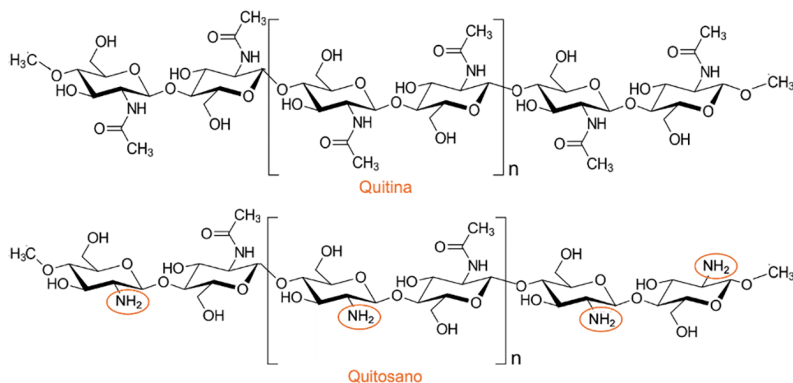
Se destaca la capacidad del quitosano para formar nanopartículas que permiten una fácil funcionalización de su superficie. Esto posiciona al quitosano como un polímero de amplio interés en la nanoformulación de sistemas avanzados de liberación de fármacos (Duceppe y Tabrizian, 2010; Hashad *et al.*, 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>.

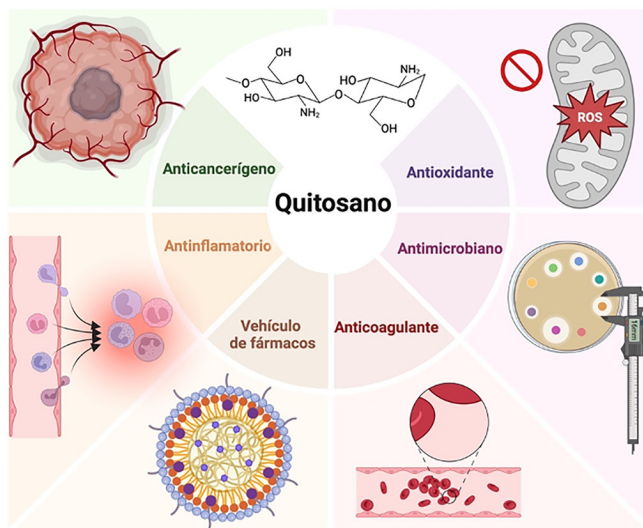
El quitosano es considerado como un biopolímero altamente biocompatible, bioactivo, biodegradable, bioadhesivo y no tóxico (Ardean *et al.*, 2021; Jiménez-Gómez *et al.*, 2020; Kluczka, 2024). Sus propiedades biológicas se deben a su estructura y función, similar a otros glicosaminoglicanos presentes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

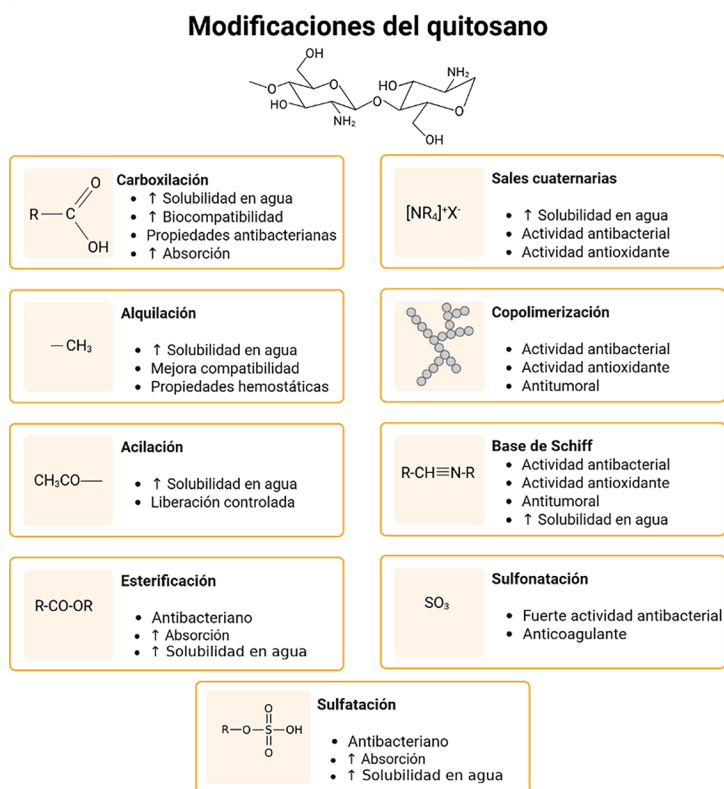
En el ámbito de su aplicación como portador farmacéutico, la modificación por acilación del quitosano optimiza esta propiedad al mejorar el control en la liberación de fármacos. De manera similar, la esterificación del quitosano favorece una mayor absorción en medios ácidos y potencia su actividad antibacteriana. 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).	Autoesamblaje	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).	Autoesamblaje	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 et al. (2023)
		90-190	≥75	607	+27.03	0.84	–	Alta variabilidad en los valores de MIC (0.03-0.20 mg/ml)	
Quitosano/Fluconazol	Candida spp. resistente a fármacos	112.4	88.7	82	+3.36	–	79	Aumento de efecto antimicótico (MIC < 2.75 mg/ml)	El Rabey et al. (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 et al. (2020)
Quitosano	Efecto antiproliferativo	–	80.3	73.96	+41.5	< 0.3	–	Menor efecto citotóxico (viabilidad celular ≈ 50%)	Taher et al. (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).

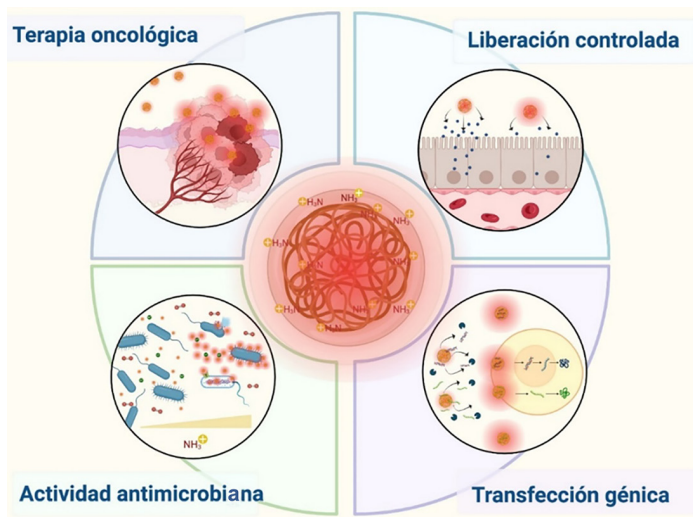
Los mecanismos de acción, influenciados por la carga electrónica, incluyen: 1) permeabilidad selectiva de la membrana celular; 2) inducción de apoptosis; 3) actividad antiangiogénica; 4) modulación del sistema inmunitario, y, 5) defensa antioxidante (H. S. Adhikari y Yadav, 2018).

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 físico-químicas 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.REACTFUNCTPOLYM.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>.

Sílices mesoporosas: del mundo inorgánico a la entrega de fármacos[◇]

Mesoporous silica: from the inorganic world to drug delivery

Mariana G. Flores-Cruz* y Luz M. López-Marín**, †

ABSTRACT: One of the major challenges in current medicine is drug delivery through intelligent systems, a field where nanotechnology has a key impact, given its capacity to produce materials that are commensurable with those in cell and tissue structures. Various nanoparticulate systems have been proposed for drug delivery, with mesoporous silica being one of the most promising ones. Silica is a low-cost inorganic material synthesized through simple methodologies that do not require any sophisticated infrastructures, leading to very versatile structures in size and porosity, compatible with the encapsulation of very distinct drugs, including biological macromolecules, such as proteins and nucleic acids. Herein we describe mesoporous silica as a material for drug delivery, highlighting its potential for the release of biological macromolecules. Strategies for modifying the surface chemistry of mesoporous silica and for their characterization are presented. Finally, progresses about biocompatibility, biodegradation and clinical studies are discussed.

KEYWORDS: mesoporous silica nanoparticles, surface chemistry, biocompatibility, drug delivery.

RESUMEN: Uno de los principales retos en la medicina actual es la entrega de medicamentos a través de sistemas inteligentes, área donde la nanotecnología tiene un impacto clave, dada su capacidad para producir materiales conmensurables con las estructuras de nuestras células y tejidos. Diversos sistemas nanoparticulados han sido propuestos para la liberación de fármacos, y uno de los más prometedores es el uso de la sílice mesoporosa. La sílice es un material inorgánico de bajo costo, el cual puede ser sintetizado a través de metodologías sencillas sin requerir infraestructura sofisticada, y dando lugar a estructuras muy versátiles en tamaño y porosidad, compatibles con el encapsulamiento de fármacos de muy distinta naturaleza, incluyendo biomacromoléculas, tales como proteínas y ácidos nucleicos. En este artículo, presentamos una descripción de las sílices mesoporosas como vectores para la liberación de fármacos, resaltando su potencial para la entrega de biomacromoléculas. Se presentan las estrategias más comunes para la modificación de su química superficial y para su caracterización. Por último, discutimos los estudios más recientes relacionados con su biocompatibilidad, biodegradabilidad y uso en humanos.

PALABRAS CLAVE: nanopartículas de sílice mesoporosa, química de superficie, biocompatibilidad, entrega de fármacos.

Recibido: 6 de enero, 2025.

Aceptado: 16 de abril, 2025.

Publicado: 12 de mayo, 2025.

[◇] Las autoras agradecen el apoyo financiero de la Dirección General de Apoyo al Personal Académico de la UNAM a través del proyecto PAPIIT IT202324.

* Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, becaria para estudios de maestría del programa de Posgrado en Ciencia e Ingeniería de Materiales.

** Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada. Querétaro, México.

† Autora de correspondencia: lmlm@unam.mx



Introducción

Las afecciones a la salud han sido una constante a lo largo de la historia, y aunque la esperanza de vida ha ido en aumento en los últimos 2 siglos, antiguas y nuevas enfermedades siguen representando un flagelo para la humanidad. Tal como pudo atestigüarse con la pandemia de COVID-19, las enfermedades infecciosas, alguna vez visualizadas desde el mundo desarrollado como un asunto controlable, persisten como uno de los principales retos de salud. Por otro lado, las afecciones crónicas, tales como el cáncer o la diabetes, van ganando terreno en todo el mundo. Tradicionalmente, la administración de fármacos ha concentrado sus esfuerzos en pequeñas moléculas bioactivas, capaces de antagonizar procesos ligados a diversas sintomatologías. En general, estas sustancias consisten en moléculas orgánicas de pequeña talla capaces de acoplarse a alguna diana molecular, como puede ser mediante una acción inhibitoria sobre alguna enzima. En los últimos años, la búsqueda de fármacos se ha facilitado enormemente con el uso de cribados in silico, es decir, con el uso de simulaciones por computadora. Con esta estrategia, la selección de nuevos candidatos activos se ha acortado de una manera impensable hasta hace poco tiempo. Más aún, la posibilidad de identificar y de mejorar moléculas terapéuticas ha alcanzado el campo de los fármacos macromoleculares, esto es, de fármacos de estructura nucleica o proteica (Huang *et al.*, 2016). En contraposición con los fármacos tradicionales, generalmente de tallas menores a 1,000 Da, las macromoléculas son polímeros formados por múltiples unidades monoméricas: los ácidos nucleicos —el ácido desoxirribonucleico (DNA, del inglés deoxyribonucleic acid), el ácido ribonucleico (RNA, por ribonucleic acid)— y las proteínas, moléculas formadas por la polimerización de mononucleótidos y de aminoácidos, respectivamente. En las macromoléculas, tanto las tallas moleculares como la diversidad son enormes. Generalmente constituidas por cientos de aminoácidos, las proteínas pueden tener tallas de más de 100 kDa, mientras que los ácidos nucleicos terapéuticos contienen desde unas decenas hasta miles de pares de bases, lo cual corresponde a pesos moleculares desde unos 7 hasta > 5,000 kDa.

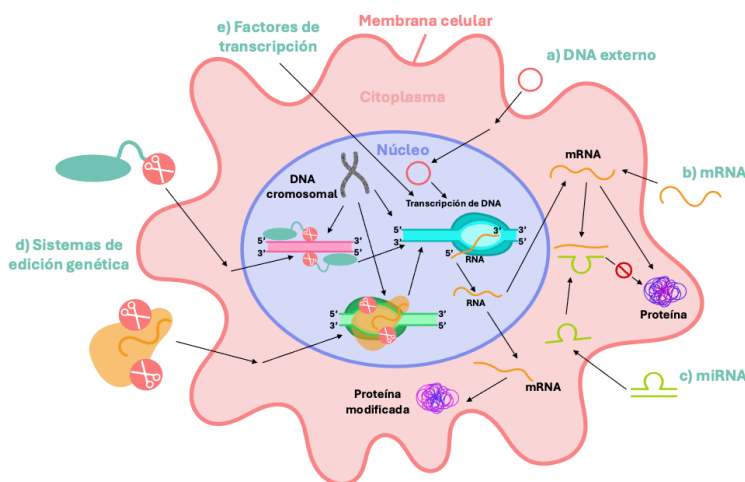
Como arriba se mencionó, los fármacos tradicionales actúan mediante su unión (comúnmente no covalente y reversible) sobre una proteína específica, modificando su acción (Southey y Brunavs, 2023). El sitio de acción de estos fármacos es variable, pues sus moléculas blanco pueden ser intracelulares, como una enzima o una proteína estructural, proteínas de organismos patógenos extracelulares, como muchas bacterias, intracelulares, como los virus, o bien pueden ser proteínas localizadas en la superficie celular, las cuales actúan como receptores de señales. Tal variedad de sitios de acción requiere de una versatilidad en la entrega de fármacos, la cual solamente puede ser resuelta mediante vectores controlados a nivel molecular, es decir, a través de la nanotecnología.

Por su parte, la acción de un fármaco macromolecular conlleva, salvo algunos casos, la introducción de la macromolécula bioactiva (una proteína), o

bien de su precursor biosintético (DNA o RNA) al interior de una célula. En una terapia celular, el objetivo es la corrección o la modulación de productos genéticos asociados con algún proceso patológico. Y es que las proteínas, que son los productos genéticos directos, son las encargadas de prácticamente todas las funciones celulares. No es de extrañarse que cualquier defecto en la estructura de estas macromoléculas se encuentre directa o indirectamente asociado con enfermedades, y que el administrarla en su forma correcta constituya una terapia eficaz. Pero las proteínas son producidas por la maquinaria intracelular de acuerdo con la información codificada en el DNA y transferida del núcleo al citoplasma por el RNA, de manera que una terapia celular puede ser ejecutada con la administración de una proteína, pero también con sus precursores biosintéticos, los cuales tendrán como sitio de acción el núcleo o el citoplasma. En la figura 1 se esquematizan las opciones terapéuticas que la administración de macromoléculas puede promover en una célula. Entre ellas se pueden enumerar: (a) la introducción de genes de un organismo a otro, esto es, la introducción de transgenes, proceso que, por analogía con los eventos llevándose a cabo durante una infección viral, es llamado transfección, y el cual termina con la producción de una proteína terapéutica (figura 1a) (Tuyen Ho *et al.*, 2024); (b) la introducción de un transcrito de RNA mensajero, molécula que actúa fuera del núcleo, en el citoplasma celular (figura 1b) (Leslie, 2024); (c) la introducción de RNAs pequeños (sRNAs), capaces de regular los procesos de descodificación de información en el núcleo (figura 1c) (Miao *et al.*, 2024); finalmente, (d) la introducción de proteínas, moléculas capaces de editar genes defectuosos (figura 1d), o factores de transcripción, los cuales modulan la expresión genética (figura 1e) (Ebrahimi y Samanta, 2023; Liu *et al.*, 2017; Ascic *et al.*, 2024).

Los descubrimientos y tecnologías relacionados con el potencial de macromoléculas en terapias celulares avanzan cada vez con mayor rapidez. Se ha estimado, por ejemplo, que el conocimiento de genes asociados con enfermedades (y cuyos defectos serían susceptibles de corrección) se está incrementando por miles en la presente década (Yin *et al.*, 2017). La liberación de fármacos macromoleculares al interior de una célula resulta, en cambio, un problema persistente: atravesar membranas celulares para entregar DNA ha sido una tarea donde los virus han sido los vectores de elección por excelencia (Lundstrom, 2023); sin embargo, la variabilidad de fondos genéticos en el humano origina una alta incertidumbre en cuanto a la seguridad de manipulaciones genéticas por parte del virus, lo cual resulta en la restricción de estas tecnologías, conocidas como terapias génicas, para la corrección de defectos genéticos terminales (Kachanov *et al.*, 2024). A guisa de ejemplo, la corrección del gene *ada* en humanos afectados por inmunodeficiencia combinada severa (SCID, del inglés: *severe combined immunodeficiency*) se ha realizado desde los años ochenta mediante la entrega de un virus acarreador del gene modificado (Secord y Hartog, 2022). Decenas de personas afectadas por el padecimiento han gozado de una vida normal gracias a dicha terapia.

Figura 1. Estrategias para modificar los productos genéticos de una célula.



(a) La introducción de DNA exógeno, ya sea mediante virus o mediante partículas; (b) la introducción de RNA mensajero (mRNA, precursor directo de la síntesis de proteínas); (c) la introducción de RNAs pequeños (sRNAs, capaces de influir en la traducción de RNA a proteína, y, (d) la introducción de proteínas, incluyendo sistemas de edición genética, capaces de editar el DNA de la célula de manera directa y, (e) factores de transcripción.

Fuente: Elaboración de las autoras.

Sin embargo, algunas de ellas han debido lidiar con efectos secundarios graves, incluidos casos de leucemia generados por el vector viral (Kachanov *et al.*, 2024). Si bien otros vectores virales están exentos de procesos oncogénicos, la interacción de ciertos de ellos con el humano ha causado reacciones inmunológicas exacerbadas, llegando inclusive a la muerte (Kachanov *et al.*, 2024). Por esta razón, la exploración de vectores no virales para la entrega de DNA resulta indispensable para que los beneficios de una terapia génica puedan ser extendidos a los padecimientos que más nos atacan, como algunas enfermedades crónico-degenerativas e infecciosas.

Para su entrega, tanto fármacos tradicionales como macromoléculas comparten algunos requerimientos. Uno de los puntos críticos estará dictado por la facilidad de controlar la química superficial del material, empatando así sus características de fisisorción con las de algún fármaco en particular, según su tipo molecular, carga iónica o polaridad. Así, un material capaz de ser transformado con distintos grupos funcionales mediante reacciones eficientes y sencillas resultará más conveniente para la entrega de fármacos que uno más inerte. Otras de las características buscadas en materiales para entrega de fármacos son su poder de encapsulamiento, un costo rentable y la disponibilidad de procesos sencillos y amigables en su preparación. En cuanto a su interacción con el organismo humano, las características ideales de un vector incluyen su biocompatibilidad, es decir, su capacidad de actuar sin generar toxicidad o efectos indeseables, así como su tasa de eliminación, ya sea

mediante su biodegradabilidad, o por su susceptibilidad a ser secretado mediante vías naturales, como la filtración glomerular.

En este artículo, presentamos un panorama de las nanopartículas de sílice mesoporosas como uno de los recursos más prometedores para la entrega de fármacos, con énfasis en su estructura, su biocompatibilidad y su capacidad de encapsulamiento de fármacos. Finalmente, destacamos algunas de las propuestas más relevantes para el diseño de vectores para la entrega de fármacos basados en sílice.

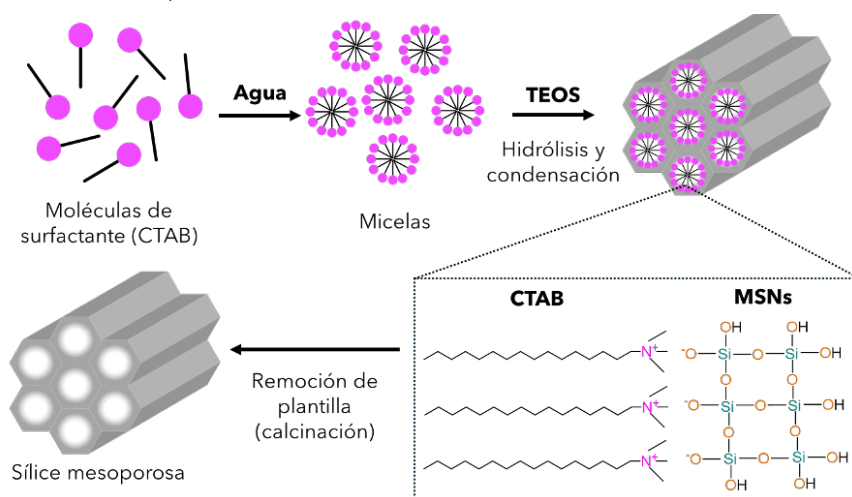
Sílice mesoporosa

Síntesis y características morfológicas

El dióxido de silicio o sílice (SiO_2) es un sólido covalente de gran estabilidad en estado sólido. Se encuentra en grandes cantidades en rocas, arena y suelo, y sus usos son múltiples, desde productos como el vidrio o los ladrillos, hasta productos comestibles (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS) *et al.*, 2018). Como ocurre con otros sólidos covalentes, la sílice existe en forma cristalina o en forma amorfa. A exposición constante, la sílice cristalina es causante de silicosis, una enfermedad inflamatoria del pulmón desencadenada por nuestro sistema de defensa al exhibirse ante nanopartículas cristalinas (Leung *et al.*, 2012). La sílice amorfa, en cambio, ha sido considerada como un material altamente biocompatible para su uso en medicina, como veremos más adelante. Aunados a esta característica, un bajo costo y su facilidad de síntesis han hecho de la sílice amorfa un producto de gran interés a nivel industrial. La aparición de las primeras partículas de sílice esféricas fue a partir de la metodología propuesta por Werner Stober en 1968, con tamaño de partícula rondando los 20-2,000 nm. A partir de 1975 hasta la actualidad, se han desarrollado diferentes tipos de nanopartículas de sílice, las cuales varían en forma y tamaño. El método de síntesis más popular está representado por un proceso de deposición de solución química, mejor conocido como sol-gel. En este método, una solución precursora (sol) que contiene la sal de un elemento metálico o metaloide, como silicio, es expuesta a ambientes conducentes a reacciones de hidrólisis y condensación, para generar una red inorgánica (gel), donde su tamaño y morfología dependerán de las condiciones de la transición de sol a gel (Brinker y Scherer, 1990). Mediante esta técnica, se pueden obtener materiales mesoporosos a partir de plantillas basadas en surfactantes catiónicos o copolímeros. Dado su carácter anfipático, estas moléculas surfactantes se ensamblan automáticamente en arreglos de tallas nanométricas, ocupando espacios ordenados al interior de la sílice, de tal manera que, al condensarse la sílice, dicha plantilla es eliminada mediante procesos de calcinación, para originar un material estructurado con mesoporos (Ha y Park, 2019). En los últimos 35 años, han surgido diferentes clases de familias, donde las más destacadas han sido la familia MCM (del inglés *mobile composition of matter*) con sus ejemplares MCM-41, MCM-48

y MCM-50; la familia SBA (Santa Barbara *amorphous*) con sus ejemplares SBA-15 y SBA-16, y la familia IBN (Institute of Bioengineering and Nanotechnology) con su ejemplar IBN-9. Cada una de estas familias se ha empleado en el campo biomédico para la liberación controlada de fármacos, adsorción/desorción de proteínas, contraste en bioimágenes y teranóstica (la combinación de terapia y diagnóstico a través de un solo sistema). En la figura 2, se muestra la reacción de condensación de la sílice, el principio de síntesis para sílices mesoporosas y algunos ejemplos de variaciones morfológicas y de talla encontradas en sílices de uso común.

Figura 2. Método sol-gel (mecanismo de deposición de solución química) para la obtención de estructuras de sílice mesoporosa.



Los surfactantes (como es el caso del bromuro de cetiltrimetilamonio, CTAB) al estar inmersos en medios acuosos forman micelas que en conjunto se utilizan como una plantilla de la estructura, también conocida como agente director. En presencia de la solución precursora (como es el caso del tetraetil ortosilicato, TEOS) y a través de reacciones de hidrólisis y condensación, se generan redes inorgánicas donde el agente director puede removerse al someterse a tratamientos de calcinación y obtener estructuras mesoporosas de sílice. La obtención de diversos tamaños de poro y partícula, diferentes morfologías y química superficial, dependerá del tipo de surfactante, la fuente de sílice, temperatura de síntesis y el valor de pH del medio de formación.

Fuente: Elaboración de las autoras.

Química superficial, funcionalización y encapsulamiento de fármacos

La sílice mesoporosa destaca por la posibilidad de sintetizar diferentes tamaños de partícula (7 nm - 1 μ m), tamaño y volumen de poro definido, que permita el almacenamiento de moléculas y nanopartículas y extensa área superficial (200-1000 m^2/g). Aunado a ello, los grupos activos de su superficie ofrecen la posibilidad de funcionalizarla con diferentes materias y/o biomoléculas (lípidos, proteínas, moléculas zwitteriónicas, nanopartículas, etc.) (Janjua *et al.*, 2023). En sílices mesoporosas nativas, un pH cercano a 7 (como en

la mayoría de fluidos biológicos) conducirá a una superficie con carga negativa, pues un 19% de sus grupos silanoles (Si-OH) presenta una acidez correspondiente a un pKa de aproximadamente 4.5 (K. Leung, Nielsen y Criscenti, 2009), quedando en su forma ionizada como silanatos (Si-O⁻), lo cual facilitará cualquier interacción electrostática con moléculas catiónicas (R. Huang *et al.*, 2020; R. Zhang *et al.*, 2021). Sin embargo, los grupos silanoles son fácilmente modificables, y tanto el interior de los poros como la superficie exterior de las partículas pueden ser funcionalizadas mediante grupos orgánicos e inorgánicos diversos, para generar un control preciso de sus propiedades físicas y químicas. Así, por ejemplo, fármacos hidrofóbicos pueden ser adsorbidos en sílices modificadas con grupos alquilo (Kortesuo *et al.*, 2001; Wu *et al.*, 2005), mientras que moléculas aniónicas, como el DNA o β -ciclodextrinas, pueden ser retenidas mediante interacciones electrostáticas sobre grupos silanoles que han sido tratados para quedar protonados (Carrasco *et al.*, 2016; Tang *et al.*, 2023). Asimismo, moléculas poliméricas altamente hidrofílicas pueden ser utilizadas para incrementar la estabilidad coloidal de partículas de sílice a través de un impedimento estérico (Von Baeckmann *et al.*, 2021). Todas estas modificaciones superficiales permiten que un amplio abanico de moléculas terapéuticas pueda ser entregado a través de sílices mesoporosas. Entre los grupos funcionales más utilizados para modificación de superficies se encuentran los silanos orgánicos, como el 3-aminopropil trietoxisilano (APTES) y el viniltrietoxi silano (VTES), grupos tiol como el 3-mercaptopropil trimetoxisilano (MPTMS), grupos amino en moléculas poliméricas como la polietilenoimina (PEI) y el polietilenglicol (PEG) o recubrimientos con pequeños fosfatos orgánicos, como los fosfolípidos (Tella *et al.*, 2022). Grupos funcionales catiónicos, como el APTES y el PEI, son ampliamente utilizados para cambiar la carga superficial de la sílice mesoporosa, mejorando su acoplamiento con superficies celulares, las cuales suelen tener cargas netas negativas debido a la presencia de grupos ácidos tanto en algunos fosfolípidos de células eucariotas, como en los ácidos teicoicos de paredes celulares bacterianas.

Si bien las moléculas de pequeña talla, como muchos de los fármacos tradicionales, son absorbidas a través del intestino y atraviesan membranas, su encapsulamiento y entrega a través de un nanoacarreador conlleva a una entrega mucho más eficiente. En este caso, el diseño del vector debe considerar el sitio de acción, la célula blanco, y las interacciones que entre el fármaco y el vector permitirán una alta tasa de encapsulamiento. Pero un aspecto relevante para el encapsulamiento de fármacos es la consideración de tallas: las tallas que una célula es capaz de internalizar y las que un nanoacarreador puede portar. En cuanto al tamaño de los vectores, se ha determinado que tallas menores a 500 nm de diámetro resultan ideales para promover una endocitosis por células no fagocíticas (Sattar *et al.*, 2022), mientras que vectores de tallas de alrededor de una micra serían capturados solamente por células fagocíticas. En el primer caso, el fármaco tendrá como destino algún tejido específico, pudiendo ser direccionado a través de ligandos, tales como anti-

cuerpos o aptámeros anclados a la superficie del vector. Las células fagocíticas, por su parte, representan blancos de acción para la liberación de vacunas de subunidad y de agentes inmunomodulantes (Zhang *et al.*, 2024). Con respecto al material encapsulable, pequeños fármacos de 1 a 1.5 nm pueden ser introducidos al interior de los mesoporos de una sílice (con diámetros de 2 a 50 nm). En contraste, los fármacos macromoleculares presentan tallas que van desde unos 5-20 nm, en el caso de proteínas, como los anticuerpos, hasta dimensiones que corresponderían a diámetros de hasta varias decenas de nanómetros (Tsoi *et al.*, 2010; Lamichhane *et al.*, 2015); en estos casos, la estrategia de encapsulamiento deberá consistir en la adsorción de biomoléculas sobre la superficie externa de las partículas, en conjunto con algún recubrimiento capaz de conferir protección al escape y la degradación. Una estrategia para este fin es la decoración de las partículas con membranas biomiméticas, es decir, mediante una bicapa lipídica, la cual recubre la nanopartícula (Carrasco *et al.*, 2016). Cabe mencionar que las sílices mesoporosas permiten el encapsulamiento mediante un proceso de fisisorción simple, sin requerimientos de una infraestructura costosa, y bajo condiciones compatibles con la preservación de cualquier actividad biológica. De acuerdo con datos reportados en la literatura, la variedad de macromoléculas que pueden ser liberadas a través de sílices mesoporosas incluirían proteínas, DNA plasmídico y RNAs de diversas tallas. En la figura 3, se presentan las diferentes características de las partículas de sílice mesoporosa y los tipos de modificación superficial que pueden realizarse en ellas (Janjua *et al.*, 2023; Siddiqui *et al.*, 2022).

Los principales métodos de modificación superficial se clasifican en tres categorías: modificación por co-condensación, injerto postsíntesis y recubrimiento de superficies (Tarn *et al.*, 2013). En el método de modificación por co-condensación se produce una funcionalización *in situ*, partiendo de la co-condensación de alcoxisilanos hidrolizados (como es el caso del TEOS) y organoalcoxisilanos, ocasionando una funcionalización en la superficie interna de los poros. Los organosilanos hidrolizados son de naturaleza anfipática y trabajan como co-surfactantes, acoplándose a las micelas generadas por el surfactante. Debido a la condensación de la sílice y el organoalcoxisilano, la fracción orgánica se posiciona directamente en la superficie de los poros. Existe la posibilidad de generar estructuras núcleo-coraza al sintetizar nanopartículas de sílice mesoporosa en la superficie de nanopartículas metálicas, formando nanopartículas híbridas. Este método es ampliamente utilizado debido a la mejora de las propiedades de unión entre las paredes de los poros en las partículas de sílice y algún grupo orgánico, dando lugar a una dispersión homogénea de los grupos funcionales sobre la estructura de sílice mesoporosa. Además, se pueden obtener superficies hidrófobas que atraen fuertemente a fármacos apolares como el nimodipino, utilizado en tratamientos contra enfermedades cerebrales, prolongando así el tiempo de biodisponibilidad (Shi *et al.*, 2011).

El método de injerto postsíntesis consiste en modificar la superficie de un material previamente sintetizado mediante reacciones químicas de con-

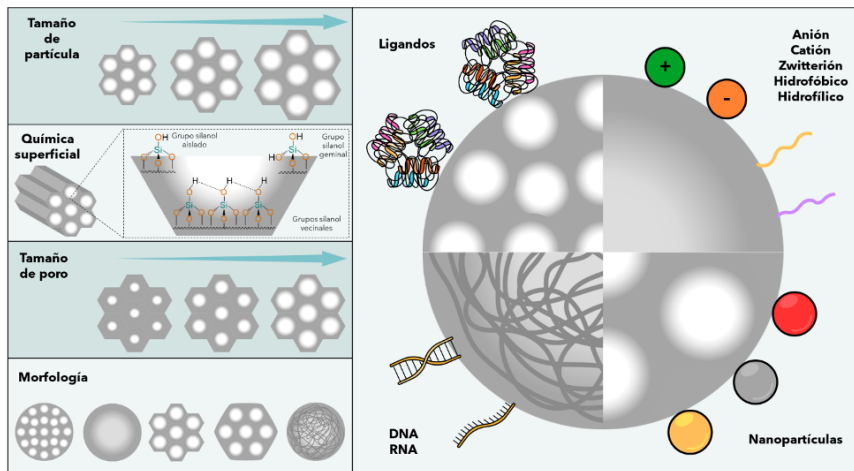
densación. Tomando en cuenta la presencia de grupos silanoles en la superficie exterior y en la superficie al interior de los poros, un método común de funcionalización es la reacción con organosilanos, en donde una monocapa del grupo funcional añadido queda autoensamblada. Por ejemplo, la reacción de silanoles, $-\text{SiOH}/-\text{SiO}-$, con APTES generará la formación de grupos aminopropilo sobre la superficie, $-\text{Si}(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_3^+$. Para controlar la dirección y nivel de modificación por este método, se suele realizar una doble funcionalización en técnicas de sol-gel, tanto antes como después de la remoción del agente director, permitiendo la funcionalización de aquellos grupos silanol presentes en el interior de los poros. Algunos grupos funcionales con los cuales pueden reaccionar los hidroxilo ($-\text{OH}$) presentes en los grupos silanol son los grupos tiol, fosfato, amino (que proporcionan cargas positivas), carboxilo (que proporcionan cargas negativas), y cadenas orgánicas. Este tipo de funcionalizaciones son empleadas para la liberación controlada de biomoléculas en ambientes fisiológicos específicos, donde estímulos particulares intrínsecos, como cambios en el pH, o externos, tales como campos magnéticos o estímulos luminosos pueden inducir la degradación de las partículas (Huang, Rui *et al.*, 2020).

Finalmente, el método conocido como recubrimiento de superficies actúa mediante mecanismos de adsorción por enlaces e interacciones no covalentes (principalmente electrostáticas) de ligandos. Para su ejecución, se pueden emplear moléculas catiónicas, aniónicas, zwitteriónicas, fluorescentes, lípidos, moléculas poliméricas o nanopartículas, permitiendo combinar las propiedades de distintos componentes, y generar superficies multifuncionales. Asimismo, se pueden emplear bicapas de lípidos previamente autoensambladas para decorar la superficie de las partículas de manera biomimética (Valdemar-Aguilar *et al.*, 2020), o biomembranas aisladas de células crecidas *in vitro* (Magallanes-Puebla y López-Marín, 2023). Hasta ahora, aunque esta última alternativa es sumamente atractiva por la bioactividad y especificidad de cada estirpe celular, las membranas sintéticas han sido más utilizadas, al permitir un mayor control en su fabricación, la incorporación de polímeros que mejoran la estabilidad coloidal, y mayores posibilidades de escalamiento en su producción.

En suma, cada uno de estos métodos de modificación y funcionalización superficial de sílices resultan fáciles de realizar gracias a la química superficial de los grupos silanol, y permiten la obtención de sistemas específicos para el encapsulamiento de una gran variedad de fármacos, así como su aplicación potencial en distintos procesos biomédicos.

Un paso clave para la determinación de las adecuadas características estructurales, fisicoquímicas y toxicológicas de este tipo de sistemas es a través de técnicas de caracterización tanto a nivel estructural como biológico. Con respecto a la caracterización estructural, resulta esencial la determinación de características morfológicas, dimensionales y estructurales de la sílice mesoporosa, para lo cual la microscopía electrónica de barrido (SEM) y la micros-

Figura 3. Representación esquemática de algunas características modificables en las partículas de sílice mesoporosa.



La naturaleza tanto de la fuente precursora de sílice, como del surfactante utilizado como agente director, influirán en el tipo de morfología obtenida. La relación fuente precursora-surfactante influye, además, en el tamaño de partícula y en la porosidad. Las sílices mesoporosas exhiben grupos silanoles que se encuentran desprotonados a pH neutro, lo cual determina su dispersión y los métodos para su funcionalización. Para modificarlas se pueden emplear moléculas con grupos funcionales específicos, biomoléculas, nanopartículas fluorescentes e híbridas, ligandos para la activación celular, moléculas poliméricas y material genético que se adhieran por interacciones supramoleculares.

Fuente: Elaboración de las autoras.

copía electrónica de transmisión (TEM) representan las técnicas más utilizadas. El tamaño hidrodinámico de sílices en suspensión, así como el índice de polidispersidad de estos tamaños son factores cruciales, al permitir conocer la estabilidad del sistema en medios acuosos. Para obtenerlos, la técnica utilizada es la dispersión dinámica de luz (DLS), la cual suele obtenerse en equipos donde, adicionalmente, un análisis electroforético permite conocer el potencial Zeta de las partículas, parámetro relacionado con cargas superficiales y, por lo tanto, con modificaciones superficiales o material encapsulado (Croissant *et al.*, 2020). A través de pruebas de difracción por rayos X (XRD) a bajos ángulos se pueden establecer parámetros correspondientes a las reflexiones de Bragg que, en el caso de sílices amorfas, dan cuenta de los arreglos ordenados del material, así como del tamaño aproximado de los poros (Garrido-Cano *et al.*, 2021). Mediante análisis de isothermas de adsorción y desorción de N₂ se pueden determinar parámetros texturales: el tamaño de poro, deducido por el método de Barrett-Joyner-Halenda (BJH), y el área superficial, a través de la ecuación de Brunauer-Emmet-Teller (BET) (Huang *et al.*, 2014). Por otro lado, el uso de técnicas espectroscópicas permite la identificación de grupos funcionales presentes en la estructura. Por ejemplo, la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) ofrece una muy buena aproximación de los grupos funcionales presentes, al generar sus distintas geometrías y entornos

electrónicos, bandas de absorción determinadas. Así, estos análisis pueden brindar información no solamente de grupos propios de la estructura, sino de remanentes de síntesis altamente tóxicos en el lote analizado, tales como los surfactantes. Por su parte, análisis espectroscópicos más sofisticados, específicamente la resonancia magnética nuclear de estado sólido, hacen posible la discriminación entre distintos grupos silanoles o la caracterización de la distribución espacial y de la concentración de modificaciones en la superficie de la sílice (Luhmer *et al.*, 1996; Kobayashi *et al.*, 2017).

Sílices mesoporosas en entornos biológicos

El ser humano está frecuentemente expuesto al silicio debido a su presencia en alimentos esenciales como pescado y verduras; y se encuentra en ciertas zonas del cuerpo humano como huesos y piel. Anteriormente se mencionó que la sílice cristalina puede causar enfermedades pulmonares como silicosis. Sin embargo, no se ha demostrado que las nanopartículas de sílice amorfas causen dicha enfermedad, cuyo origen se asocia con la fagocitosis de nanocristales únicamente (Hornung *et al.*, 2008). En dosis apropiadas, las nanopartículas de sílice mesoporosas destacan por su biocompatibilidad dado que en entornos fisiológicos inducen un ataque nucleofílico por iones OH⁻ que causan la ruptura de sus enlaces siloxano (Si-O-Si) y generan como producto ácido silícico, el cual no es tóxico, y es excretado en orina (Janjua *et al.*, 2023; Kankala *et al.*, 2020; Zhang, Chengcheng *et al.*, 2022). En la actualidad, la sílice mesoporosa se considera un nanosistema apropiado para aplicaciones en diversas áreas tecnológicas, científicas e industriales, como alimentaria y cosmetológica, además de su uso emergente en clínica como nanotransportador de fármacos.

A causa del creciente campo de investigación de la sílice mesoporosa para aplicaciones biomédicas, es de suma importancia realizar estudios que demuestren su bioseguridad. Autoridades regulatorias como la United States Food and Drug Administration (FDA) y la European Medicines Agency (EMA) consideran a la sílice amorfa como *generally recognized as safe* (GRAS, por sus siglas en inglés) (Chen *et al.*, 2013). No obstante, así como se han desarrollado nanosistemas basados en nanopartículas de sílice mesoporosa, también hay una constante investigación de este material en cuanto a su bioseguridad en diversas líneas celulares *in vitro* como fibroblastos y células del sistema inmunológico entre las cuales se encuentran macrófagos y células dendríticas, donde se ha demostrado una baja toxicidad y alta biocompatibilidad (Abbasi *et al.*, 2021; Wagner *et al.*, 2021). Asimismo, se han realizado estudios *in vivo* en modelos de mamíferos que registran resultados no significativos en cuanto a su efecto toxicológico en órganos y tejidos (Cabellos *et al.*, 2020; Huang *et al.*, 2011). En el humano, se han implementado terapias basadas en estos nanomateriales, los cuales demuestran biocompatibilidad (Tan *et al.*, 2014).

Los ensayos *in vitro* constituyen el primer paso para identificar posibles daños causados por un nuevo material, y evitar daños innecesarios con

pruebas en animales. Los más comunes involucran ensayos colorimétricos simples, capaces de brindar información sobre la integridad celular, la actividad metabólica y la capacidad de proliferación. Uno de los más utilizados es el basado en la medición de la actividad de deshidrogenasa mitocondrial, también llamado ensayo del MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio bromuro) (Li *et al.*, 2015). El principio de esta prueba consiste en medir la capacidad de las células vivas para transformar un sustrato de dicha enzima mitocondrial, generando un producto colorido que puede ser medido por espectrofotometría. Existen distintas vías de administración para la entrega de fármacos, por lo cual estos sistemas de entrega pueden requerir pruebas específicas. Por ejemplo, la entrega de fármacos por vía intravenosa requerirá asegurar la ausencia de un efecto tóxico sobre los glóbulos rojos, la estirpe celular más susceptible a cambios de presión osmótica (Hosseinpour *et al.*, 2020). Otro tipo de ensayos corresponde a la búsqueda de respuestas inmunotóxicas, las cuales pueden provenir del material en sí, pero también de contaminantes bacterianos arrastrados durante su producción, lo cual podría derivar en una interpretación errónea sobre los datos de seguridad de los materiales (Clogston *et al.*, 2024). De manera importante, la generación de inmunotoxicidad puede desencadenar daños en el material genético, así como oxidación de lípidos presentes en la membrana celular conllevando a la muerte celular. Por ello, son necesarias tanto la cuantificación de citocinas y de especies reactivas de oxígeno (ROS) liberadas por células inmunitarias, como pruebas para la detección de agentes tóxicos bacterianos o fúngicos, tales como endotoxinas y beta-glucano. Para estos análisis, las técnicas analíticas más comúnmente utilizadas son los ensayos inmunoenzimáticos (ELISA, del inglés: *enzyme-linked immunosorbent assay*), la citometría de flujo (FACS, del inglés: *fluorescence-assisted cell sorting*), y la microscopía de fluorescencia confocal, la cual permite determinar la localización de partículas en el interior de las células, así como los mecanismos de captación (Heidegger *et al.*, 2016). Los resultados en este tipo de ensayos y técnicas suelen ser complejos, al no limitarse únicamente a la supervivencia de las células, sino también a la descripción de los procesos de interacción, a sus mecanismos de acción (vías de internalización) y al tipo de muerte celular.

En relación con la sílice, a pesar de las alentadoras evaluaciones *in vitro*, aún existen discrepancias en los resultados *in vivo* atribuidos a los entornos sofisticados de las barreras biológicas, como las múltiples capas que conforman la piel, microambiente tumoral hostil, restrictividad de la barrera hematoencefálica, dificultad de integridad de nanosistemas basados en sílice mesoporosa en barreas mucosas gastrointestinales y acumulación en el sistema digestivo. Estas deficiencias en su estudio limitan su aplicación. Entre las investigaciones exhaustivas sobre sílices mesoporosas destacan estudios con el fin de determinar distintos parámetros y su efecto en la eficacia como nanoacarreador, incluyendo el diseño, tamaño y modificación superficial. Su biodegradación depende de múltiples factores y se ha demostrado que altos niveles de porosidad, ta-

maño de partícula pequeño (< 10 nm), morfología esférica, carga superficial neutra o catiónica, funcionalización con PEG y acoplamiento de ligandos resultan en un aumento de su estabilidad coloidal, facilitando su degradación (Janjua *et al.*, 2023). Su biodistribución está estrechamente relacionada con sus propiedades físicas, químicas, tasa de disolución y permeabilidad de tejidos por interacciones celulares. Estudios de biodistribución demostraron que nanopartículas de sílice mesoporosa de gran tamaño o aquellas no funcionalizadas con PEG tienden a acumularse en órganos como hígado, riñón y bazo (Niroumand *et al.*, 2023; Hosseinpour *et al.*, 2020), generando la interrogante de su efecto citotóxico a largo plazo y destacando la necesidad de mayor investigación sobre los riesgos de exposición crónica. Como ya se mencionó, se ha demostrado que la incorporación de PEG mejora la estabilidad coloidal de las partículas en fluidos biológicos, reduciendo la respuesta inflamatoria. Asimismo, se ha reportado que la adición de biomoléculas, en particular galactooligosacáridos, minimizan su citotoxicidad y mejoran la focalización específica (Heidegger *et al.*, 2016; Barguilla *et al.*, 2023). Si bien las nanopartículas de sílice mesoporosa presentan una baja citotoxicidad y un enorme potencial como plataformas para la administración de fármacos, su biocompatibilidad y biodistribución está fuertemente relacionada con el nivel de dosis, tamaño de partícula, características de modificación y funcionalización superficial. Se han desarrollado estrategias en cuanto a diseño de superficies inteligentes y administración focalizada que proporcionan avances significativos, aunque se requieren más datos de su seguridad a largo plazo y mayor investigación en modelos *in vivo* sistemáticos sobre su farmacocinética.

La sílice amorfa ha sido reconocida como un material seguro, impulsando una gran cantidad de estudios clínicos en humanos. En la tabla 1 se presentan varias aplicaciones representativas de los últimos años del uso de la sílice mesoporosa como vector para la entrega de fármacos. Desde 2011, la FDA aprobó el uso de nanopartículas menores a 10 nm como un agente teranóstico en protocolos de investigación (Benezra *et al.*, 2011). En formato coloidal, tanto la FDA como la Autoridad Europea de Seguridad en Alimentos aprobaron su uso como aditivo en la manufactura de tabletas, considerando seguro un consumo de hasta 1,500 mg/día (Hagman *et al.*, 2020). Más aún, nanopartículas de tipo núcleo-coraza, constituidas de magnetita recubiertas de sílice amorfa se encuentran disponibles comercialmente para su uso en imagenología de cáncer (GastroMARK[®]) y ablación térmica de tumores de glía y de próstata (NanoTherm[®]) (Kirla *et al.*, 2023). Finalmente, un nanosistema formado por sílice con recubrimiento entérico para el encapsulamiento de ácidos nucleicos, para su ingesta oral y absorción en el intestino, ha iniciado recientemente un ensayo preclínico. El nanosistema está basado en el nanoacarreador de sílice Nuvec[®], el cual había sido propuesto para liberación de ácidos nucleicos (Theobald, 2020) y fue ahora utilizado para el encapsulamiento de inhibidores de la citocina proinflamatoria TNF- α para el tratamiento de enfermedad inflamatoria intestinal (N4 Pharma plc, 2024).

Tabla 1. Aplicaciones biomédicas recientes de nanopartículas de sílice mesoporosa para liberación de fármacos.

Tipo de sílice y nombre	Aplicación	Resultados obtenidos	Referencia
MCM-41@βGAL	Determinación de efectos adversos y daño en el material genético.	Efectos adversos menores en comparativa de medicamentos clínicamente aprobados.	Barguilla <i>et al.</i> (2023)
FeO@Sílice GastroMARK® y NanoTherm®	Imagenología y terapia térmica.	Obtención de imágenes para detección de cáncer y ablación térmica tumoral.	Kirla <i>et al.</i> (2023)
SiNPs Nuvec®	Encapsulamiento de ácidos nucleicos para inmunoterapia.	Sistema administrativo potencialmente seguro y alternativa en la formulación de vacunas.	Theobald (2020)
MSNs-5-FU	Carga de fármaco 5-fluorouracilo (5-FU) para quimioterapia contra cáncer.	Citotoxicidad dirigida contra células cancerígenas.	Narayan <i>et al.</i> (2021)
MCM-41@HA-C	Administración de curcumina como terapia anticancerígena.	Reducción tumoral <i>in vivo</i> .	Ghosh <i>et al.</i> (2021)
MCM-48@TPA	Desarrollo de nanotransportador para la liberación controlada del fármaco clorhidrato de doxorrubicina (DOX) como terapia contra cáncer.	Nanotransportador biocompatible, propiedades anticancerígenas y disminución tumoral <i>in vivo</i> .	Dasgupta <i>et al.</i> (2022)

Fuente: Elaboración de las autoras.

Conclusiones

La sílice mesoporosa constituye un material altamente prometedor como sistema de acarreo de fármacos. Es un sistema de bajo costo, fácilmente modulable en cuanto a su tamaño, forma, tamaño de poro y química de superficie, además de permitir el encapsulamiento de fármacos por simple fisisorción. Numerosos estudios han confirmado su biocompatibilidad y biodegradabilidad en sistemas biológicos *in vitro*, así como en modelos animales. Nuevos diseños de este tipo de material como acarreador de fármacos continuarán viendo la luz, pero la exploración sistemática en cuanto a la farmacocinética de cada formulación individual resulta urgente antes de su traslado a la clínica.

Contribución de autorías

Mariana G. Flores-Cruz: Concepción y diseño del artículo, minería de datos, análisis e interpretación, redacción del borrador original.
Luz María López-Marín: Concepción y diseño del artículo, minería de datos, análisis e interpretación, revisión y edición final del texto.

Referencias

- Abbasi, Fariba, Mohammad Reza Samaei, Hassan Hashemi, Amir Savardashtaki, Aboalfazl Azhdarpoor, Mohammad Javad Fallahi, Mahrokh Jalili y Sylvain Bilet. (2021). The toxicity of SiO₂ NPs on cell proliferation and cellular uptake of human lung fibroblastic cell line during the variation of calcination temperature and its modeling by artificial neural network. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 19(1): 985-95. <https://doi.org/10.1007/s40201-021-00663-4>.
- Asci, Ervin, Fritiof Åkerström, Malavika Sreekumar Nair, André Rosa, Ilia Kurochkin, Olga Zimmermannova, Xavier Catena *et al.* (2024). *In vivo* dendritic cell reprogramming for cancer immunotherapy. *Science*, 386(6719): eadn9083. <https://doi.org/10.1126/science.adn9083>.
- Barguilla, Irene, Vicente Candela-Noguera, Patrick Oliver, Balasubramanyam Ananngi, Paula Díez, Elena Aznar, Ramón Martínez-Mañez, Ricard Marcos, Alba Hernández y María Dolores Marcos. (2023). Toxicological profiling and long-term effects of bare, PEGylated- and galacto-oligosaccharide-functionalized mesoporous silica nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(22): 16158. <https://doi.org/10.3390/ijms242216158>.
- Benezra, Miriam, Oula Penate-Medina, Pat B. Zanzonico, David Schaer, Hooisweng Ow, Andrew Burns, Elisa DeStanchina *et al.* (2011). Multimodal silica nanoparticles are effective cancer-targeted probes in a model of human melanoma. *Journal of Clinical Investigation*, 121(7): 2768-80. <https://doi.org/10.1172/JCI45600>.
- Brinker, C. Jeffrey y George W. Scherer. 1990. *Sol-gel science: the physics and chemistry of sol-gel processing*. Boston: Academic Press.
- Cabellos, Joan, Irene Gimeno-Benito, Julia Catalán, Hanna K. Lindberg, Gerard Vales, Elisabet Fernández-Rosas, Radu Ghemis *et al.* (2020). Short-term oral administration of non-porous and mesoporous silica did not induce local or systemic toxicity in mice. *Nanotoxicology*, 14(10): 1324-41. <https://doi.org/10.1080/17435390.2020.1818325>.
- Carrasco, Giovana, Luz M. López-Marín, Francisco Fernández, Pedro Salas, Achim M. Loske y Blanca E. Millán-Chiu. (2016). Biomimetic coat enables the use of sonoporation to assist delivery of silica nanoparticle-cargoes into human cells. *Biointerphases*, 11(4): 04B303. <https://doi.org/10.1116/1.4965704>.
- Chen, Yu, Hangrong Chen y Jianlin Shi. (2013). *In vivo* bio-safety evaluations and diagnostic/therapeutic applications of chemically designed mesoporous silica nanoparticles. *Advanced Materials*, 25(23): 3144-76. <https://doi.org/10.1002/adma.201205292>.
- Clogston, Jeffrey D., Rachael M. Crist, Marina A. Dobrovolskaia y Stephan T. Stern (eds.) (2024). *Characterization of nanoparticles intended for drug delivery*. Vol. 2789. *Methods in molecular biology*. Nueva York, N.Y.: Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3786-9>.
- Croissant, Jonas G., Kimberly S. Butler, Jeffrey I. Zink y C. Jeffrey Brinker. (2020).

- Synthetic amorphous silica nanoparticles: toxicity, biomedical and environmental implications. *Nature Reviews Materials*, 5(12): 886-909. <https://doi.org/10.1038/s41578-020-0230-0>.
- Dasgupta, Debatrayee, Manita Das, Sonal Thakore, Anjali Patel, Sunny Kumar y Srimam Seshadri. (2022). Development of a controlled sustainable anticancer drug delivery nanosystem comprising doxorubicin and functionalized MCM-48. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 72(junio):103419. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103419>.
- Ebrahimi, Sasha B. y Devleena Samanta. (2023). Engineering protein-based therapeutics through structural and chemical design. *Nature Communications*, 14(1): 2411. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38039-x>.
- EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS), Maged Younes, Peter Aggett, Fernando Aguilar, Riccardo Crebelli, Birgit Dusemund, Metka Filipič *et al.* (2018). Re-evaluation of silicon dioxide (E 551) as a food additive. *EFSA Journal*, 16(1). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5088>.
- Garrido-Cano, Iris, Vicente Candela-Noguera, Guadalupe Herrera, Juan Miguel Cejalvo, Ana Lluch, M. Dolores Marcos, Félix Sancenon, Pilar Eroles y Ramón Martínez-Máñez. (2021). Biocompatibility and internalization assessment of bare and functionalised mesoporous silica nanoparticles. *Microporous and Mesoporous Materials*, 310(enero): 110593. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2020.110593>.
- Ghosh, Shatadal, Sayanta Dutta, Abhijit Sarkar, Mousumi Kundu y Parames C. Sil. (2021). Targeted delivery of curcumin in breast cancer cells via hyaluronic acid modified mesoporous silica nanoparticle to enhance anticancer efficiency. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 197(enero): 111404. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111404>.
- Ha, Chang-Sik y Sung Soo Park. (2019). *Periodic mesoporous organosilicas: preparation, properties and applications*. (Springer Series in Materials Science, 281). Singapore: Springer Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-2959-3>.
- Hagman, Emilia, Amira Elimam, Natalia Kupferschmidt, Kerstin Ekbom, Stephan Rössner, Muhammad Naeem Iqbal, Eric Johnston, Maria Lindgren, Tore Bengtsson y Pernilla Danielsson. (2020). Oral intake of mesoporous silica is safe and well tolerated in male humans. Hanspeter Nägeli (ed.). *PLOS ONE*, 15(10): e0240030. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240030>.
- Heidegger, Simon, Dorothee Gößl, Alexandra Schmidt, Stefan Niedermayer, Christian Argyo, Stefan Endres, Thomas Bein y Carole Bourquin. (2016). Immune response to functionalized mesoporous silica nanoparticles for targeted drug delivery. *Nanoscale*, 8(2): 938-48. <https://doi.org/10.1039/C5NR06122A>.
- Hornung, Veit, Franz Bauernfeind, Annett Halle, Eivind O. Samstad, Hajime Kono, Kenneth L. Rock, Katherine A. Fitzgerald y Eicke Latz. (2008). Silica crystals and aluminum salts activate the NALP3 inflammasome through phagosomal destabilization. *Nature Immunology*, 9(8): 847-56. <https://doi.org/10.1038/ni.1631>.
- Hosseinpour, Sepanta, Laurence J. Walsh y Chun Xu. (2020). Biomedical application of mesoporous silica nanoparticles as delivery systems: a biological safety perspec-

- tive. *Journal of Materials Chemistry B*, 8(43): 9863-76. <https://doi.org/10.1039/D0TB01868F>.
- Huang, Po-Ssu, Scott E. Boyken y David Baker. (2016). The coming of age of de novo protein design. *Nature*, 537(7620): 320-27. <https://doi.org/10.1038/nature19946>.
- Huang, Rui, Yi-Wen Shen, Ying-Yun Guan, Yi-Xin Jiang, Ye Wu, Khalid Rahman, Li-Jun Zhang, Hai-Jun Liu y Xin Luan. (2020). Mesoporous silica nanoparticles: facile surface functionalization and versatile biomedical applications in oncology. *Acta Biomaterialia*, 116(octubre):1-15. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.09.009>.
- Huang, Xinglu, Linlin Li, Tianlong Liu, Nanjing Hao, Huiyu Liu, Dong Chen y Fangqiong Tang. (2011). The shape effect of mesoporous silica nanoparticles on biodistribution, clearance, and biocompatibility *in vivo*. *ACS Nano*, 5(7): 5390-99. <https://doi.org/10.1021/nn200365a>.
- Huang, Xinyue, Neil P. Young y Helen E. Townley. (2014). Characterization and comparison of mesoporous silica particles for optimized drug delivery. *Nanomaterials and Nanotechnology*, 4(enero): 2. <https://doi.org/10.5772/58290>.
- Janjua, Taskeen Iqbal, Yuxue Cao, Freddy Kleitz, Mika Linden, Chengzhong Yu y Amirali Popat. (2023). Silica nanoparticles: a review of their safety and current strategies to overcome biological barriers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 203(diciembre): 115115. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2023.115115>.
- Kachanov, Artyom, Anastasiya Kostyusheva, Sergey Brezgin, Ivan Karandashov, Natalia Ponomareva, Andrey Tikhonov, Alexander Lukashev *et al.* (2024). The menace of severe adverse events and deaths associated with viral gene therapy and its potential solution. *Medicinal Research Reviews*, 44(5): 2112-93. <https://doi.org/10.1002/med.22036>.
- Kankala, Ranjith Kumar, Ya-Hui Han, Jongbeom Na, Chia-Hung Lee, Ziqi Sun, Shibin Wang, Tatsuo Kimura *et al.* (2020). Nanoarchitected structure and surface biofunctionality of mesoporous silica nanoparticles. *Advanced Materials*, 32(23): 1907035. <https://doi.org/10.1002/adma.201907035>.
- Kirla, Haritha, David J. Henry, Shirley Jansen, Peter L. Thompson y Juliana Hamzah. (2023). Use of silica nanoparticles for drug delivery in cardiovascular disease. *Clinical Therapeutics*, 45(11): 1060-68. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2023.08.017>.
- Kobayashi, Takeshi, Dilini Singappuli-Arachchige, Zhuoran Wang, Igor I. Slowing y Marek Pruski. (2017). Spatial distribution of organic functional groups supported on mesoporous silica nanoparticles: a study by conventional and DNP-enhanced²⁹ Si solid-state NMR. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 19(3): 1781-89. <https://doi.org/10.1039/C6CP07642D>.
- Kortesuo, Pirjo, Manja Ahola, Minna Kangas, Tiina Leino, Sirpa Laakso, Lauri Vuorilehto, Antti Yli-Urpo, Juha Kiesvaara y Martti Marvola. (2001). Alkyl-substituted silica gel as a carrier in the controlled release of dexmedetomidine. *Journal of Controlled Release*, 76(3): 227-38. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(01\)00428-X](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(01)00428-X).
- Lamichhane, Tek N., Rahul S. Raiker y Steven M. Jay. (2015). Exogenous DNA loading into extracellular vesicles via electroporation is size-dependent and enables limited gene delivery. *Molecular Pharmaceutics*, 12(10): 3650-57. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.5b00364>.

- Leslie, Mitch. (2024). Edit the messenger. *Science*, 386(6720): 368-71. <https://doi.org/10.1126/science.adu0428>.
- Leung, Chi Chiu, Ignatius Tak Sun Yu y Weihong Chen. (2012). Silicosis. *The Lancet*, 379(9830): 2008-18. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60235-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60235-9).
- Leung, Kevin, Ida M. B. Nielsen y Louise J. Criscenti. (2009). Elucidating the bimodal acid-base behavior of the water-silica interface from first principles. *Journal of the American Chemical Society*, 131(51): 18358-65. <https://doi.org/10.1021/ja906190t>.
- Li, Weijia, Jing Zhou y Yuyin Xu. (2015). Study of the *in vitro* cytotoxicity testing of medical devices. *Biomedical Reports*, 3(5): 617-20. <https://doi.org/10.3892/br.2015.481>.
- Liu, Chang, Li Zhang, Hao Liu y Kun Cheng. (2017). Delivery strategies of the CRISPR-Cas9 gene-editing system for therapeutic applications. *Journal of Controlled Release*, 266(noviembre): 17-26. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.09.012>.
- Luhmer, M., J. B. d'Espinose, H. Hommel y A. P. Legrand. (1996). High-resolution 29Si solid-state NMR study of silicon functionality distribution on the surface of silicas. *Magnetic Resonance Imaging*, 14(7-8): 911-13. [https://doi.org/10.1016/S0730-725X\(96\)00180-4](https://doi.org/10.1016/S0730-725X(96)00180-4).
- Lundstrom, Kenneth. (2023). Viral vectors in gene therapy: where do we stand in 2023? *Viruses*, 15(3): 698. <https://doi.org/10.3390/v15030698>.
- Magallanes-Puebla, Alejandro, Luz María López-Marín. (2023). Lipid bilayer-coated nanoparticles: mimetism for biomedical applications. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología*, 16(31): 1e-15e. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2023.31.69797>.
- Miao, Yuxi, Chen Fu, Zhaojin Yu, Lifeng Yu, Yu Tang y Minjie Wei. (2024). Current status and trends in small nucleic acid drug development: leading the future. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 14(9): 3802-17. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2024.05.008>.
- N4 Pharma plc. (2024). *N4 Pharma announces pre-clinical development of an oral RNA IBD treatment using Nuvec: N4 101*. Diciembre 5. <https://www.biospace.com/press-releases/n4-pharma-announces-pre-clinical-development-of-an-oral-rna-ibd-treatment-using-nuvec-n4-101>.
- Narayan, Reema, Shivaprasad Gadag, Rajeev J. Mudakavi, Sanjay Garg, Ashok M. Raichur, Yogendra Nayak, Suvarna G. Kini, Karkala Sreedhara Ranganath Pai y Usha Y. Nayak. (2021). Mesoporous silica nanoparticles capped with chitosan-glucuronic acid conjugate for pH-responsive targeted delivery of 5-fluorouracil. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 63(junio): 102472. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102472>.
- Niroumand, Uranous, Negar Firouzabadi, Ghazal Goshtasbi, Bahareh Hassani, Parisa Ghasemiyeh y Soliman Mohammadi-Samani. (2023). The effect of size, morphology and surface properties of mesoporous silica nanoparticles on pharmacokinetic aspects and potential toxicity concerns. *Frontiers in Materials*, 10(junio): 1189463. <https://doi.org/10.3389/fmats.2023.1189463>.
- Sattar, Rabia, Faisal Shahzad, Tehmeena Ishaq, Rubina Mukhtar y Asima Naz. (2022).

- Nano-drug carriers: a potential approach towards drug delivery methods. *Chemistry Select*, 7(22): e202200884. <https://doi.org/10.1002/slct.202200884>.
- Secord, Elizabeth y Nicholas L. Hartog. (2022). Review of treatment for adenosine deaminase deficiency (ADA) severe combined immunodeficiency (SCID). *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 18(septiembre): 939-44. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S350762>.
- Shi, Zhi-Guo, Qing-Zhong Guo, Yi-Ting Liu, Yu-Xiu Xiao y Li Xu. (2011). Drug delivery devices based on macroporous silica spheres. *Materials Chemistry and Physics*, 126(3): 826-31. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2010.12.035>.
- Siddiqui, Bazla, Asim.ur. Rehman, Ihsan-ul Haq, Amal A. Al-Dossary, Abdelhamid Elaissari y Naveed Ahmed. (2022). Exploiting recent trends for the synthesis and surface functionalization of mesoporous silica nanoparticles towards biomedical applications. *International Journal of Pharmaceutics: X*, 4(diciembre): 100116. <https://doi.org/10.1016/j.ijpx.2022.100116>.
- Southey, Michelle W. Y. y Michael Brunavs. (2023). Introduction to small molecule drug discovery and preclinical development. *Frontiers in Drug Discovery*, 3(noviembre): 1314077. <https://doi.org/10.3389/fddsv.2023.1314077>.
- Tan, Angel, Nasrin Ghouchi Eskandar, Shasha Rao y Clive A. Prestidge. (2014). First in man bioavailability and tolerability studies of a silica-lipid hybrid (lipoceramic) formulation: a phase I study with ibuprofen. *Drug Delivery and Translational Research*, 4(3): 212-21. <https://doi.org/10.1007/s13346-013-0172-9>.
- Tang, Hanxia, Yuqing Xue, Zhiming Wu, Wenqian Zhu, Fengzhu Lv y Yihe Zhang. (2023). *In situ* synthesis of UV-responsive mesoporous SiO₂ drug release systems using the associates of anionic drugs and cationic silica source as templates. *Journal of Materials Research*, 38(19): 4357-68. <https://doi.org/10.1557/s43578-023-01148-w>.
- Tarn, Derrick, Carlee E. Ashley, Min Xue, Eric C. Carnes, Jeffrey I. Zink y C. Jeffrey Brinker. (2013). Mesoporous silica nanoparticle nanocarriers: biofunctionality and biocompatibility. *Accounts of Chemical Research*, 46(3): 792-801. <https://doi.org/10.1021/ar3000986>.
- Tella, Josephine Oluwagbemisola, Joseph Adeyemi Adekoya y Kolawole Oluseyi Ajanaku. (2022). Mesoporous silica nanocarriers as drug delivery systems for anti-tubercular agents: a review. *Royal Society Open Science*, 9(6): 220013. <https://doi.org/10.1098/rsos.220013>.
- Theobald, Nigel. (2020). Emerging vaccine delivery systems for COVID-19. *Drug Discovery Today*, 25(9): 1556-58. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2020.06.020>.
- Tsoi, Mandi, Trinh T. Do, Vicky Tang, Joseph A. Aguilera, Christopher C. Perry y Jamie R. Milligan. (2010). Characterization of condensed plasmid DNA models for studying the direct effect of ionizing radiation. *Biophysical Chemistry*, 147(3): 104-10. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2009.12.006>.
- Tuyen Ho, Mong, Allie Barrett, Yixin Wang y Quanyin Hu. (2024). Bioinspired and biomimetic gene delivery systems. *ACS Applied Bio Materials*, 7(8): 4914-22. <https://doi.org/10.1021/acsabm.3c00725>.
- Valdemar-Aguilar, C. M., R. Manisekaran, R. Avila, V. D. Compeán-García, R. Nava-

- Mendoza y L. M. López-Marín. (2020). Pathogen associated molecular pattern-decorated mesoporous silica – A colloidal model for studying bacterial-host cell interactions. *Biointerphases*, 15(4). <https://doi.org/10.1116/6.0000168>.
- Von Baeckmann, Cornelia, Hanspeter Kählig, Mika Lindén y Freddy Kleitz. (2021). On the importance of the linking chemistry for the PEGylation of mesoporous silica nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 589(mayo): 453-61. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.12.004>.
- Wagner, Julia, Dorothee Gößl, Natasha Ustyanovska, Mengyao Xiong, Daniel Hauser, Olga Zhuzhgová, Sandra Hočevár *et al.* (2021). Mesoporous silica nanoparticles as pH-responsive carrier for the immune-activating drug resiquimod enhance the local immune response in mice. *ACS Nano*, 15(3): 4450-66. <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c08384>.
- Wu, Zhijian, Hyeonwoo Joo, Tai Gyu Lee y Kangtaek Lee. (2005). Controlled release of lidocaine hydrochloride from the surfactant-doped hybrid xerogels. *Journal of Controlled Release*, 104(3): 497-505. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2005.02.023>.
- Yin, Hao, Kevin J. Kauffman y Daniel G. Anderson. (2017). Delivery technologies for genome editing. *Nature Reviews Drug Discovery*, 16(6): 387-99. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.280>.
- Zhang, Chengcheng, Hongyi Xie, Zhengyan Zhang, Bingjian Wen, Hua Cao, Yan Bai, Qishi Che, Jiao Guo y Zhengquan Su. (2022). Applications and biocompatibility of mesoporous silica nanocarriers in the field of medicine. *Frontiers in Pharmacology*, 13(enero): 829796. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.829796>.
- Zhang, Li, Yujiao Li, Xing Liu, Xiaolu He, Jieyu Zhang, Jun Zhou, Youbei Qiao, Hong Wu, Fangfang Sun y Qing Zhou. (2024). Optimal development of apoptotic cells-mimicking liposomes targeting macrophages. *Journal of Nanobiotechnology*, 22(1): 501. <https://doi.org/10.1186/s12951-024-02755-3>.
- Zhang, Ruoshi, Ming Hua, Hengliang Liu y Jing Li. (2021). How to design nanoporous silica nanoparticles in regulating drug delivery: surface modification and porous control. *Materials Science and Engineering: B*, 263(enero): 114835. <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2020.114835>.

Sistemas auto-nanoemulsionables de liberación de fármacos en el desarrollo de medicamentos

Self-nanoemulsifying drug delivery systems in pharmaceutical development

Adriana Estela Hernández Tenorio,^{*,†} Diana Vanessa Mendoza Varela,^{*}
José Juan Escobar Chavez,^{**} Luis Alfonso Moreno Rocha,^{*}
Luis Camilo Ríos Castañeda,^{*} Jorge Esteban Miranda Calderón,^{*,**}

ABSTRACT: Self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) are nanotechnology-based pharmaceutical formulations of great interest for poorly water-soluble drugs (PWS). SNEDDS comprises an oily phase, a surfactant, and a cosurfactant that gives rise to an isotropic mixture capable of forming nanoemulsions when they meet intestinal fluids. A vast amount of information in the literature highlights the importance of SNEDDS for the development of new formulations with PWS. Through the application of nanotechnology, SNEDDS have proven to be formulations capable of overcoming the challenges associated with poor aqueous solubility, low absorption and low bioavailability of drugs, improving the therapeutic applications in which this nanotechnology has been used. Additionally, the scale-up of the manufacturing process is possible and does not involve investment in sophisticated equipment, unlike other nanostructured systems such as liposomes or polymeric nanoparticles. A novel approach to formulating praziquantel is the use of SNEDDS, a cutting-edge pharmaceutical technology that significantly improves solubility and dissolution rate. This technology keeps the drug nano-dispersed to promote gastrointestinal absorption. Trends in SNEDDS modification include their application in new specialized treatments, such as gene therapy, and combination with other nanocarriers to overcome limitations in stability and efficacy. SNEDDS, driven by advances in nanotechnology, not only represents a breakthrough in pharmaceutical formulation but also points a way towards improving patient health, standing out as a key to the future of nanomedicine.

KEYWORDS: SNEDDS, nanomedicine, poor bioavailability, solubility.

RESUMEN: Los sistemas auto-nanoemulsionables (SNEDDS) son formulaciones farmacéuticas basadas en nanotecnología, de gran interés para fármacos poco solubles en agua (FPSA). Los SNEDDS están constituidos por una fase oleosa, un tensoactivo y un cotensoactivo dando lugar a una mezcla isotrópica, la cual forma nanoemulsiones al entrar en contacto con los fluidos intestinales. En la literatura, se resalta la importancia de los SNEDDS para el desarrollo de nuevas formulaciones con FPSA. Los SNEDDS han demostrado ser formulaciones nanotecnológicas capaces de superar los desafíos asociados con la escasa solubilidad acuosa, la baja absorción y la limitada biodisponibilidad de FPSA, mejorando así las aplicaciones terapéuticas. Adicionalmente, el proceso de manufactura es escalable y no involucra la inversión en equipo sofisticado a diferencia de otros sistemas nanoestructurados, como liposomas o nanopartículas poliméricas. Una propuesta con resultados novedosos para la formulación de praziquantel es el uso de SNEDDS, tecnología farmacéutica de vanguardia para mejorar significativamente la solubilidad y velocidad de disolución,

Recibido: 9 de noviembre, 2024.

Aceptado: 10 de abril, 2025.

Publicado: 9 de mayo, 2025.

^{*} Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, Ciudad de México, México.

^{**} Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

[†] Autora responsable.

^{**} Autor de correspondencia: jmiranda@correo.xoc.uam.mx



manteniendo al fármaco nanodispersado y así favorecer su absorción gastrointestinal. Las tendencias en la modificación de SNEDDS incluyen su aplicación en nuevos tratamientos especializados, como la terapia génica, y la combinación con otros nanoacarreadores para superar limitaciones en estabilidad y eficacia. Los SNEDDS, impulsados por los avances en nanotecnología, no solo representan un avance en la formulación farmacéutica, sino que también marcan un camino hacia la mejora de la salud del paciente, destacándose como una clave para el futuro de la nanomedicina. **PALABRAS CLAVE:** SNEDDS, nanomedicina, baja biodisponibilidad, solubilidad.

Introducción

La nanotecnología implica manipular la materia a una escala nanométrica, la cual abarca dimensiones de aproximadamente 1 a 100 nanómetros, para comprender, crear y utilizar estructuras y sistemas con funciones específicas atribuidas a su tamaño (Boulaiz *et al.*, 2011). En el campo de la medicina, la nanotecnología busca desarrollar nuevos productos altamente específicos en la prevención, detección y tratamiento de enfermedades. En los sistemas de liberación de fármacos, los sistemas nanoestructurados se encargan de atrapar, encapsular o disolver el fármaco, con la finalidad de obtener características específicas deseables mediante la manipulación de las propiedades biofarmacéuticas y farmacocinéticas de la molécula. Los principales objetivos del diseño de sistemas nanoestructurados son: controlar las propiedades de superficie, el tamaño de partícula y la liberación del fármaco (Mazayen *et al.*, 2022; Halwani, 2022). Algunos sistemas nanoestructurados usados en la entrega de fármacos son: liposomas, nanoesferas, nanocápsulas, puntos cuánticos, nanohidrogeles, nanopartículas lipídicas sólidas, nanopartículas poliméricas, dendrímeros, nanotubos de carbono y nanoemulsiones (Patel *et al.*, 2024; Acharya *et al.*, 2024; Onugwu *et al.*, 2023; Nguyen *et al.*, 2021; Sahu *et al.*, 2021). Estos sistemas han sido utilizados como nanotransportadores para la administración eficaz y la liberación controlada de fármacos, debido a que ofrecen diversas ventajas como la administración dirigida, en comparación con las terapias tradicionales (Khizar *et al.*, 2023; Alshawwa *et al.*, 2022). En la actualidad, varios medicamentos cuyas formulaciones están basadas en nanotecnología se encuentran disponibles en el mercado (Mazayen *et al.*, 2022; Halwani, 2022), por ejemplo: laboratorios Abbott, empleando la tecnología de nanocristales, desarrolló tabletas conteniendo fenofibrato; el grupo Merck, usando la técnica de *ball milling*, desarrolló *Emend*, un medicamento con aprepitant que es un fármaco antiemético; la compañía Celgene, utilizando la nanotecnología de homogeneización a alta presión, desarrolló una suspensión inyectable de paclitaxel (Williams *et al.*, 2013).

Algunos de los objetivos de las tecnologías mencionadas son la mejora de la solubilidad y biodisponibilidad de fármacos poco solubles en agua (FPSA); desafíos de los más retadores a los cuales se enfrenta la industria farmacéutica en el desarrollo de formas farmacéuticas sólidas orales, pues se calcula que aproximadamente el 40% de los fármacos disponibles en el mercado y los que están en

etapas tempranas de desarrollo presentan problemas de escasa solubilidad acuosa (Liu *et al.*, 2024). Al respecto, cabe señalar a la vía oral de administración de medicamentos como la predominante, por lo cual es indispensable que el fármaco se disuelva completamente para atravesar las membranas intestinales y, en consecuencia, ejercer el efecto terapéutico deseado. El diseño farmacéutico de formas sólidas orales implica generar formulaciones cuyos procesos sean fácilmente escalables a la infraestructura convencional de la producción de medicamentos, y que supere los desafíos de los FPSA. Una de las desventajas de la elaboración de la mayoría de los sistemas nanoparticulados poliméricos, lipídicos o híbridos, como los citados anteriormente, es la infraestructura especializada necesaria para la producción y los costos que conlleva (Operti *et al.*, 2022; Herdiana *et al.*, 2022; Goel *et al.*, 2022; Khairnar *et al.*, 2022). Sin embargo, es primordial acercar la nanotecnología para cumplir las promesas de los avances en nanomedicina. Una opción que permite acercar la nanotecnología a la sociedad son precisamente las formulaciones diseñadas mediante SNEDDS.

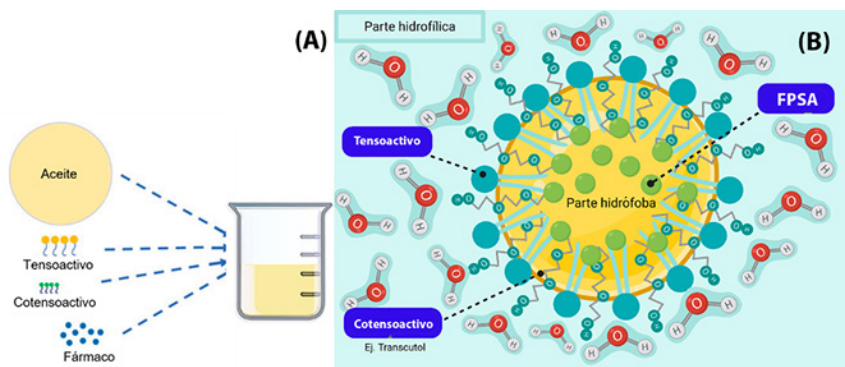
Los SNEDDS son formulaciones innovadoras, las cuales mejoran la solubilidad y disolución de FPSA, así como la permeabilidad intestinal y, en consecuencia, aumentan la absorción del fármaco, mejorando el desempeño del producto. Este tipo de nanomedicinas tiene la ventaja de ser fácilmente escalables a los procesos farmacéuticos, pues la infraestructura necesaria para la producción es aquella utilizable para la elaboración de cápsulas de gelatina blanda, la cual es considerada una forma farmacéutica convencional (Khoa Huynh *et al.*, 2022; Oishi *et al.*, 2018). Para estos procesos solo se requiere un tanque de mezclado, un agitador y bombas para controlar el flujo de los materiales involucrados en la formulación (Oishi *et al.*, 2018). Asimismo, las formulaciones a partir de SNEDDS son adaptables a las formas farmacéuticas sólidas orales mediante el llenado en cápsulas de gelatina (Khoa Huynh *et al.*, 2022), o mediante la adsorción en materiales porosos para poder solidificar el sistema y compactarlo en forma de tabletas (Dangre *et al.*, 2022). Además, de acuerdo con Procedence Research (2025), el tamaño del mercado mundial de nanomedicina se estimó en USD \$209 mil millones en 2024, y se estima que el valor del mercado mundial de la nanomedicina crecerá de forma sostenida, ascendiendo a los USD \$627 mil millones en 2034; específicamente, en América Latina se estima que el crecimiento alcance los USD \$37 mil millones, aproximadamente, en 2027 (Mendoza, 2024), por lo cual, el uso de nanotecnologías como los SNEDDS abre la posibilidad de que la nanomedicina llegue a los pacientes en un corto o mediano plazo en formas farmacéuticas convencionales como las cápsulas de gelatina blanda.

¿Qué son los sistemas auto-nanoemulsionables de liberación de fármacos?

Los sistemas auto-emulsionables son formulaciones farmacéuticas que se definen como mezclas isotrópicas, conformadas por al menos tres componen-

tes: un componente oleoso, un excipiente del tipo tensoactivo y un cotensoactivo, en los cuales, generalmente, se solubiliza un FPSA (Shahzadi *et al.*, 2018; Buya *et al.*, 2020; Uttreja *et al.*, 2025). Estos sistemas nanoestructurados se distinguen por su capacidad de formar espontáneamente nanoemulsiones de tipo aceite en agua (O/W) tras una agitación suave, como la generada por los movimientos peristálticos en los fluidos gastrointestinales (Čerpnjak *et al.*, 2015; Nazir *et al.*, 2019; Dokania y Joshi, 2015). En la figura 1 se muestra una imagen de los SNEDDS previa a la administración, y la representación de la nanoestructura formada por los componentes típicos posterior al fenómeno de la auto-nanoemulsificación (Chatterjee *et al.*, 2016).

Figura 1. (A) Representación esquemática de los componentes que integran la formación de los SNEDDS. (B) Nanoestructura formada por efecto de la auto-nanoemulsificación.



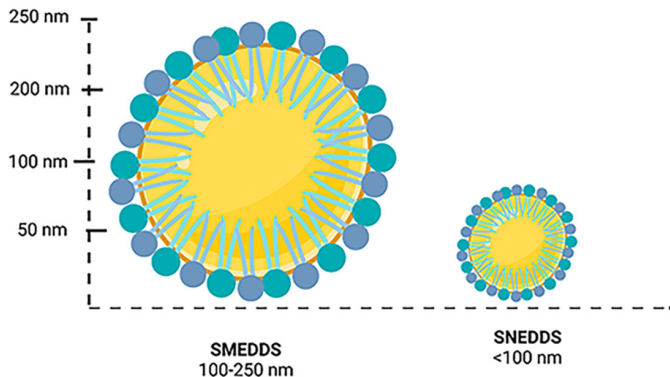
Fuente: Modificado de Chatterjee *et al.* (2016) y creado con BioRender.com.

Los SNEDDS están considerados como una estrategia innovadora para el desarrollo de formulaciones de fármacos con una permeabilidad alta/baja y una solubilidad acuosa baja (Bernkop-Schnürch y Jalil, 2018). Las formulaciones lipídicas capaces de generar emulsiones tras una agitación suave se diferencian principalmente por su tamaño: micrométrico y nanométrico, estos últimos son conocidos como SNEDDS (figura 2), (Vithani, K. *et al.*, 2019; Mahmood y Bernkop-Schnürch, 2019; Dokania y Joshi, 2015).

De acuerdo con Dhaval *et al.*, (2022), el término SNEDDS hace referencia a una nanoemulsión conteniendo glóbulos ultrafinos, cuyo tamaño en otras formulaciones se obtiene mediante métodos de alta energía, como la homogeneización a alta presión. Una característica de las formulaciones óptimas para la formación de sistemas tipo SNEDDS es la concentración de tensoactivo presente en la mezcla isotrópica. Los porcentajes de tensoactivo utilizados se encuentran, generalmente, entre 30-40% para obtener emulsiones ultrafinas (Dhaval *et al.*, 2022; Buya *et al.*, 2020).

Una composición farmacéutica con las combinaciones óptimas de los excipientes farmacéuticos que integran un SNEDDS generan sistemas auto-na-

Figura 2. Representación esquemática de la diferencia en tamaño entre un SMEDDS y un SNEDDS.



Fuente: Modificado de Staden, Du Plessis y Viljoen (2020) y creado con BioRender.com.

noemulsionables eficientes, con un tamaño de gota nanométrico favoreciendo la absorción del fármaco. La incorporación de aceite y tensoactivos forman una amplia gama de nanoestructuras y fases dependiendo de las proporciones de cada uno y usualmente se requiere una selección cuidadosa de componentes antes de la formulación de SNEDDS (Agubata, 2020). En la tabla 1 se presentan algunos ejemplos de formulaciones diseñadas mediante SNEDDS. En cada caso se menciona el tipo de componente oleoso, el tipo tensoactivo y el cotensoactivo conformando la mezcla.

Tabla 1. Composición de los SNEDDS con base en la literatura consultada. En cada ejemplo se describe el excipiente que es parte de la mezcla.

Fármaco	Aceite	Tensoactivo	Cosolvente	Fuente
Azitromicina	Capryol 90	Tween 20	Transcutol HP	Abou Assi <i>et al.</i> (2020)
Carbamazepina	Mygliol 812	Tween 80 + Cremophor RH40	NA	Milović <i>et al.</i> (2012)
Celecoxib	Capryol 90	Tween 20	Transcutol HP	Chavan, Modi y Bansal (2015)
Cinarizina	Ácido oleico	Tween 60	NA	Vithani <i>et al.</i> (2018)
Clodogrel	Peceol	Cremophor RH60	Transcutol HP	Kim <i>et al.</i> (2014)
Danazol	Aceite de soja	Tween 80	NA	Devraj <i>et al.</i> (2014)
Gliburida	Capryol 90	Tween 20	Glicofulol	Cirri <i>et al.</i> (2016)
Indometacina	Labrafil	Tween 80	Transcutol HP	Shakeel <i>et al.</i> (2013)
Isradipina	Ácido oleico	Brij-98	Poloxámero 407	Tran <i>et al.</i> (2013)
Nimodipina	Aceite de menta	Cremphor EL	PEG 400	Alayoubi <i>et al.</i> (2018)
Ritonavir	Imwitor 988	Cremphor EL + Cremophor RH 40	Capmul GMS K-50	Deshmukh y Kulkarni (2014)
Tacrolimus	Labrafil M1944CS	Cremphor E	Transcutol HP	Huo <i>et al.</i> (2018)

NA= No aplica.

Fuente: Elaboración de los autores.

Uno de los componentes que dictan el comportamiento de las formulaciones tipo SNEDDS son los tensoactivos; estos se emplean para disminuir la tensión interfacial entre la fase dispersa y la fase dispersante, al momento de llevarse a cabo la auto-nanoemulsificación; estructuralmente, son moléculas en esencia lineales y asimétricas, y en general con un peso molecular medio-alto, de carácter anfifílico. El uso de tensoactivos forma parte de una estrategia para incrementar la solubilidad acuosa de los fármacos lipofílicos (Dahan y Miller, 2012), dado que actúan como mediadores de los compuestos hidrofílicos e hidrofóbicos en la interfase aceite-agua, el valor del balance hidrofílico-lipofílico (HLB) resulta crítico en la estabilización de la nanoemulsión, permitiendo así una disminución en la tensión interfacial, la cual provocará el incremento de la flexibilidad, además de permitir la formación espontánea de la nanodispersión (Cueto, Ortega y Sotomayor, 2019).

Los tensoactivos no iónicos son los más utilizados en las formulaciones tipo SNEDDS. En la tabla 1 se observa que los tensoactivos más usados suelen ser Tween y Cremophor. Estos tensoactivos tienen grupos de cabeza polar que no están cargados eléctricamente y por lo general dependen de un grupo funcional capaz de desprotonarse en un grado muy bajo, lo cual proporciona una solubilidad aceptable en disolventes polares como el agua (Rapp, 2017), además, sus valores de HLB son mayores a 10, lo cual significa ser altamente hidrofílicos con capacidad solubilizante en medio acuoso. Entre las ventajas de los tensoactivos no iónicos se encuentra su baja toxicidad, ser menos hemolíticos y poco irritantes para superficie celular respecto a los tensoactivos iónicos, conservar un pH en solución cercano al fisiológico; además, pueden inhibir la glicoproteína P, resultando en una mejora de la absorción de fármacos (Kumar y Rajeshwarrao, 2011).

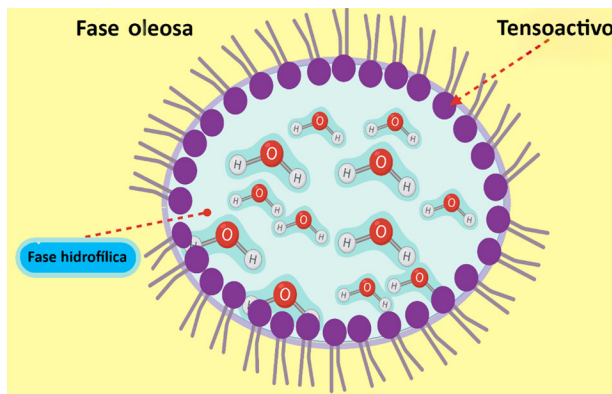
Los cotensoactivos presentes en las formulaciones tipo SNEDDS poseen un carácter anfifílico (Lawrence y Rees, 2000). La incorporación de un cotensoactivo a la formulación tiene como finalidad coadyuvar en la reducción de la tensión interfacial provocando la agilización del proceso de la solubilización del fármaco en el sistema auto-nanoemulsificante (Cueto, Ortega y Sotomayor, 2019); al reducir la tensión interfacial se produce la formación de gotas de tamaño nanométrico (Nepal, Han y Choi, 2010). Adicionalmente, los cotensoactivos reducen la concentración de tensoactivo necesaria para generar el proceso de auto-nanoemulsificación espontánea, y así evitar la toxicidad sistémica y la irritación de la mucosa en el TGI (Dhaval *et al.*, 2022).

Los cotensoactivos farmacéuticamente aceptables incluyen principalmente polietilenglicol 400 y Transcutol™ (Sharma *et al.*, 2016), esto se puede observar en los ejemplos de la tabla 1.

El excipiente para la obtención de la fase hidrofóbica en la formulación de los SNEDDS está compuesto por lípidos o aceites de origen vegetal principalmente, dado que se ha considerado como el responsable de la solubilización de los principios activos lipofílicos, asimismo, por el metabolismo intestinal, pues favorece la auto-nanoemulsificación en el TGI (Sharma *et al.*, 2016). De

acuerdo con la naturaleza y el tamaño de la cadena del aceite, en consideración con la cadena hidrofóbica del tensoactivo, dicho lípido tiene la capacidad de unirse en diferentes grados en las colas del tensoactivo de la monocapa inicial de una nanoemulsión, tanto agua en aceite (W/O) como O/W como se observa en la figura 3 (Lawrence y Rees, 2000).

Figura 3. Representación esquemática de la interacción de las moléculas de la fase oleosa con las cadenas hidrofóbicas de la monocapa de tensoactivo en una nanoemulsión W/O.



Fuente: Modificado de Lawrence y Rees (2000) y creado con BioRender.com.

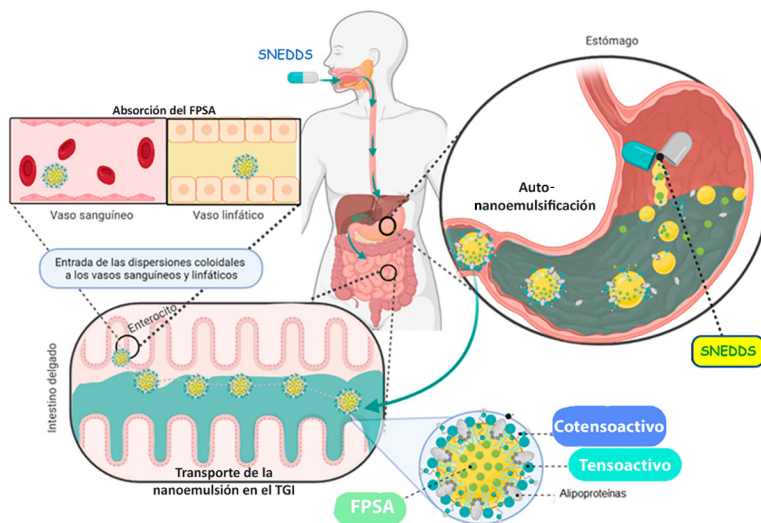
Algunos de los lípidos comúnmente utilizados en las formulaciones tipo SNEDDS se componen estructuralmente de ácidos grasos de cadena corta, media o larga, unidos a una molécula de glicerol, y se pueden clasificar de acuerdo con la longitud de la cadena unida al ácido graso libre. Si la cadena tiene menos de 5 carbonos se denomina cadena corta, media si tiene de 6 a 12 carbonos, y larga si cuenta con más de 12 carbonos. Dicha cadena de carbono puede ser de naturaleza saturada o insaturada (Dhaval *et al.*, 2022).

¿Cómo funcionan los SNEDDS?

La administración de formulaciones SNEDDS mejora la solubilidad y absorción de FPSA mediante la formación espontánea de nanoemulsiones *in vivo* por acción de los movimientos peristálticos en el tracto gastrointestinal (TGI). En diversos estudios se ha demostrado que la absorción para estos sistemas es a través de la vena porta para llegar a circulación sistémica, y en parte es mediante el transporte linfático (Zhang *et al.*, 2021; Buya *et al.*, 2020). Con respecto al mecanismo de absorción, la figura 4 ilustra la ruta seguida por una formulación tipo SNEDDS cuando es administrada por vía oral. Este tipo de formulaciones, al ser líquidas, se dosifican principalmente en cápsulas de gelatina blanda (Khoa Huynh *et al.*, 2022; Oishi *et al.*, 2018), no obstante, el desarrollo tecnológico actual, permite también la dosificación de líquidos en

cápsulas de gelatina dura o incluso en comprimidos (Mandić *et al.*, 2017; Dangle *et al.*, 2022). La factibilidad de dosificar las formulaciones tipo SNEDDS en cápsulas permite acercar la nanotecnología aplicada en el tratamiento de enfermedades, sobre todo en aquellos fármacos con la característica de ser FPSA (Jvus *et al.*, 2024). El proceso de absorción comienza con la ingesta de la cápsula, la cual se desintegra en el estómago liberando la mezcla isotrópica con el fármaco solubilizado; enseguida, los lípidos se hidrolizan a glicéridos (mono, di o tri, según el tipo de lípido) y en ácidos a través de la lipasa gástrica. Los movimientos peristálticos provocan que las moléculas del fármaco comiencen a dispersarse a través de las nanogotas procedentes de la formación de las nanoemulsiones (Nasef, 2021; Čerpnjak *et al.*, 2015). Posteriormente, en el intestino delgado, las enzimas pancreáticas, las cuales se encuentran en forma de lipoproteínas con gran tamaño, llevan a cabo la re-esterificación de los triglicéridos, dando como resultado el atrapamiento del fármaco, pero debido al tamaño que este posee, no es posible atravesar la unión estrecha de los vasos capilares (Agubata, 2020), por lo tanto, los lípidos exógenos (nanogotas emulsionadas de SNEDDS) del duodeno se transformarán en diversas especies lipofílicas como micelas y vesículas multilaminares y unilaminares. Estos productos se distribuirán hasta los enterocitos en forma de dispersiones coloidales (Alayoubi *et al.*, 2018), para penetrar hacia la circulación linfática en vez de a la circulación portal, de modo que los compuestos de la linfa intestinal obtendrán el acceso a la circulación sistémica donde se liberará en mayor concentración el fármaco, ejerciendo su efecto terapéutico (Mu, Holm y Müllertz, 2013; Dokania y Joshi, 2015).

Figura 4. Representación esquemática del proceso de digestión de los SNEDDS.



Fuente: Modificado de Buaya *et al.* (2020) y creado con BioRender.com.

Los SNEDDS han mostrado un gran potencial para superar limitaciones asociadas con la administración oral (Gunjal *et al.*, 2024), como baja solubilidad en el tracto gastrointestinal (Santiago-Villarreal *et al.*, 2023), degradación enzimática (Haddadzadegan, Dorkoosh y Bernkop-Schnürch, 2022), disolución inconsistente y mala absorción intestinal. Además, se ha demostrado que los SNEDDS pueden ser una opción eficaz para transportar péptidos y proteínas al evitar su degradación gastrointestinal e incrementar la permeabilidad de la membrana intestinal (Buya *et al.*, 2020).

A diferencia de otros nanotransportadores lipídicos, como las nanopartículas lipídicas sólidas, los transportadores lipídicos nanoestructurados y los liposomas o dispersiones sólidas, los SNEDDS son fáciles de escalar (Khoa Huynh *et al.*, 2022; Oishi *et al.*, 2018), lo cual resulta en una ventaja para la industria farmacéutica. De hecho, el equipamiento está compuesto, generalmente, por reactores de acero inoxidable donde se mezclan los componentes del sistema y los tanques conteniendo la gelatina, la cual será la presentación como forma farmacéutica. Adicionalmente, se pueden obtener formas farmacéuticas sólidas mezclando los componentes con equipos estándar y posteriormente transformar la mezcla en una forma de dosificación sólida (Uttreja *et al.*, 2025). Otro problema que se logra evitar con el uso de SNEDDS es la tendencia a formar agregados durante el almacenamiento o a liberar el fármaco, pues la dispersión fina se forma de manera directa en el tracto gastrointestinal (Buya *et al.*, 2020). Algunas de las limitaciones de los SNEDDS que pueden influir en aplicaciones clínicas están relacionadas con la posible precipitación *in vivo* del fármaco (Park, Ha y Kim, 2020), así como a problemas relacionados con la formulación y caracterización, inestabilidad del sistema y la posible oxidación de los componentes lipídicos.

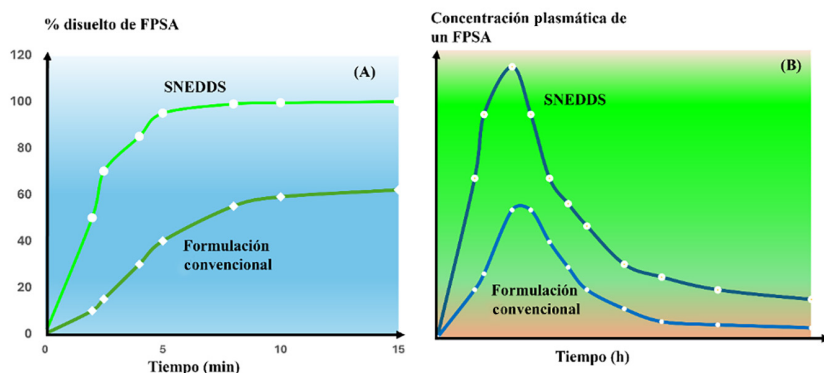
Los componentes lipídicos y tensoactivos utilizados en los SNEDDS necesitan atención especial en su seguridad después de la administración, pues debido a las altas concentraciones de estos componentes y a sus propiedades, pueden interactuar de manera compleja con el entorno fisiológico resultando difícil de monitorear y controlar en estudios *in vivo*.

Debido a ser los SEDDS de naturaleza líquida, por lo general son administrados en cápsulas de gelatina blanda, lo cual representa algunas desventajas como separación de fases durante el almacenamiento, degradación química e interacción entre los compuestos volátiles con cápsula de gelatina blanda (Uttreja *et al.*, 2025). El desarrollo de SNEDDS sólidos ofrece diversas ventajas en la mejora de solubilización del fármaco, liberación controlada y mayor seguridad debido a la mayor estabilidad de los nanosistemas, además de brindar una manipulación más fácil, haciendo más adecuado el escalamiento industrial. Algunas tecnologías innovadoras para el desarrollo de SNEDDS sólidos es la impresión 3D, la cual permite crear sistemas de administración de fármacos personalizables y precisos (Uttreja *et al.*, 2025).

Aplicaciones de las formulaciones tipo SNEDDS

En los últimos años ha habido un incremento de estudios reportando el uso de SNEDDS para la administración de FPSA. En la figura 5 se ilustra el comportamiento general de los SNEDDS, donde se observa que principalmente por el tamaño nanométrico se mejora la solubilidad de los fármacos y por ende su absorción y biodisponibilidad (Jvus *et al.*, 2024; Gunjal *et al.*, 2024; Karri, Sharma y Kaur, 2024; Santiago-Villarreal *et al.*, 2023; Tashish *et al.*, 2023). La mayoría de las referencias se basan en el desarrollo y caracterización de las nuevas formulaciones, sin embargo, también ha habido avances en la evaluación *in vitro* e *in vivo* de los SNEDDS, incluso ensayos clínicos en donde se evalúa la biodisponibilidad de las distintas formulaciones.

Figura 5. Modelo ilustrativo del comportamiento general de los SNEDDS en comparación con formulaciones convencionales. (A) Perfil de disolución *in vitro*. (B) Perfil de concentración plasmática en función del tiempo.



Fuente: Elaboración de los autores.

Santiago-Villarreal *et al.* (2023) incorporaron el fármaco praziquantel (PZQ) en una formulación de SNEDDS para mejorar la velocidad de disolución y mejorar la permeación intestinal. Los autores determinaron que la formulación mejora la solubilidad aparente del PZQ en medios acuosos, ocasionando el aumento de la velocidad de disolución y facilitando la formación de glóbulos, los cuales, por su tamaño nanométrico, optimizan notablemente la permeabilidad intestinal del fármaco (Santiago-Villarreal *et al.*, 2023). En un estudio realizado por Gunjal *et al.* (2024), se aprovechó la tecnología de SNEDDS para desarrollar una formulación de fisetina (FS). La formulación auto-nanoemulsionable consistió en Transcutol P, Tween-80 y Labrafil M 1944 CS en diferentes proporciones; las formulaciones seleccionadas produjeron nanoemulsiones con un tamaño de glóbulo menor a 100 nm, con lo cual mejoraron la velocidad de disolución y biodisponibilidad oral del fármaco de manera significativa. La formulación presentó una liberación superior al 80%

de FS en el colon cuando convirtieron SNEDDS líquidos en esferas mediante la técnica de extrusión-esferonización. La FS presenta una baja velocidad de disolución y una permeabilidad deficiente, por ello se optó por desarrollar SNEDDS sólidos (S-SNEDDS) que se dirijan al colon, para esto primero desarrollaron SNEDSS líquidos (L-SNEDDS). El objetivo de desarrollar S-SNEDDS fue mejorar la estabilidad y reducir la precipitación del fármaco, buscando con esto que las nanoesferas protejan la liberación del fármaco en el tracto gastrointestinal y se liberen en el colon; además, gracias al tamaño en el orden nano se espera que la absorción se vea mejorada en el colon para aumentar la eficacia terapéutica (Gunjal *et al.*, 2024).

El uso de SNEDDS también busca aplicarse en el desarrollo de nuevas terapias contra el cáncer, como es el caso de un estudio en el cual se mejoró la biodisponibilidad de vemurafenib (VMF), fármaco prácticamente insoluble ($< 0,1 \mu\text{g/mL}$) y menos biodisponible (1%), perteneciente al grupo IV del sistema de clasificación biofarmacéutica (SCB) (Jvus *et al.*, 2024). La formulación auto-nanoemulsionable se optimizó mediante un diseño de Box-Benken, a partir del cual se obtuvieron nanoemulsiones con tamaños de 70 nm. El estudio de farmacocinética *in vivo* demostró que la formulación optimizada alcanza una mayor solubilidad de fármaco, mayor permeabilidad de membrana debido al tamaño nanométrico de la nanoemulsión formada, además de conseguir una liberación prolongada en comparación con el VMF libre, por lo cual se concluye que la formulación del sistema de auto-nanoemulsión representa una estrategia prometedora para mejorar la permeabilidad, solubilidad y eficacia terapéutica, no solo del VMF sino de fármacos con baja solubilidad acuosa (Jvus *et al.*, 2024).

La artemisina (ART), un biofármaco de Clase II del SCB usado para el tratamiento de la malaria, fue administrada usando la tecnología de SNEDSS, con la finalidad de mejorar su solubilidad y biodisponibilidad oral (Karri, Sharma y Kaur, 2024). La formulación ART-SNEDDS fue evaluada en un estudio de disolución *in vitro* y en un estudio de biodisponibilidad en rata y se encontró que la formulación mostró una mayor disolución y una mejor solubilidad en comparación con una suspensión de ART. Esta liberación rápida se puede asociar con el fenómeno de área de superficie, en donde los glóbulos con un tamaño de glóbulo de 100-200 nm, que forman la nanoemulsión, presentan una mayor área superficial, lo cual favorece que la rapidez de liberación sea más eficiente en los primeros minutos de la prueba de disolución. Cabe señalar que, de acuerdo con (Rehman *et al.*, 2022), una nanoemulsión generada mediante SNEDDS se considera en el intervalo de tamaño menor a los 300 nm. Los autores concluyen que la reducción de tamaño a una nanoescala es uno de los métodos más prometedores para aumentar la solubilidad, y que las formulaciones basadas en lípidos como los SNEDDS proporcionan una mayor biodisponibilidad de FPSA (Karri, Sharma y Kaur, 2024).

En un estudio realizado por Ahmad *et al.* (2011), se desarrolló una formulación de telmisartán usando la tecnología de SNEDDS con la finalidad de

mejorar la biodisponibilidad, pues es considerado un FPSA. En un estudio *in vivo* en ratas hembra adultas Wistar se encontró que el ABC de la formulación telmisartán SNEDDS, con tamaño de glóbulo de 45 nm, fue 4.3 veces en comparación con una formulación en tabletas comerciales, indicando que la formulación desarrollada produce un aumento considerable en la absorción del fármaco al presentar un aumento en la rapidez de disolución y absorción oral. En un estudio similar, donde se obtuvieron nanoemulsiones, se determinó que telmisartán SNEDDS, en comparación con telmisartán libre, revirtió de manera más eficaz la fibrosis hepática crónica con un buen perfil de seguridad (Murad *et al.*, 2020). Por lo tanto, los SNEDDS se pueden catalogar como una alternativa novedosa y viable en el mercado para formulaciones con telmisartán (Ahmad *et al.*, 2011), no obstante, los estudios clínicos en humanos son necesario para confirmar los perfiles de seguridad.

Los estudios de fase clínica son la etapa clave para la evaluación de las nuevas formulaciones de SNEDDS y comprobar que al aumentar la solubilidad del fármaco es posible mejorar la biodisponibilidad por vía oral con un perfil de seguridad que no afecte al paciente. En la actualidad se cuentan con estudios clínicos donde se evalúa la eficacia de las formulaciones de SNEDDS, sin embargo, es importante que la investigación siga creciendo con la finalidad de que en un futuro se tengan cada vez más formulaciones en el mercado usando este tipo de nanotecnología.

La rosuvastatina (ROS), una estatina sintética de tercera generación, es un FPSA con una biodisponibilidad del 20%, por lo cual, el uso de SNEDDS es una opción para su administración por vía oral. Debido al tamaño de partícula nanométrico de los SNEDDS, es posible aumentar la disolución y en consecuencia la absorción del fármaco. Se realizó un estudio para comparar la biodisponibilidad con el producto comercial convencional en pacientes sanos y se observó que los SNEDDS cargados con ROS presentaban una biodisponibilidad del 167% en comparación con el producto comercial, este aumento se puede atribuir a que el tamaño nanométrico (< 50 nm) de las gotas mejora de manera eficiente la absorción de ROS. Se concluyó que los comprimidos desarrollados usando SNEDDS representan un sistema de administración de fármacos seguro y eficaz para los FPSA (Kamel y Mahmoud, 2013).

El cannabidiol (CBD) es conocido por sus múltiples propiedades terapéuticas; no obstante, las principales limitantes para el desarrollo de nuevas formulaciones son su escasa solubilidad acuosa y su extenso metabolismo de primer paso, el cual ocasiona una escasa biodisponibilidad oral. En un estudio se evaluó el perfil farmacocinético de SNEDDS, denominados VESIorb®, cargados con CBD en sujetos sanos. La formulación CBD-SNEDDS mostró una biodisponibilidad mejorada en comparación con el producto de referencia, esto se asocia con ocurrir un proceso de auto-emulsificación en el TGI y las gotas de tamaño nanométrico formadas difunden hasta la superficie de los enterocitos, posteriormente las moléculas de CBD se separan de las gotas y pasan la membrana del enterocito para poder llegar al torrente sanguíneo (Knaub *et al.*, 2019).

Avances en formulación de SNEDDS con nanotecnología

Los SNEDDS han despertado un gran interés tanto en el ámbito académico como industrial debido a sus propiedades y a su uso potencial para la administración de FPSA. En los últimos años han surgido innovaciones dentro de las formulaciones de SNEDDS con la finalidad de adaptarse a diferentes retos, como las características de los fármacos o problemas de inestabilidad, lo cual refleja la capacidad de los sistemas para poder ser modificados y adaptados a nuevos desafíos en el ámbito farmacéutico.

El uso de SNEDDS se ha combinado con otros sistemas, como las dispersiones sólidas con la finalidad de aumentar la estabilidad de las formulaciones. Tashish *et al.* (2023) diseñaron S-SNEDDS sin fármaco con una dispersión sólida (DS) cargada con cinarizina (CN), esta combinación propone aumentar la solubilidad respecto a L-SNEDDS de CN y permitir que el paciente se apegue mejor al tratamiento al tener una forma farmacéutica sólida. Los autores concluyeron que los S-SNEDDS sin fármaco con la DS liofilizada ofrecen un enfoque prometedor para superar las limitaciones de estabilidad con respecto a los L-SNEDDS (Tashish *et al.*, 2023).

A lo largo de los años, la optimización de las nanopartículas ha permitido obtener sistemas de entrega de fármacos más eficientes y específicos. Uno de los enfoques de optimización se basa en la funcionalización de las nanopartículas modificando su superficie con diferentes clases de biomoléculas como péptidos, ácidos nucleicos y anticuerpos, con la finalidad de ser el mecanismo de acción más específico y lograr el efecto terapéutico óptimo con una dosis baja y así reducir los efectos secundarios (Aschmann, Knol y Kros, 2024). El uso de la funcionalización de nanopartículas también se está aplicando a nuevas formulaciones, las cuales combinan la tecnología de SNEDDS.

La administración oral de fármacos peptídicos o proteínas tiene como limitante la baja permeabilidad de las proteínas a causa de su gran tamaño y a su carácter hidrofílico, lo cual ocasiona una baja biodisponibilidad, además de estar sujetas a una degradación considerable en el TGI. Venkata Ramana Rao y Shao (2008) desarrollaron una formulación de SNEDDS con la finalidad de cargar en la fase oleosa una proteína (β -lactamasa), este sistema auto-emulsificó tras la adición de agua, formando una nanoemulsión. Los investigadores combinaron la nanotecnología de SNEDDS con el uso de una dispersión sólida para lograr la incorporación de la proteína en el sistema lipídico, esto muestra el potencial tecnológico de los SNEDDS para resolver diversos retos farmacéuticos en donde se aprovecha la formación de nanoemulsiones para mejorar la biodisponibilidad de distintos fármacos.

En un artículo elaborado por Arshad *et al.* (2021) se desarrollaron SNEDDS cargados con ciprofloxacina (CIP) funcionalizado con ácido hialurónico (AH), la formulación mostró una mejor capacidad para permear la mucosa intestinal en intestino de cabra hasta 4 veces mayor comparado con el fármaco libre, además, se liberó el 80% del fármaco y se mantuvo durante 72 h en compara-

ción con la CIP libre. La CIP es un fármaco prometedor para el tratamiento contra *Salmonella typhi*, sin embargo, las formulaciones existentes tienen una capacidad limitante para cruzar barreras biológicas y celulares, puesto que CIP está clasificado como un fármaco de Clase IV del SCB, lo cual limita que su administración sea dirigida y selectiva contra infección por *Salmonella typhi*. La incorporación AH puede mejorar la acción antibacteriana, al permitir la entrada de CIP a las células intestinales, así como mejorar la actividad fagocítica. La formulación de SNEDDS cargada con CIP y AH presentó una actividad *anti-salmonella* mejorada, además de una alta biocompatibilidad en comparación con el SNEDDS no polimérico, concluyendo que el desarrollo de SNEDDS mucoadhesivo representa un sistema portador interesante que podría usarse en la resistencia a medicamentos para lograr resultados terapéuticos prometedores (Arshad *et al.*, 2021).

Perspectivas en SNEDDS

Se espera que el uso de SNEDDS tenga un crecimiento significativo en el desarrollo de nuevos medicamentos, sobre todo para FPSA de Clase II y IV del SCB, además de incursionar en tratamientos innovadores relacionados con terapia génica. Existen estudios reportados en donde se usa la tecnología de SNEDDS para la administración de material genético, como lo es el de Griesser *et al.* (2019), quienes diseñaron una formulación de SNEDDS para el tratamiento de la fibrosis quística, conteniendo DNA plasmídico (DNA-p) complejo con tensoactivos para aumentar la lipofilidad y así poder este complejo incorporarse a los SNEDDS. Los autores demostraron que los SNEDDS con carga negativa, así como aquellos sin carga, fueron capaces de moverse a través de la mucosa con carga negativa, mientras que los sistemas con carga positiva no pudieron permear la mucosa. En este trabajo se puede destacar la estabilidad del DNA-p frente a la degradación de nucleasas debido a que los SNEDDS funcionan como un efecto protector contra la degradación enzimática de productos biológicos; y la capacidad de superar la barrera mucosa, pues se pronostica que los SNEDDS con un tamaño de partícula menor a 100 nm y un potencial zeta negativo presentarán una buena permeación a la mucosa (Griesser *et al.*, 2019).

Entre los principales retos de los sistemas de administración de genes no virales por vía oral se encuentra la degradación enzimática y la baja absorción celular. Los SNEDDS pueden ser una opción para la administración de DNA-p hidrofóbico emparejado con iones y proteger de la degradación enzimática en comparación con el DNA-p desnudo y los complejos DNA-p y lípidos. Por otro lado, los péptidos que penetran en células (PPC) son capaces de atravesar las membranas celulares y se pueden utilizar para el transporte de diversos acarreadores de fármacos como nanopartículas y liposomas. Mahmood *et al.* (2016) combinaron por primera vez las estrategias de SNEDDS y CPP para evaluar el impacto en la internalización celular y la eficiencia de transfección

y concluyeron que esta nueva generación de SNEDDS son fáciles de producir, rentables, proporcionan estabilidad frente a degradación enzimática, además de resultar la eficiencia de transfección superior a la de los agentes de transfección estándar y a otros sistemas de administración de fármacos.

Es importante considerar que para ser llevado con éxito un nanoproducto del laboratorio a la clínica, se deben minimizar las complejidades en el proceso de fabricación y simplificar los procesos nanotecnológicos a escala industrial. La brecha en el escalamiento industrial de las nanoformulaciones se debe a la estructura compleja y a la fisicoquímica de la formulación, lo cual puede incrementar los costos de producción y alargar los procesos. También se debe considerar la validación de métodos y la tecnología y pruebas destinadas a evaluar la variación entre lotes, como caracterización de la formulación, perfil de liberación de fármaco, pruebas de estabilidad, entre otras (Goel *et al.*, 2022). Por lo tanto, se busca desarrollar sistemas seguros y eficaces para la administración de fármacos, con un diseño no tan complejo, para que puedan ser más fácilmente escalables sin perder su eficacia clínica. En comparación con otros nanoacarreadores como liposomas, nanopartículas basadas en polímeros o nanotubos de carbono (Herdiana *et al.*, 2022; Operti *et al.*, 2022), se considera que la fabricación a nivel industrial de SNEDDS es más simple y rentable debido a que la obtención de los sistemas consiste en gran medida en la preparación de una solución. La nanotecnología SNEDDS ocupa el equipamiento tradicional para la fabricación de cápsulas de gelatina blanda, la cual es una forma farmacéutica convencional, es decir, de amplio conocimiento en el ámbito farmacéutico. Al ser equipamiento convencional, el escalamiento y la transferencia de tecnología no representa un reto más allá de mantener los controles en proceso y establecer un adecuado espacio de diseño como en cualquier proceso productivo. La fabricación de SNEDDS ofrece ventajas potenciales en la relación costo-beneficio, como el uso de instrumentación simple: mezcladores simples, agitadores, equipos de llenado volumétrico a gran escala (Goel *et al.*, 2022). Otra ventaja de los SNEDDS es el no mostrar inestabilidades presentes en emulsiones, como la formación de agregados, debido a que la emulsión se forma en el TGI y no durante el proceso de fabricación (Mahmood y Bernkop-Schnürch, 2019), lo cual resulta en sistemas nanotecnológicos con mayor estabilidad. El desarrollo de métodos para fabricación de medicamentos utilizando tecnología de SNEDDS ha ido en ascenso en las últimas décadas. Chen *et al.*, en 2019, desarrollaron un sistema auto-emulsionante inyectable, divulgando el proceso de fabricación y su aplicación en la patente CN109528652A.

En 2024, se llevó a cabo un estudio clínico en donde se evaluó el perfil de metabolitos y la identificación de metabolitos de [14C]-rencofilstat en sujetos varones sanos, con la finalidad de contribuir con un posible tratamiento para la esteatohepatitis no alcohólica, utilizando una emulsión oral de SNEDDS cargados con el fármaco (Clinical Trials, 2024). En los últimos años se han diseñado estudios clínicos en los cuales se evalúa la eficacia de nuevas formula-

ciones de SNEDDS, con la esperanza de haber en los próximos años una mayor presencia de medicamentos con nanotecnología con enfoque SNEDDS. Actualmente, en el mercado de medicamentos ya se cuenta con la presencia de medicamentos con nanotecnología de SNEDDS, como es el caso de Neoral® que contiene ciclosporina, un agente inmunosupresor desarrollado por Novartis. Norvir® es otro ejemplo utilizando SNEDDS para la administración de ritonavir desarrollado por AbbVie Inc. Dichos medicamentos corresponden a la Clase IV y II del SCB, lo cual señala la importancia de la aplicación de SNEDDS en FPSA (Mishra *et al.*, 2021). A pesar de ya existir en el mercado farmacéutico medicamentos con tecnología SNEDDS, las implicaciones regulatorias en el desarrollo de nuevos medicamentos genéricos deberán ser consideradas antes del sometimiento de la información para la obtención de un registro sanitario. De hecho, las formulaciones con un sistema de liberación novedoso no se consideran medicamentos genéricos, y por consiguiente los aspectos regulatorios pueden ser diferentes en cada país. En algunas agencias regulatorias, por caso, la FDA, un cambio significativo en la formulación o en la vía de administración puede hacer que un medicamento sea tratado como un nuevo producto, el cual requiera de evidencia adicional de seguridad y eficacia (FDA, 2019). Sin embargo, no siempre se clasifica como una “molécula nueva” en términos estrictos, sino como una nueva versión de un fármaco existente. En México, de acuerdo con la COFEPRIS, los medicamentos basados en nanotecnología, incluidos los SNEDDS, podrán seguir las mismas consideraciones que la FDA, con lo cual se les podría considerar como moléculas nuevas, de tal forma, para fines de la obtención de un registro sanitario se deberá demostrar seguridad y eficacia.

Conclusiones

La incorporación de los sistemas nanoestructurados en el desarrollo de nanomedicinas ha revolucionado la industria farmacéutica permitiendo una mejor eficacia terapéutica del producto lo cual resulta en un perfil de acción más efectivo respecto a las formulaciones convencionales y se espera que en los próximos años haya una mayor presencia de nanomedicinas al alcance de los pacientes. El desarrollo tecnológico de los sistemas auto-nanoemulsionables es un enfoque prometedor y visionario, el cual representa un gran avance significativo en la nanomedicina, ofreciendo soluciones innovadoras para el desarrollo farmacéutico con la finalidad de aumentar la solubilidad de los FPSA, mejorar su biodisponibilidad, mejorar la estabilidad, optimizar la dosis para reducir los efectos secundarios e incrementar la eficacia terapéutica gracias al control del tamaño nanométrico de las nanoemulsiones formadas en el TGI. El uso de SNEDDS no solo se está enfocando en la administración de FPSA, sino también, en los últimos años, se ha incursionado en modificaciones innovadoras buscando contribuir con tratamientos especializados, como la terapia génica o la incorporación de fármacos peptídicos de gran peso molecular. Asimismo, se

ha propuesto combinar los SNEDDS con otros nanoacarreadores o con otras técnicas nanotecnológicas con la finalidad de desarrollar nuevas terapias usando sistemas más personalizados. Una de las ventajas de los SNEDDS en comparación con otros sistemas nanoparticulados es su fácil preparación, lo cual simplifica el proceso de escalamiento industrial, permitiendo dar un paso hacia el desarrollo industrial y traslación de las nanomedicinas. Conforme la investigación avanza, los SNEDDS prometen revolucionar el desarrollo de nuevas terapias apoyadas de la nanotecnología, las cuales tendrán un impacto significativo en la industria farmacéutica, en la mejora de la salud y en la calidad de vida de los pacientes.

Contribución de autorías

Adriana Estela Hernández Tenorio y Diana Vanessa Mendoza Varela: realizaron la búsqueda y síntesis de la información en general, así como la elaboración de tablas e imágenes.

Luis Alfonso Moreno Rocha y Luis Camilo Ríos Castañeda: revisaron los aspectos farmacológicos del uso de SNEDDS.

José Juan Escobar Díaz y Jorge Esteban Miranda Calderón: dirigieron la investigación bibliográfica y coordinaron la integración de la información de tecnología farmacéutica.

Adriana Estela Hernández Tenorio y Jorge Esteban Miranda Calderón: redacción final del artículo.

Referencias

- Abou Assi, Reem, Ibrahim M. Abdulbaqi, Toh Seok Ming, Chan Siok Yee, Habibah A. Wahab, Shaik Mohammed Asif y Yusrida Darwis. (2020). Liquid and solid self-emulsifying drug delivery systems (SEDDs) as carriers for the oral delivery of azithromycin: optimization, *in vitro* characterization and stability assessment. *Pharmaceutics*, 12(11): 1052. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12111052>.
- Acharya, B., A. Behera, S. Behera y S. Moharana. (2024). Recent advances in nanotechnology-based drug delivery systems for the diagnosis and treatment of reproductive disorders. *ACS Applied Bio Materials*, 7(3): 1336-61. <https://doi.org/10.1021/acsabm.3c01064>.
- Agubata, Chukwuma. (2020). Self-emulsifying formulations: a pharmaceutical review. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(3): 231-40. <https://doi.org/10.22270/JDDT.V10I3.3981>.
- Ahmad, J., K. Kohli, S. R. Mir y S. Amin. (2011). Formulation of self-nanoemulsifying drug delivery system for telmisartan with improved dissolution and oral bio-availability. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 32(7): 958-68. <https://doi.org/10.1080/01932691.2010.488511>.
- Alayoubi, Alaadin, Mohammad Sabir Aqueel, Celia N. Cruz, Muhammad Ashraf y Ahmed S. Zidan. (2018). Application of *in vitro* lipolysis for the development of

- oral self-emulsified delivery system of nimodipine. *International Journal of Pharmaceutics*, 553(1-2): 441-53. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2018.10.066>.
- Alshawwa, S. Z., A. A. Kassem, R. M. Farid, S. K. Mostafa y G. S. Labib. (2022). Nano-carrier drug delivery systems: characterization, limitations, future perspectives and implementation of artificial intelligence. *Pharmaceutics*, 14(4). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14040883>.
- Arshad, Rabia, Tanveer A. Tabish, Maria Hassan Kiani, Ibrahim M. Ibrahim, Gul Shahnaz, Abbas Rahdar, Misook Kang y Sadanand Pandey. (2021). A hyaluronic acid functionalized self-nano-emulsifying drug delivery system (SNEDDS) for enhancement in ciprofloxacin targeted delivery against intracellular infection. *Nanomaterials*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/nano11051086>.
- Aschmann, Dennis, Renzo A. Knol y Alexander Kros. (2024). Lipid-based nanoparticle functionalization with coiled-coil peptides for *in vitro* and *in vivo* drug delivery. *Accounts of Chemical Research*, 57(8): 1098-1110. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.3c00769>.
- Bernkop-Schnürch, Andreas y Aamir Jalil. (2018). Do drug release studies from SEDDS make any sense? *Journal of Controlled Release*, 271: 55-59. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.12.027>.
- Boulaiz, Houria, Pablo J. Alvarez, Alberto Ramírez, Juan A. Marchal, José Prados, Fernando Rodríguez-Serrano, Macarena Perán, Consolación Melguizo y Antonia Aranega. (2011). Nanomedicine: application areas and development prospects. *International Journal of Molecular Sciences*. <https://doi.org/10.3390/ijms12053303>.
- Buya, Aristote B., Ana Beloqui, Patrick B. Memvanga y Véronique Préat. (2020). Self-nano-emulsifying drug-delivery systems: from the development to the current applications and challenges in oral drug delivery. *Pharmaceutics*. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12121194>.
- Čerpnjak, K., A. Zvonar, F. Vrečer y M. Gašperlin. (2015). Characterization of naproxen-loaded solid SMEDDSs prepared by spray drying: the effect of the polysaccharide carrier and naproxen concentration. *International Journal of Pharmaceutics*, 485(1-2): 215-28. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.03.015>.
- Chatterjee, B., S. Hamed Almurisi, A. Ahmed Mahdi Dukhan, U. K. Mandal y P. Sen-gupta. (2016). Controversies with self-emulsifying drug delivery system from pharmacokinetic point of view. *Drug Delivery*, 23(9): 3639-52. <https://doi.org/10.1080/10717544.2016.1214990>.
- Chavan, R. B., S. R. Modi y A. K. Bansal. (2015). Role of solid carriers in pharmaceutical performance of solid supersaturable SEDDS of celecoxib. *International Journal of Pharmaceutics*, 495(1): 374-84. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.09.011>.
- Chen, Dexiang, and Lichun Dong. 2019. Self-emulsifying pharmaceutical emulsion for injection as well as preparation method and application thereof. CN109528652A, issued 2019.
- Cirri, M., A. Roghi, M. Valleri y P. Mura. (2016). Development and characterization of fast-dissolving tablet formulations of glyburide based on solid self-microemulsifying systems. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 104: 19-29. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.04.008>.

- Clinical Trials. (2024). Study details | Single dose ADME study of [14C]-Rencofilstat in healthy male subjects | ClinicalTrials.Gov. 3 de octubre, 2024. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05737433?term=rencofilstat&rank=3#contacts-and-locations>.
- Cueto, Y. L., W. L. Ortega y R. G. Sotomayor. (2019). Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS): an alternative development platform for the Colombian pharmaceutical industry | Sistemas de entrega de fármacos autoemulsificables: una plataforma de desarrollo alternativa para la industria farmacéutica colombiana. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas (Colombia)*, 48(2): 260-313. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v48n2.82696>.
- Dahan, A. y J. M. Miller. (2012). The solubility-permeability interplay and its implications in formulation design and development for poorly soluble drugs. *AAPS Journal*, 14(2): 244-51. <https://doi.org/10.1208/s12248-012-9337-6>.
- Dangre, P. V., N. J. Gurram, S. J. Surana y S. S. Chalikwar. (2022). Development and optimization of vitamin D₃ solid self-microemulsifying drug delivery system: investigation of flowability and shelf life. *AAPS PharmSciTech*, 23(4). <https://doi.org/10.1208/s12249-022-02267-z>.
- Deshmukh, A. y S. Kulkarni. (2014). Solid self-microemulsifying drug delivery system of ritonavir. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 40(4): 477-87. <https://doi.org/10.3109/03639045.2013.768632>.
- Devraj, R., H. D. Williams, D. B. Warren, C. J. H. Porter y C. W. Pouton. (2014). Choice of nonionic surfactant used to formulate type IIIA self-emulsifying drug delivery systems and the physicochemical properties of the drug have a pronounced influence on the degree of drug supersaturation that develops during *in vitro* digestion. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 103(4): 1050-63. <https://doi.org/10.1002/jps.23856>.
- Dhaval, Mori, Poonam Vaghela, Kajal Patel, Keshvi Sojitra, Mohini Patel, Sushma Patel, Kiran Dudhat, Sunny Shah, Ravi Manek y Ramesh Parmar. (2022). Lipid-based emulsion drug delivery systems – A comprehensive review. *Drug Delivery and Translational Research*, 12(7): 1616-39. <https://doi.org/10.1007/s13346-021-01071-9>.
- Dokania, Shambhu y Amita K. Joshi. (2015). Self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS) – Challenges and road ahead. *Drug delivery*, 22(6): 675-90. <https://doi.org/10.3109/10717544.2014.896058>.
- FDA. (2019). Determining whether to submit an ANDA or a 505(b)(2) application | FDA. <https://www.fda.gov>. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/determining-whether-submit-anda-or-505b2-application>.
- Goel, Honey, Lubna Siddiqui, Asiya Mahtab y Sushama Talegaonkar. (2022). Fabrication design, process technologies, and convolutions in the scale-up of nanotherapeutic delivery systems. *Nanoparticle therapeutics: production technologies, types of nanoparticles, and regulatory aspects*, 47-131. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820757-4.00017-X>.
- Griesser, Janine, Gergely Hetényi, Christoph Federer, Christian Steinbring, Helmut Ellemunter, Katharina Niedermayr y Andreas Bernkop-Schnürch. (2019). High-

- ly mucus permeating and zeta potential changing self-emulsifying drug delivery systems: a potent gene delivery model for causal treatment of cystic fibrosis. *International Journal of Pharmaceutics*, 557(febrero): 124-34. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.12.048>.
- Gunjal, Pradnya, Sukriti Vishwas, Rajan Kumar, Bushra Bashir, Bimlesh Kumar, Navneet Khurana, Monica Gulati *et al.* (2024). Enhancing the oral bioavailability of fisetin: polysaccharide-based self nano-emulsifying spheroids for colon-targeted delivery. *Drug Delivery and Translational Research*, 14(10): 1-17. <https://doi.org/10.1007/s13346-024-01634-6>.
- Haddadzadegan, S., F. Dorkoosh y A. Bernkop-Schnürch. (2022). Oral delivery of therapeutic peptides and proteins: technology landscape of lipid-based nano-carriers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 182. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.114097>.
- Halwani, Abdulrahman A. (2022). Development of pharmaceutical nanomedicines: from the bench to the market. *Pharmaceutics*. MDPI. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14010106>.
- Herdiana, Y., N. Wathoni, S. Shamsuddin y M. Muchtaridi. (2022). Scale-up polymeric-based nanoparticles drug delivery systems: development and challenges. *OpenNano*, 7. <https://doi.org/10.1016/j.onano.2022.100048>.
- Huo, T., C. Tao, M. Zhang, Q. Liu, B. Lin, Z. Liu, J. Zhang *et al.* (2018). Preparation and comparison of tacrolimus-loaded solid dispersion and self-microemulsifying drug delivery system by *in vitro/in vivo* evaluation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 114: 74-83. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.12.002>.
- Jvus, Chakradhar, Naresh Kothuri, Sanjay Singh, Sonia Verma, Hasham Shafi, D. V. Siva Reddy, Ashwini Kedar *et al.* (2024). A quality by design approach for developing SNEDDS loaded with vemurafenib for enhanced oral bioavailability. *AAPS PharmSciTech*, 25(1). <https://doi.org/10.1208/s12249-023-02725-2>.
- Kamel, Amany O. y Azza A. Mahmoud. (2013). Enhancement of human oral bioavailability and *in vitro* antitumor activity of rosuvastatin via spray dried self-nano-emulsifying drug delivery system. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 9(1): 26-39. <https://doi.org/10.1166/JBN.2013.1469>.
- Karri, Sravani, Sanjay Sharma y Ginpreet Kaur. (2024). Design, characterization and pharmacokinetic studies of anti-malarial drug artemisinin by optimized self-emulsifying nano drug delivery system (SNEDDS). *Journal of Dispersion Science and Technology*, 45(5): 969-79. <https://doi.org/10.1080/01932691.2023.2190390>.
- Khairnar, S. V., P. Pagare, A. Thakre, A. R. Nambiar, V. Junnuthula, M. C. Abraham, P. Kolimi, D. Nyavanandi y S. Dyawanapelly. (2022). Review on the scale-up methods for the preparation of solid lipid nanoparticles. *Pharmaceutics*, 14(9). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14091886>.
- Khizar, S., N. Alrushaid, F. Alam Khan, N. Zine, N. Jaffrezic-Renault, A. Errachid y A. Elaissari. (2023). Nanocarriers based novel and effective drug delivery system. *International Journal of Pharmaceutics*, 632. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.122570>.

- Khoa Huynh, Nguyen Anh, Thi Hong Tuoi Do, Xuan Loc Le, Truc Thanh Ngoc Huynh, Duc Hanh Nguyen, Ngoc Khue Tran, Cao Thuy Ha Lan Tran, Dai Hai Nguyen y Cong Tri Truong. (2022). Development of softgel capsules containing cyclosporine a encapsulated pine essential oil based self-microemulsifying drug delivery system. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 68(febrero): 103115. <https://doi.org/10.1016/J.JDDST.2022.103115>.
- Kim, D. W., M. S. Kwon, A. M. Yousaf, P. Balakrishnan, J. H. Park, D. S. Kim, B.-J. Lee *et al.* (2014). Comparison of a solid SMEDDS and solid dispersion for enhanced stability and bioavailability of clopidogrel napadisilate. *Carbohydrate Polymers*, 114:365-74. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.08.034>.
- Knaub, Katharina, Tina Sartorius, Tanita Dharsono, Roland Wacker, Manfred Wilhelm y Christiane Schön. (2019). A novel self-emulsifying drug delivery system (SEDDS) based on Vesisorb® formulation technology improving the oral bioavailability of cannabidiol in healthy subjects. *Molecules*, 24(16): 1-13. <https://doi.org/10.3390/molecules24162967>.
- Kumar, Gannu P. y Pogaku Rajeshwarao. (2011). Nonionic surfactant vesicular systems for effective drug delivery – An overview. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 1(4): 208-19. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2011.09.002>.
- Lawrence, M. J. y G. D. Rees. (2000). Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 45(1): 89-121. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(00\)00103-4](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00103-4).
- Liu, Yifan, Yushan Liang, Jing Yuhong, Peng Xin, Jia Li Han, Runhe Zhu, Mingxun Zhang *et al.* (2024). Advances in nanotechnology for enhancing the solubility and bioavailability of poorly soluble drugs. *Drug Design, Development and Therapy*. Dove Medical Press Ltd. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S447496>.
- Mahmood, Arshad y Andreas Bernkop-Schnürch. (2019). SEDDS: a game changing approach for the oral administration of hydrophilic macromolecular drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 142(marzo): 91-101. <https://doi.org/10.1016/J.ADDR.2018.07.001>.
- Mahmood, Arshad, Felix Prüfert, Nuri Ari Efiana, Muhammad Imtiaz Ashraf, Martin Hermann, Shah Hussain y Andreas Bernkop-Schnürch. (2016). Cell-penetrating self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for oral gene delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 13(11): 1503-12. <https://doi.org/10.1080/17425247.2016.1213236>.
- Mandić, J., A. Zvonar Pobirk, F. Vrečer y M. Gašperlin. (2017). Overview of solidification techniques for self-emulsifying drug delivery systems from industrial perspective. *International Journal of Pharmaceutics*, 533(2): 335-45. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.05.036>.
- Mazayen, Zaed M., Amira M. Ghoneim, Rasha S. Elbatanony, Emad B. Basalious y Ehab R. Bendas. (2022). Pharmaceutical nanotechnology: from the bench to the market. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s43094-022-00400-0>.
- Mendoza, Jennifer. (2024). Value of the nanomedicine market in Latin America from 2022 to 2027. *STATISTA*, septiembre 12. <https://www.statista.com/statis->

tics/824582/nanomedicine-market-value-latin-america/.

- Milović, M., J. Djuriš, L. Djekić, D. Vasiljević y S. Ibrić. (2012). Characterization and evaluation of solid self-microemulsifying drug delivery systems with porous carriers as systems for improved carbamazepine release. *International Journal of Pharmaceutics*, 436(1-2): 58-65. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.06.032>.
- Mishra, V., P. Nayak, N. Yadav, M. Singh, M. M. Tambuwala y A. A. A. Aljabali. (2021). Orally administered self-emulsifying drug delivery system in disease management: advancement and patents. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 18(3): 315-32. <https://doi.org/10.1080/17425247.2021.1856073>.
- Mu, Huiling, René Holm y Anette Müllertz. (2013). Lipid-based formulations for oral administration of poorly water-soluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 453(1): 215-24. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2013.03.054>.
- Murad, H., O. Ahmed, T. Ghabrah y M. Gari. (2020). Telmisartan self-nanoemulsifying drug delivery system, compared with standard telmisartan, more effectively improves hepatic fibrosis in rats. *Dose-Response*, 18(4). <https://doi.org/10.1177/1559325820982190>.
- Nasef, Ahmed. (2021). Self-emulsifying drug delivery system: a novel approach for oral delivery of poorly water soluble drugs. *Records of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 5(1): 52-58. <https://doi.org/10.21608/rpbs.2021.52929.1086>.
- Nazir, I., M. H. Asim, A. Dizdarević y A. Bernkop-Schnürch. (2019). Self-emulsifying drug delivery systems: impact of stability of hydrophobic ion pairs on drug release. *International Journal of Pharmaceutics*, 561: 197-205. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.03.001>.
- Nepal, Pushp R., Hyo Kyung Han y Hoo Kyun Choi. (2010). Preparation and *in vitro-in vivo* evaluation of Witepsol® H35 based self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) of coenzyme Q10. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 39(4): 224-32. <https://doi.org/10.1016/J.EJPS.2009.12.004>.
- Nguyen, T. T., T. T. Dung Nguyen, T. K. Vo, N. -M. -A. Tran, M. K. Nguyen, T. Van Vo y G. Van Vo. (2021). Nanotechnology-based drug delivery for central nervous system disorders. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 143. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112117>.
- Oishi, S., S. -I. Kimura, S. Noguchi, M. Kondo, Y. Kondo, Y. Shimokawa, Y. Iwao y S. Itai. (2018). New scale-down methodology from commercial to lab scale to optimize plant-derived soft gel capsule formulations on a commercial scale. *International Journal of Pharmaceutics*, 535(1-2): 371-78. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.11.029>.
- Onugwu, A. L., C. S. Nwagwu, O. S. Onugwu, A. C. Echezona, C. P. Agbo, S. A. Ihim, P. Emeh, P. O. Nnamani, A. A. Attama y V. V. Khutoryanskiy. (2023). Nanotechnology based drug delivery systems for the treatment of anterior segment eye diseases. *Journal of Controlled Release*, 354: 465-88. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2023.01.018>.
- Operti, M. C., A. Bernhardt, J. Pots, V. Sincari, E. Jager, S. Grimm, A. Engel et al. (2022). Translating the manufacture of immunotherapeutic PLGA nanoparticles from lab to industrial scale: process transfer and *in vitro* testing. *Pharma-*

- ceutics*, 14(8). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14081690>.
- Park, H., E. -S. Ha y M. -S. Kim. (2020). Current status of supersaturable self-emulsifying drug delivery systems. *Pharmaceutics*, 12(4). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12040365>.
- Patel, H., J. Li, L. Bo, R. Mehta, C. R. Ashby, S. Wang, W. Cai y Z. -S. Chen. (2024). Nanotechnology-based delivery systems to overcome drug resistance in cancer. *Medical Review*, 4(1): 5-30. <https://doi.org/10.1515/mr-2023-0058>.
- Procedence Research. (2025). Nanomedicine market size to hit USD 627.03 billion by 2034. <https://www.procedenceresearch.com/nanomedicine-market>.
- Rapp, Bastian E. (2017). Chapter 20 – Surface tension. En Bastian E. Rapp (ed.), *Microfluidics: modelling, mechanics and mathematics*, 421-44. Oxford: Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-3141-1.50020-4>.
- Rehman, F. U., A. Farid, S. U. Shah, M. J. Dar, A. U. Rehman, N. Ahmed, S. A. Rashid *et al.* (2022). Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS): measuring energy dynamics to determine thermodynamic and kinetic stability. *Pharmaceutics*, 15(9). <https://doi.org/10.3390/ph15091064>.
- Sahu, T., Y. K. Ratre, S. Chauhan, L. V. K. S. Bhaskar, M. P. Nair y H. K. Verma. (2021). Nanotechnology based drug delivery system: current strategies and emerging therapeutic potential for medical science. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 63. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102487>.
- Santiago-Villarreal, O., L. Rojas-González, M. J. Bernad-Bernad y J. E. Miranda-Calderón. (2023). Self-emulsifying drug delivery system for praziquantel with enhanced *ex vivo* permeation. *Journal of Pharmaceutical Innovation*, 18(2): 525-37. <https://doi.org/10.1007/s12247-022-09649-7>.
- Shahzadi, I., A. Dizdarević, N. A. Efiana, B. Matuszczak y A. Bernkop-Schnürch. (2018). Trypsin decorated self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS): key to enhanced mucus permeation. *Journal of Colloid and Interface Science*, 531:253-60. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.07.057>.
- Shakeel, Faiyaz, Nazrul Haq, Mahmoud El-Badry, Fars K. Alanazi e Ibrahim A. Alsarra. (2013). Ultra fine super self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) enhanced solubility and dissolution of indomethacin. *Journal of Molecular Liquids*, 180(abril): 89-94. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2013.01.008>.
- Sharma, V. K., A. Koka, J. Yadav, A. K. Sharma y R. K. Keservani. (2016). Self-micro emulsifying drug delivery systems: a strategy to improve oral bioavailability. *Ars Pharmaceutica*, 57(3): 97-109. <https://doi.org/10.4321/S2340-98942016000300001>.
- Staden, Daniëlle van, Jeanetta du Plessis y Joe Viljoen. (2020). Development of topical/transdermal self-emulsifying drug delivery systems, not as simple as expected. *Scientia Pharmaceutica*. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/scipharm88020017>.
- Tashish, Ahmad Yousef, Ahmad Abdul Wahhab Shahba, Fars Kaed Alanazi y Mohsin Kazi. (2023). Unlocking the potential: synergistic effects of solid SNEDDS and lyophilized solid dispersion to enhance stability attributes. *Frontiers in Bioscience (Landmark edition)*, 28(12): 349. <https://doi.org/10.31083/j.fbl2812349>.
- Tran, P. H. -L., T. T. -D. Tran, Z. Z. Piao, T. Van Vo, J. B. Park, J. Lim, K. T. Oh, Y. -S.

- Rhee y B. -J. Lee. (2013). Physical properties and *in vivo* bioavailability in human volunteers of isradipine using controlled release matrix tablet containing self-emulsifying solid dispersion. *International Journal of Pharmaceutics*, 450(1-2): 79-86. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.04.022>.
- Uttreja, P., I. Karnik, A. Adel Ali Youssef, N. Narala, R. M. Elkanayati, S. Baisa, N. D. Alshammari, S. Banda, S. K. Vemula y M. A. Repka. (2025). Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS): transition from liquid to solid – A comprehensive review of formulation, characterization, applications, and future trends. *Pharmaceutics*, 17(1). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17010063>.
- Venkata Ramana Rao, Sripriya y Jun Shao. (2008). Self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for oral delivery of protein drugs: I. Formulation development. *International Journal of Pharmaceutics*, 362(1): 2-9. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.05.018>.
- Vithani, Kapilkumar, Vincent Jannin, Colin W. Pouton y Ben J. Boyd. (2019). Colloidal aspects of dispersion and digestion of self-dispersing lipid-based formulations for poorly water-soluble drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 142(marzo): 16-34. <https://doi.org/10.1016/J.ADDR.2019.01.008>.
- Vithani, K., A. Hawley, V. Jannin, C. Pouton y B. J. Boyd. (2018). Solubilisation behaviour of poorly water-soluble drugs during digestion of solid SMEDDS. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 130: 236-46. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2018.07.006>.
- Williams, H. D., N. L. Trevaskis, S. A. Charman, R. M. Shanker, W. N. Charman, C. W. Pouton y C. J. H. Porter. (2013). Strategies to address low drug solubility in discovery and development. *Pharmacological Reviews*, 65(1): 315-499. <https://doi.org/10.1124/pr.112.005660>.
- Zhang, Zichen, Yi Lu, Jianping Qi y Wei Wu. (2021). An update on oral drug delivery via intestinal lymphatic transport. *Acta Pharmaceutica Sinica B. Chinese Academy of Medical Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2020.12.022>.

Factores para considerar en el diseño y síntesis de nanopartículas poliméricas para la entrega dirigida de moléculas anticancerígenas[◇]

Factors to consider in the design and synthesis of polymeric nanoparticles for targeted delivery of anticancer molecules

Karla Oyuky Juárez Moreno,* Jorge Herrera Ordóñez*,[†]

ABSTRACT: For an anticancer molecule to effectively enter a tumor cell and perform its function, it must overcome the physical and physiological barriers that the human body imposes. These barriers must be carefully considered and translated into specific physicochemical characteristics that the molecule must possess to ensure successful delivery. One strategy to enhance drug delivery involves using nanomaterials as carriers to facilitate the targeted delivery of drugs and bioactive molecules. This work reviews key biological aspects relevant to the topic. It examines how to tune and modulate the physicochemical properties of nanomaterials to overcome these barriers. Specifically, it discusses how parameters such as particle size, chemical composition, and functionalization can be optimized to improve drug targeting to neoplastic cells. This work focuses on emulsion polymerization as a method for nanocarrier synthesis, emphasizing the control of the average and size distribution of the particle. Furthermore, it highlights a physical functionalization method developed by our research group, which has led to a patent innovation.

KEYWORDS: cancer, polymer nanoparticles, targeted delivery, emulsion polymerization, functionalization.

RESUMEN: Para que una molécula anticancerígena pueda ingresar a una célula tumoral y cumplir su función de manera efectiva, es esencial que supere las barreras físicas y fisiológicas impuestas por el cuerpo humano. Estas barreras deben ser consideradas, y traducidas en características fisicoquímicas específicas que la molécula debe poseer para garantizar una entrega exitosa. Una de las estrategias para mejorar la entrega de fármacos es mediante el uso de nanomateriales, los cuales sirven como transportadores para la entrega dirigida de fármacos y moléculas bioactivas. En este trabajo se revisan aspectos biológicos de relevancia para el tema que nos ocupa y cómo sintonizar/modular las propiedades fisicoquímicas del material para superar dichas barreras, permitiendo determinar el tamaño de partícula, su naturaleza química y funcionalización para direccionar la entrega del fármaco de manera más específica a las células neoplásicas. Este trabajo se enfoca en la utilización de la polimerización en emulsión como método de síntesis de nano-acarreadores, haciendo énfasis en el control del promedio y distri-

Recibido: 1 de noviembre, 2024. Aceptado: 22 de enero, 2025. Publicado: 17 de febrero, 2025.

[◇] Los autores agradecen el apoyo financiero de la UNAM a través de los proyectos PAPIIT IA103717 e IN218823.

* Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Campus Juriquilla.

[†] Autor de correspondencia: jorge_ho67@fata.unam.mx



bución de tamaño de la partícula. En cuanto a la funcionalización química, se resalta el método de funcionalización física desarrollado en nuestro grupo, dando origen a una patente.

PALABRAS CLAVE: cáncer, nanopartículas de polímero, entrega dirigida, polimerización en emulsión, funcionalización.

Introducción

Si bien a lo largo de años de investigación ha habido avances importantes en el diagnóstico y tratamiento del cáncer, aún sigue siendo una enfermedad cobrando vidas humanas. Además, también ocasiona un desgaste económico significativo a los sistemas de salud públicos y, para el caso de pacientes sin acceso a dicho sistema o sin contar con seguro médico, puede llevar esta enfermedad a la ruina económica a sus familias por lo costoso de los tratamientos actuales.

Ante este escenario, resulta muy importante desarrollar tratamientos para el cáncer cada vez más efectivos y, en lo posible, menos costosos. Una manera de mejorar su efectividad es mediante la entrega dirigida del fármaco. Para que esto ocurra, se deben tomar en cuenta las barreras anatómicas y fisiológicas a las cuales se enfrentará el material, y diseñarlo con tales características para que pueda superarlas. Existen diversas metodologías para sintetizar materiales que integren todas estas características, como se expone en el libro editado por Vauthier y Ponchel (2016), y en revisiones recientes, por ejemplo, los de Beach *et al.* (2024) y Pulingam *et al.* (2022).

Puesto que un mismo material debe integrar diversas funcionalidades específicas para cierta aplicación, no existe una metodología de síntesis general, sino algunas que representen mayores ventajas sobre otras. Para el caso específico de la síntesis de nanopartículas poliméricas (NPs) para la entrega de moléculas anticancerígenas, siendo esta la aplicación que nos interesa en este trabajo, nos enfocamos en metodologías basadas en la polimerización en emulsión (PE) y el comportamiento físicoquímico de tensoactivos. En particular, se abordan cuestiones como la modulación del promedio y distribución de tamaño de partícula, selección del polímero y funcionalización para direccionamiento. Existen otras cuestiones a considerar en el diseño de las NPs que serán abordadas en una publicación futura.

La PE es un proceso altamente aplicable industrialmente, al poderse escalar de forma relativamente fácil debido a que, si bien hay aspectos fundamentales de su cinética y mecanismos abiertos a discusión, se considera ser un proceso tecnológicamente maduro para el cual ya existe infraestructura subyacente (Herrera Ordóñez 2023; Beach *et al.* 2024). Además, las características de las NPs obtenidas por PE presentan una alta reproducibilidad lote a lote comparada con otras técnicas, así como también, el tamaño de partícula y la dispersidad son altamente controlables (Beach *et al.* 2024).

Modulación del tamaño de partícula por polimerización en emulsión

Implicaciones biológicas del tamaño de partícula

Antes de entrar en materia, revisaremos brevemente las barreras anatómicas y fisiológicas que acotan el intervalo de tamaños de partícula más conveniente, considerando que la vía de administración es intravenosa. La intención es que el material, mientras no llegue a su destino (el tumor), permanezca circulando en el torrente sanguíneo el mayor tiempo posible.

Se sabe que, a pesar de ser la membrana plasmática impermeable a muchas partículas grandes, es posible que NPs de tamaños menores a los 10 nm puedan atravesarla por difusión pasiva. Sin embargo, también se sabe que los riñones pueden excretar rápidamente partículas $< \sim 10$ nm (Choi *et al.*, 2011; Mok, 2024), por lo cual un tamaño mayor a, digamos 20 nm, aseguraría que no se eliminen por la vía renal.

Para el límite superior se han considerado las restricciones impuestas por la pared de los vasos sanguíneos y por el hígado. Normalmente, la vasculatura es impermeable a partículas mayores a 2-4 nm (Davis, 2012; Dreher *et al.*, 2006). No obstante, en tejidos cancerosos ocurre el efecto de permeabilidad y retención acentuada (EPR, por sus siglas en inglés: *enhanced permeability and retention*) en donde entidades más pequeñas a los 400-700 nm pueden filtrarse a través de la pared del vaso sanguíneo defectuoso, lo cual, afortunadamente, hace ser a los tumores más accesibles a partículas (Davis, 2012; Dreher *et al.*, 2006). Sindwani *et al.* (2020) cuestionaron el paradigma del efecto EPR, al encontrar que el 97% de las nanopartículas entran en tumores mediante un proceso activo a través de células endoteliales por lo cual a este mecanismo lo han llamado el “principio de transporte activo y retención” (Nguyen *et al.*, 2023), pero aún se requiere más investigación. Asimismo, es necesario tomar en cuenta que en el hígado se pueden retener partículas $> \sim 150$ nm (Mok, 2024).

De acuerdo con lo expuesto hasta aquí, las restricciones anatómicas nos llevan a establecer un intervalo de tamaños de partícula entre 20 y 150 nm, aproximadamente.

Por otra parte, la internalización de las NPs en células animales, así como su bioacumulación, está influenciada por sus propiedades fisicoquímicas, en especial por el tamaño, la forma y la química superficial (Kettler *et al.*, 2014). Como se detallará más adelante, la endocitosis mediada por receptor es uno de los mecanismos más importantes de internalización de NPs (Ledermann, Canevari y Thigpen, 2015). En este, las moléculas del ligando (con el cual está funcionalizada la superficie de las partículas) se acoplan con sus respectivos receptores presentes en la membrana celular deformándose y formando una cavidad (invaginación) a través de la cual la partícula entra en la célula. Se han establecido modelos teóricos para determinar cuál parámetro fisicoquímico es el más importante para el proceso de endocitosis, en los cuales se modela la membrana plasmática como una superficie plana con receptores móviles

envolviendo a las NPs, las cuales tienen ligandos de superficie que son inmóviles y están distribuidos uniformemente (Gao, Shi y Freund, 2005). En este modelo la NP que entre en contacto con la membrana plasmática “plana” es envuelta por la misma, y los receptores pueden unirse así a más ligandos en la superficie de la NP, por lo que termodinámicamente es más “costoso” y lento envolver NPs pequeñas; en tanto que “envolver” NPs más grandes es energéticamente más favorable y por lo tanto más rápido. Este modelo considera la internalización de NPs individuales; pero de forma experimental se ha observado que dentro de las vesículas o endosomas existen cúmulos de NPs, por lo cual se han desarrollado modelos explicando este fenómeno de internalización por cúmulos (Zhou *et al.*, 2006). Sin embargo, adicionalmente a las propiedades fisicoquímicas de las NPs, es importante considerar la dinámica molecular del o los receptores involucrados en el proceso, pues algunos de los receptores que se internalizan dependen de su dimerización, o del reconocimiento estructural del ligando, por lo cual el tamaño de la NP no es la única condición importante para el proceso de internalización, también lo es la distribución de los ligandos sobre su superficie (Kettler *et al.*, 2014).

Algunas células con capacidad fagocítica como los macrófagos pueden ser capaces de internalizar NPs de entre 500 a 2000 nm de diámetro; pero, el resto de células no fagocíticas se limitan a internalizar NPs de tamaños inferiores a los 500 nm. Se ha planteado el requerir la endocitosis mediada por receptor de un intervalo de tamaño de partícula óptimo, pues tamaños menores dificultan la existencia de los suficientes acoplamientos ligando-receptor mientras que tamaños mayores dificultan que la membrana forme una cavidad lo suficientemente grande para envolver la partícula (Nel *et al.*, 2009). Entre más grande sean las NPs, la cantidad de estas que pueden ser internalizadas por una célula disminuye (He *et al.*, 2010). Davis (2012) recomienda que el tamaño de partícula óptimo debe ser de 50 ± 20 nm, el cual se encuentra dentro del intervalo requerido para librar las barreras anatómicas.

Habiendo establecido el promedio y amplitud de la distribución de tamaños, el reto es cómo sintetizarlo. Como ya se mencionó en este trabajo, nos enfocamos a la polimerización en emulsión como método de síntesis pues no solo es, por mucho, el proceso más empleado a escala industrial para la producción de partículas sub-micrométricas sino también por sus bondades, entre ellas la facilidad para controlar no solo el promedio sino la amplitud de la distribución de tamaños de partícula (DTP). A continuación, se explican brevemente los fundamentos científicos de la técnica y, posteriormente, se describe cómo se emplean para obtener el tamaño deseado de partícula.

Modulación del promedio y amplitud de la DTP por polimerización en emulsión

En este trabajo solo se exponen, de manera breve, aquellos aspectos de la polimerización en emulsión y fisicoquímica de coloides, relevantes al control de

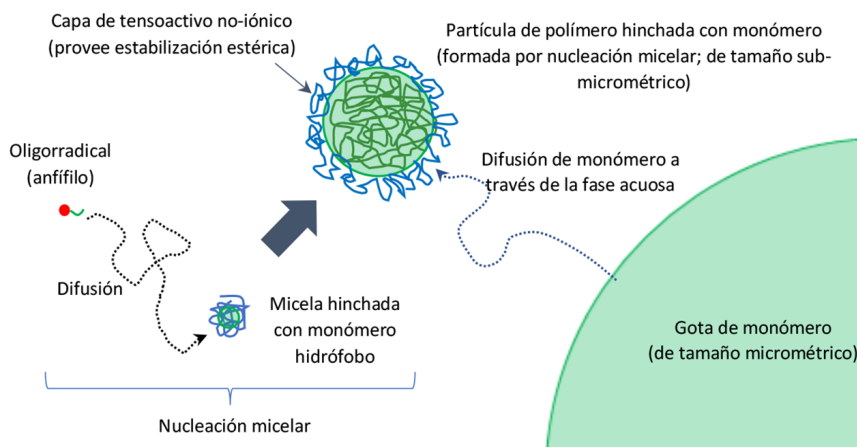
la DTP. Para más detalles, el lector puede referirse a libros de texto y trabajos de revisión reportados en la literatura, donde se revisan los fundamentos de estos temas, como lo son, por ejemplo, los de Lovell y Schork (2020), Herrera Ordóñez, Saldívar-Guerra, Vivaldo-Lima (2013), Herrera Ordóñez (2023), y Ottewill (1997).

La PE que ocurre vía radicales libres, y empleando monómeros vinílicos de relativamente baja solubilidad en agua, es el proceso industrial empleado para producir resinas acuosas (coloides poliméricos), las cuales se emplean en la formulación de pinturas arquitectónicas, impermeabilizantes, adhesivos, por mencionar algunos usos. Los mismos principios científicos que rigen la producción de toneladas de estos coloides también se aplican para producir a menor escala coloides de alto valor agregado, como los que se requieren en las aplicaciones biomédicas. Un componente fundamental de la formulación es el tensoactivo, el cual juega un doble papel en la polimerización: por una parte, permite la formación de micelas esféricas (agregados de moléculas de tensoactivo) que actúan como moldes y sitios de nucleación de las nanopartículas y, por otra, aporta estabilidad coloidal al sistema, es decir, evita la coagulación/agregación significativa de las partículas durante la vida de anaquel del producto y cuando se inyecta al torrente sanguíneo del paciente.

La formación de polímero en el interior de las micelas ocurre porque los radicales oligoméricos anfífilos formándose en la fase acuosa (el iniciador o generador de radicales libres es una sal hidrosoluble, típicamente persulfato de potasio o amonio), se difunden y penetran al interior hidrófobo de las micelas donde se polimerizan rápidamente, porque ahí la concentración de monómero es mucho mayor que en la fase acuosa. A este mecanismo, en el cual las micelas hinchadas con monómero se convierten en partículas de polímero, se le conoce como nucleación micelar, mismo que fue establecido en el trabajo pionero de Harkins (1947). Las partículas de polímero continúan creciendo a expensas de gotas micrométricas de monómero, el cual se difunde desde estas hasta las primeras a través de la fase acuosa. Por lo tanto, las partículas crecerán tanto como exista monómero en forma de microgotas, por lo que una forma de controlar el tamaño promedio de las partículas es mediante la cantidad total de monómero añadida al sistema de reacción. La figura 1 es una representación esquemática de este mecanismo.

Las partículas de polímero no se forman todas a la vez, sino que se tiene una cinética. Se forman durante lo que se conoce como etapa de nucleación o Intervalo I; toma algunos minutos y finaliza cuando desaparecen las micelas. Cuanto más larga sea esta etapa, más amplia será la distribución porque se generan partículas nuevas (pequeñas) en presencia de partículas relativamente grandes (las cuales se formaron al inicio); esto es lo deseable para el caso de pinturas y recubrimientos arquitectónicos. Por el contrario, cuanto más corta sea la etapa de nucleación, la diferencia de tamaños entre las partículas formadas al inicio y final de ella será menor y, por lo tanto, la distribución de tamaños de partícula (DTP) será más angosta, lo cual es lo que usualmente se

FIGURA 1. Mecanismo de la nucleación micelar y del crecimiento de partículas, al inicio de una polimerización en emulsión en la cual se emplea un tensoactivo no-iónico como estabilizante coloidal.



Fuente: Figura realizada por Jorge Herrera Ordóñez.

requiere en las aplicaciones biomédicas. Las condiciones favorecedoras de las etapas de nucleación corta son: concentración inicial de tensoactivo ($[S]_0$) muy cercana (pero mayor) a su concentración micelar crítica (CMC) (digamos 1.1 veces este parámetro) y temperatura de reacción lo más elevada posible, cuando mucho 10°C por debajo del punto de ebullición del componente más volátil. Una concentración inicial de iniciador ($[I]_0$) elevada también la favorece, pero puede originar inestabilidad coloidal además de iniciador residual al final de la polimerización, siendo recomendable emplear valores moderados de $[I]_0$ ($\sim 10^{-1}$ mM). Debido a la baja disponibilidad de tensoactivo, estas condiciones de polimerización requieren que el contenido inicial de monómero (correspondiente al contenido final de polímero) sea $< \sim 10\%$ masa, de otra manera se pueden formar coágulos macroscópicos de polímero o incluso puede ocurrir coagulación catastrófica.

Es conveniente realizar primero un seguimiento de la cinética de crecimiento en una polimerización con suficiente monómero para construir una curva tamaño *vs* conversión de monómero. Posteriormente, se emplea esta curva maestra para determinar la conversión a la cual se alcanza el tamaño de partícula deseado, para que en una próxima corrida se ajuste el contenido inicial de monómero de tal manera que al final se obtenga el tamaño objetivo.

Otra forma de modular la amplitud de la DTP es promoviendo coagulación limitada durante la polimerización. La heterocoagulación (coagulación entre partículas de diferente tamaño) da lugar a que se incremente el tamaño promedio, pero se reduce la amplitud de la distribución porque al fusionarse (coagular) partículas pequeñas con grandes se ocasiona la homogenización de tamaños, es decir, la heterocoagulación implica *per se* distribuciones más an-

gostas. La homocoagulación (coagulación entre partículas de tamaño similar), por el contrario, ocasiona el ampliarse la distribución. Entonces, la clave para obtener distribuciones más angostas aprovechando esta fenomenología es alterando hasta cierto límite la estabilidad coloidal del sistema de tal manera que se favorezca la heterocoagulación sobre la homocoagulación. Afortunadamente, así ocurre de manera natural mientras no se esté cerca de ese límite; cálculos basados en teoría DLVO¹ también lo predicen Gilbert (1995), Coen *et al.* (1998), y, Ottewill (1997). Si la estabilización coloidal es mediante repulsión electrostática (como cuando se emplean tensoactivos iónicos), con la adición de algún electrolito (ej. NaCl) se logra el efecto deseado. Si bien la teoría DLVO puede aplicarse para estimar el efecto de la concentración de sal en la estabilidad coloidal del sistema, cuantificada con el factor de estabilidad de Fuch, es necesario algo de trabajo experimental de prueba y error. El límite de concentración de electrolito corresponde a la llamada concentración de coagulación crítica (CCC). Así, optimizando la concentración de electrolito se puede modular la concentración, promedio y amplitud de distribución de tamaños de partícula para determinadas condiciones de una polimerización en emulsión (Dobrowolska y Koper, 2014).

La utilización de tensoactivos iónicos en la síntesis de NPs puede ocasionar citotoxicidad; esto puede evitarse purificando el producto (lo cual es una desventaja), empleando un tensoactivo polimerizable (que son más caros que los primeros, lo cual también constituye una desventaja) o bien empleando tensoactivos no-iónicos (Garay-Jimenez *et al.*, 2009).

Cuando se emplean tensoactivos no-iónicos para impartir estabilidad coloidal, como suele ocurrir en aplicaciones biomédicas, la adición de sales prácticamente no afecta la estabilidad. Puesto que la estabilidad se da por la repulsión estérica entre los *brushes* que recubren las partículas, todo aquello afectando la adsorción del tensoactivo y la conformación de su parte hidrófila es susceptible de ser utilizado para modular la estabilidad del sistema coloidal. Una opción es probar con tensoactivos de diferente balance hidrófilo-lipófilo (HLB) y/o diferente masa molar. Por ejemplo, cuando se utiliza poli(alcohol vinílico) (PVA) para estabilizar partículas de poli(acetato de vinilo) (PVAc), los mejores resultados para obtener partículas de 50 ± 20 nm fue PVA de 87% de grado de hidrólisis y masa molar de 13,000 a 23,000 Da (Olvera-Guillen *et al.*, 2021). El PVA es un polímero biocompatible ampliamente utilizado en el campo biomédico.

Selección del polímero

Debido a ocurrir el mecanismo de polimerización vía radicales libres, el monómero debe poseer el grupo vinilo; de aquí que a este tipo de polímeros se

¹ La teoría DLVO (Derjaguin–Landau–Verwey–Overbeek) describe la interacción de fuerzas entre superficies cargadas en un medio líquido. Esta teoría se aplica a materiales coloidales y nanopartículas.

les denomine “polímeros de base vinílica” o simplemente “polímeros vinílicos”. Entre la gran cantidad de polímeros vinílicos existentes, los que más han despertado interés son los acrilatos, metacrilatos, acrilamidas y metacrilamidas, con los cuales pueden obtenerse polímeros sensibles a estímulos del medio como pH, temperatura, enzimas, entre otros (Lv *et al.*, 2021).

A pesar de la no-biodegradabilidad del “esqueleto” de los polímeros vinílicos formados por unidades repetitivas C-C, se pueden emplear para la entrega terapéutica debido a su biocompatibilidad, no-toxicidad, baja inmunogenicidad y alta estabilidad (Beach *et al.*, 2024). Sin embargo, para poderse sintetizar mediante polimerización en emulsión, los monómeros vinílicos deben ser lo suficientemente hidrófobos para que se formen dos fases (una emulsión) pero con una ligera solubilidad en agua ($10^{-1} - 10^1$ g/L) para que exista el suficiente transporte de monómero por difusión, de las microgotas a los sitios de polimerización (las partículas) a través de la fase acuosa. Lesko y Sperry (1997) proporcionan una tabla de los monómeros vinílicos más comúnmente empleados en polimerización en emulsión junto con su hidrofilicidad/hidrofobicidad relativa, entre otras propiedades. Estos monómeros son de fácil disponibilidad y muy baratos, lo cual es una gran ventaja; de hecho, se ocupan extensamente para producir de resinas base agua para la formulación de pinturas y recubrimientos. Pichot, Delair y Elaïssari (1995) hicieron una revisión de los coloides poliméricos para aplicaciones biomédicas y farmacéuticas.

Otro aspecto importante para tomar en cuenta en la selección del polímero vinílico es que el cargo debe ser líquido a temperatura ambiental o a algunas decenas de grados centígrados por arriba de esta, de solubilidad en agua similar al monómero y que sea un buen solvente para el polímero del cual están formadas las partículas. Se requieren estas propiedades para que, en una etapa post-polimerización, el cargo pueda emulsionarse e introducirse en las partículas por difusión a través de la fase acuosa, de manera análoga a la difusión de monómero. Puesto que tanto el polímero como el cargo son hidrófobos, es muy probable que en la mayoría de los casos el primero sea soluble en el segundo. Si no fuera así, es factible modular la hidrofobicidad del polímero para que se acerque más a la polaridad del cargo, mediante la copolimerización de monómeros de diferente polaridad, en la proporción conveniente. Se ha criticado a la PE en cuanto a que las condiciones de reacción limitan, en gran medida, la incorporación de carga terapéutica sensible (Beach *et al.*, 2024). Sin embargo, como ya se mencionó, la incorporación del cargo puede hacerse y es una etapa postreacción bajo condiciones suaves.

Siguiendo estas ideas, los autores sintetizaron NPs de Poli(acetato de vinilo) (PVAc) mediante polimerización en emulsión y lograron cargarlas con eugenol (Olvera-Guillen *et al.*, 2021; Herrera Ordóñez *et al.*, 2019), el cual es líquido a temperatura ambiente.

El PVAc tiene el éster acetato como grupo colgante en cada unidad repetitiva. Su hidrólisis parcial ocasiona que se tengan como grupos colgantes

tanto al éster como al grupo OH. Al polímero obtenido así se le conoce comúnmente como poli(alcohol vinílico) (PVA), pero en realidad, por lo que acabamos de explicar es un copolímero (poli(alcohol vinílico-co-acetato de vinilo)). Puesto que las unidades repetitivas con grupos OH son más polares que los grupos colgantes éster, las cadenas son de naturaleza anfífila y tienden a comportarse como tensoactivos. En solución acuosa, la conformación de las cadenas de PVA es tal que pueden autoensamblarse para formar estructuras tipo micelas en las cuales las regiones de la cadena de PVA predominantemente hidrófobas tienden a asociarse “huyendo” del medio polar, mientras que las regiones predominantemente hidrófilas se extienden hacia la fase acuosa. En presencia de partículas coloidales, las regiones hidrófobas se adsorben sobre estas y las regiones hidrófilas forman una capa estérica (*brushes*, véase la figura 1) que dificulta su aglomeración por lo cual el PVA también puede actuar como estabilizante coloidal. Dada la importancia del PVAc y del PVA, a continuación se dedica una sección a ellos.

Biocompatibilidad y biodegradación del PVA y PVAc

El PVA es uno de los polímeros más utilizados en la biomedicina, sobre todo por sus propiedades mecánicas, su solubilidad en agua, buena biocompatibilidad y biodegradabilidad tanto en fluidos como en tejidos humanos (Alexandre *et al.*, 2014).

Su uso en dispositivos médicos no implantados y en sistemas de administración de fármacos ha sido aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos de América (FDA, por sus siglas en inglés). Debido a ello, se ha utilizado como excipiente en diversos sistemas de liberación de fármacos incluidos hidrogeles, micro y nanopartículas (Rivera-Hernández *et al.* 2021). Partículas de PVAc se han empleado inclusive como material para embolizaciones (Sadato *et al.*, 1994). La internalización de NPs de PVA ha sido estudiada desde hace varias décadas, para el caso de células de cáncer de piel, se ha determinado que las NPs de PVA de tamaños menores a los 200 nm se pueden internalizar mediante endocitosis mediada por caveolas, en tanto que las de tamaños superiores a los 200 nm se internalizan mediante endocitosis mediada por clatrin (Rejman *et al.*, 2004).

Los resultados sobre la biocompatibilidad *in vivo* por administración oral del PVA, revelan que no hay indicios de toxicidad reproductiva, neurológica y tampoco cambios en la actividad motora, ni en los parámetros bioquímicos en los análisis sanguíneos de roedores (Kelly *et al.*, 2003). Por otro lado, se sabe que el PVA desaparece de la circulación sanguínea aproximadamente después de 7 horas de haber sido administrado por vía intravenosa, siendo el hígado el principal órgano encargado de su depuración, y el potencial sitio de bioacumulación; aunque se ha demostrado que el PVA es muy estable en el cuerpo, pues no se han reportado indicios de monómeros o productos de su descomposición en la orina o las heces (Kaneo *et al.*, 2005). Por otro lado, las

evidencias indican que el PVA no genera efectos genotóxicos ni carcinogénicos en modelos murinos (Kelly *et al.*, 2003). El PVA es uno de los pocos polímeros vinílicos mayormente biodegradables bajo ciertas condiciones estructurales. Su degradación comienza fuera de las células mediante la acción de enzimas sobre el polímero. Los productos generados incluyen una combinación de ácidos grasos hidroxilados y acetoxihidroxilados. Después de la desacetilación enzimática dentro de la célula, se forman ácidos grasos hidroxilados, los cuales pueden ser procesados a través de la β -oxidación y el ciclo del ácido tricarboxílico. El ataque enzimático sobre la unidad de 1,3-diol en la cadena del polímero se realiza por enzimas oxidativas, creando estructuras en la cadena principal del PVA y sirviendo como puntos de ruptura para otras enzimas. Las estructuras de 1,3-dicetona o β -hidroxicetona, formadas enzimáticamente, son degradadas por enzimas hidrolasas o aldolasas específicas. Los fragmentos resultantes de polímero muestran que este proceso de escisión enzimática es aleatorio, y no tener la masa molar del PVA un impacto significativo en esta reacción (Solaro, Corti y Chiellini, 2000). Como resultado de la fragmentación extracelular, pequeños oligómeros de PVA con acetilación residual (PVA-PVAc) entran en la célula. La masa molar de estos fragmentos influye notablemente en su destino. Esterasas específicas catalizan la hidrólisis de los grupos acetilo residuales en el PVA que no ha sido completamente hidrolizado. Las estructuras de PVA-PVAc con menor masa molar son preferentemente aceptadas como sustratos para esta actividad, las cuales tienen lugar en el citoplasma celular (Sakai *et al.*, 1998).

Como ya se mencionó, el tensoactivo (en forma de micelas) actúa como sitio de nucleación y también como estabilizante coloidal. Adicionalmente, al estar el tensoactivo adsorbido sobre la superficie de las NPs (véase la figura 1), su interacción con el sistema biológico en el cual eventualmente se encontrará inmerso debe ser tal que no afecte negativamente su desempeño. Por ejemplo, el empleo de tensoactivos no-iónicos como el PVA hace que las partículas sean “transparentes” al sistema inmune (Davis, 2012) el cual es una de las barreras fisiológicas más importantes por superar las NPs para llegar al destino.

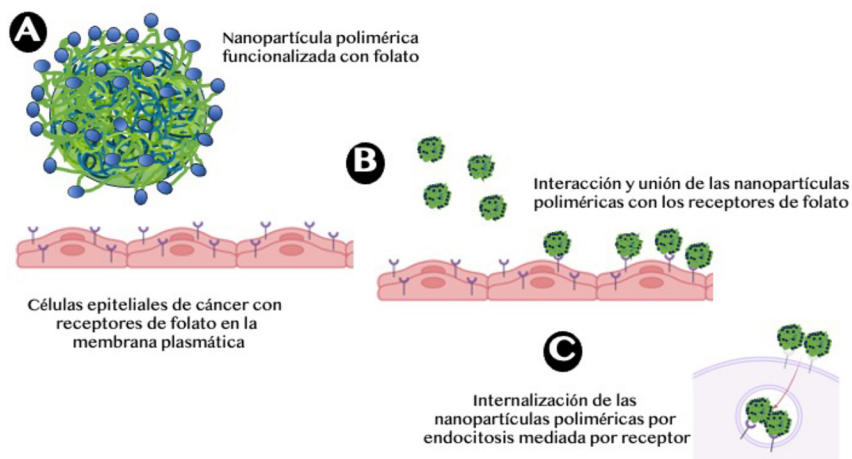
Funcionalización para direccionamiento

Aspectos biológicos del direccionamiento celular de las nanopartículas

Las barreras biológicas enfrentadas por una NP en un organismo vivo, dependerán de la vía de administración y, por supuesto, del tipo de patología que se desea diagnosticar o tratar. En ese sentido, una administración localizada parece ser la mejor opción para reducir los potenciales efectos tóxicos, sobre todo al administrar fármacos antineoplásicos (Patel *et al.*, 2019). Es por ello que una de las mejores estrategias para la entrega de fármacos y moléculas bioactivas es la funcionalización con grupos químicos y ligandos biológicos

que encuentren su receptor específico en la membrana plasmática (figura 2). De esta manera, el ácido fólico o folato, ha sido por excelencia uno de los ligandos más utilizados para la funcionalización química de NPs. El ácido fólico es una vitamina, esencial para diferentes mecanismos de biosíntesis de nucleótidos y de proliferación celular, por lo cual su receptor se encuentra sobreexpresado en la membrana plasmática de distintos tipos celulares, incluyendo una gran cantidad de células cancerígenas, particularmente de cáncer de mama, ovario, riñón, pulmón, entre otros. Existen varias isoformas del receptor de ácido fólico (RF), siendo la α la de mayor afinidad. Se ha reportado el haber una relación directa entre la expresión del RF- α en células cancerígenas y su resistencia a la quimioterapia (Narmani *et al.*, 2019).

FIGURA 2. Esquema de la interacción entre las nanopartículas poliméricas funcionalizadas (NPs-FA) y los receptores de membrana celular.



Se muestra: en (A) el esquema de la nanopartícula polimérica funcionalizada con folato y los receptores de folato presentes en la membrana plasmática; (B) interacción y unión de las NPs-FA con los receptores celulares de folato, y, (C) proceso de internalización de las NPs-FA en las células de cáncer por endocitosis mediada por receptor.

La imagen es un esquema y sus escalas no representan las escalas reales de las células y moléculas que ahí se muestran.

Fuente: Figura realizada por Juárez Moreno Karla, utilizando Biorender (www.biorender.com).

Funcionalización química

La polimerización en emulsión en dos etapas permite generar partículas tipo núcleo-coraza con una variedad de grupos reactivos en su superficie. En la primera etapa se genera el núcleo de polímero vinílico, como se expuso en la sección anterior. En la segunda etapa, se dosifica el mismo monómero de la primera, pero mezclado con un monómero el cual, además del doble enlace, posea otro grupo funcional como $-Cl^-$, $-COOH$, $-CHO$, $-OH$, NH_2 , SH , epoxi,

amidas, aminas cuaternarias, polioxietileno, etc. (Pichot, Delair y Elaïssari, 1995), lo cual genera una coraza de copolímero con el grupo funcional deseado. Mediante las diversas posibilidades ofrecidas por la química orgánica, el grupo reactivo de la superficie se emplea para unir covalentemente alguna molécula que actúe como ligando. Este, por su acoplamiento selectivo con receptores específicos sobreexpresados en la membrana de la célula cancerosa (Angelopoulou *et al.*, 2019), permite dar el direccionamiento deseado para la entrega del cargo que se encuentra embebido en las NPs.

Funcionalización física

Otra opción para la funcionalización es la metodología desarrollada en nuestro grupo, la cual dio origen a una patente (Herrera Ordóñez *et al.*, 2019; Olvera-Guillén *et al.*, 2021). En este caso la funcionalización no se da por la formación de enlaces covalentes, sino que es física, debido a la formación de un complejo entre el ligando (folato) y el tensoactivo polimérico no-iónico (PVA), el cual se empleó en la polimerización en emulsión como estabilizante coloidal. La restricción es que el ligando debe ser una molécula anfífila en la cual la parte polar posea una carga neta. Para corroborar experimentalmente la formación del complejo, se construye una gráfica tensión interfacial (γ) *versus* concentración de solutos (PVA + ligando), para la interfase agua-acetato de etilo a condiciones fisiológicas (37 °C y pH = 7.3). Si γ exhibe un máximo implica que sí se forma el complejo. Esta metodología tiene la gran ventaja de que para la funcionalización solo se requiere mezclar el coloide polimérico con el ligando en la proporción adecuada, evitando así lo laborioso de la funcionalización química y posterior purificación para eliminar reactivos residuales. Pruebas *in vitro* (Olvera-Guillén *et al.*, 2021) sugieren fuertemente que el complejo PVA-folato permite la internalización mediada por receptor y los mínimos efectos secundarios observados en pruebas preliminares *in vivo* indican que el direccionamiento de NPs hacia células cancerosas fue exitoso.

Ejemplo de síntesis y uso terapéutico en modelos animales

Siguiendo las recomendaciones expuestas hasta aquí, los autores y su equipo de trabajo desarrollaron nanopartículas de poli(acetato de vinilo) mediante polimerización en emulsión empleando persulfato de amonio como iniciador y PVA como estabilizante. Este trabajo fue publicado en Olvera-Guillén *et al.* (2021). A continuación, se describen algunos aspectos relevantes de este trabajo.

Para lograr el tamaño objetivo de 50 ± 20 nm recomendado por Davis (2012), una de las primeras tareas fue identificar la masa molar y el grado de hidrólisis del PVA más adecuado entre las opciones comerciales disponibles.

Se determinó que el PVA con una menor masa molar (13,000-23,000 Dalton) y un grado de hidrólisis del 87-89% era el óptimo. Por el contrario, mayores masas molares, en lugar de estabilizar el sistema, tienden a desestabilizarlo coloidalmente debido a que el tamaño de las cadenas de PVA extendidas en el agua supera al de las NPs, funcionando como puentes aglutinantes. El ajuste “fino” del promedio y distribución de tamaño se logró variando la concentración inicial de monómero. Al alcanzar una conversión específica de monómero, se produce una coagulación limitada provocando un aumento repentino del tamaño promedio y un inherente angostamiento de la distribución.

En una etapa post-reacción las NPs fueron cargadas con eugenol, el ingrediente activo. Puesto que este es un líquido que actúa como un buen solvente para el polímero y, aunque es hidrófobo, presenta una ligera solubilidad en agua, existe el potencial químico que permite su incorporación en las NPs mediante un simple mezclado de la dispersión coloidal de NPs con el eugenol. Posteriormente, se realizó la funcionalización física mediante el mezclado de folato y NPs cargadas con eugenol.

Las NPs funcionalizadas y cargadas con eugenol, así como las no-funcionalizadas fueron utilizadas para realizar evaluaciones de citotoxicidad *in vitro* en líneas celulares de cáncer de mama. Los resultados indicaron que la muerte celular ocurrió mayoritariamente por apoptosis y que, en las NPs funcionalizadas, la muerte celular fue aproximadamente de 6-7 veces mayor que con las NPs no funcionalizadas. Estos resultados confirman la actividad antitumoral del eugenol, la efectividad de la funcionalización física y el papel importante del folato para el direccionamiento de los nanosistemas y la inducción de la muerte celular.

Se llevaron a cabo pruebas *in vivo* (Rivera *et al.*, 2022) para evaluar las NPs en un modelo de xenotransplante de adenocarcinoma mamario MCF-7 en ratones desnudos. A diferencia del cisplatino, las NPs únicamente generaron como efecto secundario un grado moderado de hígado graso. Estos resultados demuestran la capacidad de las NPs para realizar una entrega dirigida del eugenol como ingrediente activo, y confirma la efectividad del proceso de funcionalización física con folato.

Comentarios finales

Es muy deseable que en el diseño conceptual de NPs para la entrega dirigida de moléculas anticancerígenas que se deseen producir a escala industrial, se tomen en cuenta tanto factores biológicos como de ingeniería y costos. Los primeros determinarán las características del material, la ingeniería, la factibilidad de la síntesis y su escalamiento a nivel industrial; los costos influyen en la accesibilidad del tratamiento, por lo cual también tienen un impacto social. La polimerización en emulsión como método de síntesis de NPs, junto con el comportamiento fisicoquímico de mezclas de tensoactivos, permite materializar estas ideas dada la relativa facilidad para modular las caracterís-

ticas requeridas por el material para librar las diferentes barreras anatómicas y fisiológicas a las cuales se tiene que someter, a bajo costo, con materias primas fácilmente disponibles y mediante un proceso del cual ya se tiene experiencia industrial.

Contribución de autorías

Concepción y diseño del artículo: Jorge Herrera Ordóñez, Karla Oyuqui Juárez Moreno.

Redacción y preparación del borrador original: Jorge Herrera Ordóñez, Karla Oyuqui Juárez Moreno.

Redacción y revisión final: Jorge Herrera Ordóñez, Karla Oyuqui Juárez Moreno.

Referencias

- Alexandre, Nuno, Jorge Ribeiro, Andrea Gärtner, Tiago Pereira, Irina Amorim, João Fragoso, Ascensão Lopes *et al.* 2014. Biocompatibility and hemocompatibility of polyvinyl alcohol hydrogel used for vascular grafting - *In vitro* and *in vivo* studies. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 102(12): 4262-75. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35098>.
- Angelopoulou, Athina, Argiris Kolokithas-Ntoukas, Christos Fytas y Konstantinos Avgoustakis. 2019. Folic acid-functionalized, condensed magnetic nanoparticles for targeted delivery of doxorubicin to tumor cancer cells overexpressing the folate receptor. *ACS Omega*, 4(26): 22214-27. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03594>.
- Beach, Maximilian A., Umeka Nayanathara, Yanting Gao, Changhe Zhang, Yijun Xiong, Yufu Wang y Georgina K. Such. 2024. Polymeric nanoparticles for drug delivery. *Chemical Reviews*, 124(9): 5505-5616. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.3c00705>.
- Choi, Chung Hang J., Jonathan E. Zuckerman, Paul Webster y Mark E. Davis. 2011. Targeting kidney mesangium by nanoparticles of defined size. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(16): 6656-61. <https://doi.org/10.1073/pnas.1103573108>.
- Coen, Emma M., Robert G. Gilbert, Bradley R. Morrison, Hartmann Leube y Sarah Peach. 1998. Modelling particle size distributions and secondary particle formation in emulsion polymerisation. *Polymer*, 39(26): 7099-7112. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(98\)00255-9](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(98)00255-9).
- Davis, Mark E. 2012. Fighting cancer with nanoparticle medicines. The nanoscale matters. *MRS Bulletin*, 37(9): 828-35. <https://doi.org/10.1557/mrs.2012.202>.
- Dobrowolska, Marta E. y Ger J. M. Koper. 2014. Optimal ionic strength for nonionically initiated polymerization. *Soft Matter*, 10(8): 1151. <https://doi.org/10.1039/c3sm51998h>.
- Dreher, Matthew R., Wenge Liu, Charles R. Michelich, Mark W. Dewhirst, Fan Yuan y

- Ashutosh Chilkoti. 2006. Tumor vascular permeability, accumulation, and penetration of macromolecular drug carriers. *Journal of the National Cancer Institute*, 98(5): 335-44. <https://doi.org/10.1093/jnci/djj070>.
- Gao, Huajian, Wendong Shi y Lambert B. Freund. 2005. Mechanics of receptor-mediated endocytosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(27): 9469-74. <https://doi.org/10.1073/pnas.0503879102>.
- Garay-Jiménez, Julio C., Danielle Gergeres, Ashley Young, Daniel V. Lim y Edward Turos. 2009. Physical properties and biological activity of poly(butyl acrylate-styrene) nanoparticle emulsions prepared with conventional and polymerizable surfactants. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 5(4): 443-51. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2009.01.015>.
- Gilbert, Robert G. 1995. *Emulsion polymerization: a mechanistic approach*. Londres: Academic Press.
- Harkins, William D. 1947. A general theory of the mechanism of emulsion polymerization. *Journal of the American Chemical Society*, 69(6): 1428-44. <https://doi.org/10.1021/ja01198a053>.
- He, Chunbai, Yiping Hu, Lichen Yin, Cui Tang y Chunhua Yin. 2010. Effects of particle size and surface charge on cellular uptake and biodistribution of polymeric nanoparticles. *Biomaterials*, 31(13): 3657-66. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.01.065>.
- Herrera Ordóñez, Jorge. 2023. Controversies on the mechanism and kinetics of emulsion polymerization: an updated critical review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 320(octubre): 103005. <https://doi.org/10.1016/J.CIS.2023.103005>.
- Herrera Ordóñez, Jorge, Enrique Saldívar-Guerra y Eduardo Vivaldo-Lima. 2013. Dispersed-phase polymerization processes. En Enrique Saldívar-Guerra y Eduardo Vivaldo-Lima (eds.), *Handbook of polymer synthesis, characterization, and processing*. Hoboken, N. J., USA: John Wiley & Sons, Inc., 295-315. <https://doi.org/10.1002/9781118480793.ch14>.
- Herrera Ordóñez, Jorge, Roberto Olvera-Guillén, Gabriela Rocha-Botello, Karla Juárez-Moreno y Martha Cruz-Soto. 2023. Proceso de obtención de nanopartículas de polímero para la liberación de fármacos mediada por receptor. Patente de México No. 402024. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial.
- Kaneo, Yoshiharu, Shiori Hashihama, Atsufumi Kakinoki, Tetsuro Tanaka, Takayuki Nakano y Yuka Ikeda. 2005. Pharmacokinetics and biodisposition of poly(vinyl alcohol) in rats and mice. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 20(6): 435-42. <https://doi.org/10.2133/DMPK.20.435>.
- Kelly, C. M., C. C. DeMerlis, D. R. Schoneker y J. F. Borzelleca. 2003. Subchronic toxicity study in rats and genotoxicity tests with polyvinyl alcohol. *Food and Chemical Toxicology*, 41(5): 719-27. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(03\)00003-6](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(03)00003-6).
- Kettler, Katja, Karin Veltman, Dik van de Meent, Annemarie van Wezel y A. Jan Hendriks. 2014. Cellular uptake of nanoparticles as determined by particle properties, experimental conditions y cell type. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33(3): 481-92. <https://doi.org/10.1002/etc.2470>.

- Ledermann, J. A., S. Canevari y T. Thigpen. 2015. Targeting the folate receptor: diagnostic and therapeutic approaches to personalize cancer treatments. *Annals of Oncology*, 26(10): 2034-43. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv250>.
- Lesko, P. M. y P. R. Sperry. 1997. Acrylic and styrene-acrylic polymers. En Peter A. Lovell and Mohamed S. El-Aasser (eds.), *Emulsion polymerization and emulsion polymers*. Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd., 619-55.
- Lovell, Peter A. y F. Joseph Schork. 2020. Fundamentals of emulsion polymerization. *Biomacromolecules* 619-55. 21(11): 4396-4441. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.0c00769>.
- Lv, Shixian, Meilyn Sylvestre, Alexander N. Prossnitz, Lucy F. Yang y Suzie H. Pun. 2021. Design of polymeric carriers for intracellular peptide delivery in oncology applications. *Chemical Reviews*, 121(18): 11653-98. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00963>.
- Mok, Zi Hong. 2024. The effect of particle size on drug bioavailability in various parts of the body. *Pharmaceutical Science Advances*, 2(noviembre): 100031. <https://doi.org/10.1016/j.pscia.2023.100031>.
- Narmani, Asghar, Melina Rezvani, Bagher Farhood, Parvaneh Darkhor, Javad Mohammadnejad, Bahram Amini, Soheila Refahi y Nouraddin Abdi Goushbolagh. 2019. Folic acid functionalized nanoparticles as pharmaceutical carriers in drug delivery systems. *Drug Development Research*, 80(4): 404-24. <https://doi.org/10.1002/ddr.21545>.
- Nel, Andre E., Lutz Mädler, Darrell Velegol, Tian Xia, Eric M. V. Hoek, Ponisseril Somasundaran, Fred Klaessig, Vince Castranova y Mike Thompson. 2009. Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface. *Nature Materials*, 8(7): 543-57. <https://doi.org/10.1038/nmat2442>.
- Nguyen, Luan N. M., Zachary P. Lin, Shrey Sindhwani, Presley MacMillan, Stefan M. Mladjenovic, Benjamin Stordy, Wayne Ngo y Warren C. W. Chan. 2023. The exit of nanoparticles from solid tumours. *Nature Materials*, 22(10): 1261-72. <https://doi.org/10.1038/s41563-023-01630-0>.
- Olvera-Guillén, Roberto, Karla Juárez-Moreno, Martha Cruz-Soto, Gabriela Rocha-Botello y Jorge Herrera Ordóñez. 2021. Supramolecular poly(vinyl alcohol)-folate structure as functional layer and colloidal stabilizer of poly(vinyl acetate) nanoparticles with potential use as nanocarrier for hydrophobic antitumor agents. *Journal of Nanoparticle Research*, 23(6): 132. <https://doi.org/10.1007/s11051-021-05241-1>.
- Ottewill, Ronald H. 1997. Stabilization of polymer colloids dispersions. En Peter A. Lovell y Mohamed S. El-Aasser (eds.), *Emulsion polymers and emulsion polymerization*. Londres: John Wiley & Sons Ltd., 59-121. <https://www.wiley.com/en-mx/Emulsion+Polymerization+and+Emulsion+Polymers-p-9780471967460>.
- Patel, Siddharth, Renee C. Ryals, Kyle K. Weller, Mark E. Pennesi y Gaurav Sahay. 2019. Lipid nanoparticles for delivery of messenger RNA to the back of the eye. *Journal of Controlled Release*, 303(junio): 91-100. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.04.015>.
- Pichot, C., T. Delair y A. Elaïssari. 1995. Polymer colloids for biomedical and pharmaceuti-

- cal applications. En *Polymeric dispersions: principles and applications*. Dordrecht: Springer Netherlands, 515-539. https://doi.org/10.1007/978-94-011-5512-0_33.
- Pulingam, Thiruchelvi, Parisa Foroozandeh, Jo-Ann Chuah y Kumar Sudesh. 2022. Exploring various techniques for the chemical and biological synthesis of polymeric nanoparticles. *Nanomaterials*, 12(3): 576. <https://doi.org/10.3390/nano12030576>.
- Rejman, Joanna, Volker Oberle, Inge S. Zuhorn y Dick Hoekstra. 2004. Size-dependent internalization of particles via the pathways of clathrin- and caveolae-mediated endocytosis. *Biochemical Journal*, 377(1): 159-69. <https://doi.org/10.1042/bj20031253>.
- Rivera-Hernández, Gabriela, Marilena Antunes-Ricardo, Patricia Martínez-Morales y Mirna L. Sánchez. 2021. Polyvinyl alcohol based-drug delivery systems for cancer treatment. *International Journal of Pharmaceutics*, 600(mayo): 120478. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120478>.
- Rivera M., Sánchez Bartz F., Gracia Mora I. 2022. *Evaluación de nanopartículas en un xenotransplante de adenocarcinoma mamario MCF-7 a ratón desnudo (nu/nu)*. In: informe de resultados, UNIPREC, Facultad de Química, UNAM.
- Sadato, A., W. Taki, Y. Ikada, I. Nakahara, K. Yamashita, K. Matsumoto, M. Tanaka *et al.* 1994. Experimental study and clinical use of poly(vinyl acetate) emulsion as liquid embolisation material. *Neuroradiology*, 36(8): 634-41. <https://doi.org/10.1007/BF00600429>.
- Sakai, Kiyofumi, Masayuki Fukuba, Yutaka Hasui, Kunihiro Moriyoshi, Takashi Ohmoto, Tokio Fujita y Tatsuhiko Ohe. 1998. Purification and characterization of an esterase involved in poly(vinyl alcohol) degradation by *Pseudomonas vesicularis* PD. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 62(10): 2000-2007. <https://doi.org/10.1271/bbb.62.2000>.
- Sindhwani, Shrey, Abdullah Muhammad Syed, Jessica Ngai, Benjamin R. Kingston, Laura Maiorino, Jeremy Rothschild, Presley MacMillan *et al.* 2020. The entry of nanoparticles into solid tumours. *Nature Materials*, (enero). <https://doi.org/10.1038/s41563-019-0566-2>.
- Solaro, Roberto, Andrea Corti y Emo Chiellini. 2000. Biodegradation of poly(vinyl alcohol) with different molecular weights and degree of hydrolysis. *Polymers for Advanced Technologies*, 11(8-12): 873-78. [https://doi.org/10.1002/1099-1581\(200008/12\)11:8/12<873::AID-PAT35>3.0.CO;2-V](https://doi.org/10.1002/1099-1581(200008/12)11:8/12<873::AID-PAT35>3.0.CO;2-V).
- Vauthier, Christine y Gilles Ponchel (eds.). 2016. *Polymer nanoparticles for nanomedicines*. Cham, Switzerland: Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-41421-8>.
- Zhou, Jikou, Carola Leuschner, Challa Kumar, Josef F. Hormes y Winston O. Soboyejo. 2006. Sub-cellular accumulation of magnetic nanoparticles in breast tumors and metastases. *Biomaterials*, 27(9): 2001-8. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.10.013>.

Green nanotechnology: a review for aurum nanoparticles

Nanotecnología verde: una revisión de nanopartículas áuricas

Williams de Jesús Jiménez-Martínez,* Juan Carlos Vázquez-Lira*[†]

ABSTRACT: Green chemistry, based on the principles of Paul Anastas and John Warner, promotes the sustainable synthesis of gold nanoparticles (AuNPs) by reducing the use of toxic substances and minimizing hazardous waste. Traditional methods, which employ reducing agents such as sodium borohydride (NaBH_4), generate harmful by-products, while green approaches use natural agents such as plant extracts and microorganisms that act as reductants and stabilizers, without generating toxic waste. These methods are not only safer, but also improve the biocompatibility of AuNPs, making them much more suitable for biomedical applications, notably drug delivery, targeted therapies and molecular diagnostics. The use of natural sources and biocatalysts, such as enzymes or microorganisms, facilitates synthesis under mild conditions, allowing greater control over the shape and size of AuNPs. These nanoparticles can be designed to specifically target cells, improving the efficacy of cancer treatments and reducing adverse effects. In this paper, we present the main features and advantages of green synthesis of AuNPs for a promising alternative with significant applications in nanomedicine and other technological areas.

KEYWORDS: green nanotechnology, nanotoxicology, bionanocompatibility, gold nanoparticles, green chemistry.

RESUMEN: La química verde, basada en los principios de Paul Anastas y John Warner, promueve la síntesis sostenible de nanopartículas de oro (AuNPs) reduciendo el uso de sustancias tóxicas y minimizando los residuos peligrosos. Los métodos tradicionales, los cuales emplean agentes reductores como el borohidruro de sodio (NaBH_4), generan subproductos nocivos, mientras los enfoques verdes utilizan agentes naturales como extractos de plantas y microorganismos actuando como reductores y estabilizadores, sin generar residuos tóxicos. Estos métodos no solo son más seguros, sino que también mejoran la biocompatibilidad de las AuNPs, haciéndolas mucho más adecuadas para aplicaciones biomédicas, en particular para la administración de fármacos, las terapias dirigidas y los diagnósticos moleculares. El uso de fuentes naturales y biocatalizadores, como enzimas o microorganismos, facilita la síntesis en condiciones suaves, lo cual permite un mayor control sobre la forma y el tamaño de las AuNPs. Estas nanopartículas pueden ser diseñadas para dirigirse específicamente a las células, mejorando la eficacia de los tratamientos contra el cáncer y reduciendo los efectos adversos. En este artículo, presentamos las principales características y ventajas de la síntesis verde de nanopartículas de oro como una alternativa prometedora con importantes aplicaciones en nanomedicina y otras áreas tecnológicas.

PALABRAS CLAVE: nanotecnología verde, nanotoxicología, bionanocompatibilidad, nanopartículas de oro, química verde.

Received: January 30, 2025.

Accepted: April 23, 2025.

Published: May 8, 2025.

* Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Ciudad de México, México. Laboratorio de Simulación Química. UMIEZ.

[†] Author for correspondence: drjvazque@unam.mx

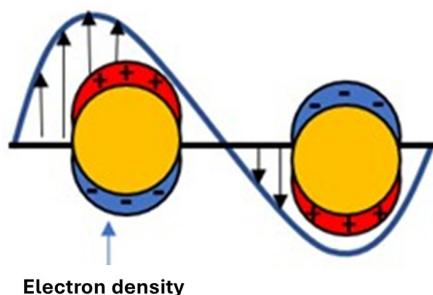


Introduction

Since about the first quarter of the 21st century, the research, development and application of nanoparticles (NPs) has increased significantly (Prakash *et al.*, 2024). These particles range in size from 1 to 100 nm in each of their dimensions, which means that these materials can be of different chemical compositions. Examples include polymeric NPs, carbon-derived NPs, lipids, metal oxides, and metallic NPs, for example aurum nanoparticles (AuNPs). Due to their unique chemical properties and remarkable ability to interact with light, the AuNPs have been extensively studied (Kiio *et al.*, 2021).

AuNPs exhibit special properties compared to their macroscale counterparts. They possess a unique combination of physicochemical properties that are crucial for their applications in various fields such as electronics, catalysis and the development of molecular sensors. The latter application is of particular interest in the biomedical field. Some of the most notable properties of AuNPs are their exceptional chemical stability, especially in their colloidal form, their ability to be biocompatible in biological systems, and their remarkable optical properties exemplified by the localized surface plasmon resonance (LSPR) (figure 1) effect (Fan *et al.*, 2020; Bhatia *et al.*, 2023).

FIGURE 1. General scheme of LSPR effect.



Source: Author's elaboration. Image created with BioRender.

However, despite their considerable importance, the conventional synthesis of AuNPs is subject to several limitations, primarily relating to their biocompatibility and the environmental safety of their removal and disposal. The conventional synthesis methods usually use toxic and hazardous chemical reagents such as sodium borohydride (NaBH_4) in conjunction with surfactants and solvents of organic character, which directly affect human health and consequently their biomedical applications (Kimling *et al.*, 2006; Dong *et al.*, 2020; Oliveira *et al.*, 2023).

In addition, they generate by-products and intermediates that require appropriate handling and disposal. Despite their traditional effectiveness in controlling size, morphology and yield of AuNPs, chemical synthesis pro-

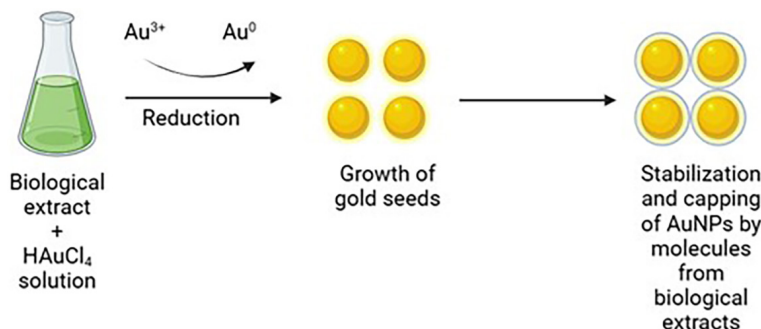
cesses are the subject of studies and have led to various proposed changes due to their negative impact on the use of AuNPs as biomaterials, their environmental impact and the toxicological risks associated with their industrial implementation (Yah *et al.*, 2013; Wuithschick *et al.*, 2015; Dvorakova *et al.*, 2022).

In view of these problems, a branch of chemical synthesis known as “green synthesis” has been proposed as a means of developing AuNPs that offer safer, less toxic and more environmentally friendly alternatives. Green chemistry is the development of chemical processes that minimize or eliminate the use and generation of toxic residues, with the goal of minimizing biological and environmental impacts (Anastas and Warner, 2000 & 2005). This approach is based on the 12 basic principles proposed by Paul Anastas and John Warner in 1998, which advocate the use of safer reagents and chemicals and/or chemicals of natural origin (derived directly from nature) (Anastas and Warner, 1998; Anastas and Eghbali 2010).

The application of the principles of green chemistry to the synthesis of AuNPs has led to the development of novel methods that effectively reduce or virtually eliminate the use of toxic reagents. One notable advance is the introduction of reducing agents and surfactant stabilizers derived from biological and natural sources, including plant extracts, bacteria, fungi and other living organisms. These processes are commonly referred to as biosynthesis or green synthesis as they utilize natural compounds from said extracts, such as flavonoids, terpenoids and polyphenols, to form AuNPs (figure 2) (Panda *et al.*, 2011; Ahmed *et al.*, 2016).

In addition to biosynthesis, there are other green synthesis methods, such as the use of distilled water or Milli-Q water instead of toxic organic media and the use of biocompatible reducing agents such as ascorbic acid or sodium citrate, which can be easily degraded by the human body and the ecosystem (Ojea-Jiménez *et al.*, 2010; Merza *et al.*, 2012).

FIGURE 2. General scheme of AuNPs synthesis using biological extracts.



Source: Author's elaboration. Image created with BioRender.

Nevertheless, the use of green synthesis is not without its drawbacks. These include issues of scalability and reproducibility arising from the lack of precision in optimizing the concentrations used in these methods. This is because different extracts may contain different amounts of the desired substances. In addition, the control of the size and morphology of AuNPs is not uniform in these methods.

Taking these considerations, various research groups have proposed alternative methods in the field of nanoscience, with a particular focus on the application of AuNPs in different areas.

This review explains the principles of green chemistry and the synthesis methods used for AuNPs and describes their benefits and applications in biomedicine. It also highlights the shortcomings of these methods and provides insights into possible ways to analytically optimise AuNP synthesis.

Principles of green chemistry in the synthesis of AuNPs

To apply the principles of green chemistry as outlined by Paul Anastas and John Warner to the synthesis of AuNPs, it is necessary to understand the benefits that can be achieved during the synthesis process. The most important of these benefits are listed below.

Avoiding the generation of toxic waste is one of the main goals of green chemistry. One of the basic tenets of green chemistry is the reduction or even elimination of toxic waste, which requires the development of processes that minimize or eliminate the generation of hazardous by-products. Traditional methods for the synthesis of AuNPs of different shapes and sizes usually involve the use of reducing agents such as NaBH_4 . However, this approach has been shown to be a source of toxic and hazardous by-products that can remain as residues in colloidal dispersions for biological and/or biomedical applications (Altuwayjiri *et al.*, 2022).

Consequently, the application of green chemistry in the synthesis of AuNPs facilitates the development of synthetic routes in which precursors achieve high quantitative yields in the generation of NPs while reducing the generation of waste products from toxic reagents. For example, the use of reducing agents has been explored, including the use of natural or biocompatible stabilizers from plants, microorganisms or biomolecules that do not generate toxic by-products. In addition to facilitating the reduction of gold salt ions to metallic gold, plant extracts can also stabilize AuNPs without the need for additional surfactants, further reducing the generation of toxic waste (Bhattarai *et al.*, 2018; Asiya *et al.*, 2020).

It is important to optimize the efficiency of the chemical equilibrium. Maximizing efficiency is due to increasing the percentage of reactant molecules incorporated into the final NPs. This contrasts with the traditional synthesis processes for AuNPs, where some molecules or atoms cannot be fully incorporated into the desired final product, resulting in waste. Consequently,

the goal of green chemistry is to improve the efficiency of the synthesis pathways to maximize the conversion or integration of these chemical species into the NPs. This approach reduces the quantity of reagents required and therefore the amount of waste produced. Examples of these reactions include methods in aqueous or single-phase media, where postponing the reaction results in the highest possible conversion of the desired product(s), avoiding the formation of unnecessary by-products (Paciotti *et al.*, 2006; Ovais *et al.*, 2017).

The use of biocompatible raw materials is a basic principle of green chemistry in the synthesis of AuNPs. This approach involves the modification of toxic chemical reagents with the aim of replacing them with biocompatible and renewable alternatives. Traditionally, reducing agents are among the most toxic substances used in this process. Therefore, the use of natural substances from plant extracts and/or microorganisms, which act as both reducing agents and stabilizing surfactants, has gained importance (Sharma *et al.*, 2012; Meléndez-Villanueva *et al.*, 2019). For example, extracts of green tea, aloe vera, turmeric, peppermint and neem leaves have been shown to contain reducing substances, including citric acid and tannic acid, which effectively reduce the Au (III) present in the precursor salt to metallic Au(0) during the synthesis of AuNPs, eliminating the need for additional reagents. These extracts not only have a reducing effect, but also the ability to act as stabilizers for the AuNPs formed, eliminating the need for toxic surfactants such as cetyltrimethylammonium salts (Gurunathan *et al.*, 2014; Elia *et al.*, 2014; Fadaka *et al.*, 2021). Conversely, the use of microorganisms, including bacteria, fungi and algae, has been shown to be effective in the production of AuNPs under mild conditions. This approach offers a significant advantage in the form of biocompatible NPs in colloidal dispersion (Zhaleh *et al.*, 2019).

Reducing energy consumption is a major advantage of this approach. Green chemistry strives to reduce energy consumption by using mild reaction conditions such as ambient temperature and pressure. This is a significant advantage over conventional methods of synthesizing AuNPs, which often require high temperatures or long reaction times, resulting in increased energy costs and environmental impact.

Green synthesis methods, in which plant extracts are used as reducing agents, allow reaction rates to be accelerated without the need for an external energy source. In addition, alternative energy sources, such as solar radiation, have been investigated to accelerate the synthesis of AuNPs while reducing energy consumption (Singh *et al.*, 2013; Das *et al.*, 2010).

Biocatalysts: in many chemical processes, including the synthesis of AuNPs, catalysts are essential to increase the efficiency and quantitative part of the reaction. However, many of these catalysts are toxic and have a high market value due to their chemical nature, which includes precious or heavy metals (Zhao *et al.*, 2013; Prielcel *et al.*, 2016). Nevertheless, green chemistry advocates the use of catalysts that are neither toxic nor difficult to remove from the reaction system. An alternative is the use of biocatalysts, such as en-

zymes, which can accelerate the reaction process of AuNPs without generating toxic residues. This can include the use of plant extracts or microorganisms. Certain microorganisms, such as *Rhodopseudomonas capsulata*, can facilitate the reduction of gold ions to AuNPs under mild biological conditions (He *et al.*, 2007 & 2008; Singh *et al.*, 2014; Menon *et al.*, 2017).

The synthesis of AuNPs from plant extracts is of great importance for the reduction of toxicity in the environment and the possibility of large-scale synthesis at lower cost (Yang *et al.*, 2013). These extracts can serve as reducing and stabilizing agents in the synthesis of NPs of different shapes and sizes. Due to their accessibility and physicochemical properties, plant extracts have been used for the conversion of metal salts into NPs, a process that has attracted considerable attention in recent years (Clemente *et al.*, 2017).

The use of these extracts for the biosynthesis of AuNPs has gained importance due to the potential of these particles to be used as biomarkers, sensors and carriers of molecules of interest, as well as their potent antibacterial activity (Ikram *et al.*, 2015). The synthesis of AuNPs using plant extracts is a straightforward, one-step process. During the reduction of gold ions to NPs, the plant extracts themselves act as stabilizers and surfactants and facilitate the formation of the NPs. For example, it has been documented that those medicinal plants such as *Cucurbita pepo* and *Malva crispa* have been used to synthesize spherical AuNPs that are used in the food industry as antibacterial agents against pathogens that cause spoilage of certain fruits (Chandran *et al.*, 2019).

In another documented case, an aqueous extract of *Acalypha indica* leaves was used to synthesize AuNPs with a size of 20 to 30 nm. These NPs were then used in targeted cancer therapy in various cell lines. The synthesis of AuNPs with a triangular shape was achieved using lemon leaf extract, which is mainly composed of ascorbic acid (vitamin C) (Krishnaraj *et al.*, 2014). Similarly, AuNPs ranging in size from 5 to 100 nm were synthesized from extracts of *Syzygium aromaticum* using the flavonoid-like molecules present in this plant (Raghunandan *et al.*, 2010). The reductive-stabilizing effect of agricultural waste products, such as banana peels, was also investigated and led to the synthesis of AuNPs with an average size of 300 nm (Bankar *et al.*, 2010). In addition, extracts of *Mentha piperita*, *Madhuca longifolia*, *Suaeda monoica*, *Stevia rebaudiana*, *Coleus amboinicus* and *Zingiber officinale* were used (Mubarak *et al.*, 2011; Mohammed *et al.*, 2011; Arockiya *et al.*, 2014; Sadeghi *et al.*, 2015; Narayanan *et al.*, 2010; Kumar *et al.*, 2011). In addition, other plants have also been used to synthesize AuNPs in a range of shapes and sizes. The data presented in table 1 illustrates the diversity of plant extracts used in the last five years and reflects the dynamic advances in nanotechnology synthesis.

Most of the molecules contained in these plant extracts that are responsible for reducing the formation of NPs are flavonoids, ascorbic acid, tannic acid and citric acid. However, this approach has some disadvantages. The

concentration of chemical species derived from plant extracts is not fully regulated, leading to the formation of AuNPs with different sizes and shapes. Consequently, the desired physicochemical properties cannot be fully optimized or controlled

TABLE 1. Synthesis of AuNPs using various plant extracts.

Extract	Size and shape of AuNPs	References
<i>Plum peel</i>	8-10 nm, quasi-spherical polyhedra	Vorobyova <i>et al.</i> (2024)
<i>Halimeda macroloba</i>	18-20 nm, quasi-spherical polyhedra	Lavanya <i>et al.</i> (2024)
<i>Acorus calamus</i>	30-50 nm, quasi-spherical polyhedra	Peng <i>et al.</i> (2024)
<i>Vitis vinifera</i> , <i>Buchananialanzan</i> , <i>Phoenix dactylifera</i>	---, quasi-spherical polyhedra, rods	Patil <i>et al.</i> (2023)
<i>Andrographis paniculata</i>	40 nm, quasi-spherical polyhedra, triangles & hexagons	Do-Dat <i>et al.</i> (2023)
<i>Papaya peel</i>	10-15 nm, quasi-spherical polyhedra	Anadozie <i>et al.</i> (2022)
<i>Polianthes tuberosa</i>	50-70 nm, quasi-spherical polyhedra & triangles	Alghuthaymi <i>et al.</i> (2021)
<i>Mentha longifolia</i>	36 nm, quasi-spherical polyhedra	Li, S. <i>et al.</i> (2021)
<i>Pimenta dioica</i>	20-30 nm, quasi-spherical polyhedra	Fadaka <i>et al.</i> (2021)
<i>Sambucus wightiana</i>	10-20 nm, triangles, cubes, hexagons y decaedres	Khuda <i>et al.</i> (2021)
<i>Platycodon grandiflorum</i>	30-80 nm, triangles & octaedres	Anbu <i>et al.</i> (2020)
<i>Jasminum auriculatum</i>	8-37 nm, quasi-spherical polyhedra	Balasubramanian <i>et al.</i> (2020)
<i>Litsea cubeba</i>	8-18 nm, quasi-spherical polyhedra	Doan <i>et al.</i> (2020)
<i>Simarouba glauca</i>	10 nm, quasi-spherical polyhedra	Thangamani <i>et al.</i> (2019)
<i>Annona muricata</i>	25 nm, quasi-spherical polyhedra	Folorunso <i>et al.</i> (2019)

Source: Author's elaboration.

Synthesis through microorganisms

The synthesis of AuNPs was also carried out using microorganisms, as these are easy to handle. In addition, the medium is inexpensive, and the resulting waste is biocompatible and environmentally friendly (Sehgal *et al.*, 2018).

Synthesis can occur intracellularly or extracellularly, depending on the site of formation. In the first process, the specific gold ions originating from the precursor salt are transported to the cell wall or membrane, which has a negative electrical charge. This enables more efficient ion transport through electrostatic attraction and diffusion. In this mechanism, the enzymes present in the cell walls or membranes reduce Au(III) to metallic gold, facilitating the formation of AuNPs (Menon *et al.*, 2017; Shedbalkar *et al.*, 2014). In the extra-

cellular method, enzymes synthesized by prokaryotic microorganisms and/or fungi, such as nitrate reductase, reduce the urea ions present in the NPs to metallic gold (Perotti *et al.*, 2015; Brito *et al.*, 1999).

Both methods have in common that upon contact with heavy metals such as gold, the microorganisms employ metal elimination mechanisms through ion channels, endocytosis, lipid permeation, metallothionein-mediated transport and other means to facilitate the active excretion of these ions from the synthesized AuNPs (Mishra *et al.*, 2013; Nies *et al.*, 1999).

Bacteria-mediated synthesis

Some bacteria can reduce metals such as Fe (III) to Fe (0). This ability was investigated with the aim of reducing Au (III) to Au (0) (Pacioni *et al.*, 2015). The adsorption of these ions occurs via the transport of vesicles, with protein enzymes being responsible for the reduction during this process. This prevents the formation of toxic residues for microorganisms. The synthesis of AuNPs by these methods usually leads to a high degree of uniformity in size and shape and thus to a well-defined crystal structure. Nevertheless, due to the lack of precise control over the synthesis of AuNPs by this method, it is challenging to accurately predict their size and shape (Khandel *et al.*, 2016).

Fungal-mediated synthesis

Another category of microorganisms that has recently been researched with regard to the development of AuNPs are fungi. They are used because they can secrete large quantities of enzymes that are useful for this purpose. This makes them suitable for use on a laboratory scale and they are also easily accessible and relatively inexpensive (Molnar *et al.*, 2018). Some fungi, such as filamentous fungi, exhibit higher tolerance in bioaccumulation of heavy metals and thus facilitate the formation of AuNPs in a faster and more efficient manner.

Specific enzymes are involved in the intracellular biosynthesis method, including phytochelatin synthase and glutathione synthetase (Savi *et al.*, 2012). Most AuNPs synthesized by this method are typically spherical and have a diameter of 10 to 20 nm (Xu *et al.*, 2024).

Prokaryote-mediated synthesis

Prokaryotic microorganisms such as actinomycetes, which have characteristics of both prokaryotes and fungi, can be genetically modified to enable their metabolism to produce AuNPs of specific size and shape by intracellular mechanisms. However, comprehensive modification for preferential synthesis with the physicochemical properties of specific AuNPs has yet to be achieved. Some of these microorganisms, such as mycobacteria and coryneforms, have already been studied for the synthesis of spherical AuNPs (Ahmad *et al.*, 2003).

As mentioned above, the use of these microbial species offers the advantage of accessibility, control and cost efficiency. All these microorganisms produce products that are biocompatible with the environment and biolog-

ical systems, which can be a great advantage in the synthesis of AuNPs. It should be noted that the lack of specificity in controlling the physicochemical properties of these NPs compared to chemical and traditional methods may be a disadvantage that should be considered in future studies. Table 2 shows a compilation of AuNPs obtained with microorganisms in the last five years. It shows that the predominant shape in this synthesis is spherical, although the size varies considerably among the different strains.

TABLE 2. Synthesis of AuNPs using microorganisms.

Extract	Size and shape of AuNPs	References
Bacteria		
<i>Deinococcus radiodurans</i>	30-50 nm, quasi-spherical polyhedra	Velmathi <i>et al.</i> (2024)
<i>Sarcophyton crassocaule</i>	5-50 nm, quasi-spherical polyhedra	Rokkarukala <i>et al.</i> (2023)
<i>Lysinibacillus odyseyi</i>	20-100 nm, quasi-spherical polyhedra	Chowdhury <i>et al.</i> (2022)
<i>Staphylococcus aureus</i>	6-30 nm, quasi-spherical polyhedra	Qiu <i>et al.</i> (2021)
<i>Escherichia coli</i>	13 nm, quasi-spherical polyhedra	El-Shanshoury <i>et al.</i> (2020)
<i>Bacillus subtilis</i>	13 nm, quasi-spherical polyhedra	El-Shanshoury <i>et al.</i> (2020)
<i>Paracoccus haeundaensis</i>	21 nm, quasi-spherical polyhedra	Patil <i>et al.</i> (2019)
<i>Vibrio alginolyticus</i>	100-150 nm, irregulars	Shunmugam <i>et al.</i> (2021)
Fungi		
<i>Trichoderma atroviride</i> , <i>Trichoderma asperellum</i> , <i>Botrytis cinerea</i>	25, 17 y 93 nm, quasi-spherical polyhedra	Olvera-Aripez <i>et al.</i> (2024)
<i>Candida rugopelliculosa</i>	10-30 nm, quasi-spherical polyhedra	Zhao <i>et al.</i> (2024)
<i>Alternaria chlamydospora</i>	12-15 nm, quasi-spherical polyhedra	Ameen <i>et al.</i> (2023)
<i>Penicillium rubens</i>	15 nm, quasi-spherical polyhedra	Bhandari <i>et al.</i> (2023)
<i>Aspergillus terreus</i>	9-14 nm, quasi-spherical polyhedra	Mishra <i>et al.</i> (2022)
<i>Agaricus bisporus</i>	10-15 nm, quasi-spherical polyhedra & poliedrums	Krishnamoorti <i>et al.</i> (2021)
<i>Fusarium solani</i>	40-45 nm, flowers & needles	Clarence <i>et al.</i> (2020)
<i>Cordyceps militaris</i>	15-20 nm, cubes	Ji <i>et al.</i> (2019)

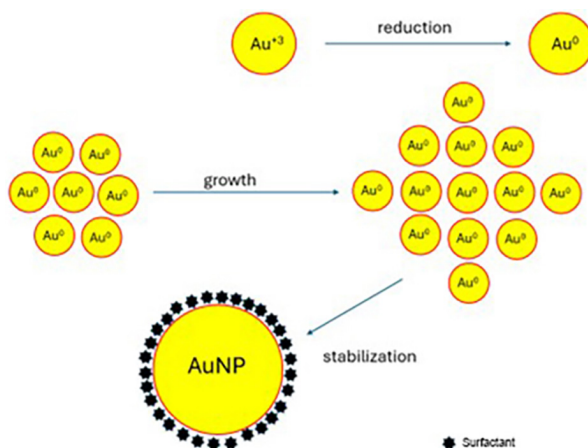
Source: Author's elaboration.

Synthesis of AuNPs by colloidal chemistry

The synthesis of AuNPs by colloidal chemistry involves the reduction of metal salts in colloidal solutions, both in aqueous and non-aqueous media, using traditional reducing agents such as NaBH₄. This process allows control of the physicochemical properties of the NPs, in particular their size and shape. In these cases, the most common starting material is HAuCl₄, chloroauric acid and its hydrated salts. After reduction in a solution, this leads to the forma-

tion of gold nuclei, which subsequently develop into stable anisotropic NPs (figure 3) (Zhou *et al.*, 2009).

FIGURE 3. AuNPs synthesis process using the colloidal method.



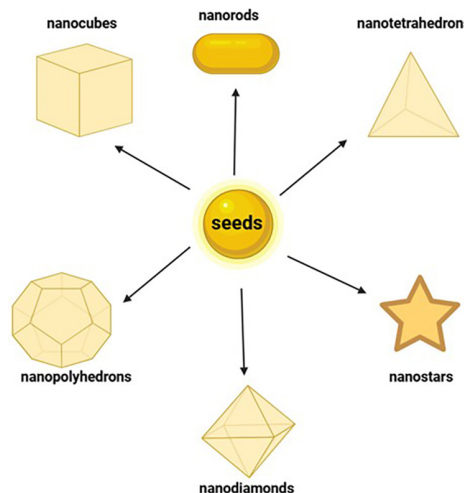
Source: Author's elaboration. Image created with BioRender.

The Turkevich method is a well-known technique for synthesizing AuNPs through colloidal chemistry. Developed by John Turkevich in 1951, this method involves reducing $HAuCl_4$ in an aqueous solution with reducing agents at elevated temperatures. This process results in the formation of spherical AuNPs with sizes typically ranging from 10 to 20 nm (Kimling *et al.*, 2006). Various research groups have utilized this method to refine the size of the NPs by adjusting several parameters, including salt concentration, gold salt concentration, and the amount of stabilizer used. One notable modification to the Turkevich method is the Brust-Schiffrin approach, which uses non-aqueous media and thiols as stabilizing agents, allowing to produce AuNPs with sizes between 1 and 5 nm (Brust-Schiffrin *et al.*, 1994). However, the presence of toxic reducing agents and non-biocompatible solvents in non-aqueous media has prompted investigations into new synthesis methods to improve nanoparticle biocompatibility (Ginzburg *et al.*, 2018).

The choice between aqueous and non-aqueous reaction mediums and surfactants plays a crucial role in these syntheses, directly influencing the size, shape, and stability of NPs throughout their development (figure 4) (Xiao *et al.*, 2011).

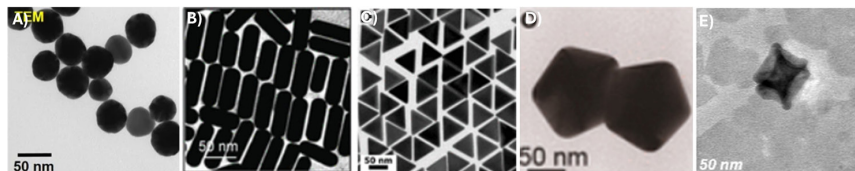
The adsorption of these molecules on the surface of AuNPs allows for the control of their growth and size, preventing aggregation and resulting in particles with a uniform size. Additionally, the chemical nature of the surfactant and the reaction medium can affect the formation of specific shapes, such as quasi-spherical polyhedral, rods, tetrahedrons, cubes, and others (figure 5) (Smith *et al.*, 2008; Hormozi-Nezhad *et al.*, 2013; Sakai *et al.*, 2009).

FIGURE 4. Different shapes of AuNPs from quasi-spherical polyhedral seeds.



Source: Author's elaboration. Image created with BioRender.

FIGURE 5. Compilation of different shapes of AuNPs observed by TEM.



From left to right:

- A) Quasi-spherical polyhedral (Hong, Y. A., Ha, J. W., 2022).
- B) Rods (Zheng, J. *et al.*, 2021).
- C) Tetrahedrons (Scarabelli, L., Liz-Marzán, L. M., 2021).
- D) Polyhedrons (Sánchez-Iglesias *et al.*, 2016).
- E) Cubes (Romo-Herrera *et al.*, 2016).

Source: Author's elaboration.

Notable examples of surfactants used for physicochemical control include cetyltrimethylammonium chloride (CTAC) and cetyltrimethylammonium bromide (CTAB), which are primarily employed to synthesize anisotropic and tip-terminated forms (Li *et al.*, 2014). The chemical compositions of surfactants like sodium citrate, polyvinylpyrrolidone (PVP), and sodium dodecyl sulfate (SDS) are currently under investigation, as these compounds have been shown to enhance the biocompatibility of synthesized AuNPs. These are mainly used for spherical forms, since no optimized method has been identified for producing stable anisotropic forms (Ginzburg *et al.*, 2018). This relates to green synthesis methods mediated by plant extracts, fungi, and bacteria, which predominantly yield spherical forms, like those produced using the biocompatible surfactants.

The research group led by Zhou and colleagues has proposed a ligand exchange method for synthesizing anisotropic AuNPs. They recommend re-

placing (CTAC) or (CTAB), which are commonly used in synthesizing cubic, triangular, cylindrical, and polyhedron-shaped NPs, with sodium citrate. This synthesis method can produce particles with specific shapes and sizes, and the use of citrate helps reduce toxicity and improve biocompatibility. However, the yield of this reaction is not particularly promising (Zhou *et al.*, 2018).

The benefits and applications of green synthesis of AuNPs in biomedical research

The green synthesis of AuNPs in various shapes and sizes offers numerous benefits, especially in the field of biomedical research. The following section outlines these advantages.

Biocompatibility is a significant advantage of these NPs

AuNPs synthesized through environmentally friendly methods demonstrate high biocompatibility, which means they show minimal or no toxicity at the cellular level within biological systems. This property makes them an excellent option for biomedical applications (Gurunathan *et al.*, 2014).

Because these substances are synthesized without creating toxic residues, they are less likely to cause adverse reactions. This characteristic allows for their safe use in medical diagnostics and the development of advanced therapies, including drug delivery systems and targeted treatments (Kus *et al.*, 2021; Kadhim *et al.*, 2021; Fan *et al.*, 2009).

Facilitated functionalization is a process that enables the attachment of functional groups to the surface of NPs.

One of the key advantages of AuNPs is their ease of functionalization. This characteristic allows for the binding of a wide range of biomolecules, including proteins, antibodies, drugs, and nucleic acids. By attaching specific ligands to their surface, these particles can be customized for targeted and specific applications. Additionally, when materials are used without toxic residues or incompatible surfactants, they are safer and free from potential adverse effects (Amina *et al.*, 2020; Tiwari *et al.*, 2011).

Targeted delivery

AuNPs are particles that possess unique properties, making them highly effective for targeted drug delivery. Due to their small size and ability to be modified on their surface, AuNPs can carry specific molecules. These NPs can be engineered to transport therapeutic agents and release drugs in a controlled manner directly at the intended target site. In cancer treatment, functionalized AuNPs can selectively target tumor cells, delivering the drug directly into them while minimizing damage to surrounding healthy tissues. This targeted approach has the potential to reduce the side effects typically associated with conventional therapies and improve the overall efficacy of treatment (Daraee *et al.*, 2016; Dreaden *et al.*, 2012; Pissuwan *et al.*, 2011).

Biomedical diagnostics and photothermal therapy

The localized surface plasmon resonance (LSPR) effect of AuNPs allows them to be used in highly sensitive biosensors, which can detect overexpressed biomarkers in diseases, even at very low concentrations. AuNPs have been particularly useful in diagnostic assays for the quick identification of infectious agents, including viruses and bacteria, as well as the early detection of nascent cancer cells. They can also be functionalized to target specific therapeutic interventions. Afterward, the NPs are irradiated with lasers in the near-infrared spectrum, generating localized heat that can destroy specific cells (Tabish *et al.*, 2020; Zeng *et al.*, 2016; Huang *et al.*, 2010).

Tissue regeneration

Nanomaterials, such as AuNPs, are utilized in the field of tissue regeneration and engineering. Several studies have been conducted, including research by Gutiérrez-Calleja *et al.* (2021), which demonstrated the ability of mast cells to enhance cell proliferation and support tissue regeneration, particularly in bone and dermal tissue. Additionally, integrating AuNPs into biocompatible scaffolds can create a more favorable environment for cellular regeneration (Yadid *et al.*, 2019; Vial *et al.*, 2017; Bodelón *et al.*, 2017).

The main disadvantages of using green chemistry in the synthesis of AuNPs arise from the natural variability in the composition of biological substances, such as plant extracts and microorganisms. This variability is affected by numerous external factors, including geographical location, climate, and seasonal changes.

The composition and concentration of plant extracts and microbial derivatives can vary based on seasonal and regional factors. For example, the use of flavonoids as reducing and stabilizing agents in the synthesis of AuNPs can fluctuate in concentration due to external influences such as climate, temperature, atmospheric pressure, and soil type. This highlights the direct impact that geographical conditions have on the levels of these chemical compounds (Quintero-García *et al.*, 2021; Tolic *et al.*, 2017; López-Orenes *et al.*, 2017).

Genetic variations within the same species of plants or microorganisms can alter their chemical composition, leading to inconsistent synthesis of AuNPs with controlled physicochemical properties (Rao *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2016).

When considering the physicochemical properties of particles, the size and shape are particularly important in their synthesis. Utilizing natural extracts can lead to less precise control over the growth of AuNPs, resulting in a heterogeneous distribution of sizes and shapes. This variability can affect the surface plasmon effect in an unpredictable manner, which may be beneficial for applications such as sensors for biomarkers or in photothermal therapies (Elia *et al.*, 2014; Iravani *et al.*, 2011). Additionally, the use of biological products that contain complex molecules often requires multiple reduction

processes, making their characterization crucial for process optimization (Albrecht *et al.*, 2006).

Compared to traditional methods of synthesizing AuNPs, reactions that utilize green chemistry may have slower reaction rates. This slower pace can lead to limited short-term efficiency improvements. Such a challenge may hinder industrial applications that require fast and high-volume production processes (Sheldon *et al.*, 2012; Anastas *et al.*, 2002).

In conclusion, one major drawback is the inferior colloidal stability when compared to conventional chemical reagents. For example, using biomolecules in the synthesis process leads to their presence on the surfaces of various AuNPs. This occurs because the stabilizing agents used are not as strong as traditional surfactants. It has been established that the aggregation of AuNPs alters their optical and catalytic properties, ultimately reducing their efficiency in applications (Parveen *et al.*, 2016).

Conclusions and perspectives for the development of new green synthesis methods for AuNPs

Green synthesis methods for developing AuNPs have shown significant potential, providing better environmental impact and biocompatibility compared to traditional chemical synthesis methods. Based on this information, we can conclude that green chemistry enables the production of AuNPs with improved biocompatibility and a lower risk of toxicity and adverse effects. This is particularly important for their use in biomedical applications. Moreover, green synthesis can have notable economic benefits, as many of the raw materials used—such as leaves, shells, or agricultural residues—are abundant and inexpensive. This not only reduces costs but also minimizes toxicity risks compared to conventional chemical reagents.

Despite the potential of green synthesis for generating AuNPs, there are still several issues and challenges that need to be addressed before it can be deemed a viable method. Current protocols require optimization to ensure that the physicochemical properties of the NPs such as size and shape are consistent and reproducible. This consistency is crucial for their effectiveness and application in industrial and biomedical fields.

To tackle these challenges, it is crucial to conduct focused research on biological sources for synthesizing AuNPs. Utilizing readily accessible and cost-effective plants or microorganisms, we can achieve this. The goal is to optimize reaction conditions to have better control over the physicochemical properties of AuNPs. Additionally, this approach could enable the synthesis of a wider variety of AuNP shapes and sizes, thereby broadening their potential applications in technology and biomedicine.

Research on AuNPs synthesized using green methods could be a valuable direction for applications in nanomedicine, including controlled drug delivery, targeted therapies, and the development of sensors for medically rele-

vant biomolecules. Future studies should thoroughly investigate the interactions between AuNPs and biological systems to ensure their safety and effectiveness. It is essential to accurately characterize these particles both during the synthesis process and in their interactions within nano-biological systems.

Establishing clear standards and regulations is essential to ensure that the development and production of green NPs focus on sustainability. By doing so, we can ensure that these processes align with sustainability principles. These regulations should address key issues, including the safe production, use, and disposal of AuNPs, with the goal of minimizing potential risks to the environment and public health.

The implementation of these regulations will promote the broader use of green NPs in industrial and medical applications. The benefits to technology and the environment are expected to be realized through this expansion (Manchikanti *et al.*, 2010; Cely-Bautista *et al.*, 2023).

It is very important to highlight that the wide variety of natural sources serves as a basis for further research into the impact of synthesis on AuNPs. As time goes on, we can expect a more comprehensive database and comparative results to develop, providing valuable insights into the best methods for achieving the desired products. Additionally, the integration of artificial intelligence could further enhance this context.

Authors contribution

The authors contributed equally to the search for information, writing and reviewing this article. There is no conflict of interest between them.

References

- Ahmad, A., S. Senapati, M. I. Khan, R. Kumar and M. Sastry. (2003). Extracellular biosynthesis of monodisperse gold nanoparticles by a novel extremophilic actinomycete. *Thermomonospora* sp. *Langmuir*, 19(8): 3550-3553. <https://doi.org/10.1021/la026772l>.
- Ahmed, S. and S. Ikram. (2016). Biosynthesis of gold nanoparticles: a green approach. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 161: 141-153. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.04.034>.
- Albrecht, M. A., C. W. Evans and C. L. Raston. (2006). Green chemistry and the health implications of nanoparticles. *Green Chemistry*, 8(5): 417-432. <https://doi.org/10.1039/B517131H>.
- Altuwayjiri, G., R. Alotaibi, M. Albarqan and S. Goumri-Said. (2022). Exploring low toxic and green propellants based on sodium borohydride. *Emergent Materials*, 5(4): 1227-1239. <https://doi.org/10.1007/s42247-022-00384-w>.
- Alghuthaymi, M. A., C. Rajkuberan, T. Santhiya, O. Krejcar, K. Kuča, R. Periakaruppan and S. Prabukumar. (2021). Green synthesis of gold nanoparticles using *Polian-*

- thes tuberosa* L. floral extract. *Plants*, 10(11): 2370. <https://doi.org/10.3390/plants10112370>.
- Ameen, F., K. S. Al-Maary, A. Almansob and S. AlNadhari. (2023). Antioxidant, antibacterial and anticancer efficacy of *Alternaria chlamydospora*-mediated gold nanoparticles. *Applied Nanoscience*, 13(3): 2233-2240. <https://doi.org/10.1007/s13204-021-02047-4>.
- Amina, S. J. and B. Guo. (2020). A review on the synthesis and functionalization of gold nanoparticles as a drug delivery vehicle. *International Journal of Nanomedicine*, 9823-9857. <https://doi.org/10.2147/IJN.S279094>.
- Anadozie, S. O., O. B. Adewale, A. O. Fadaka, O. B. Afolabi and S. Roux. (2022). Synthesis of gold nanoparticles using extract of *Carica papaya* fruit: evaluation of its antioxidant properties and effect on colorectal and breast cancer cells. *Bio-catalysis and Agricultural Biotechnology*, 42: 102348. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102348>.
- Anastas, P. T. and Warner, J. C. (1998). Principles of green chemistry. *Green chemistry: Theory and Practice*, 29: 14821-14842.
- Anastas, P. T. and J. C. Warner. (2000). *Green chemistry: theory and practice*. Oxford: Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/oso/9780198506980.001.0001>.
- Anastas, P. T. and M. M. Kirchhoff. (2002). Origins, current status, and future challenges of green chemistry. *Accounts of Chemical Research*, 35(9): 686-694. <https://doi.org/10.1021/ar010065m>.
- Anastas, N. D. and J. C. Warner. (2005). The incorporation of hazard reduction as a chemical design criterion in green chemistry. *Chemical Health & Safety*, 12(2): 9-13. <https://doi.org/10.1016/j.chs.2004.10.001>.
- Anastas, P. and N. Eghbali. (2010). Green chemistry: principles and practice. *Chemical Society Reviews*, 39(1): 301-312. <https://doi.org/10.1039/B918763B>.
- Anbu, P., S. C. Gopinath and S. Jayanthi. (2020). Synthesis of gold nanoparticles using *Platycodon grandiflorum* extract and its antipathogenic activity under optimal conditions. *Nanomaterials and Nanotechnology*, 10: 1847980420961697. <https://doi.org/10.1177/1847980420961697>.
- Arockiya Aarthi Rajathi, F., R. Arumugam, S. Saravanan and P. Anantharaman. (2014). Phyt fabrication of gold nanoparticles assisted by leaves of *Suaeda monoica* and its free radical scavenging property. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 135: 75-80. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.03.016>.
- Asiya, S. I., K. Pal, S. Kralj, G. S. El-Sayyad, F. G. De Souza and T. Narayanan. (2020). Sustainable preparation of gold nanoparticles via green chemistry approach for biogenic applications. *Materials Today Chemistry*, 17: 100327. <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2020.100327>.
- Balasubramanian, S., Kala, S. M. J. and Pushparaj, T. L. (2020). Biogenic synthesis of gold nanoparticles using *Jasminum auriculatum* leaf extract and their catalytic, antimicrobial and anticancer activities. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 57: 101620. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101620>.
- Bankar, A., B. Joshi, A. Ravi Kumar and S. Zinjarde. (2010). Banana peel extract mediated synthesis of gold nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*,

- 80: 45-50. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2010.07.024>.
- Bhandari, Y., Varma, S., Sawant, A., Beemagani, S., Jaiswal, N., Chaudhari, B. P. and Vamkudoth, K. R. (2023). Biosynthesis of gold nanoparticles by *Penicillium rubens* and catalytic detoxification of ochratoxin A and organic dye pollutants. *International Microbiology*, 26(4): 765-780. <https://doi.org/10.1007/s10123-023-00341-5>.
- Bhatia, P. and S. S. Verma. (2023). Enhancement of LSPR properties of temperature-dependent gold nanoparticles. *Materials Today: Proceedings*, 78: 871-876. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.12.020>.
- Bhattarai, B., Y. Zaker and T. P. Bigioni. (2018). Green synthesis of gold and silver nanoparticles: challenges and opportunities. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 12: 91-100. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2018.06.007>.
- Bodelón, G., C. Costas, J. Pérez-Juste, I. Pastoriza-Santos and L. M. Liz-Marzán. (2017). Gold nanoparticles for regulation of cell function and behavior. *Nano Today*, 13: 40-60. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2016.12.014>.
- Brito, F. R. (1999). *The role of menaquinone in the nitrate reductase complex*. Doctoral dissertation, The University of Texas Graduate School of Biomedical Sciences at Houston, 5 May.
- Brust, Mathias, Merryl Walker, David Bethell, David J. Schiffrin and Robin Whyman. (1994). Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in a two-phase liquid-liquid system. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 7: 801-802. <https://doi.org/10.1039/C39940000801>.
- Cely-Bautista, M. M., G. C. Castellar-Ortega, J. E. Jaramillo-Colpas and O. F. Higuera-Cobos. (2023). Global trends in normativity and regulatory issues on nanotechnology. *Revista Facultad de Ingeniería*, 32(65). <https://revistas.uptc.edu.co/index.php/ingenieria/article/view/16403>.
- Chandran, K., S. Song and S. I. Yun. (2019). Effect of size and shape controlled biogenic synthesis of gold nanoparticles and their mode of interactions against food borne bacterial pathogens. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8): 1994-2006. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.11.041>.
- Chowdhury, N. K., R. Choudhury, B. Gogoi, C. M. Chang and R. P. Pandey. (2022). Microbial synthesis of gold nanoparticles and their application. *Current Drug Targets*, 23(7): 752-760. <https://doi.org/10.2174/1389450123666220128152408>.
- Clarance, P., B. Luvankar, J. Sales, A. Khusro, P. Agastian, J. C. Tack and H. J. Kim. (2020). Green synthesis and characterization of gold nanoparticles using endophytic fungi *Fusarium solani* and its *in vitro* anticancer and biomedical applications. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(2): 706-712. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.12.026>.
- Clemente, I., S. Ristori, F. Pierucci, M. Muniz-Miranda, M. C. Salvatici, C. Giordano and C. Gonnelli. (2017). Gold nanoparticles from vegetable extracts using different plants from the market: a study on stability, shape and toxicity. *Chemistry Select*, 2(30): 9777-9782. <https://doi.org/10.1002/slct.201701681>.
- Daraee, H., A. Eatemadi, E. Abbasi, S. F. Aval, M. Kouhi and A. Akbarzadeh. (2016).

- Application of gold nanoparticles in biomedical and drug delivery. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 44(1): 410-422. <https://doi.org/10.3109/21691401.2014.955107>.
- Das, S. K. and E. Marsili. (2010). A green chemical approach for the synthesis of gold nanoparticles: characterization and mechanistic aspect. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 9: 199-204. <https://doi.org/10.1007/s11157-010-9188-5>.
- Doan, V. D., Thieu, A. T., Nguyen, T. D., Nguyen, V. C., Cao, X. T., Nguyen, T. L. H. and Le, V. T. (2020). Biosynthesis of gold nanoparticles using *Litsea cubeba* fruit extract for catalytic reduction of 4-nitrophenol. *Journal of Nanomaterials*, 1: 4548790. <https://doi.org/10.1155/2020/4548790>.
- Do Dat, T., C. Q. Cong, T. L. H. Nhi, P. T. Khang, N. T. H. Nam, N. T. Tinh and N. H. Hieu. (2023). Green synthesis of gold nanoparticles using *Andrographis paniculata* leave extract for lead ion detection, degradation of dyes, and bioactivities. *Biochemical Engineering Journal*, 200: 109103. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2023.109103>.
- Dong, J., P. L. Carpinone, G. Pyrgiotakis, P. Demokritou and B. M. Moudgil. (2020). Synthesis of precision gold nanoparticles using Turkevich method. *KONA Powder and Particle Journal*, 37: 224-232. <https://doi.org/10.14356/kona.2020011>.
- Dreaden, E. C., L. A. Austin, M. A. Mackey and M. A. El-Sayed. (2012). Size matters: gold nanoparticles in targeted cancer drug delivery. *Therapeutic Delivery*, 3(4): 457-478. <https://doi.org/10.4155/tde.12.21>.
- Dvorakova, M., L. Kuracka, I. Zitnanova, S. Scsukova, J. Kollar, K. Konarikova and L. Laubertova. (2022). Assessment of the potential health risk of gold nanoparticles used in nanomedicine. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1: 4685642. <https://doi.org/10.1155/2022/4685642>.
- El-Shanshoury, A. E. R., E. Z. E. Ebeid, S. E. Elsilk, S. F. Mohamed and M. E. Ebeid. (2020). Biogenic synthesis of gold nanoparticles by bacteria and utilization of the chemical fabricated for diagnostic performance of viral hepatitis C virus-NS4. *Letters in Applied Nanobioscience*, 9: 1395-1408. <https://doi.org/10.33263/LIANBS93.13951408>.
- Elia, P., R. Zach, S. Hazan, S. Kolusheva, Z. E. Porat and Y. Zeiri. (2014). Green synthesis of gold nanoparticles using plant extracts as reducing agents. *International Journal of Nanomedicine*, 4007-4021. <https://doi.org/10.2147/IJN.S57343>.
- Fan, J., Y. Cheng and M. Sun. (2020). Functionalized gold nanoparticles: synthesis, properties and biomedical applications. *The Chemical Record*, 20(12): 1474-1504. <https://doi.org/10.1002/tcr.202000087>.
- Fan, J. H., W. I. Hung, W. T. Li and J. M. Yeh. (2009). Biocompatibility study of gold nanoparticles to human cells. In *13th International Conference on Biomedical Engineering: ICBME 2008, 3-6 December, 2008, Singapore*, 870-873. Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-92841-6_214.
- Fadaka, A., O. Aluko, S. Awawu and K. Theledi. (2021). Green synthesis of gold nanoparticles using *Pimenta dioica* leaves aqueous extract and their applica-

- tion as photocatalyst, antioxidant, and antibacterial agents. *Journal of Multi-disciplinary Applied Natural Science*, 1(2): 78-88. <https://doi.org/10.47352/jmans.v1i2.81>.
- Folorunso, A., S. Akintelu, A. K. Oyebamiji, S. Ajayi, B. Abiola, I. Abdusalam and A. Morakinyo. (2019). Biosynthesis, characterization and antimicrobial activity of gold nanoparticles from leaf extracts of *Annona muricata*. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 9: 111-117. <https://doi.org/10.1007/s40097-019-0301-1>.
- Ginzburg, A. L., L. Truong, R. L. Tanguay and J. E. Hutchison. (2018). Synergistic toxicity produced by mixtures of biocompatible gold nanoparticles and widely used surfactants. *ACS Nano*, 12(6): 5312-5322. <https://doi.org/10.1021/acsnano.8b00036>.
- Gutiérrez-Calleja, R. A., O. Rodríguez-Cortés, R. Flores-Mejía and A. Muñoz-Diosdado. (2021). Gold nanoparticles: uptake in human mast cells and effect on cell viability, inflammatory mediators, and proliferation. *Molecular & Cellular Toxicology*, 17: 439-452. <https://doi.org/10.1007/s13273-021-00152-7>.
- Gurunathan, S., J. Han, J. H. Park and J. H. Kim. (2014). A green chemistry approach for synthesizing biocompatible gold nanoparticles. *Nanoscale Research Letters*, 9: 1-11. <https://doi.org/10.1186/1556-276X-9-248>.
- He, S., Z. Guo, Y. Zhang, S. Zhang, J. Wang and N. Gu. (2007). Biosynthesis of gold nanoparticles using the bacteria *Rhodopseudomonas Capsulata*. *Materials Letters*, 61(18): 3984-3987. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2007.01.018>.
- He, S., Y. Zhang, Z. Guo and N. Gu. (2008). Biological synthesis of gold nanowires using extract of *Rhodopseudomonas Capsulata*. *Biotechnology Progress*, 24(2): 476-480. <https://doi.org/10.1021/bp0703174>.
- Hong, Y. A., Ha, J. W. (2022). Enhanced refractive index sensitivity of localized surface plasmon resonance inflection points in single hollow gold nanospheres with inner cavity. *Sci Rep*, 12: 6983. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11197-6>.
- Hormozi-Nezhad, M. R., P. Karami and H. Robotjazi. (2013). A simple shape-controlled synthesis of gold nanoparticles using nonionic surfactants. *RSC Advances*, 3(21): 7726-7732.
- Huang, X. and M. A. El-Sayed. (2010). Gold nanoparticles: optical properties and implementations in cancer diagnosis and photothermal therapy. *Journal of Advanced Research*, 1(1): 13-28. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2010.02.002>.
- Ikram, S. (2015). Synthesis of gold nanoparticles using plant extract: an overview. *Nano Research*, 1(1): 5.
- Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, 13(10): 2638-2650.
- Ji, Y., Y. Cao and Y. Song. (2019). Green synthesis of gold nanoparticles using a *Cordyceps Militaris* extract and their antiproliferative effect in liver cancer cells (HepG2). *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 47(1): 2737-2745. <https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1629952>.
- Kadhim, R. J., E. H. Karsh, Z. J. Taqi and M. S. Jabir. (2021). Biocompatibility of gold nanoparticles: *in-vitro* and *in-vivo* study. *Materials Today: Proceedings*, 42:

- 3041-3045. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.826>.
- Khuda, F., Z. U. Haq, I. Ilahi, R. Ullah, A. Khan, H. Fouad, ... and G. E. S. Batiha. (2021). Synthesis of gold nanoparticles using *Sambucus Wightiana* extract and investigation of its antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidant and analgesic activities. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(10): 103343. <https://doi.org/10.1016/j.arab-jc.2021.103343>.
- Kiio, T. M. and S. Park. (2021). Physical properties of nanoparticles do matter. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 51: 35-51. <https://doi.org/10.1007/s40005-020-00504-w>.
- Kimling, J., M. Maier, B. Okenve, V. Kotaidis, H. Ballot and A. Plech. (2006). Turkevich method for gold nanoparticle synthesis revisited. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(32): 15700-15707. <https://doi.org/10.1021/jp061667w>.
- Khandel, P. and S. K. Shahi. (2016). Microbes mediated synthesis of metal nanoparticles: current status and future prospects. *International Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 6(1): 1-24.
- Krishnamoorthi, R., S. Bharathakumar, B. Malaikozhundan and P. U. Mahalingam. (2021). Mycofabrication of gold nanoparticles: optimization, characterization, stabilization and evaluation of its antimicrobial potential on selected human pathogens. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 35: 102107. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102107>.
- Krishnaraj, C., P. Muthukumaran, R. Ramachandran, M. D. Balakumaran and P. T. Kalaichelvan. (2014). *Acalypha Indica* Linn: biogenic synthesis of silver and gold nanoparticles and their cytotoxic effects against MDAMB-231, human breast cancer cells. *Biotechnology Reports*, 4: 42-49. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2014.08.002>.
- Kumar, K. P., W. Paul and C. P. Sharma. (2011). Green synthesis of gold nanoparticles with *Zingiber officinale* extract: characterization and blood compatibility. *Process Biochemistry*, 46: 2007-2013. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2011.07.011>.
- Kus-Liśkiewicz, M., P. Fickers and I. Ben Tahar. (2021). Biocompatibility and cytotoxicity of gold nanoparticles: recent advances in methodologies and regulations. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(20): 10952. <https://doi.org/10.3390/ijms222010952>.
- Lavanya, G., K. Anandaraj, K. Selvam, M. Gopu, T. Selvankumar, M. Govarthanan and P. Kumar. (2024). Green synthesis of gold nanoparticles using macroalgae *Halimeda Macroloba* extract and their photocatalytic degradation of methylene blue and methyl orange. *Polymers for Advanced Technologies*, 35(4): e6383. <https://doi.org/10.1002/pat.6383>.
- Li, S., F. A. Al-Misned, H. A. El-Serehy and L. Yang. (2021). Green synthesis of gold nanoparticles using aqueous extract of *Mentha Longifolia* leaf and investigation of its anti-human breast carcinoma properties in the *in vitro* condition. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(2): 102931. <https://doi.org/10.1016/j.arab-jc.2020.102931>.
- Li, N., P. Zhao and D. Astruc. (2014). Anisotropic gold nanoparticles: synthesis, properties, applications, and toxicity. *Angewandte Chemie International Edition*,

- 53(7): 1756-1789. <https://doi.org/10.1002/anie.201300441>.
- López-Orenes, A., M. C. Bueso, H. M. Conesa, A. A. Calderón and M. A. Ferrer. (2017). Seasonal changes in antioxidative/oxidative profile of mining and non-mining populations of syrian beancaper as determined by soil conditions. *Science of the Total Environment*, 575: 437-447. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.030>.
- Manchikanti, P. and T. K. Bandopadhyay. (2010). Nanomaterials and effects on biological systems: development of effective regulatory norms. *NanoEthics*, 4: 77-83. <https://doi.org/10.1007/s11569-010-0084-9>.
- Merza, K. S., H. D. Al-Attabi, Z. M. Abbas and H. A. Yusr. (2012). Comparative study on methods for preparation of gold nanoparticles. *Green and Sustainable Chemistry*, 2(1): 26-28. <http://dx.doi.org/10.4236/gsc.2012.21005>.
- Meléndez-Villanueva, M. A., K. Morán-Santibañez, J. J. Martínez-Sanmiguel, R. Rangel-López, M. A. Garza-Navarro, C. Rodríguez-Padilla and L. M. Trejo-Ávila. (2019). Virucidal activity of gold nanoparticles synthesized by green chemistry using garlic extract. *Viruses*, 11(12): 1111. <https://doi.org/10.3390/v11121111>.
- Menon, S., S. Rajeshkumar and V. Kumar. (2017). A review on biogenic synthesis of gold nanoparticles, characterization, and its applications. *Resource-Efficient Technologies*, 3(4): 516-527. <https://doi.org/10.1016/j.reffit.2017.08.002>.
- Mishra, R. C., R. Kalra, R. Dilawari, M. Goel and C. J. Barrow. (2022). Bio-synthesis of *Aspergillus terreus*-mediated gold nanoparticle: antimicrobial, antioxidant, antifungal and *in vitro* cytotoxicity studies. *Materials*, 15(11): 3877. <https://doi.org/10.3390/ma15113877>.
- Mishra, A. and A. Malik. (2013). Recent advances in microbial metal bioaccumulation. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 43(11): 1162-1222. <https://doi.org/10.1080/10934529.2011.627044>.
- Mohammed Fayaz, A., M. Girilal, R. Venkatesan and P. T. Kalaichelvan. (2011). Bio-synthesis of anisotropic gold nanoparticles using *Maduca longifolia* extract and their potential in infrared absorption. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 88: 287-291. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.07.003>.
- Molnár, Z., V. Bódai, G. Szakacs, B. Erdélyi, Z. Fogarassy, G. Sáfrán, ... and I. Lagzi. (2018). Green synthesis of gold nanoparticles by thermophilic filamentous fungi. *Scientific Reports*, 8(1): 3943. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22112-3>.
- Mubarak, D. Ali, N. Thajuddin, K. Jeganathan and M. Gunasekaran. (2011). Plant extract mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and its antibacterial activity against clinically isolated pathogens. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 85: 360-365. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.03.009>.
- Narayanan, K. B. and N. Sakthivel. (2010). Phytosynthesis of gold nanoparticles using leaf extract of *Coleus amboinicus* Lour. *Materials Characterization*, 61: 1232-1238. <https://doi.org/10.1016/j.matchar.2010.08.003>.
- Nies, D. H. (1999). Microbial heavy-metal resistance. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 51: 730-750. <https://doi.org/10.1007/s002530051457>.

- Ojea-Jiménez, I., F. M. Romero, N. G. Bastús and V. Puentes. (2010). Small gold nanoparticles synthesized with sodium citrate and heavy water: insights into the reaction mechanism. *The Journal of Physical Chemistry C*, 114(4): 1800-1804. <https://doi.org/10.1021/jp9091305>.
- Olvera-Arizep, J., S. Camacho-López, M. Flores-Castañeda, C. Belman-Rodríguez, A. R. Vilchis-Néstor and E. Castro-Longoria. (2024). Biosynthesis of Gold nanoparticles by fungi and its potential in SERS. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 47(9): 1585-1593. <https://doi.org/10.1007/s00449-024-03053-w>.
- Oliveira, A. E. F., A. C. Pereira, M. A. Resende and L. F. Ferreira. (2023). Gold nanoparticles: a didactic step-by-step of the synthesis using the Turkevich method, mechanisms, and characterizations. *Analytica*, 4(2): 250-263. <https://doi.org/10.3390/analytica4020020>.
- Ovais, M., A. Raza, S. Naz, N. U. Islam, A. T. Khalil, S. Ali, ... and Z. K. Shinwari. (2017). Current state and prospects of the phytosynthesized colloidal gold nanoparticles and their applications in cancer theranostics. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101: 3551-3565. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8250-4>.
- Pacioni, N. L., C. D. Borsarelli, V. Rey and A. V. Veglia. (2015). Synthetic routes for the preparation of silver nanoparticles: a mechanistic perspective. In *Silver nanoparticle applications: in the fabrication and design of medical and biosensing devices*, 13-46. Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-11262-6_2.
- Paciotti, G. F., D. G. Kingston and L. Tamarkin. (2006). Colloidal gold nanoparticles: a novel nanoparticle platform for developing multifunctional tumor-targeted drug delivery vectors. *Drug Development Research*, 67(1): 47-54. <https://doi.org/10.1002/ddr.20066>.
- Panda, T. and K. Deepa. (2011). Biosynthesis of gold nanoparticles. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 11(12): 10279-10294. <https://doi.org/10.1166/jnn.2011.5021>.
- Parveen, K., V. Banse and L. Ledwani. (2016). Green synthesis of nanoparticles: their advantages and disadvantages. *AIP Conference Proceedings*, 1724(1): 1-6. AIP Publishing. <https://doi.org/10.1063/1.4945168>.
- Patil, M. P., M. J. Kang, I. Niyonizigiye, A. Singh, J. O. Kim, Y. B. Seo and G. D. Kim. (2019). Extracellular synthesis of gold nanoparticles using the marine bacterium *Paracoccus haeundaensis* BC74171T and evaluation of their antioxidant activity and antiproliferative effect on normal and cancer cell lines. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 183: 110455. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110455>.
- Patil, N. A., S. Udgire, D. R. Shinde and P. D. Patil. (2023). Green synthesis of gold nanoparticles using extract of *Vitis vinifera*, *Buchanania lanzan*, *Juglandaceae*, *Phoenix dactylifera* plants, and evaluation of antimicrobial activity. *Chemical Methodologies*, 7:15-27. <https://doi.org/10.22034/CHEMM.2022.355289.1597>.
- Peng, H., S. Zhang, Q. Chai and Z. Hua. (2024). Green synthesis of gold nanoparticles using *Acorus calamus* leaf extract and study on their anti-alzheimer poten-

- tial. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 29(1): 157-163. <https://doi.org/10.1007/s12257-024-00010-y>.
- Perotti, E. B. (2015). Impact of hydroquinone used as a redox effector model on potential denitrification, microbial activity and redox condition of a cultivable soil. *Revista Argentina de Microbiología*, 47(3): 212-218. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2015.06.003>.
- Pissuwan, D., T. Niidome and M. B. Cortie. (2011). The forthcoming applications of gold nanoparticles in drug and gene delivery systems. *Journal of Controlled Release*, 149(1): 65-71. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2009.12.006>.
- Prakash, K., K. R. Manu, S. R. Rout, W. H. Almalki, P. Kumar, A. Sahebkar and R. Dandela. 2024. History, introduction, and physiochemical properties of gold nanoparticles. *Gold Nanoparticles for Drug Delivery*, 3-30. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-19061-2.00014-6>.
- Priecel, P., H. A. Salami, R. H. Padilla, Z. Zhong and J. A. López-Sánchez. (2016). Anisotropic gold nanoparticles: preparation and applications in catalysis. *Chinese Journal of Catalysis*, 37(10): 1619-1650. [https://doi.org/10.1016/S1872-2067\(16\)62475-0](https://doi.org/10.1016/S1872-2067(16)62475-0).
- Qiu, R., W. Xiong, W. Hua, Y. He, X. Sun, M. Xing and L. Wang. (2021). A biosynthesized gold nanoparticle from *Staphylococcus aureus* as a functional factor in muscle tissue engineering. *Applied Materials Today*, 22: 100905. <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2020.100905>.
- Quintero-García, M., E. Gutiérrez-Cortez, M. Bah, A. Rojas-Molina, M. D. L. A. Cornejo-Villegas, A. Del Real and I. Rojas-Molina. (2021). Comparative analysis of the chemical composition and physicochemical properties of the mucilage extracted from fresh and dehydrated *Opuntia ficus indica* cladodes. *Foods*, 10(9): 2137. <https://doi.org/10.3390/foods10092137>.
- Raghunandan, R. D., M. D. Bedre, S. Basavaraja, B. Sawle, S. Y. Manjunath *et al.* (2010). Rapid biosynthesis of irregular shaped gold nanoparticles from macerated aqueous extracellular dried clove buds (*Syzygium aromaticum*) solution. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 79: 235-240. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.04.003>.
- Rao, D. E. C. S., K. V. Rao, T. P. Reddy and V. D. Reddy. (2009). Molecular characterization, physicochemical properties, known and potential applications of phytases: an overview. *Critical Reviews in Biotechnology*, 29(2): 182-198. <https://doi.org/10.1080/07388550902919571>.
- Rokkarukala, S., T. Cherian, C. Ragavendran, R. Mohanraju, C. Kamaraj, Y. Almoshari and S. Mohan. (2023). One-pot green synthesis of gold nanoparticles using *Sarcophyton crassocaule*, a marine soft coral: assessing biological potentialities of antibacterial, antioxidant, anti-diabetic and catalytic degradation of toxic organic pollutants. *Heliyon*, 9(3): e13846. [10.1016/j.heliyon.2023.e14668](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14668).
- Romo-Herrera, J. M., González, A. L., Guerrini, L., Castiello, F. R., Alonso-Núñez, G., Contreras, O. E., and Alvarez-Puebla, R. A. (2016). A study of the depth and size of concave cube Au nanoparticles as highly sensitive SERS probes. *Nanoscale*, 8(13): 7326-7333. [10.1039/C6NR01155A](https://doi.org/10.1039/C6NR01155A).

- Sadeghi, B., M. Mohammadzadeh and B. Babakhani. (2015). Green synthesis of gold nanoparticles using *Stevia rebaudiana* leaf extracts: characterization and their stability. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 148: 101-106. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2015.03.025>.
- Sánchez-Iglesias, A., Winckelmans, N., Altantzis, T., Bals, S., Grzelczak, M. and Liz-Marzán, L. M. (2016). High-yield seeded growth of monodisperse pentat-twinned gold nanoparticles through thermally induced seed twinning. *Journal of the American Chemical Society*, 139(1): 107-110. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b12143>.
- Santos, D. K. F., R. D. Rufino, J. M. Luna, V. A. Santos and L. A. Sarubbo. (2016). Biosurfactants: multifunctional biomolecules of the 21st century. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(3): 401. <https://doi.org/10.3390/ijms17030401>.
- Sakai, T., H. Enomoto, K. Torigoe, H. Sakai and M. Abe. (2009). Surfactant-and reducer-free synthesis of gold nanoparticles in aqueous solutions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 347(1-3): 18-26. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2008.10.037>.
- Savi, G. D., M. M. da Silva Paula, J. C. Possato, T. Barichello, D. Castagnaro and V. M. Scussel. (2012). Biological activity of gold nanoparticles towards filamentous pathogenic fungi. *Journal of Nano Research*, 20: 11-20. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/JNanoR.20.11>.
- Scarabelli, L. and Liz-Marzán, L. M. (2021). An extended protocol for the synthesis of monodisperse gold nanotriangles. *ACS Nano*, 15(12): 18600-18607. <https://doi.org/10.1021/acsnano.1c10538>.
- Sehgal, N., K. Soni, N. Gupta and K. Kohli. (2018). Microorganism assisted synthesis of gold nanoparticles: a review. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 8(64): 22-29.
- Sheldon, R. A. (2012). Fundamentals of green chemistry: efficiency in reaction design. *Chemical Society Reviews*, 41(4): 1437-1451.
- Singh, Abhijeet, M. M. Sharma and Amla Batra. (2013). Synthesis of gold nanoparticles using chickpea leaf extract using green chemistry. *Journal of Optoelectronics and Biomedical Materials*, 5(2): 27-32.
- Singh, P. K. and S. Kundu. (2014). Biosynthesis of gold nanoparticles using bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 84: 331-336. <https://doi.org/10.1007/s40011-013-0230-6>.
- Sharma, R. K., S. Gulati and S. Mehta. (2012). Preparation of gold nanoparticles using tea: a green chemistry experiment. *Journal of Chemical Education*, 89(10): 1316-1318. <https://doi.org/10.1021/ed2002175>.
- Shedbalkar, U., R. Singh, S. Wadhwani, S. Gaidhani and B. A. Chopade. (2014). Microbial synthesis of gold nanoparticles: current status and future prospects. *Advances in Colloid and Interface Science*, 209: 40-48. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2013.12.011>.
- Shunmugam, R., S. R. Balusamy, V. Kumar, S. Menon, T. Lakshmi and H. Perumalsamy. (2021). Biosynthesis of gold nanoparticles using marine microbe (*Vibrio alginolyticus*) and its anticancer and antioxidant analysis. *Journal of King Saud*

- University-Science*, 33(1):101260. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.101260>.
- Smith, D. K. and B. A. Korgel. (2008). The importance of the CTAB surfactant on the colloidal seed-mediated synthesis of gold nanorods. *Langmuir*, 24(3): 644-649. <https://doi.org/10.1021/la703625a>.
- Tabish, T. A., P. Dey, S. Mosca, M. Salimi, F. Palombo, P. Matousek and N. Stone. (2020). Smart gold nanostructures for light mediated cancer theranostics: combining optical diagnostics with photothermal therapy. *Advanced Science*, 7(15): 1903441. <https://doi.org/10.1002/advs.201903441>.
- Thangamani, N. and N. J. C. P. L. Bhuvaneshwari. (2019). Green synthesis of gold nanoparticles using *Simarouba glauca* leaf extract and their biological activity on micro-organisms. *Chemical Physics Letters*, 732: 136587. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2019.07.015>.
- Tiwari, P. M., K. Vig, V. A. Dennis and S. R. Singh. (2011). Functionalized gold nanoparticles and their biomedical applications. *Nanomaterials*, 1(1): 31-63. <https://doi.org/10.3390/nano1010031>.
- Tolic, M. T., I. P. Krbavcic, P. Vujevic, B. Milinovic, I. L. Jurcevic and N. Vahcic. (2017). Effects of weather conditions on phenolic content and antioxidant capacity in juice of chokeberries (*Aronia melanocarpa* L.). *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 67(1). <https://doi.org/10.1515/pjfn-2016-0009>.
- Velmathi, G., V. Sekar, N. S. Kavitha, M. F. Albeshr and A. Santhanam. (2024). Bio-synthesis of gold nanoparticles by the extremophile bacterium *Deinococcus radiodurans* and an evaluation of its application in drug delivery. *Process Biochemistry*, 145: 250-260. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2024.07.003>.
- Vial, S., R. L. Reis and J. M. Oliveira. (2017). Recent advances using gold nanoparticles as a promising multimodal tool for tissue engineering and regenerative medicine. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, 21(2): 92-112. <https://doi.org/10.1016/j.cossms.2016.03.006>.
- Vorobyova, V., M. Skiba, K. Vinnichuk and G. Vasyliiev. (2024). Synthesis of gold nanoparticles using plum waste extract with green solvents. *Sustainable Chemistry for the Environment*, 6: 100086. <https://doi.org/10.1016/j.scenv.2024.100086>.
- Wuithschick, M., A. Birnbaum, S. Witte, M. Sztucki, U. Vainio, N. Pinna and J. Polte. (2015). Turkevich in new robes: key questions answered for the most common gold nanoparticle synthesis. *ACS Nano*, 9(7): 7052-7071. <https://doi.org/10.1021/acsnano.5b01579>.
- Xiao, J. and L. Qi. (2011). Surfactant-assisted, shape-controlled synthesis of gold nanocrystals. *Nanoscale*, 3(4): 1383-1396.
- Xu, F., Y. Li, X. Zhao, G. Liu, B. Pang, N. Liao et al. (2024). Diversity of fungus-mediated synthesis of gold nanoparticles: properties, mechanisms, challenges, and solving methods. *Critical Reviews in Biotechnology*, 44(5): 924-940. <https://doi.org/10.1080/07388551.2023.2225131>.
- Yadid, M., R. Feiner and T. Dvir. (2019). Gold nanoparticle-integrated scaffolds for tissue engineering and regenerative medicine. *Nano Letters*, 19(4): 2198-2206. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.9b00472>.

- Yah, C. S. (2013). The toxicity of gold nanoparticles in relation to their physiochemical properties. *Biomedical, Research*, 24(3): 1-10.
- Yang, S. P. (2013). Microscale synthesis and characterization of gold nanoparticles for the laboratory instruction. *Chemistry Education Journal*, 15: 1-11.
- Zeng, C., W. Shang, X. Liang, X. Liang, Q. Chen, C. Chi *et al.* (2016). Cancer diagnosis and imaging-guided photothermal therapy using a dual-modality nanoparticle. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 8(43): 29232-29241. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b06883>.
- Zhaleh, M., A. Zangeneh, S. Goorani, N. Seydi, M. M. Zangeneh, R. Tahvilian and E. Pirabbasi. (2019). *In vitro* and *in vivo* evaluation of cytotoxicity, antioxidant, antibacterial, antifungal, and cutaneous wound healing properties of gold nanoparticles produced via a green chemistry synthesis using *Gundelia tournefortii* L. as a capping and reducing agent. *Applied Organometallic Chemistry*, 33(9). e5015. <https://doi.org/10.1002/aoc.5015>.
- Zhao, P., N. Li and D. Astruc. (2013). State of the art in gold nanoparticle synthesis. *Coordination Chemistry, Reviews*, 257(3-4): 638-665. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.09.002>.
- Zhao, X., N. Hou, C. Wan, L. Zhang and X. Liu. Gold nanoparticles synthesis mediated by fungus isolated from aerobic granular sludge: process and mechanisms. *Heliyon*, 10, 6 (2024).
- Zheng, J., Cheng, X., Zhang, H., Bai, X., Ai, R., Shao, L. and Wang, J. (2021). Gold nanorods: the most versatile plasmonic nanoparticles. *Chemical Reviews*, 121(21): 13342-13453. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.chemrev.1c00422>.
- Zhou, S., D. Huo, S. Goines, T. H. Yang, Z. Lyu, M. Zhao *et al.* (2018). Enabling complete ligand exchange on the surface of gold nanocrystals through the deposition and then etching of silver. *Journal of the American Chemical Society*, 140(38): 11898-11901. <https://doi.org/10.1021/jacs.8b06464>.
- Zhou, J., J. Ralston, R. Sedev and D. A. Beattie. (2009). Functionalized gold nanoparticles: synthesis, structure and colloid stability. *Journal of Colloid and Interface Science*, 331(2): 251-262. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2008.12.002>.

POLÍTICA EDITORIAL

Vol. 18, Núm. 35, julio–diciembre 2025 / <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2025.35>

Objetivo y alcance

Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología es una publicación científica de acceso abierto que no cobra cuotas por procesamiento de artículos. Todos los textos que se postulan para su posible publicación son previamente revisados por pares, bajo la modalidad doble ciego. Tiene como objetivo dar a conocer los avances y principales resultados de investigación en el área, incluyendo sus implicaciones sociales, ambientales, éticas y legales, así como de aspectos regulatorios. Por su naturaleza, es una publicación de alcance internacional pero con mayor incidencia en Iberoamérica. Publica exclusivamente artículos de investigación y revisiones del campo de conocimiento de interés, escritos en español, inglés o portugués. La revista cuenta con un código de ética basado en los lineamientos del Comité de Ética en Publicaciones (COPE, por sus siglas en inglés) al cual se suscribe.

Se publica dos veces al año (aparece los meses de enero y julio), en formato electrónico, editada y patrocinada desde 2008, de forma ininterrumpida, por la Universidad Nacional Autónoma de México.

Secciones de la revista

Editorial

Esta sección es escrita por los editores. Tiene como objeto destacar las temáticas abordadas en cada fascículo, haciendo énfasis en las principales tendencias de investigación en el área. De igual forma, es un espacio donde se presentan los avances y logros de la revista, así como los temas de interés editorial.

Presentación

Esta sección, escrita por los(as) editores(as) invitados, da cuenta, de manera breve, del estado del arte del tema abordado, y no es objeto de dictamen académico.

Artículos de investigación

Artículos de alto nivel, producto de investigaciones originales e inéditas dentro del campo de las nanociencias y la nanotecnología, incluyendo sus implicaciones sociales, ambientales, éticas y legales, así como de aspectos regulatorios. Hallazgos o resultados originales de proyectos de investigación que evidencien una postura teórica, metodología clara, resultados, discusión y conclusiones. Todas las colaboraciones dirigidas a esta sección serán sometidas a dictamen académico bajo la modalidad de revisión por pares doble ciego.

Artículos de revisión

Incluyen avances y controversias en el campo de las nanociencias y la nanotecnología, con una amplia revisión bibliográfica, destacando puntos de vista analíticos. Su principal propósito es ofrecer una actualización integral acerca de los temas que trata la revista. Todas las colaboraciones solicitadas para esta sección serán sometidas a dictamen académico bajo la modalidad de revisión por pares doble ciego.

Sistema de arbitraje

Dictamen editorial

Los autores que postulen un artículo para su posible publicación en *Mundo Nano* deberán remitir —completa y en su versión final— la documentación que se indica en normas para autores(as), en la sección: requisitos para la pos-

tulación de originales, además del formato de originalidad disponible en el siguiente enlace:

<https://www.ceiich.unam.mx/wp-content/uploads/Carta-de-declaratoria-de-originalidad.docx>

Una vez que el equipo editorial acredite que el envío cumple con todos los requisitos de postulación, el texto será remitido a dictamen editorial el cual contempla las siguientes etapas:

1. Acreditar una revisión bajo el *software* IThenticate aprobada por el Comité Editorial para detección de plagio, solo posterior a ello será posible continuar con las siguientes etapas del dictamen editorial.
2. Se verificará que el texto postulado guarde relación con el enfoque y alcance de la revista. No se considerarán aquellos trabajos que no contemplen explícitamente como componente relevante la dimensión nano.
3. Se revisará que el texto cumpla con todas y cada una de las indicaciones señaladas en las normas para autores(as) y en los requisitos para la postulación y entrega de originales.
4. Se revisará que la bibliografía a la que se recurre sea pertinente y actualizada, y que esté debidamente estandarizada según la norma Chicago, véase: http://www.chicagomanualofstyle.org/tools_citationguide.html
5. De acuerdo con los lineamientos de política editorial aprobados por el Comité Editorial, se dará prioridad a los textos cuya bibliografía se entregue gestionada electrónicamente y con hipervínculos activos a los DOI (Digital Object Identifier) respectivos, en los casos que así corresponda.

Una vez que el artículo postulado acredite el dictamen editorial, se notificará formalmente al autor de contacto el registro e inicio del proceso de dictamen académico.

Dictamen académico

Los artículos deberán acreditar favorablemente el proceso de dictamen académico, el cual operará bajo la modalidad de revisión por pares doble ciego, donde la identidad tanto de los autores como de los dictaminadores permanecerán en anonimato, para ello se tomarán en consideración los siguientes lineamientos:

1. Los artículos que acrediten el dictamen editorial serán enviados a académicos expertos en la misma área disciplinar y temática que las del texto postulado. Los revisores serán seleccionados de la cartera de árbitros —integrada por especialistas de instituciones nacionales e internacionales— quienes emitirán comentarios acerca de la pertinencia y calidad académica del texto propuesto y determinarán la factibilidad de la publicación del texto en cuestión.
2. Los dictaminadores tendrán bajo su responsabilidad revisar y analizar la pertinencia académica, teórica y metodológica de todos y cada uno los artículos que les sean asignados. Serán ellos los responsables de revisar la presencia explícita del apartado teórico-metodológico, así como su congruencia respecto del campo de estudios, la coherencia entre el aporte académico y la relevancia de los hallazgos descritos, así como la actualidad y oportunidad de la bibliografía a la que se recurre.
3. Todos los textos serán remitidos a dos expertos —adscritos a una institución distinta de la adscripción de los

autores— quienes emitirán sus comentarios. En caso de discrepancia en los dictámenes, se recurrirá a un tercer evaluador para que dirima la diferencia.

4. Finalmente, con base en las recomendaciones de los revisores, la decisión de los editores de *Mundo Nano* será:
 - a. Recomendar su publicación sin modificaciones.
 - b. Recomendar su publicación con cambios menores, y que no hacen necesaria una segunda revisión por parte de los árbitros.
 - c. Condicionar su publicación a la realización de cambios importantes, lo que obliga a una nueva revisión por parte de los revisores. Este proceso se puede repetir hasta un máximo de tres rondas, si a este punto el documento aún no es recomendado para su publicación, el artículo será rechazado sin opción a un nuevo envío.
 - d. No recomendar su publicación.
5. Para que un texto sea aprobado para su publicación es indispensable que al menos dos de los tres dictámenes sean positivos.
6. Los editores garantizarán, en todos los casos, que los dictámenes entregados a los autores contengan argumentos sólidos que respalden la decisión editorial.
7. Los resultados del proceso de dictamen académico serán inapelables en todas las circunstancias.
8. La evaluación de los árbitros seleccionados tomará como guía el formato de dictamen disponible en el siguiente enlace:
<https://www.ceiich.unam.mx/wp-content/uploads/Formato-de-dictamen.docx>
9. En caso de recibir observaciones, el autor tendrá un plazo de quince días naturales para hacer llegar al editor en jefe la nueva versión del trabajo. De hacerlo fuera de este plazo el documento iniciará un nuevo proceso de dictamen.
10. El tiempo para que el documento sea turnado a dictamen estará en función del número de artículos en la lista de espera. Los árbitros, una vez recibido el artículo, tendrán cuatro semanas para realizar la revisión y entregar el resultado.
11. Los documentos aceptados para su publicación iniciarán el proceso de producción editorial: corrección de estilo, verificación de metadatos, formación, marcado de archivos XML, maquetación de archivos HTML, generación de archivos e-PUB, verificación de números DOI por artículo y fascículo completo.
12. La corrección de estilo de los textos en un idioma distinto al español (inglés y portugués) será responsabilidad de los autores.
13. Una vez concluido el proceso de producción editorial y con el visto bueno de los editores de la revista y los editores invitados, el artículo se publicará en línea: publicación continua (en el portal de la revista), en tanto se integra el contenido completo del fascículo.

Política de acceso abierto

Esta revista es de acceso libre inmediato a su contenido, bajo el principio de hacer disponible al público gratuitamente las investigaciones publicadas y suscribe la Declaración de Berlín:

<https://openaccess.mpg.de/Berlin-Declaration>

Los autores que publiquen en *Mundo Nano* aceptan las siguientes condiciones:

1. De acuerdo con la legislación de derechos de autor, *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* reconoce y respeta el derecho moral de los autores, así como la titularidad del derecho patrimonial, el cual será transferido —de forma no exclusiva— a la revista, para su difusión en acceso abierto.
2. *Mundo Nano* no realiza cargos a los autores por enviar y procesar artículos para su publicación.
3. Todos los textos publicados por *Mundo Nano* —sin excepción— se distribuyen amparados bajo la licencia [Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional](#), la cual permite a terceros utilizar lo publicado siempre que mencionen la autoría del trabajo y a la primera publicación en esta revista.



Esta obra está bajo una licencia *Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional*.

4. Los autores pueden realizar otros acuerdos contractuales independientes y adicionales para la distribución no exclusiva de la versión del artículo publicado en *Mundo Nano*, por ejemplo, incluirlo en un repositorio institucional o darlo a conocer en otros medios en papel o electrónicos, siempre que indique clara y explícitamente que el trabajo se publicó por primera vez en *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología*.

Para todo lo anterior, los autores deben remitir el formato de carta de transmisión de derechos patrimoniales de la primera publicación debidamente requisitado y firmado disponible en el siguiente enlace:

<https://www.ceiich.unam.mx/wp-content/uploads/Carta-de-transmision-de-derechos-patrimoniales.docx>

Código de ética

Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología se suscribe al código de ética para la actuación y desempeño de los actores involucrados en el proceso de publicación de esta revista (editores, comité editorial, comité científico, autores(as) y revisores(as)) establecido por el Comité de Ética en Publicaciones (COPE, por sus siglas en inglés), y disponible en:

<https://publicationethics.org/resources/code-conduct>

Políticas de sanción a conductas antiéticas

El conjunto de conductas inadecuadas incluye: la falsificación de datos, la manipulación de datos a favor de ciertos resultados, la postulación de un artículo con información redundante o postulado previa o simultáneamente a otro espacio editorial, el uso indiscriminado de autocitas, así como también autoría injustificada o fantasma. En caso de identificar alguna de las prácticas mencionadas en algún artículo postulado, el Comité Editorial evaluará el caso y someterá a sanción de acuerdo con el tipo de falta.

Uso de inteligencia artificial (IA)

En consideración con la adopción reciente de medidas éticas sobre el uso de la inteligencia artificial por parte de UNESCO, de diversas revistas científicas, así como de la propia UNAM, *Mundo Nano, Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* establece los siguientes lineamientos:

- No se puede listar ningún sistema o herramienta de inteligencia artificial como autor.
- No se acepta ningún texto o imagen generada mediante inteligencia artificial, incluyendo sistemas NLP (Natural Language Processing) o LLM (Large Language Models), tales como ChatGPT, Reuters-GPT, Llama-2 de Meta, Bloomz, entre otros.
- Los autores deben hacer expreso que la versión del texto sometida a *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* fue editada por autores humanos.
- Se permite el uso de sistemas o herramientas de inteligencia artificial en procesos de investigación que involucren el meta-análisis de literatura, consultas generales para constatar hipótesis o preguntas de investigación, y la traducción y corrección de estilo en diversos idiomas. Todo uso de sistemas o herramientas de inteligencia artificial debe ser reportado, indicando la plataforma empleada, el tipo de uso de tales sistemas o herramientas de inteligencia artificial en la elaboración del trabajo sometido, y las potenciales limitaciones, sesgos o inconsistencias detectadas en la información generada con inteligencia artificial.
- Los editores de *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* se reservan el derecho de someter a un dictamen puntual el proceso del uso de inteligencia artificial cuando así lo consideren pertinente. Dicho dictamen sobre el uso de inteligencia artificial no sustituye la evaluación a doble ciego sobre la calidad científica del trabajo sometido.

Detección de plagio

En *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* se utiliza un *software* especializado para la detección de plagio: IThenticate. Los textos recibidos serán sometidos a revisión antes de enviarlos a dictamen editorial y académico, se rechazarán si el porcentaje de similitud con otro texto publicado o disponible en Internet sea superior a 35%.

Si se detecta o sospecha el uso de información redundante o duplicada en un texto postulado, el procedimiento a seguir es el que el Comité de Ética de Publicaciones (COPE) resume en el siguiente diagrama:

<https://publicationethics.org/files/Spanish%20%281%29.pdf>

Lineamientos y buenas prácticas editoriales

Estos lineamientos hacen referencia a las políticas de buenas prácticas editoriales del COPE y están disponibles en:

<http://publicationethics.org/resources/guidelines>

Funciones y responsabilidades del Comité Científico

- Promover entre la comunidad académica nacional e internacional la postulación de trabajos para su publicación en la revista.
- Sugerir lineamientos académicos para actualizar la política editorial de la revista.
- Promover la difusión de la revista en medios académicos nacionales e internacionales.
- Participar como dictaminadores de trabajos recibidos para su publicación o recomendar a otros expertos como dictaminadores.

Funciones y responsabilidades del Comité Editorial

- Promover entre la comunidad académica nacional e internacional la postulación de trabajos para su publicación en la revista.
- Apoyar en la selección de los dictaminadores para los trabajos recibidos, así como deliberar sobre las mejores opciones de dictaminadores en casos necesarios.
- Decidir sobre la pertinencia de publicación de los materiales recibidos, apoyándose en los dictámenes de expertos.
- Aprobar el contenido propuesto para cada número de la revista.
- Revisar y evaluar cada número publicado.
- Colaborar con las instancias correspondientes para mantener la periodicidad establecida para la publicación.

Funciones y responsabilidades del editor en jefe y editores

- Coordinar las acciones conducentes al cumplimiento de los objetivos de la revista.
- Procurar un alto nivel académico en el contenido que se publica.
- Recibir los trabajos propuestos para su publicación y solicitar los dictámenes académicos.
- Vigilar el cumplimiento de las recomendaciones de los dictaminadores.
- Informar a los autores la fase del proceso editorial en la que se encuentre el texto enviado.
- Informar al Comité Editorial sobre el proceso de arbitraje de todos los materiales recibidos, cuidando la confidencialidad.
- Proponer al Comité Editorial el contenido de cada número de la revista, a partir de los textos que estén corregidos y aprobados al momento.

Funciones y responsabilidad de los editores(as) invitados(as)

- El Comité Editorial podrá invitar a especialistas de un tema específico para coordinar, en colaboración con los editores de la revista, el contenido y orientación del tema a tratar en el fascículo correspondiente.
- Sus funciones incluyen invitar a potenciales autores(as), y dictaminadores, y colaborar con los editores de la revista en el proceso de dictamen académico, siempre garantizando su calidad y carácter de doble ciego.
- Elaborar un texto de presentación en el que posibiliten la importancia temática del fascículo y presenten los trabajos que lo componen.

Funciones y responsabilidades del editor asociado

- Coordinar el proceso de dictamen editorial.
- Planificar y coordinar el proceso de producción editorial de la revista.
- Aplicar el *software* IThenticate para la detección de plagio.
- Supervisar el procesamiento técnico de los materiales aprobados por el Comité Editorial, una vez que hayan cubierto los requisitos académicos establecidos.
- Supervisar la corrección de estilo y la calidad técnica de la revista y cuidado de la edición.
- Colaborar para mantener la periodicidad establecida para la publicación de la revista y para que la difusión y distribución de cada número inicie durante el primer mes del período correspondiente.
- Mantener actualizada la información y procesos requeridos por los espacios en los que se encuentra in-

dexada la revista, así como promover su incorporación a nuevos índices.

Funciones y responsabilidades del editor técnico

- Verificar los números DOI de cada artículo y el del fascículo correspondiente de la revista y actualizar, si es el caso, los metadatos de envío.
- Formación de los trabajos aprobados para su publicación.
- Incorporar correcciones a los trabajos formados.
- Gestión y actualización de contenidos y diseño de la plataforma OJS.
- Supervisar la elaboración de los archivos XML, HTML y ePub de cada uno de los artículos y su incorporación a OJS.
- Supervisar el diseño de la portada y la página legal de cada número.

Responsabilidades de los autores

- Atender los requisitos de publicación de la revista relativos a: originalidad, que el texto sea inédito, pertinencia.
- Presentar sus resultados con honestidad y sin mentira, falsificación o manipulación de datos.
- Asumir la responsabilidad colectiva, si es el caso, para el trabajo presentado y publicado.
- Las fuentes de financiamiento y los conflictos de interés pertinentes deben señalarse en el artículo.
- Citar el trabajo de los demás con precisión y solo referir publicaciones utilizadas en el texto.
- Los autores deben informar a los editores si los resultados han sido publicados con anterioridad o si varios informes o análisis múltiples de un mismo conjunto de da-

tos están bajo consideración para su publicación en otro lugar. Los autores deben proporcionar copias de las publicaciones o trabajos afines presentados a otras revistas.

Responsabilidades de los dictaminadores

- Aceptarán la revisión de textos que se ajusten a su área de especialidad, con el fin de realizar una evaluación adecuada.
- Declarará desde el inicio del proceso si existe conflicto de interés. Si sospecha la identidad del autor(es) notificar a la revista si este conocimiento plantea cualquier posible conflicto de intereses.
- Rechazarán la revisión de inmediato si no les es posible entregarla en el plazo acordado.
- Emitirán su evaluación basándose en la originalidad, la contribución del artículo a la temática, la metodología empleada, la pertinencia y actualidad de la bibliografía utilizada; el estilo, la coherencia y la calidad en la estructura y en la redacción del texto.
- Informarán al editor de la revista, o editores(as) invitados, de inmediato, si durante la evaluación encuentran o descubren que no tienen la experiencia necesaria para evaluar todos los aspectos del texto.
- Sus críticas serán objetivas, específicas y constructivas.
- Definirán con claridad la aprobación, rechazo o condicionamiento del texto.
- Emitirán su evaluación en el plazo acordado.
- Respetarán la confidencialidad durante y después del proceso de evaluación.
- No utilizarán contenido del texto revisado o en revisión.
- No involucrarán a otras personas en la revisión que les fue solicitada.
- Comunicarán al editor de la revista, o editores(as) invitados, si detectan similitud del texto con otro que hayan revisado o si identifican cualquier tipo de plagio.

Registro en directorios y bases de datos de contenido científico

	Sistema de Información Científica Redalyc
	Sistema Regional de Información en Línea para Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal (Latindex-Catálogo)
	Red Iberoamericana de Innovación y Conocimiento Científico
	Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias
	Bibliografía Latinoamericana
	Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología
	Scientific Electronic Library Online
	Portal de difusión de la producción científica hispana
	DIRECTORY OF OPEN ACCESS JOURNALS

No se permite transferir la responsabilidad de realizar un dictamen a ninguna otra persona, asistente o colaborador.

Garantizar una evaluación por pares anónima

Para asegurar la integridad de la evaluación por pares anónima para el envío a la revista, se debe intentar que los autores y los revisores desconozcan sus identidades entre ellos. Esto implica que los autores, editores y revisores (los cuales suben documentos como parte de su revisión) comprueben si los siguientes pasos se han seguido cuidadosamente en cuanto al texto y las propiedades del archivo:

1. Los autores del documento han eliminado sus nombres del texto, con "Autor/a" y el año que se usa en las referencias y en las notas a pie de página, en vez del nombre de los autores/as, el título del artículo, etcétera.
2. En los documentos de Microsoft Office, la identificación del autor también debe eliminarse de las propiedades del archivo.
3. En los PDFs, los nombres de los autores/as también deben ser eliminados de las propiedades del documento que se encuentran debajo de Archivo en el menú principal de Adobe Acrobat.

Requisitos para la postulación de originales

Los artículos que sean postulados para su posible publicación en *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nano-*

ciencia y Nanotecnología deberán remitir la siguiente documentación completa y en su versión final, a través de la interfase Open Journal Systems. No se aceptarán postulaciones que no sean enviadas por este medio:

1. **Carta de originalidad y no postulación simultánea**, esta carta también deberá ser llenada con los datos del autor o autores, y, en el caso de artículos con dos o más autores, se deberán proveer los datos de todos y cada uno de ellos, incluyendo su número de identificador normalizado ORCID. Se deberá identificar al autor que firma como responsable del texto, así como el autor de correspondencia. <https://www.ceiich.unam.mx/wp-content/uploads/Carta-de-declaratoria-de-originalidad.docx>
2. **Formato de cesión de derechos patrimoniales**, deberá ser llenado y firmado con los datos del autor o autores. En el caso de artículos con dos o más autores, se deberán proveer los datos de todos y cada uno de ellos, y se deberá identificar al autor que firma como responsable del texto, así como al autor de correspondencia. <https://www.ceiich.unam.mx/wp-content/uploads/Carta-de-transmision-de-derechos-patrimoniales.docx>
3. **Anexar el contenido completo** del artículo que se postula y los archivos adicionales, en su versión final. No se aceptarán cambios una vez iniciado el proceso.

Requisitos para la entrega de originales

1. Entregar el contenido textual en archivos en formato electrónico para procesador de textos, sin clave de contraseña (el envío de archivos en PDF no es pertinente para el proceso editorial).
2. Entregar fotografías e imágenes en archivos electrónicos en formato TIFF y/o JPG, (o compatible) con al menos 300 dpi de resolución. Las imágenes de gráficas, cuadros o tablas podrán estar en el texto, aunque es indispensable anexar las gráficas en archivo independiente. Las tablas o cuadros se deberán entregar también por separado en hoja de cálculo.
3. Contar con los derechos de reproducción del material gráfico, imágenes, fotografías, obra artística, etcétera, ya sea por parte del propio autor (autores), o bien de terceros.
4. Una vez cumplidos los requisitos de postulación el texto será remitido a dictamen editorial.

Política de recepción de materiales

1. **Exclusividad**: los trabajos enviados a Mundo Nano deberán ser inéditos y sus autores se comprometen a no someterlos simultáneamente a la consideración de otras publicaciones, por lo cual es necesario adjuntar este documento: Carta de originalidad y no postulación simultánea.
2. **Naturaleza de los trabajos**: las contribuciones que se reciban para su eventual publicación deben ser resultados originales derivados de un trabajo académico de alto nivel. Solo se aceptarán documentos vinculados con la nanociencia y la nanotecnología, incluyendo abordajes que destaquen sus implicaciones sociales, ambientales, éticas y legales, así como de aspectos regulatorios, con la condición de presentar de manera explícita y detallada las estrategias teórico-metodológi-

cas a las que se recurre y enfatizar los hallazgos producto de su aplicación.

3. **Anonimato en la identidad de los autores**: los artículos no deberán incluir en el cuerpo del artículo, ni en las notas a pie de página, información que revele su identidad, ello con el fin de asegurar una evaluación anónima por parte de los pares académicos que realizarán el dictamen. El nombre de los autores, adscripción laboral, el número de identificación normalizado ORCID, agradecimientos, se incluirán en un archivo separado denominado "carta de presentación".
4. **Coautorías**: de acuerdo con la política editorial y respecto de la autoría colectiva, se aceptarán como máximo cuatro autores, si se postularan artículos con más autores se deberá justificar la razón y naturaleza de la coautoría, quedando a juicio del Comité Editorial la aceptación o rechazo editorial del documento. En todos los casos se deberá indicar el tipo de participación de cada uno de los autores. Por ningún motivo se aceptará cambio en el orden en que fueron presentados los autores al momento de la postulación, y no será posible omitir ni agregar ningún autor que no hubiese sido señalado desde el inicio, por lo cual será necesario identificar dicha información en los datos de registro.
5. **No se publicarán** más de 2 trabajos del mismo autor(a) o coautor(a) en el mismo número de la revista.
6. **Frecuencia de publicación**: cuando un autor(a) ha publicado en *Mundo Nano*, deberá esperar un año para publicar nuevamente. El Comité Editorial podrá autorizar la publicación consecutiva, de acuerdo con la pertinencia y relevancia del trabajo puesto a consideración.
7. **Idiomas de publicación**: se recibirán textos escritos en español, inglés o portugués. La revisión de estilo se hará solo en trabajos escritos en español.

Presentación de originales

1. **La página de presentación** se deberá integrar en el siguiente orden:
 - Título del artículo, de no más de 15 palabras, deberá incluirse tanto en español como en inglés, lo más descriptivo, claro y conciso posible.
 - Es indispensable que todos y cada uno de los autores proporcionen su número de identificador normalizado ORCID. Para mayor información ingresar a www.orcid.org.
 - Se deberán indicar las instituciones de adscripción y país de todos y cada uno de los autores, evitando el uso de siglas o acrónimos. Asimismo, se evitará la traducción de los nombres de instituciones.
 - En esta página, se precisará cuál es el autor que firma como responsable del texto, así como el autor de correspondencia. En caso de ser el mismo esto deberá ser aclarado explícitamente.
 - Se deberá indicar el correo electrónico, solo en el caso del autor de correspondencia.
2. **Resumen estructurado**: en español e inglés, y deberá integrar los siguientes elementos en un máximo de 200 palabras:
 - Objetivo del artículo
 - Diseño y metodología
 - Principales resultados y conclusiones.
3. **Palabras clave**: en español e inglés, describiendo temática y analíticamente el objetivo del artículo.
4. **Extensión y formato**: los artículos de investigación podrán tener una extensión entre 8,000 y 10,000 palabras y

las revisiones entre 7,000 y 12,000 palabras. Se pueden recibir revisiones de mayor extensión, previo acuerdo con los editores. Deberán estar escritos en procesador de texto, en tamaño carta con márgenes de 2.54 centímetros, en fuente Times New Roman de 12 puntos, interlineado doble, sin espacio entre párrafos. Las páginas deberán estar foliadas desde la primera hasta la última en el margen inferior derecho. La extensión total incluye abordaje textual, bibliografía, tablas, gráficas, figuras, imágenes y todo material adicional.

5. **Estructura de los artículos:** los artículos incluirán una introducción que refleje con claridad los antecedentes del trabajo, el método o estrategia de análisis a la que se recurre, discusión, resultados, conclusiones y bibliografía. Si así lo consideran los autores, se podrán presentar secciones y apartados propiamente jerarquizados y diferenciados solo con el uso de tipografía (sin usar números arábigos o romanos).
6. **Uso de siglas y acrónimos:** para el uso de acrónimos y siglas en el texto, la primera vez que se mencionen, se recomienda escribir el nombre completo al que corresponde y enseguida colocar la sigla entre paréntesis. Ejemplo: Petróleos Mexicanos (Pemex), después solo Pemex.
7. **Material suplementario:** refiere a información o figuras que son útiles para aquellos lectores interesados en mayores detalles, pero que no son imprescindibles para la comprensión de los principales resultados del artículo. El material suplementario debe ser claro, sintético y consistente con el artículo. Este será publicado, por separado, como archivo digital con su correspondiente DOI.
8. **Notas:** las notas deberán indicarse a pie de página, estar numeradas y ser las estrictamente necesarias. Las notas a pie de página se reservarán para ampliaciones al texto o aclaraciones, no podrán utilizarse para indicar bibliografía con locuciones latinas.
9. **Tablas y figuras:** podrán estar incluidas en el texto, o se anotarán con indicaciones precisas sobre su lugar en el texto. Por ejemplo: "tabla 1, aquí". La numeración de las tablas será consecutiva, en orden ascendente y con números arábigos. De la misma manera, el título se colocará en la parte superior y la fuente completa en la parte inferior. Los autores tendrán la responsabilidad de verificar que la fuente de todas las tablas y figuras aparezca en la bibliografía final.
10. **Elementos gráficos:** todos los elementos gráficos, esquemas, mapas, etc., se nombrarán Figuras y tendrán una numeración consecutiva en números arábigos. El título se ubicará en la parte superior y la fuente completa a pie de cada figura. El autor tendrá la obligación de revisar que la fuente de todas las figuras estén indicadas en la bibliografía final. Además de poderlos incluir en el texto del artículo, todo elemento gráfico se entregará en archivo independiente en formato TIFF y/o JPG, con una resolución mínima de 300 dpi. Si las gráficas son elaboradas en Microsoft Excel, se deberá anexar el archivo fuente.
11. **Información adicional:** los artículos no incluirán epígrafes ni dedicatorias.
12. **Contribución de autorías:** Al final de artículo, antes del listado de referencias se deberá incluir, para cada autor/a, su contribución al artículo propuesto para su publicación.

En la lista de autores/as deben figurar las personas que han contribuido intelectualmente al desarrollo del trabajo. Contribuciones que se limitan a la búsqueda o

procesamiento de datos, elaboración de gráficas o figuras, no son suficientes para figurar como autor/a. En ese caso, los autores/as podrán indicar dichas participaciones y, en su caso, hacer los agradecimientos correspondientes.

Al momento de enviar el artículo, se deberán indicar las contribuciones de cada autor/a, considerando los siguientes rubros:

- Concepción y diseño del artículo.
- Desarrollo metodológico.
- Minería de datos, análisis e interpretación.
- Modelación en software (de ser el caso).
- Redacción del borrador original.
- Revisión y edición final del texto.
- Preparación de materiales suplementarios (de ser el caso).

Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología declina cualquier responsabilidad sobre posibles conflictos derivados de la autoría de los trabajos que publica. Con el envío del artículo, los autores/as implícitamente aceptan haber leído íntegramente este texto y estar de acuerdo con su contenido.

En caso de solicitud de cambio de autoría de un manuscrito recibido o de un artículo ya publicado, *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* seguirá el árbol de decisiones recomendado por la COPE: (<http://publicationethics.org/files/Spa-nish%20%281%29.pdf>).

13. **Las referencias y citas bibliográficas:** al final del artículo deberán indicarse todas y cada una de las fuentes citadas en el cuerpo del texto (incluyendo notas, fuentes de las tablas y figuras). El autor debe revisar cuidadosamente que no haya omisiones ni inconsistencias entre las obras citadas y la bibliografía. Se incluirán en la lista de referencias solo las obras citadas en el cuerpo y notas del artículo. La bibliografía deberá presentarse estandarizada recurriendo a la norma Chicago, tomando como guía los siguientes ejemplos:

- Artículos en revistas (no se abrevien los títulos ni de los artículos ni de las revistas):
Takeuchi, N. 1998. Cálculos de primeros principios: un método alternativo para el estudio de materiales. *Ciencia y Desarrollo*, 26(142): 18.
- Libros:
Delgado, G. C. 2008. *Guerra por lo invisible: negocio, implicaciones y riesgos de la nanotecnología*. México: CEIICH, UNAM.
- Internet:
NobelPrice.org. 2007. *The Nobel Prize in Physics 1986*. http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1986/press.html

Se dará prioridad a los textos cuya bibliografía se entregue gestionada electrónicamente y con hipervínculos activos a los DOI respectivos, en todos los casos que así corresponda.

Enviar un artículo

El registro y el inicio de sesión son necesarios para enviar elementos en línea y para comprobar el estado de los envíos recientes. Ir a [Entrar](#) para una cuenta existente o [Registrarse](#) para una nueva cuenta.

Lista de comprobación de preparación de envíos

Como parte del proceso de envío, los autores/as están obligados a comprobar que su envío cumpla todos los elementos que se muestran a continuación. Aquellos envíos que no cumplan con estas directrices serán devueltos a los autores/as.

- El envío no ha sido publicado previamente ni se ha enviado previamente a otra revista.
- El archivo enviado está en procesador de palabras, sin contraseña de lectura.
- Se ha incluido el número de identificación normalizado ORCID de los(as) autores(as).
- El texto tiene interlineado doble; el tamaño de fuente es 12 puntos; se usa cursiva en vez de subrayado (exceptuando las direcciones URL).
- Todas las ilustraciones, figuras y tablas podrán estar dentro del texto en el sitio que les corresponde, o indicar, por ejemplo: "Figura 1, aquí". Las imágenes, si las hay, se incluirán en archivos separados en formato TIFF o JPG. Es indispensable anexar las gráficas, tablas o cuadros en hoja de cálculo por separado.
- El texto cumple con los requisitos bibliográficos y de estilo indicados en las Normas para autores/as, que se pueden encontrar en la sección: Sobre la revista.

- Bibliografía gestionada electrónicamente y con hipervínculos activos a los DOI respectivos, en todos los casos que así corresponda.
- Si está enviando a una sección de la revista que se revisa por pares, asegurarse de que las instrucciones en garantizar una evaluación por pares anónima han sido seguidas.

Declaración de privacidad

Los nombres y direcciones de correo-e introducidos en esta revista se usarán exclusivamente para los fines declarados por la revista y no estarán disponibles para ningún otro propósito u otra persona.

— o o o —

Estos lineamientos, que actualizan los establecidos el 12 de febrero de 2018, fueron aprobados por el Comité Científico y el Comité Editorial de Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología, el 18 de abril de 2022, y se reflejarán en los contenidos que se publiquen a partir del segundo semestre de 2022.

Fecha de la última actualización: 26 de junio de 2025.

