**Universidad de Concepción**
**Facultad de Farmacia**

# DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE UN SISTEMA DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE CAPREOMICINA SULFATO MEDIANTE FORMACION DE BIOCOMPLEJOS POLIELECTROLÍTICOS: UN ESTUDIO EXPLORATORIO PARA APLICACIÓN TERAPÉUTICA.

POR: LAURA DANIELA NARVÁEZ TORRES

Tesis presentada en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción para optar al grado de Magister en Ciencias Farmacéuticas

**Profesor Guía:**

Carolina Pilar Gómez Gaete
Departamento de Farmacia
Facultad de Farmacia

**Profesor co-Guía:**

Daniel Andrés Palacio Badel
Departamento de Polímeros
Facultad de Ciencias Químicas

Junio, 2026

Concepción, Chile

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.

© 2026, LAURA DANIELA NARVÁEZ TORRES.

## *Agradecimientos*

*“En algún lugar, algo increíble está esperando ser descubierto.”*

-Carl Sagan

Agradezco profundamente a todas las personas que me acompañaron en este camino, gracias por su apoyo, paciencia y confianza. Este trabajo representa no solo un logro académico, sino también el valor de la perseverancia, la curiosidad y el aprendizaje compartido.

**INDICE**

*Agradecimientos* ..... VI

RESUMEN ..... XV

ABSTRACT ..... XVII

1 INTRODUCCION ..... 1

2 MARCO TEÓRICO ..... 6

2.1 QUITOSANO ..... 8

2.1.1 DERIVADOS DE QUITOSANO ..... 11

2.1.2 CARRAGENINAS ..... 16

2.1.3 LIBERACIÓN DE FÁRMACOS ..... 18

2.1.4 COMPLEJOS POLIELECTROLÍTICOS PARA LIBERACIÓN DE FÁRMACOS ..... 20

2.1.5 MICROENCAPSULACIÓN ..... 24

2.1.6 TÉCNICAS DE MICROENCAPSULACIÓN ..... 27

2.1.7 Técnicas químicas ..... 27

2.1.8 Técnicas fisicoquímicas ..... 29

2.1.9 Métodos físicos o físico-mecánicos ..... 30

2.2 TUBERCULOSIS Y LIMITACIONES EN EL TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO ..... 34

3 HIPOTESIS Y OBJETIVOS ..... 44
3.1 HIPOTESIS ..... 44
3.2 OBJETIVO GENERAL ..... 44
3.3 OBJETIVOS ESPECIFICOS ..... 44
4 METODOLOGÍA ..... 46
4.1 MATERIALES Y REACTIVOS ..... 46
4.2 SÍNTESIS DE DERIVADOS ARÍLICOS DE QUITOSANO ..... 49
4.2.1 Síntesis de quitosano aril dimetilamino (DMACS) ..... 49
4.2.2 Síntesis de quitosano aril trimetilamino (TMACS) ..... 49
4.2.3 Caracterización espectroscópica del quitosano y sus derivados arílicos 51
4.3 FORMACIÓN DE COMPLEJOS POLIELECTROLÍTICOS Y OBTENCIÓN DE MICROPARTÍCULAS POR SECADO POR ASPERSIÓN . 52
4.3.1 Formación de complejos polielectrolíticos (PECs) TMACS/LCG . 52
4.4 Obtención de micropartículas (TMACS/LCG-MPs) mediante secado por aspersión ..... 54
4.5 CARACTERIZACIÓN DE LOS PECs Y DE LAS MICROPARTÍCULAS OBTENIDAS POR SECADO POR ASPERSIÓN (CAP–TMACS/LCG-MPs) . 57
4.5.1 Turbidez ..... 57

4.5.2 Potencial Zeta ..... 58
4.5.3 Dispersión dinámica de luz (DLS) ..... 58
4.5.4 Estudio de hinchamiento de CAP–TMACS/LCG-MPs ..... 59
4.6 ANÁLISIS MORFOLÓGICO Y FISICOQUÍMICO DE LAS MICROPARTÍCULAS ..... 60
4.6.1 Microscopía confocal de barrido láser (CLSM) ..... 60
4.6.2 Microscopía electrónica de barrido (SEM) ..... 61
4.6.3 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) ..... 61
4.6.4 Análisis termogravimétrico (TGA) ..... 62
4.6.5 Difracción de rayos X (DRX) ..... 62
4.7 EVALUACIÓN CINÉTICA DE LIBERACIÓN IN VITRO ..... 63
4.8 EVALUACIÓN DE CITOTOXICIDAD CELULAR MEDIANTE ALAMARBLUE™ ..... 66
5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN ..... 68
5.1 CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA DE LOS DERIVADOS N-ARILADOS DE QUITOSANO Y DE LA λ-CARRAGENINA ..... 68
5.2 FORMACIÓN DE COMPLEJOS Y OBTENCIÓN DE MICROPARTÍCULAS MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN ..... 73

5.2.1 Análisis del tamaño de partícula, turbidez y potencial Zeta de los PECs 73

5.3 CARACTERIZACIÓN DE LAS CAP–TMACS/LCG-MPS OBTENIDAS POR SECADO POR ASPERSIÓN ..... 76

5.3.1 Caracterización espectroscópica ..... 76

5.3.2 Caracterización morfológica ..... 80

5.3.3 Estudio de hinchamiento de CAP–TMACS/LCG-MPs ..... 84

5.3.4 Evaluación del perfil de liberación de capreomicina ..... 86

5.3.5 Estudios cinéticos de liberación del Capreomicina sulfato. ..... 91

5.4 Evaluación de viabilidad celular ..... 95

6 CONCLUSIONES ..... 99

7 BIBLIOGRAFÍA ..... 101

8 ANEXOS ..... 126

**Índice de Figuras**

Figura 1: La unidad estructural repetitiva del quitosano (H. Wang & Roman, 2023). ..... 9

Figura 2: Sitios activos del quitosano susceptibles de modificación estructural y técnicas de modificación química. (Žigrayová et al., 2024) ..... 13

Figura 3:La unidad estructural repetitiva del N- trimetil quitosano. Elaboración propia mediante ChemDraw®.....14
Figura 4:Unidades de disacáridos repetidas en los tres tipos de carragenina más comercialmente relevantes (Huynh et al., 2024). .....17
Figura 5: (a) Representación esquemática de la formación de complejos polielectrolíticos (PECs). (b) Modelos estructurales propuestos para los PECs: tipo escalera (*ladder-like*) y tipo huevo revuelto (*scrambled egg*). (Cazorla-Luna et al., 2021). .....24
Figura 6:Estructura de la capreomicina sulfato (L. M. Fu & Shinnick, 2007).....38
Figura 7:Síntesis de derivados de N-aril quitosano. Elaboración propia mediante ChemDraw® .....50
Figura 8:Diagrama de formación de los complejos polielectrolíticos (PECs) TMACS/LCG. Elaboración propia mediante BioRender.....52
Figura 9: Equipo Mini Spray Dryer Büchi B-290: a) Representación esquemática del proceso de secado por aspersión utilizando una boquilla de tres fluidos para la producción de micropartículas CAP–TMACS/LCG. (b) Mecanismo propuesto de núcleo-corona. Elaboración propia mediante BioRender.....56
Figura 10:Curva de calibración de Capreomicina sulfato. .....64
Figura 11: Caracterización polimérica de CS, DMACS, TMACS y LCG: a) Espectro $^{1}$H-RMN, b) FT-IR c) TGA y d) dTG. .....69

Figura 12: a) PECs observados a diferentes relaciones [TMACS/LCG], b) Gráfico del diámetro de partícula y la turbidez en función de la relación [TMACS/LCG], y d) Potencial Zeta en función de la relación [TMACS/LCG].....74
Figura 13. Ampliación de los complejos polielectrolíticos (PECs) obtenidos a diferentes relaciones [TMACS/LCG]. .....74
Figura 14: Micropartículas obtenidas por Spray Drying: a) Espectros FTIR, b) DRX c) TGA y c) dTG. .....79
Figura 15: imágenes SEM de micropartículas obtenidas por Spray Drying: a) CAP/LCG-MPs, b) CAP/TMACS-MPs c) TMACS/LCG-Mps y d) CAP-TMACS/LCG-MPs, e) Porcentajes de rendimiento, f) Imágenes CLSM de TMACS/LCG-MPs. .....81
Figura 16: Gráfico de hinchamiento de las micropartículas CAP-TMACS/LCG en PBS. Los datos se expresan como media ± desviación estándar (n = 3). .....85
Figura 17: Perfiles de liberación de capreomicina (CAP) desde micropartículas: (a) perfiles de liberación acumulada en PBS (pH 7,4) en función del tiempo; (b) porcentaje de CAP liberado a los 420 min; (c) eficiencia de encapsulación y capacidad de carga del fármaco; y (d) representación esquemática de las posibles interacciones entre CAP y la matriz polimérica que influyen en el comportamiento de liberación. .....88
Figura 18:Modelos cinéticos de liberación del fármaco: a) Modelo de orden cero, b) Modelo de primer orden, c) Modelo de Higuchi y d) Modelo de Korsmeyer–Peppas .....92

Figura 19 Ensayo de viabilidad celular en fibroblastos HFF-1 expuestos a diferentes formulaciones de micropartículas: (a) CAP, (b) TMACS-MPs, (c) LCG-MPs, (d) TMACS/LCG-MPs, (e) CAP-TMACS-MPs, (f) CAP-LCG-MPs y (g) CAP-TMACS/LCG-MPs. La línea punteada indica el 100% de viabilidad celular. Los datos se presentan como media ± desviación estándar (DE) (n = 3). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de una vía (one-way ANOVA) seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Dunnett (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001; ****p < 0,0001).....95

**Índice de Tablas**

Tabla 1. Proteína TlyA en *Mycobacterium tuberculosis* (L. M. Fu & Shinnick, 2007). .....39

Tabla 2. Estudios reportados sobre sistemas de encapsulación de fármacos utilizados en tuberculosis. .....41

Tabla 3. Relaciones utilizadas para la formación de biocomplejos. .....53

Tabla 4. Rangos de prueba de los parámetros del proceso de secado por aspersión que serán optimizados. .....57

Tabla 5. Parámetros cinéticos de liberación del fármaco a partir de las CAP-TMACS/LCG-MPs. .....94

# RESUMEN

Los complejos polielectrolitos (PECs) formados por polisacáridos catiónicos y aniónicos como los derivados de quitosano y carragenina, respectivamente, representan una alternativa prometedora para el desarrollo de sistemas de liberación controlada debido a su biocompatibilidad y biodegradabilidad. Estos sistemas pueden generar micropartículas capaces de encapsular y modular la liberación de activos de interés terapéutico como capreomicina sulfato (CAP), fármaco de segunda línea utilizado en tuberculosis multirresistente (TB-MDR), cuyo uso prolongado se asocia a toxicidad y baja adherencia terapéutica. El objetivo de este estudio fue desarrollar micropartículas núcleo–corona basadas en PECs de quitosano ariltrimetilamonio (TMACS) y λ-carragenina (LCG) capaces de encapsular CAP, modular su liberación y presentar un perfil de citotoxicidad compatible *in vitro*. Las micropartículas se obtuvieron mediante secado por aspersión y se caracterizaron fisicoquímica, estructural y biológicamente. Las micropartículas obtenidas con la relación TMACS/LCG de 3.0 presentaron un diámetro medio de 2.07 ± 0.61 µm y un potencial Zeta de −58.07 ± 3.16 mV, evidenciando la formación de micropartículas con predominio superficial del polianión. Además, alcanzaron una eficiencia de encapsulación fue de 91.53 ± 0.61 %, con una carga cercana al 20%. La caracterización fisicoquímica y estructural confirmó la incorporación de CAP en las

micropartículas y sugirió la conservación parcial de su orden estructural dentro de la matriz polimérica. En los ensayos de liberación, las micropartículas redujeron significativamente la liberación de CAP. El análisis cinético mostró que el modelo de Korsmeyer–Peppas describe la liberación en las micropartículas núcleo-corona, confirmando que la composición y la arquitectura de la matriz influyen directamente en el mecanismo de transporte y liberación del fármaco. Finalmente, estas micropartículas mantuvieron una viabilidad celular superior al 80 % en fibroblastos HFF-1 a las concentraciones evaluadas.

Estos resultados demuestran que la arquitectura TMACS/LCG permite encapsular CAP y modular eficazmente su liberación, constituyendo una estrategia viable para terapias prolongadas en TB-MDR.

# ABSTRACT

Polyelectrolyte complexes (PECs) formed by cationic and anionic polysaccharides, such as chitosan derivatives and carrageenan, respectively, represent a promising alternative for the development of controlled drug delivery systems due to their biocompatibility and biodegradability. These systems can generate microparticles capable of encapsulating and modulating the release of therapeutic agents such as capreomycin sulfate (CAP), a second-line drug used in multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB), whose prolonged use is associated with toxicity and poor therapeutic adherence. The aim of this study was to develop core–shell microparticles based on PECs of aryltrimethylammonium chitosan (TMACS) and λ-carrageenan (LCG) capable of encapsulating CAP, modulating its release, and exhibiting an in vitro cytotoxicity profile compatible with biomedical applications. The microparticles were produced by spray drying and characterized physicochemically, structurally, and biologically. The microparticles obtained at a TMACS/LCG ratio of 3.0 exhibited a mean diameter of 2.07 ± 0.61 μm and a zeta potential of −58.07 ± 3.16 mV, demonstrating the formation of microparticles with a polyanion-enriched surface. In addition, they achieved an encapsulation efficiency of 91.53 ± 0.61%, with a drug loading close to 20%. Physicochemical

and structural characterization confirmed the incorporation of CAP into the microparticles and suggested the partial preservation of its structural order within the polymeric matrix. In the release assays, the microparticles significantly reduced CAP release. Kinetic analysis showed that the Korsmeyer–Peppas model describes drug release from the core–shell microparticles, confirming that the composition and architecture of the matrix directly influence the drug transport and release mechanism. Finally, these microparticles maintained cell viability above 80% in HFF-1 fibroblasts at the evaluated concentrations.

These results demonstrate that the TMACS/LCG architecture enables efficient CAP encapsulation and release modulation, constituting a viable strategy for prolonged therapies in MDR-TB.

# 1 INTRODUCCION

Actualmente, los excipientes farmacéuticos cumplen un rol fundamental en el desarrollo de medicamentos, ya que facilitan la administración del principio activo mediante la obtención farmacéutica adecuada, y contribuyen a mejorar su estabilidad durante la vida útil del producto. Sin embargo, su uso convencional no siempre permite garantizar un control preciso de la liberación del fármaco ni una mejora significativa de su biodisponibilidad (Alavi et al., 2024). Ante estas limitaciones, los sistemas de liberación controlada de fármacos han representado un importante avance en la medicina moderna, permitiendo una administración más precisa del principio activo (API) en el organismo (Cunha et al., 2019). Estos sistemas están diseñados para lograr una liberación más eficiente y racional de los agentes terapéuticos, regulando la velocidad, el momento y, en algunos casos, el sitio de liberación del fármaco (Esfahani et al., 2023).

En este contexto, los sistemas de liberación controlada resultan especialmente relevantes en patologías que requieren tratamientos prolongados y esquemas terapéuticos complejos, como la tuberculosis (TB), una enfermedad crónica causada principalmente por *Mycobacterium tuberculosis* que continúa representando un importante problema de salud pública a nivel mundial (Gairola

et al., 2022). El tratamiento de la TB se basa en regímenes farmacológicos combinados y de larga duración; sin embargo, la baja adherencia a estos favorecen la aparición de cepas resistentes limitando la eficacia de los fármacos de primera línea como la isoniazida y la rifampicina (Loiko et al., 2013).

Bajo estas condiciones, la tuberculosis multirresistente (TB-MDR), definida por la resistencia al menos a isoniazida y rifampicina, requiere el uso de fármacos de segunda línea, entre los cuales se encuentra la capreomicina sulfato (CAP) (Cambronero-Rojas et al., 2015a). La CAP es un antibiótico peptídico cíclico compuesto por cuatro análogos moleculares (IA, IB, IIA e IIB), aislados de *Streptomyces capreolus* que actúa mediante la inhibición de la síntesis de proteínas bacterianas a través de su interacción con la subunidad ribosómica 70S (Ning et al., 2018). No obstante, como ocurre con muchos API, su uso clínico se ve limitado por la necesidad de una dosificación precisa, la posible sensibilidad frente a factores ambientales como la luz, temperatura, el pH, la humedad y su esquema de administración intramuscular prolongada, lo que impacta negativamente en la adherencia al tratamiento (Lengyel et al., 2019).

Entre las diferentes estrategias desarrolladas para contrarrestar estos problemas se incluyen los sistemas basados en matrices poliméricas, microcápsulas, estructuras modificadas superficialmente, recubrimientos y partículas de diversas escalas diseñadas para modular la liberación del fármaco (Tsung et al., 2023). Dentro de este marco general, el uso de micropartículas ha adquirido

especial relevancia, ya que permiten incorporar al principio activo, protegiéndolo frente a la degradación y regulando su liberación de manera sostenida. (Rafiee & Abdul Rasool, 2021a; Tsung et al., 2023). El diseño de estos sistemas posibilita el control de parámetros críticos, como el tamaño de partícula y la composición del material, influyendo directamente en el comportamiento de liberación (Hamman, 2010).

Entre las plataformas empleadas para el desarrollo de sistemas microparticulados, los complejos polielectrolíticos (PECs) han sido ampliamente investigados debido a sus prometedoras propiedades en aplicaciones biomédicas (Dong et al., 2021). Sus ventajas derivan de la convergencia entre nanomedicina, biomateriales y principios de química verde. (Gradzielski, 2022; Le & Le Cerf, 2022). La formación de estos sistemas se basa principalmente en interacciones electrostáticas entre polielectrolitos de carga opuesta en medios acuosos, acompañadas de otras fuerzas intermoleculares. En particular, los sistemas fundamentados en biopolímeros permiten obtener materiales con propiedades favorables como biocompatibilidad, biodegradabilidad y baja toxicidad. (Le & Le Cerf, 2022). Entre estos biopolímeros, el quitosano, un polisacárido catiónico ampliamente estudiado, y la λ-carragenina, un polisacárido aniónico sulfatado, constituyen polímeros de interés debido a su capacidad de formar interacciones electrostáticas (Pudžiuvelytė et al., 2025a; Rodrigues et al., 2024). Sin embargo, estos sistemas suelen obtenerse inicialmente en dispersión acuosa. En este

sentido, resulta necesario emplear estrategias que permitan convertir estas soluciones en estructuras solidas estables. Entre las técnicas más utilizadas para este propósito se encuentra la gelación iónica, la coacervación, la liofilización y el secado por aspersión (spray drying) (Lobel et al., 2024).

Entre estas, el secado por aspersión (spray drying) destaca por sus ventajas en términos de reproducibilidad, escalabilidad y su capacidad para controlar el tamaño y la morfología de las partículas. Esta técnica ha sido aplicada en la obtención de micropartículas para distintas vías de administración, incluyendo sistemas inhalables para administración pulmonar. Por ejemplo, (Anaya et al., 2025) reportaron la obtención de micropartículas inhalables de azitromicina con tamaños adecuados para deposición intrapulmonar mediante spray drying. Asimismo, Shao et al., (2021) describieron una formulación inhalable de capreomicina en polvo seco (25% p/p), con un diámetro aerodinámico mediano (MMAD) de 3,38 µm y una fracción de partículas finas cercana al 65%. De manera similar, Liu et al., (2025a), desarrollaron micropartículas esféricas de lactosa cargadas con ciprofloxacina (1,1-52,9% p/w), para el tratamiento de infecciones bacterianas orales y externas, alcanzando porcentajes de liberación de hasta el 81%.

En este contexto, el presente estudio tiene como finalidad, el desarrollo de micropartículas poliméricas núcleo-corona basadas en complejos polielectrolíticos de quitosano modificado y λ-carragenina, mediante secado por aspersión con boquilla de tres fluidos para la liberación controlada de capreomicina sulfato. El objetivo es modular el perfil de liberación del fármaco, a partir de una matriz biocompatible y contribuir al desarrollo de estrategias terapéuticas dirigidas al tratamiento de la tuberculosis multirresistente (MDR-TB).

# 2 MARCO TEÓRICO

Los biopolímeros son macromoléculas constituidas por unidades repetitivas (monómeros) sintetizadas total o parcialmente por organismos vivos o a partir de recursos biológicos. Estas estructuras pueden corresponder a polisacáridos, proteínas o ácidos nucleicos, y se caracterizan por su origen natural y su capacidad de interacción con sistemas biológicos (Great Iruoghene Edo et al., 2025).

En el ámbito biomédico y farmacéutico, los biopolímeros han adquirido una gran relevancia debido a sus propiedades intrínsecas, tal como biocompatibilidad, biodegradabilidad y baja toxicidad, lo que permite su uso seguro en aplicaciones terapéuticas. Estas características favorecen su integración en el organismo sin generar efectos adversos significantes, ya que pueden degradarse en subproductos no tóxicos tras cumplir su función (Bachhav et al., 2025a).

En particular, los biopolímeros han sido ampliamente utilizados en el desarrollo de sistemas de liberación de fármacos (drug delivery systems, DDS), debido a su capacidad para formar matrices o estructuras capaces de encapsular principios activos, protegerlos frente a la degradación y modular su liberación en el tiempo. Estas propiedades permiten mejorar biodisponibilidad, estabilidad y eficacia terapéutica de diversos fármacos (Gairola et al., 2022).

Además, los materiales poliméricos utilizados en sistemas de liberación de fármacos pueden clasificarse, según su origen, en naturales y sintéticos biodegradables. Dentro de los naturales destacan polisacáridos como el quitosano, alginato y carragenina, mientras que entre los sintéticos se encuentran polímeros como el poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) y poli(ε-caprolactona) (PCL), ampliamente utilizados en aplicaciones de sistemas híbridos (Opriș et al., 2024).

No obstante, a pesar de las ventajas de los polímeros sintéticos en términos de reproducibilidad y control estructural, estos pueden presentar limitaciones asociadas a la generación de productos de degradación ácidos (ácido láctico y ácido glicólico) por ejemplo y posibles efectos adversos locales. Frente a estas limitaciones, los biopolímeros emergen como una alternativa prometedora debido a su mayor afinidad con los sistemas biológicos, participar en interacciones especificas con biomoléculas y su capacidad de degradarse de manera segura (Bachhav et al., 2025b).

Sin embargo, los biopolímeros también presentan limitaciones, como una mayor variabilidad estructural, menor control sobre sus propiedades fisicoquímicas y sensibilidad a factores ambientales, lo que puede afectar reproducibilidad del sistema (Bachhav et al., 2025b).

Entre los biopolímeros más estudiados en aplicaciones farmacéuticas se encuentran los polisacáridos, los cuales poseen grupos funcionales que permiten

establecer interacciones intermoleculares, como enlaces electrostáticos, facilitando la formación de sistemas complejos. Estas características los convierten en materiales altamente versátiles para el desarrollo de sistemas avanzados de liberación de fármacos, incluyendo micropartículas, nanopartículas y complejos polielectrolíticos (Opriș et al., 2024). Dentro de este grupo, ciertos polisacáridos han despertado particular interés debido a sus propiedades fisicoquímicas y su comportamiento en sistemas farmacéuticos, siendo el quitosano uno de los más ampliamente estudiados.

## 2.1 QUITOSANO

El quitosano es un biopolímero natural ampliamente usado en aplicaciones farmacéuticas debido a su biocompatibilidad y propiedades químicas y biológicas favorables. Estas características lo convierten en un material atractivo para el desarrollo de diversas formulaciones, especialmente en sistemas de liberación de fármacos y aplicaciones biomédicas. En este contexto, ha sido empleado en diferentes formas farmacéuticas, tales como hidrogeles, films, recubrimientos poliméricos, tabletas, micro y nanopartículas, con el objetivo de lograr liberación sostenida, así como mejorar la absorción de fármacos, incluyendo proteínas y péptidos (Dash et al., 2011; Rinaudo, 2006).

Desde el punto de vista estructural, el quitosano es un polisacárido lineal compuesto por unidades de 2-amino-2-desoxi-D-glucopiranosa unidas mediante enlaces β-(1→4) (Figura 1), el cual se obtiene a partir de la desacetilación alcalina de la quitina, un biopolímero abundante presente en exoesqueletos de crustáceos como camarones y cangrejos. Comercialmente, el quitosano presenta un rango amplio de pesos moleculares, típicamente entre 3.8 y 2.000 kDa, y grados de desacetilación que varían aproximadamente 66%y 95%, lo que influye directamente en sus propiedades fisicoquímicas y en su comportamiento en aplicaciones farmacéuticas (H. Wang & Roman, 2023).

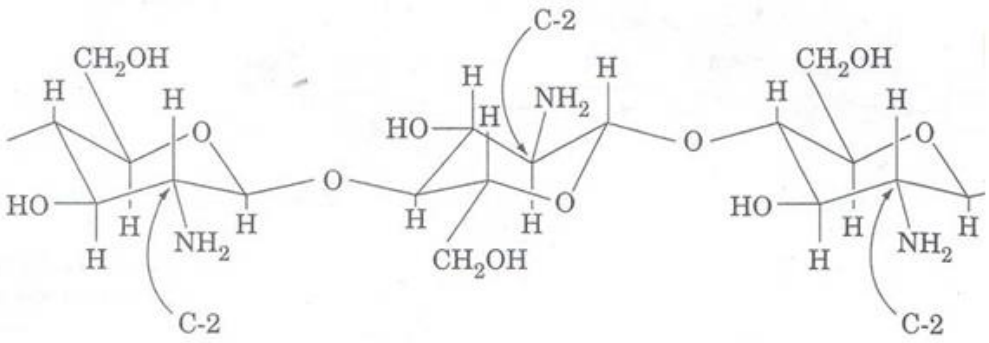



**Figura 1: La unidad estructural repetitiva del quitosano (H. Wang & Roman, 2023).**

El quitosano presenta propiedades particulares en solución, ya que es soluble únicamente en medios ácidos, donde sus grupos amino libres ($-NH_2$) se protonan, generando grupos amonio cargados positivamente ($-NH_3^+$). En estas condiciones, se comporta como un policatión lineal con un valor de pKa cercano

a 6.5, independiente de su grado de acetilación. Esta naturaleza catiónica le permite interactuar fácilmente con superficies cargadas negativamente, como mucosas, proteínas y tejidos biológicos, lo que le confiere propiedades relevantes para aplicaciones farmacéuticas (Mura et al., 2022).

La capacidad mucoadhesiva del quitosano ha sido ampliamente demostrada, evidenciando su habilidad para adherirse a tejidos como la mucosa gastrointestinal, lo que permite aumentar el tiempo de residencia de las formulaciones en el sitio de adsorción. Esta característica resulta especialmente útil en sistemas de liberación de fármacos dirigidos, favoreciendo la absorción en regiones específicas del tracto gastrointestinal, como el estómago, intestino delgado y mucosa bucal. Asimismo, se ha reportado que la interacción electrostática entre el quitosano y las superficies biológicas depende significativamente de la carga de las partículas, siendo mayor en sistemas con potencial zeta positivo (Pratap-Singh et al., 2023).

Adicionalmente, el quitosano posee la capacidad de modificar la permeabilidad epitelial mediante la apertura reversible de las uniones estrechas *(tight junctions*), lo que facilita el transporte paracelular de moléculas. Este efecto ha sido evidenciado mediante la disminución de la resistencia eléctrica transepitelial (TEER), indicando un aumento en la permeabilidad de la barrera epitelial. Este mecanismo es considerado uno de los principales responsables de la mejora en la adsorción de fármacos mediada por quitosano (Torres et al., 2023).

En términos de biodegradación, el quitosano es degradado *in vivo* principalmente por enzimas como la lisozima y la N-acetilglucosaminidasa, lo que contribuye a su carácter biodegradable. Además, se ha descrito que puede inducir la activación de macrófagos, lo que podría influir en su degradación y en su interacción con el sistema inmune, aspectos relevantes en aplicaciones biomédicas (Pereira Parchen et al., 2025a; Rinaudo, 2006).

No obstante, el quitosano presenta limitaciones asociadas a su comportamiento dependiente del pH. En condiciones neutras o ligeramente básicas, como las presentes en el intestino (pH~7.4), pierde su carga positiva, se vuelve insoluble y precipita, lo que reduce su capacidad de interacción y, por ende, su efecto en la mejora de la adsorción de fármacos (Dai et al., 2025). Debido a estas limitaciones, se han desarrollado diversos derivados químicos del quitosano, con el objetivo de mejorar su solubilidad y estabilidad en condiciones fisiológicas.

### 2.1.1 DERIVADOS DE QUITOSANO

Una de las principales limitaciones del quitosano está relacionada con su solubilidad, ya que esta disminuye considerablemente a valores de pH superiores 6 (Kotzé et al., 1997). En condiciones fisiológicas, donde el pH tiende a ser neutro o ligeramente básico, el quitosano pierde su estado protonado, lo que reduce su

capacidad para mejorar la permeabilidad y absorción de fármacos, efectos que dependen de su forma catiónica en medios ácidos (Kim et al., 2005).

Con el fin de superar esta limitación, el quitosano puede ser modificado químicamente de manera relativamente sencilla, lo que permite optimizar sus propiedades fisicoquímicas y mecánicas para aplicaciones farmacéuticas, especialmente en la administración oral de biomoléculas. Esta versatilidad se debe principalmente a la presencia de grupos amino libres en su estructura, particularmente en la posición C2, los cuales pueden ser fucionalizados para obtener diversos derivados (Xia et al., 2022; Žigrayová et al., 2024).

Entre los derivados más estudiados se encuentra el quitosano carboximetilado, sales de quitosano, el N-trimetil quitosano (TMACS), que corresponde a un derivado cuaternizado, y los quitosanos glicosilados (Figura 2). Estas modificaciones permiten mejorar propiedades como la solubilidad en un amplio rango de pH. En particular, derivados como el TMACS y los quitosanos glicosilados han demostrado un mejor desempeño que el quitosano nativo (Žigrayová et al., 2024).

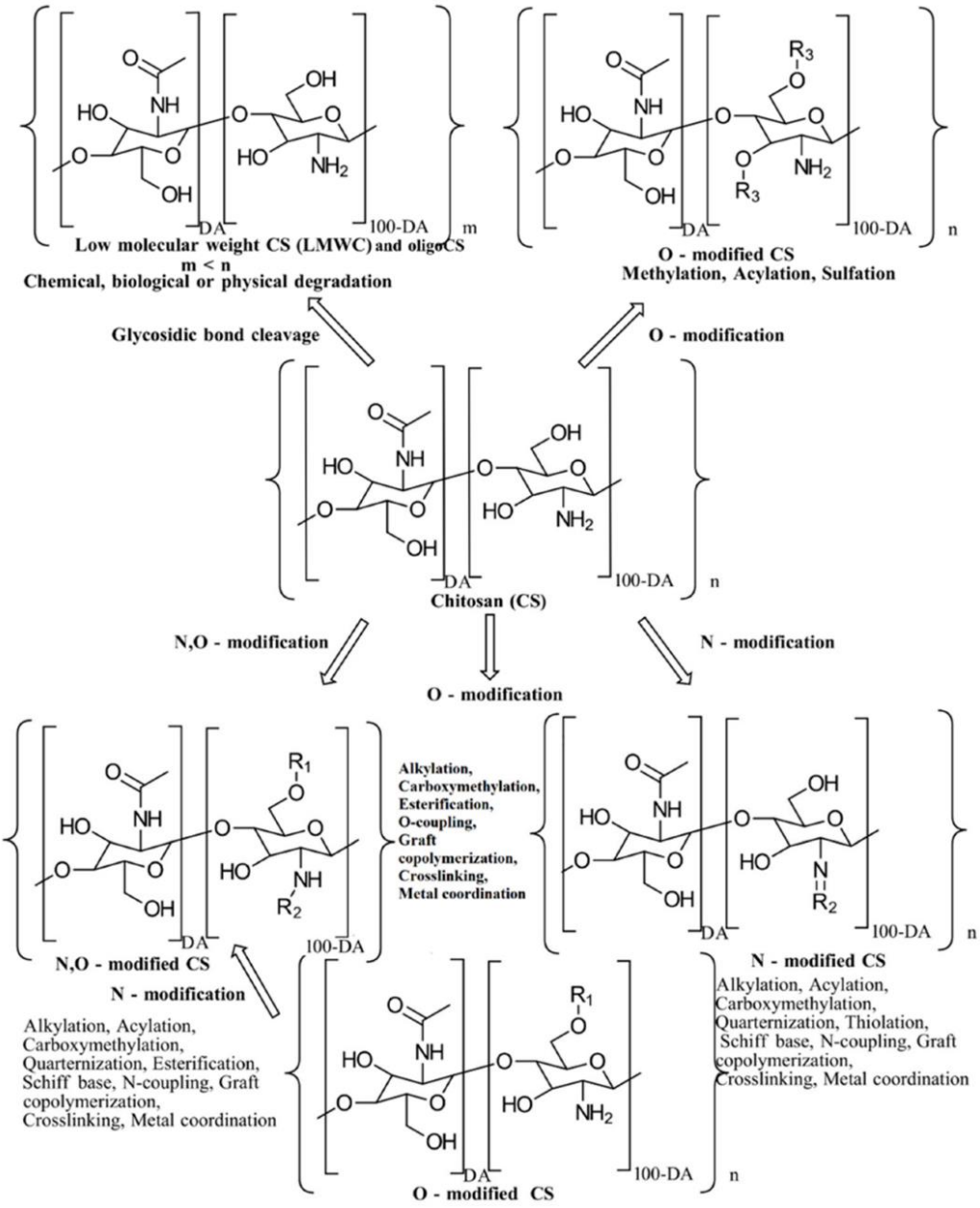



**Figura 2: Sitios activos del quitosano susceptibles de modificación estructural y técnicas de modificación química. (Žigrayová et al., 2024)**

El N-trimetil quitosano (TMACS) es un derivado del quitosano que ha despertado un gran interés en aplicaciones farmacéuticas debido a su estructura bien

definida (Figura 3), El N-trimetil quitosano (TMACS) a diferencia del quitosano nativo, presenta carga positiva permanente, lo que le permite mantener sus propiedades funcionales en un amplio rango de pH (Harugade et al., 2023).

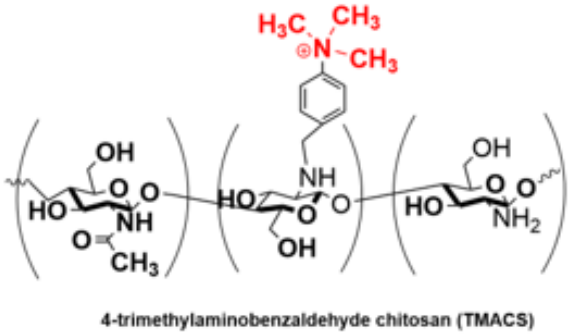



**Figura 3:La unidad estructural repetitiva del N- trimetil quitosano. Elaboración propia mediante ChemDraw®**

Una de las principales ventajas del TMACS es su capacidad de actuar como potenciador de la absorción incluso en condiciones de pH neutro o ligeramente alcalino, donde el quitosano convencional pierde su eficacia debido a la desprotonación de sus grupos amino. En este sentido, el TMACS ha demostrado ser particularmente útil para facilitar el transporte de compuestos hidrofílicos de alto peso molecular, como proteínas, péptidos y otros marcadores, mostrando incrementos significativos en su permeabilidad.(Harugade et al., 2023; Žigrayová et al., 2024)

En comparación con el quitosano, el TMACS presenta una mayor eficiencia en la apertura de uniones estrechas a pH fisiológico (~7.4), lo que lo convierte en un

material más adecuado para aplicaciones de administración oral. Esta propiedad amplía su potencial como sistema de liberación de fármacos en condiciones donde el quitosano nativo resulta limitado.

En cuanto a su obtención, el TMACS se sintetiza mediante la metilación de los grupos amino del quitosano. Esta reacción consiste en un solo paso en la que el quitosano se trata con yoduro de metilo ($CH_3I$) bajo condiciones fuertemente alcalinas, utilizando N-metil-2-pirrolidona (NMP) como disolvente y yoduro de sodio (NaI) como catalizador. Este proceso suele dar lugar a un grado de cuaternización que va del 10% al 45% (Curti et al., 2003). El grado de cuaternización depende del método de síntesis empleado, pudiéndose obtener derivados con distintos niveles de conversión. Generalmente, procesos de una sola etapa generan grados de cuaternización más bajos, mientras que procedimientos en múltiples etapas permiten alcanzar valores superiores, lo que influye directamente en sus propiedades fisicoquímicas y funcionales (Suryani et al., 2024).

Estas propiedades han permitido posicionar al TMACS como un material de interés en el desarrollo de sistemas farmacéuticos avanzados. En este mismo marco, otros polisacáridos con características estructurales distintas han sido ampliamente estudiados por su funcionalidad y aplicabilidad en formulaciones biomédicas. En particular, los polisacáridos de naturaleza aniónica han cobrado especial relevancia en este ámbito.

### 2.1.2 CARRAGENINAS

Las carrageninas son polisacáridos sulfatados pertenecientes al grupo de los galactanos, compuestos por unidades alternadas de β-D-galactopiranosa unidas mediante enlaces 1,3 y 3,6-anhidro-α-D-galactopiranosa unidas en posición 1,4. Estos biopolímeros se obtienen principalmente a partir de diversas especies de algas rojas como *Chondrus*, *Eucheuma*, *Gigartina* y *Hypnea*, y su clasificación se basa en características estructurales como el número y la posición de los grupos sulfato (Jabeen et al., 2025).

Se han descrito al menos 15 variantes estructurales de carrageninas, siendo κ-, ι- y λ-carragenina las más relevantes desde el punto de vista industrial y biomédico. Las carrageninas κ e ι comparten una estructura base compuesta por β-D-galactosa y 3,6-anhidro-α-D-galactosa, diferenciándose principalmente en su grado de sulfatación: mientras que el ι-carragenina presenta grupos sulfato en ambas unidades, el κ-carragenina solo los posee en la β-D-galactosa (Figura 4), En contraste, el λ-carragenina presenta una estructura distinta, caracterizada por una mayor sulfatación, con tres grupos sulfato por unidad disacárida, lo que influye directamente en sus propiedades fisicoquímicas. En general, un mayor contenido de grupos sulfato se asocia con una variación en su comportamiento en solución (Guo et al., 2022; Huynh et al., 2024).

La obtención de un tipo especifico de carragenina requiere no solo la selección adecuada de la materia prima, sino también la optimización de las condiciones de procesamiento, ya que algunas estructuras se encuentran de manera natural en las algas, mientras que otras se generan mediante modificaciones químicas (Rupert et al., 2022). la carragenina  al solubilizarse en agua forma soluciones viscosas, resultante  de múltiples factores, incluyendo el tipo de carragenina, su peso molecular, la concentración, la temperatura y la presencia de otros solutos, particularmente cationes (Lee et al., 2023).

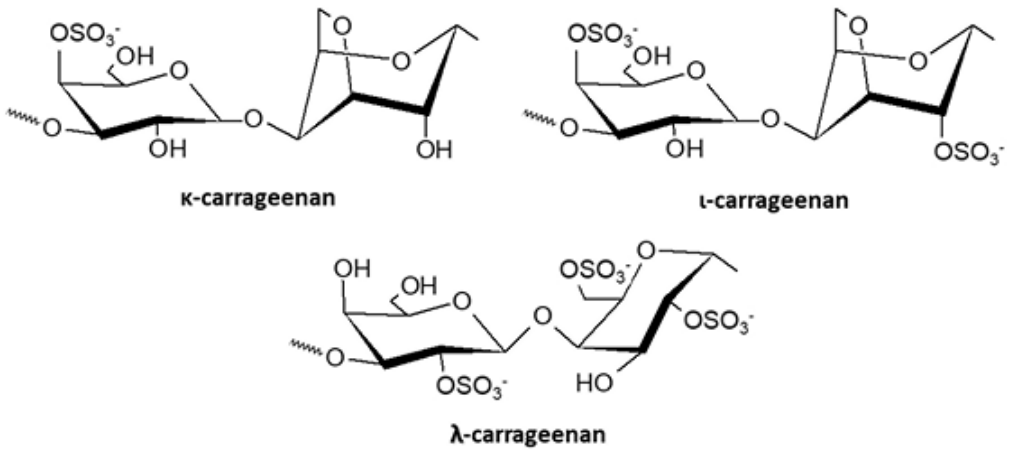



**Figura 4:Unidades de disacáridos repetidas en los tres tipos de carragenina más comercialmente relevantes (Huynh et al., 2024).**

Asimismo, las propiedades de gelificación de los carrageninas están determinadas tanto por los cationes presentes como por la conformación estructural de las unidades de galactosa en la cadena polimérica. En este sentido,

su funcionalidad en distintas aplicaciones está estrechamente relacionada con su comportamiento reológico, lo que los convierte en materiales de gran interés en diversas áreas, incluyendo sistemas de liberación controlada, donde las propiedades del material influyen directamente en la estabilidad, protección y liberación de los compuestos activos (Huynh et al., 2024).

### 2.1.3 LIBERACIÓN DE FÁRMACOS

Se ha descrito que un fármaco ideal debe ser capaz de generar una respuesta terapéutica adecuada frente a la patología tratada, minimizando al mismo tiempo la aparición de efectos adversos y evitando cualquier riesgo de inducir nuevas alteraciones en el organismo (Uzakova et al., 2025). Para permitir su uso a gran escala, este debe además ser de fácil administración y contar con procesos de producción bien definidos y reproducibles. Asimismo, resulta deseable que su administración no dependa estrictamente de personal sanitario especializado y que presente una adecuada estabilidad, de modo que conserve su actividad terapéutica durante el almacenamiento sin requerir condiciones complejas o costosas, como cadenas de frio (Uzakova et al., 2025).

En este contexto, los fármacos de naturaleza peptídica han despertado un creciente interés debido a los avances en biotecnología y a la mejor comprensión de su papel en diversos procesos fisiopatológicos. Sin embargo, su aplicación

clínica se ve limitada por una baja biodisponibilidad, asociada principalmente a su susceptibilidad de degradación proteolítica e hidrolítica, su reducida capacidad de atravesar barreras biológicas y su corta vida en el sistema circulatorio. Adicionalmente, estas moléculas pueden sufrir procesos de inactivación durante su almacenamiento y transporte (Serri, 2025).

Debido a estas limitaciones, la administración parenteral continúa siendo la vía más utilizada, aunque presenta desventajas importantes, como la baja adherencia del paciente y los altos costos asociados a la producción de formulaciones estériles y a la necesidad de personal capacitado para su administración (Peng et al., 2025).

En este escenario, las tecnologías de liberación de fármacos han emergido como una estrategia clave para mejorar la eficacia terapéutica, al permitir una liberación localizada y controlada, así como una optimización de los perfiles farmacocinéticos. (Rahman et al., 2025). En particular, los sistemas basados en liposomas, micelas, hidrogeles, micro y nanopartículas han cobrado relevancia, siendo actualmente objeto de múltiples estudios y aplicaciones clínicas, ya que permiten mejorar la solubilidad, estabilidad y biodisponibilidad de diversos compuestos activos (Chenxi et al., 2025).

Dentro de estos sistemas, el uso de matrices poliméricas ha despertado especial interés debido a su versatilidad estructural y a la posibilidad de modular las propiedades de liberación mediante la selección y combinación de distintos

biopolímeros. En particular, los sistemas basados en polielectrolitos han emergido como una alternativa prometedora para el desarrollo de sistemas de liberación controlada.

### 2.1.4 COMPLEJOS POLIELECTROLÍTICOS PARA LIBERACIÓN DE FÁRMACOS

El desarrollo de materiales poliméricos biodegradables y solubles en agua basados en polielectrolitos, han cobrado gran relevancia debido a su biocompatibilidad y capacidad de degradación controlada. En este contexto, el uso de medios acuosos representa una ventaja significativamente en la formulación de sistemas de liberación de fármacos, al facilitar procesos más seguros y compatibles con aplicaciones biomédicas (Dogaris et al., 2024). Para optimizar el desempeño de estos sistemas, es fundamental comprender los mecanismos de autosamblaje y controlar parámetros como el tamaño de partícula, la carga superficial y la capacidad de encapsulación (Hamman, 2010).

Los complejos polielectrolíticos (PECs) (Figura 5) se forman mediante la interacción entre polímeros con cargas opuestas, dando lugar a estructuras nanoestructuradas con propiedades fisicoquímicas ajustables (Dulong et al., 2024). Estas características, junto con su estabilidad termodinámica, los posicionan como plataformas prometedoras para el transporte de fármacos. En

este contexto, los PECs permiten mejorar la estabilidad, encapsulación y modulación de la liberación de principios activos, evitando efectos no deseados o limitaciones asociadas a moléculas de gran tamaño, baja lipofilia y alta susceptibilidad a degradación (Gradzielski, 2022).

Desde el punto de vista fisicoquímico, los PECs presentan propiedades favorables para su interacción con sistemas biológicos, tales como tamaños en el rango nanométrico y potenciales zeta moderados, lo que favorece tanto su estabilidad coloidal como su internalización celular (R. Zhao et al., 2025). Estas propiedades dependen en gran medida de factores como la naturaleza y el peso molecular de los polímeros, la concentración, el pH, la fuerza iónica y las condiciones de mezcla durante su formación (Manoj Lalwani et al., 2020).

Se ha observado que el uso de polímeros de menor peso molecular permite obtener sistemas con distribuciones de tamaño más homogéneas, mayor estabilidad en distintos entornos fisiológicos y una captación celular más eficiente, lo cual se atribuye a una interacción iónica más efectiva entre los componentes del sistema (Rao et al., 2022). Asimismo, la funcionalización superficial de estos complejos ha sido explorada como estrategia para mejorar la afinidad celular y favorecer mecanismos específicos de internalización (Caro-León et al., 2025).

A pesar de sus ventajas, el desarrollo de estos sistemas también enfrenta desafíos, particularmente en relación con la posible toxicidad de ciertos

materiales sintéticos. Por ello, ha aumentado el interés en el uso de biopolímeros naturales, los cuales presentan mayor compatibilidad con tejidos biológicos. Entre estos destacan proteínas y polisacáridos como gelatina, quitosano, ácido hialurónico, alginato y pectina, ampliamente utilizados en aplicaciones farmacéuticas (Caro-León et al., 2025).

En particular, el quitosano ha sido extensamente investigado debido a su estructura rica en grupos amino, que le confiere la capacidad de interactuar con sistemas aniónicos y formar complejos con diversas propiedades fisicoquímicas. De manera similar, otros polisacáridos como el alginato y la pectina presentan estructuras que favorecen la formación de redes tridimensionales y sistemas de encapsulación eficientes (Jadhav et al., 2025a).

Entre las técnicas de obtención, la gelificación ionotrópica destaca como una de las más empleadas, ya que aprovecha la capacidad de los polielectrolitos para formar hidrogeles en presencia de contraiones multivalentes. Este proceso da lugar a matrices tridimensionales capaces de encapsular principios activos y modular su liberación (Jadhav et al., 2025b; Pereira Parchen et al., 2025b).

En estos sistemas, la liberación del fármaco ocurre principalmente a través de mecanismos de difusión a través de la red polimérica y/o por degradación de la matriz, procesos influenciados por la estructura del sistema y su grado de hidratación (Hwang et al., 2026).

A nivel micro y nanoestructural, el tamaño de partícula y el área superficial juegan un papel determinante en la interacción con células y tejidos. En particular, las nanopartículas, cuyos tamaños suelen encontrarse por debajo de 1 μm, presentan una elevada relación superficie/volumen, lo que favorece la localización de una fracción importante del fármaco cerca o sobre la superficie de la partícula. Como consecuencia, puede producirse una liberación inicial rápida, asociada a la difusión inmediata del fármaco superficialmente adsorbido o débilmente retenido. Este fenómeno que puede afectar la seguridad y eficacia terapéutica del sistema. Este comportamiento está relacionado con factores como la densidad de carga, la morfología del sistema y las condiciones de formulación (Alsayyed et al., 2024).

Más que una limitación inherente, este comportamiento pone de manifiesto la importancia del diseño y control de los sistemas de liberación, lo que ha impulsado el desarrollo de estrategias orientadas a modular de manera más precisa la liberación del fármaco. Bajo esta premisa, la microencapsulación se posiciona como una de las estrategias más utilizadas para modular la liberación de compuestos activos, permitiendo reducir el efecto de liberación inicial y optimizar su desempeño terapéutico.

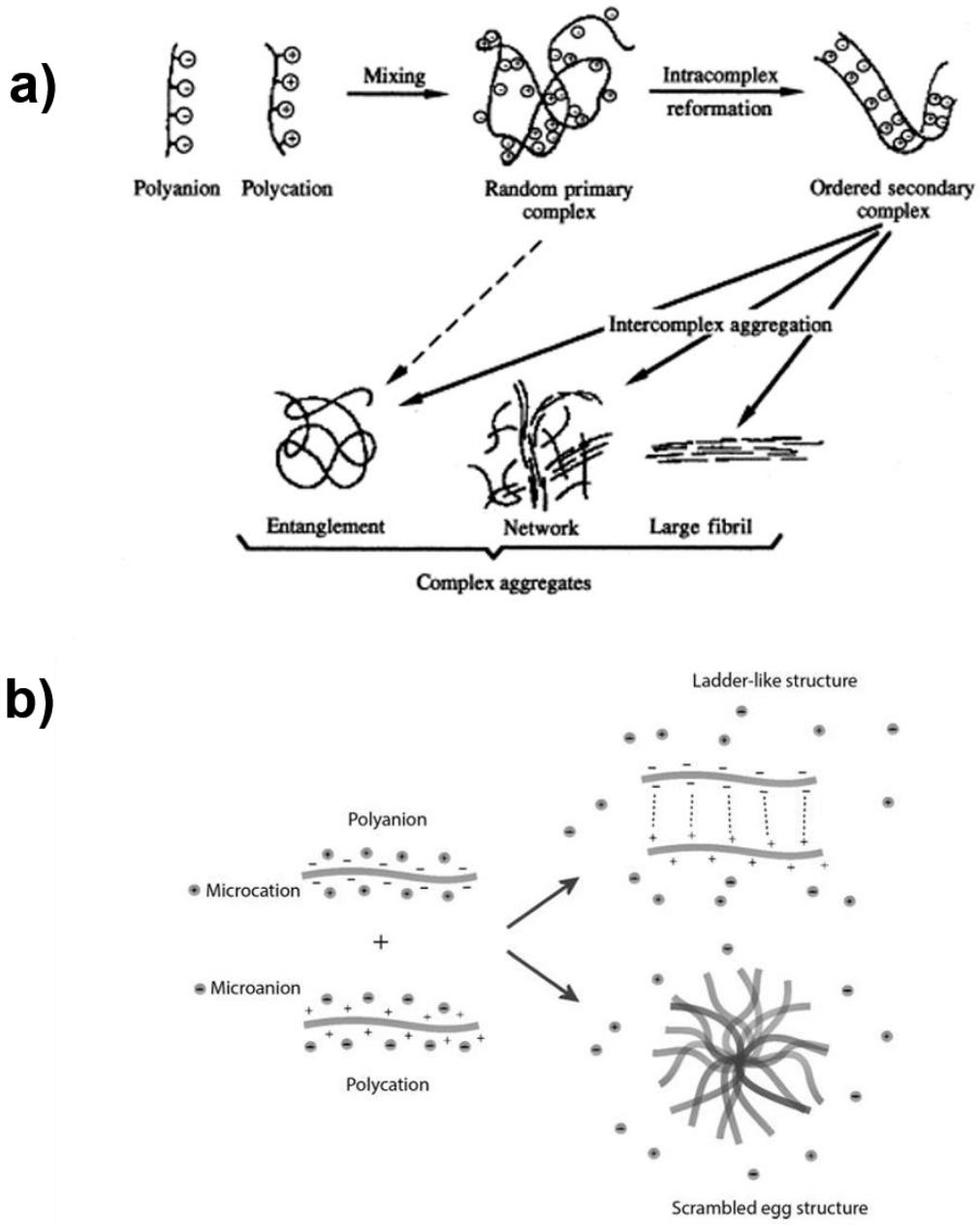



**Figura 5: (a) Representación esquemática de la formación de complejos polielectrolíticos (PECs). (b) Modelos estructurales propuestos para los PECs: tipo escalera (*ladder-like*) y tipo huevo revuelto (*scrambled egg*). (Cazorla-Luna et al., 2021).**

### 2.1.5 MICROENCAPSULACIÓN

La microencapsulación corresponde a un conjunto de técnicas destinadas a incorporar principios activos dentro de sistemas particulados de tamaño micrómetro, con el objetivo de protegerlos, modular su liberación y mejorar sus propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas (Bhardwaj et al., 2024). Dependiendo de su organización estructural, los sistemas microencapsulados pueden clasificarse principalmente en microcápsulas y microesferas. En las microcápsulas, el principio activo se encuentra rodeando por una membrana o cubierta diferenciada, formando una estructura tipo reservorio. En contraste, en las microesferas el compuesto activo se distribuye homogéneamente dentro de una matriz polimérica continua (Bhardwaj et al., 2024). El tamaño de estos sistemas puede varias desde fracciones de micrómetro hasta aproximadamente 5000 µm (Lengyel et al., 2019).

Las propiedades físicas y químicas de los sistemas microencapsulados dependen principalmente de la selección del material encapsulante y de la estructura obtenida. Por esta razón, la elección del material debe considerar factores como la compatibilidad con el principio activo, el entorno de aplicación, el perfil de liberación deseado y la técnica de encapsulación empleada, en algunos casos, se agregan tensioactivos a la formulación para favorecer la formación de la película de recubrimiento (Lobel et al., 2024). Asimismo, la microencapsulación permite proteger compuestos sensibles frente a factores externos contribuyendo a mejorar su estabilidad y prolongar su vida útil (Patel et al., 2022). Además, esta estrategia permite modular la liberación de compuestos

encapsulados, disminuir la frecuencia de dosificación y mejorar la aceptación por parte del paciente (Sousa et al., 2022). Aunque actualmente la microencapsulación posee gran relevancia en el área farmacéutica, no corresponde a una tecnología reciente, ya que sus primeras aplicaciones industriales se remontan al papel autocopiativo sin carbón, comercializado en la década de 1950. Posteriormente, esta tecnología fue adaptada al ámbito farmacéutico, impulsando el desarrollo de nuevos materiales de recubrimiento y procedimientos específicos para la microencapsulación de fármacos (Sousa et al., 2022).

El proceso de microencapsulación generalmente comprende cuatro etapas: la incorporación del núcleo, el desarrollo del sistema encapsulante, la formación de la cubierta y la solidificación de la estructura final (Yan & Kim, 2024). Existen numerosos métodos para llevar a cabo este proceso, entre las técnicas más utilizadas se encuentran el secado por aspersión (*spray drying*), la atomización con enfriamiento (*spray cooling*), el atrapamiento en liposomas, la extrusión, la liofilización y la coacervación (X. Zhou, 2025). Gracias a estas técnicas las microcápsulas pueden incorporase en distintas formas farmacéuticas, como suspensiones liquidas, capsulas de gelatina blanda o capsulas de gelatina dura (X. Zhou, 2025).

### 2.1.6 TÉCNICAS DE MICROENCAPSULACIÓN

La microencapsulación puede realizarse mediante diversas técnicas, cuya selección depende de las propiedades físicas y químicas del material a encapsular. De manera general, estos métodos se clasifican en tres categorías principales: físicos o físico-mecánicos, fisicoquímicos y químicos (Venkatachalam et al., 2026).

### 2.1.7 Técnicas químicas

2.1.7.1 Evaporación de solvente

La evaporación de solvente es una técnica de microencapsulación basada en la formación de emulsiones (generalmente tipo O/W), donde el polímero de recubrimiento se disuelve en un solvente volátil que posteriormente es eliminado por evaporación, permitiendo la formación de micropartículas encapsuladas. Este método permite encapsular diversos compuestos activos; sin embargo, puede requerir el uso de solventes orgánicos y múltiples etapas de procesamiento (Zięba et al., 2024a).

#### 2.1.7.2 Polimerización

El método de polimerización en microencapsulación se utiliza para formar recubrimientos protectores alrededor del compuesto de interés (núcleo) directamente in situ. Este proceso implica la reacción de unidades monoméricas localizadas en la interfase entre el material núcleo y la fase continua en la cual este se encuentra disperso (S. Liu et al., 2025).

La fase continua, que actúa como medio de soporte del material núcleo, suele ser líquida o gaseosa, por lo que las reacciones de polimerización pueden ocurrir en diferentes tipos de interfaces, tales como líquido-líquido, líquido-gas, sólido-líquido o sólido-gas (S. Liu et al., 2025).

#### 2.1.7.3 Polimerización interfacial

La polimerización interfacial se basa en una reacción rápida entre monómeros o reactivos localizados en dos fases inmiscibles, generalmente una fase acuosa y una orgánica. La reacción ocurre en la interfase de ambas fases, dando lugar a la formación de una membrana o cubierta polimérica alrededor del material encapsulado (Zhu et al., 2024).

#### 2.1.7.4 Entrecruzamiento interfacial

El método de entrecruzamiento interfacial se basa en la reacción de monómeros bifuncionales en la interfase, generando una red polimérica que actúa como recubrimiento alrededor del núcleo. Este enfoque es altamente versátil y permite la formación de membranas estables mediante reacciones entre grupos funcionales presentes en los reactivos, como proteínas u otros polímeros (Ricardo et al., 2021).

### 2.1.8 Técnicas fisicoquímicas

#### 2.1.8.1 Coacervación o separación de fases

La coacervación es un método en el cual el material núcleo se dispersa en una solución que contiene el material de recubrimiento. Es fundamental que el núcleo no sea soluble ni reaccione con el material de recubrimiento. El tamaño de partícula obtenido depende de parámetros de dispersión como la forma del agitador, la viscosidad del sistema, la velocidad de agitación y la tensión superficial. Generalmente, el tamaño de las partículas se encuentra en un rango de 2 a 1200 µm (Napiórkowska & Kurek, 2022).

Este proceso comprende tres etapas principales: formación de fases inmiscibles, donde el núcleo y el polímero de recubrimiento se dispersan en un medio líquido; deposición del recubrimiento sobre el material núcleo mediante separación de fases e interacciones intermoleculares; y rigidización de la capa formada mediante procesos físicos o químicos, permitiendo obtener microcápsulas estables y autosostenidas (Napiórkowska & Kurek, 2022).

#### 2.1.8.2 Atrapamiento en liposomas

El atrapamiento en liposomas consiste en encapsular compuestos activos dentro de vesículas formadas por bicapas fosfolipídicas. Esta estrategia permite proteger moléculas hidrofílicas e hidrofóbicas, además de mejorar su estabilidad y biodisponibilidad. No obstante, estos sistemas pueden presentar limitada estabilidad física y química durante el almacenamiento (Akbarzadeh et al., 2013).

### 2.1.9 Métodos físicos o físico-mecánicos

#### 2.1.9.1 Atomización con enfriamiento (spray cooling)

La atomización con enfriamiento (*spray cooling*) es una técnica en la cual el material encapsulante fundido es atomizado y posteriormente solidificado mediante enfriamiento térmico. Este método permite obtener partículas sin

necesidad de utilizar solventes orgánicos; sin embargo, puede presentar limitaciones para encapsular compuestos sensibles a la temperatura (Zięba et al., 2024b).

#### 2.1.9.2 Extrusión

La extrusión consiste en forzar una mezcla polimérica a través de una boquilla o matriz para formar partículas o estructuras encapsuladas que posteriormente son solidificadas. Este método se caracteriza por su simplicidad y baja agresividad sobre compuestos sensibles, aunque presenta limitaciones en el control del tamaño de partícula y en la escalabilidad del proceso (Mardani et al., 2024).

#### 2.1.9.3 Liofilización

La liofilización es una técnica basada en la eliminación del solvente mediante sublimación bajo condiciones de baja temperatura y presión reducida. Este método resulta adecuado para compuestos termosensibles y permite preservar la estabilidad del sistema encapsulado; sin embargo, suele requerir tiempos prolongados de procesamiento y mayores costos operacionales (Abdelwahed et al., 2006).

Aunque las distintas técnicas de microencapsulación han demostrado ser efectivas para la obtención de sistemas particulados, muchas presentan limitaciones relacionadas con el uso de solventes orgánicos, múltiples etapas de procesamiento, tiempos prolongados de fabricación o dificultades para controlar simultáneamente el tamaño de partícula y la eficiencia de encapsulación. En este contexto, el secado por aspersión ha adquirido especial interés debido a su simplicidad, reproducibilidad y escalabilidad industrial, permitiendo obtener micropartículas con tamaños controlados y adecuada eficiencia de encapsulación.

#### 2.1.9.4 Secado por aspersión (Spray drying)

El secado por aspersión (*spray drying)* es una de las técnicas de microencapsulación más utilizadas debido a su simplicidad, reproducibilidad y potencial de escalabilidad industrial (Lopez & Lee, 2025). Desde entonces, esta técnica se ha consolidado como uno de los procesos comerciales más importantes para la fabricación de productos encapsulados, utilizándose para incorporar enzimas, oleorresinas, aceites, compuestos aromáticos, colorantes, vitaminas y fragancias. Su amplia aplicación se debe a que es un método eficiente, económico y no requiere equipos altamente especializados (Mardani et al., 2024).

En el proceso de encapsulación, materiales como almidones modificados, maltodextrinas, gomas u otros polímeros son previamente hidratados para ser utilizados como agentes de recubrimiento. El material a encapsular se homogeneiza con el material de recubrimiento, generalmente en proporciones específicas, y la mezcla resultante es alimentada al secador por atomización (Szymańska et al., 2016).

Dentro del equipo, la solución es atomizada mediante una boquilla o un disco rotatorio, generando gotas finas que, al entrar en contacto con el aire caliente, pierden rápidamente el solvente por evaporación. Finalmente, las micropartículas formadas se depositan en la parte inferior del secador, donde son recolectadas como un polvo seco (Patel et al., 2022)

En configuraciones más avanzadas, el proceso puede realizarse mediante boquillas de múltiples fluidos, como la boquilla de tres fluidos, la cual permite la alimentación simultánea de diferentes soluciones. Este tipo de sistema posibilita la formación de estructuras más complejas, como partículas con arquitectura núcleo-corona, donde un fluido interno puede ser encapsulado por una fase externa durante el proceso de atomización (Ziaee et al., 2019).

Debido a estas características, el Secado por aspersión adquirido especial interés en el desarrollo de sistemas de liberación controlada, ya que permite obtener micropartículas con tamaños controlados, adecuada eficiencia de encapsulación y propiedades fisicoquímicas reproducibles. Además, su

capacidad de operar de manera continua y escalable, junto con la posibilidad de emplear boquillas de múltiples fluidos, favorece la obtención de micropartículas más complejas, como sistemas núcleo–corona, permitiendo modular de manera más precisa la encapsulación y liberación de compuestos bioactivos de interés farmacéutico. Estas ventajas resultan particularmente relevantes en enfermedades de tratamiento prolongado, como la tuberculosis, donde muchos fármacos presentan limitaciones asociadas a estabilidad, administración y eficacia terapéutica.

## 2.2 TUBERCULOSIS Y LIMITACIONES EN EL TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO

A pesar de los avances, la tuberculosis continúa representando un importante problema de salud pública a nivel mundial debido a sus elevadas tasas de incidencia y mortalidad. Según datos recientes de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en 2024 se estimó que 10,7 millones de personas contrajeron la enfermedad, incluyendo 5,8 millones de hombres, 3,7 millones de mujeres y 1,2 millones de niños. En el mismo año, aproximadamente 1,23 millones de personas murieron a causa de la tuberculosis, entre ellas 150 000 personas con coinfección por VIH. A nivel global, esta enfermedad constituye la principal causa de muerte por un solo agente infeccioso y se encuentra entre las diez principales causas de

mortalidad. Además, sigue siendo la enfermedad más letal en personas con VIH y una de las principales causas de muerte asociadas a la resistencia a los antimicrobianos (Goletti et al., 2025). La tuberculosis multirresistente continúa siendo una crisis de salud pública y una amenaza para la seguridad sanitaria, considerando que solo dos de cada cinco personas con tuberculosis farmacorresistente tuvieron acceso a tratamiento en 2024. A pesar de estos desafíos, se estima que las intervenciones globales han permitido salvar aproximadamente 83 millones de vidas desde el año 2000 (Goletti et al., 2025).

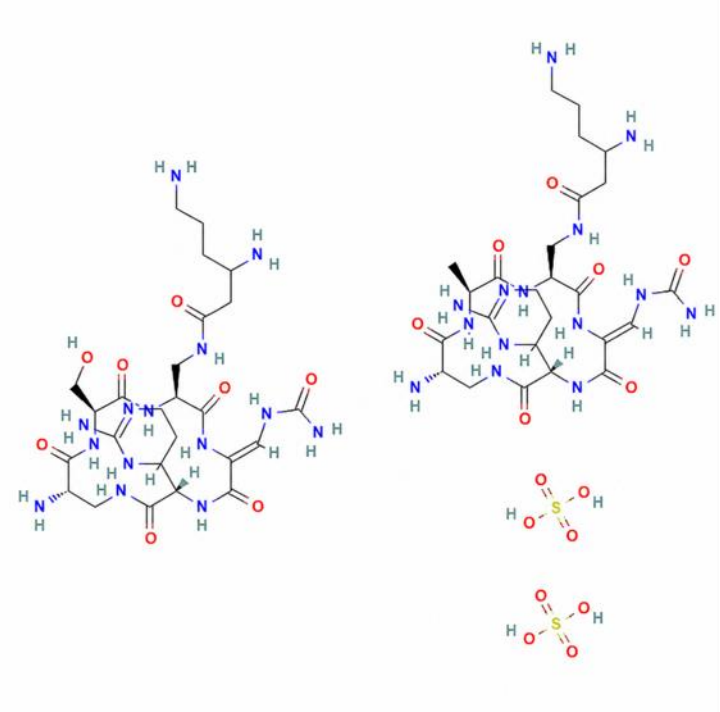
La tuberculosis es una enfermedad infectocontagiosa crónica causada por *Mycobacterium tuberculosis*, que afecta principalmente a los pulmones, aunque puede comprometer otros órganos. Su transmisión ocurre por vía aérea mediante la inhalación de aerosoles generados por personas infectadas, y la infección puede permanecer en estado latente o progresar hacia una enfermedad activa, caracterizada por síntomas como tos persistente, fiebre, sudoración nocturna y pérdida de peso (Shao et al., 2021a). Una proporción significativa de la población mundial presenta infección latente, con riesgo de progresión que aumenta considerablemente en condiciones de inmunosupresión, como en pacientes con VIH, desnutrición o enfermedades crónicas.

El tratamiento de la tuberculosis se basa en la administración combinada y prolongada de múltiples antibióticos, lo que constituye uno de los principales desafíos en su control (Gairola et al., 2022). En los casos de tuberculosis sensible a fármacos de primera línea, se emplean isoniazida, rifampicina, etambutol y pirazinamida, organizados en una fase intensiva para reducir la carga bacteriana y una fase de continuación para eliminar poblaciones residuales y prevenir recaídas. Sin embargo, la duración del tratamiento, el elevado número de fármacos y los efectos adversos asociados afectan significativamente la adherencia terapéutica, favoreciendo el abandono del tratamiento y la persistencia de la enfermedad (Cunha et al., 2019).

Como consecuencia de estas limitaciones, ha emergido la tuberculosis multirresistente (TB-MDR), asociada a tratamientos incompletos, uso inadecuado de antibióticos y fallas en el sistema de salud. En estos casos, es necesario recurrir a fármacos de segunda línea, como capreomicina, kanamicina y amikacina, los cuales presentan menor eficacia, mayor toxicidad y requieren esquemas terapéuticos más prolongados (L. M. Fu & Shinnick, 2007). En situaciones más críticas, como la tuberculosis extremadamente resistente (XDR-TB), se incorporan fármacos de tercera línea, incluyendo moxifloxacino, linezolid y nuevos agentes como bedaquilina y delamanid, aunque con limitaciones

relacionadas con su disponibilidad, costo y perfil de seguridad (Cunha et al., 2019).

Dentro de los fármacos de segunda línea, la capreomicina sulfato (Figura 6) representa un modelo de interés debido a sus características fisicoquímicas y farmacológicas. Se trata de un antibiótico polipeptídico producido por *Streptomyces capreolus*, con actividad bacteriostática frente a *Mycobacterium tuberculosis* (Cunha et al., 2019; L. M. Fu & Shinnick, 2007). Está constituido por diversas fracciones polipeptídicas, siendo las formas IA e IB las principales responsables de su actividad farmacológica. Desde el punto de vista fisicoquímico, se presenta como un polvo blanco o blanquecino, altamente soluble en agua y estable en un rango de pH entre 4 y 8, aunque susceptible a degradación en condiciones extremas (Cambronero-Rojas et al., 2015a).



| Capreomycin analog | $R_1$ | $R_2$ |
|---|---|---|
| IA | OH | β-Lys |
| IB | H | β-Lys |
| IIA | OH | $NH_2$ |
| IIB | H | $NH_2$ |

**Figura 6:Estructura de la capreomicina sulfato (L. M. Fu & Shinnick, 2007)**.

En la práctica clínica, este fármaco requiere ser administrado por vía intramuscular o intravenosa, generalmente en dosis de 15-20mg/Kg/día (máximo 1g diario) durante la fase intensiva del tratamiento, pudiendo extenderse por varios meses en función de la respuesta terapéutica. Esta frecuencia de administración, sumada a la duración del tratamiento, representa una carga significativa para el paciente y puede comprometer la adherencia terapéutica. Adicionalmente, la capreomicina presenta efectos adversos relevantes, como nefrotoxicidad y ototoxicidad, lo que limita su uso y condiciona la necesidad de un monitoreo clínico constante (Pitner et al., 2019).

A pesar de ello, la capreomicina continúa desempeñando un rol relevante en el manejo de tuberculosis resistente, debido a su actividad frente a cepas de *Mycobacterium tuberculosis* que han desarrollado resistencia a fármacos de primera línea e incluso a otros agentes inyectables de segunda línea, como amikacina y kanamicina (Maus et al., 2005). Este comportamiento se atribuye a diferencias en su estructura y en su interacción con los blancos ribosomales bacterianos (Tabla 1). En este sentido, se ha descrito que su actividad está asociada a modificaciones específicas del ARN ribosomal mediadas por la proteína TlyA, una metiltransferasa responsable de la 2'-O-metilación en nucleótidos clave del 16S y 23S rRNA en *Mycobacterium tuberculosis* (Johansen et al., 2006). Estas modificaciones estructurales del ribosoma son determinantes para la unión del fármaco y su eficacia, lo que además explica, en parte, los mecanismos de resistencia observados cuando ocurren alteraciones en dicha proteína (J. Zhao et al., 2019).

**Tabla 1.** Proteína TlyA en *Mycobacterium tuberculosis* **(L. M. Fu & Shinnick, 2007)**.

| **Parámetro** | **Descripción** |
|---|---|
| Nombre de la proteína | 16S/23S rRNA (cytidine-2'-O)-methyltransferase TlyA |
| Tipo | Proteína |
| Organismo | *Mycobacterium tuberculosis* (strain ATCC 25618 / H37Rv) |
| Acción farmacológica | Sí |
| Tipo de acción | Inhibidor |
| Función general | Actúa como factor de evasión del hospedador, contribuyendo significativamente a la patogénesis de *M. tuberculosis* mediante la |

| | |
|---|---|
| | modulación de la respuesta inmune adaptativa, inhibiendo las respuestas de citocinas Th1 y Th17, así como la autofagia. Cataliza la 2'-O-metilación en los nucleótidos C1409 del 16S rRNA y C1920 del 23S rRNA. Probablemente está involucrada en la biogénesis ribosomal. Además, presenta actividad hemolítica in vitro al unirse y oligomerizarse en membranas celulares del hospedador. |
| Función específica | Unión a RNA |
| Gen | *tlyA* |
| ID UniProt | P9WJ63 |
| Nombre UniProt | 16S/23S rRNA (cytidine-2'-O)-methyltransferase TlyA |
| Peso molecular | 28,073.885 Da |

Adicionalmente, su naturaleza peptídica la hace susceptible a procesos de degradación y a variaciones en su estabilidad dependiendo del entorno fisiológico, lo que puede influir en su biodisponibilidad y eficacia. (Monshupanee et al., 2012). En este contexto, y considerando las limitaciones asociadas a su estabilidad, toxicidad y régimen de administración, el desarrollo de sistemas de liberación controlada se presenta como una estrategia prometedora para mejorar su perfil terapéutico. Este enfoque permite proteger el fármaco frente a la degradación, modular su liberación, reducir las concentraciones plasmáticas máximas asociadas a toxicidad y disminuir la frecuencia de administración. En consecuencia, la capreomicina sulfato se posiciona como un candidato adecuado para su incorporación en sistemas de microencapsulación orientados a optimizar su eficacia y seguridad en el tratamiento de la tuberculosis resistente.

En este contexto, diversos estudios han reportado el desarrollo de sistemas particulados para la encapsulación de fármacos antituberculosos, incluyendo

micro y nanopartículas obtenidas mediante diferentes métodos y matrices poliméricas, con el objetivo de mejorar la estabilidad, biodisponibilidad y perfil de liberación de estos compuestos. Estos estudios son resumidos en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Estudios reportados sobre sistemas de encapsulación de fármacos utilizados en tuberculosis.

| Fármaco | Método de obtención | Sistema | Matriz/polímero | Resultados principales | Referencia |
|---|---|---|---|---|---|
| **Rifampicina, isoniazida y pirazinamida** | Emulsión múltiple y evaporación de solvente | Nanopartículas | PLG (poly(dl-lactide-co-glycolide)) | Tamaño entre 186–290 nm, encapsulación de 57–68% y liberación sostenida hasta 6 semanas | (Pandey et al., 2003) |
| **Pirazinamida** | Atrapamiento liposomal | Liposomas | DPPC/colesterol | Mejora de eficacia terapéutica y reducción de carga bacteriana en modelos infectados con *M. tuberculosis* | (El-Ridy et al., 2007) |
| **Rifampicina e isoniazida** | Atrapamiento liposomal | Liposomas | Lecitina de soya | Co-encapsulación y liberación sostenida de fármacos antituberculosos | (Nkanga et al., 2019) |
| **Rifampicina** | Emulsión y evaporación de solvente | Nanopartículas | PLGA | Mejora de estabilidad, liberación controlada y aumento de biodisponibilidad | (Yessentayeva et al., 2024) |
| **Capreomicina sulfato** | Spray drying | Micropartículas inhalables | Leucina/fosfolípidos | MMAD de 3.38 µm y FPF cercana al 65%, mostrando potencial para | (Shao et al., 2021b) |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | administración pulmonar | |
| **Capreomicina + péptido antimicrobiano D-LAK** | Spray drying | Micropartículas inhalables | Leucina/fosfolípidos | Co-encapsulación eficiente y potencial terapéutico frente a tuberculosis pulmonar | (Shao et al., 2023) |
| **Capreomicina oleato** | Secado por aspersión | Micropartículas | Complejo hidrofóbico capreomicina–oleato | Administración intramuscular de liberación prolongada. mostró resultados preliminares in vivo favorables. | (Cambronero-Rojas et al., 2015a) |

Hasta la fecha, se han descrito escasos estudios enfocados en la encapsulación de capreomicina, identificándose principalmente dos trabajos en la literatura. Si bien ambos reportan resultados prometedores en términos de mejora del perfil de liberación del fármaco, las estrategias empleadas se basan en el uso de fosfolípidos o materiales solubles en solventes orgánicos. Esto puede representar una limitación relevante para su escalamiento, tanto por la mayor complejidad del proceso productivo como por las implicancias medioambientales asociadas al uso de dichos solventes.

En particular, resulta relevante explorar alternativas tecnológicas que permitan desarrollar sistemas de encapsulación más simples, procesables en medio acuoso y potencialmente más favorables desde el punto de vista productivo y ambiental. Una estrategia poco explorada para capreomicina sulfato corresponde

a la formación de complejos polielectrolíticos entre biopolímeros de carga opuesta, los cuales pueden autoensamblarse mediante interacciones electrostáticas y originar estructuras organizadas con potencial para modular la liberación de moléculas terapéuticas.

En este contexto el presente trabajo propone la formación de complejos polielectrolíticos (PECs) basados en quitosano ariltrimetilamonio (TMACS), como polímero catiónico, y λ-carragenina (LCG), como contraparte aniónica, los cuales serán utilizados como base para la posterior obtención de micropartículas cargadas con capreomicina sulfato mediante secado por aspersión (*spray drying*). La interacción electrostática entre los grupos amonio cuaternario ($N^+(CH_3)_3$) del TMACS y los grupos sulfato ($OSO_3^-$) de la LCG podría favorecer la formación de estructuras organizadas tipo núcleo–corona, capaces de incorporar el fármaco y modular su liberación, con un perfil de citotoxicidad compatible con su potencial aplicación terapéutica.

# 3 HIPOTESIS Y OBJETIVOS

## 3.1 HIPOTESIS

La formación de partículas núcleo-corona mediante biocomplejos polielectrolíticos entre quitosano modificado λ-carragenina permite obtener micropartículas aptas para encapsular capreomicina sulfato, con propiedades optimizadas para modular su liberación controlada y presentar un perfil de citotoxicidad compatible con su potencial aplicación terapéutica.

## 3.2 OBJETIVO GENERAL

Desarrollar micropartículas núcleo–corona, obtenidas mediante biocomplejos polielectrolíticos capaces de encapsular capreomicina sulfato, evaluando su capacidad de modular la liberación del fármaco y su perfil de citotoxicidad *in vitro*.

## 3.3 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Elaborar micropartículas de capreomicina sulfato a partir de quitosano modificado y λ-carragenina.
- Analizar la liberación *in vitro* de capreomicina sulfato a partir de las micropartículas desarrolladas, evaluando su cinética y mecanismos de liberación.

- Evaluar el efecto citotóxico de las micropartículas en células fibroblásticas humanas HFF-1.

# 4 METODOLOGÍA

## 4.1 MATERIALES Y REACTIVOS

Principios activos y excipientes

- Capreomicina sulfato (CAS 1405-37-4;855 µg de capreomicina base por mg, Sigma-Aldrich, USA)

Polímeros

- λ -carragenina comercial, con peso molecular aproximado entre 700–1000 kDa (CAS 9000-07-1;Sigma-Aldrich, USA).
- Quitosano comercial con peso molecular aproximado de 310 kDa y viscosidad entre 800–2000 cP (1% p/v en 1% v/v ácido acético a 25 °C) (CAS 9012-76-4; Sigma-Aldrich, USA).

Reactivos Solventes y disolventes

- 4-dimetilaminobenzaldehído
- 4-hidroxibenzaldehído
- Acetona
- Ácido acético ($C_2H_4O_2$)
- Ácido acético glacial
- Ácido clorhídrico (HCl 1 mol $L^{-1}$)

- Agua destilada
- Agua nanopura
- Cianoborohidruro de sodio
- Cloruro de potasio (KCl)
- Cloruro de sodio (NaCl)
- Etanol o metanol (opcional)
- Fosfato de potasio monobásico ($KH_2PO_4$)
- Fosfato de sodio monobásico ($NaH_2PO_4$)
- HEPES (mín. 99.5%, Sigma-Aldrich, USA)
- Hidróxido de sodio (NaOH)
- Hidróxido de sodio estandarizado (0,1 mol $L^{-1}$)
- N-metilpirrolidona (NMP)
- N-metilpirrolina
- Yodometano
- Yoduro de sodio (NaI)

Equipos y software

- Agitador magnético MULTISTIRRER 6, Velp Scientifica (España)
- Analizador termogravimétrico (TGA) NETZSCH QMS 403C / TG 209 F1
- Balanza analítica AA-200, Denver Instrument Company (Estados Unidos)
- Balanza Precisa XB120A, Precisa Instruments (Suiza)

- Baño de ultrasonido Branson 1200 (Alemania)
- BioRender
- Bomba de vacío Gast®, Benton Harbor (Estados Unidos)
- Bomba peristáltica TP-320, ChromTech (Taiwán)
- Centrífuga Eppendorf 5403 (Alemania)
- Conductímetro y pH-metro
- Detector UV–L2400 Merck Hitachi Lachrom (Alemania)
- DSC Mettler Toledo modelo 822e
- Equipo de difracción de rayos X (XRD: modelo correspondiente)
- Espectrofotómetro FTIR Nicolet Nexus 670
- Espectrofotómetro UV–Vis Thermo Scientific Evolution OnePlus
- GraphPad Prism 8
- Homogeneizador de alta velocidad Diax 600, Heipdolph, Alemania)
- ImageJ
- JEOL SEM-PROBE CAMECA SU-30 con sistema EDS
- Liofilizador
- Microscopio Confocal Espectral Zeiss LSM 780 (Carl Zeiss, Germany)
- Mini Spray Dryer Büchi B-290
- Sonda de ultrasonido
- Zetasizer Nano series (Malvern Panalytical)

## 4.2 SÍNTESIS DE DERIVADOS ARÍLICOS DE QUITOSANO

### 4.2.1 Síntesis de quitosano aril dimetilamino (DMACS)

1,0 g (6,1 mmol de $NH_2$) de quitosano desacetilado (CS) (grado de desacetilación: 98%;ver Tabla S1), se disolvió en 80 mL de solución de ácido acético al 1 % (v/v), y la solución se diluyó en 60 mL de etanol puro. A continuación, se añadió 4,6 g (30,5 mmol) de 4-dimetilaminobenzaldehído (DMABA) en una relación equimolar 1:5 de CS: DMABA. La reacción se agitó durante 12 h a 60 ± 1 °C, ajustando el pH a 5,0 con NaOH al 10 % (p/v).

Posteriormente, se añadieron 1,5 g (24 mmol) de cianoborohidruro de sodio, bajo agitación por 24 h a temperatura ambiente. Posteriormente, el pH se ajustó a 7,0 con NaOH al 10 % (p/v). El producto obtenido se dializó utilizando una membrana de diálisis con un corte de peso molecular (MWCO) de 12–14 kDa durante tres días, con reemplazando el agua cada 6 h, finalmente se llevó a congelación y liofilización, obteniéndose DMACS (ver Figura 7 de esquema de reacción) (Sajomsang et al., 2008, 2009).

### 4.2.2 Síntesis de quitosano aril trimetilamino (TMACS)

0,50 g de DMACS se disolvió en 25 mL de N-metilpirrolidona (NMP) durante 12 h a temperatura ambiente. Luego se adicionaron 4 mL de hidróxido de sodio acuoso al 15 % (p/v) y 1,5 g de yoduro de sodio. La mezcla de reacción se agitó a 60 ± 1 °C durante 15 min y añadiendo 4 mL de yodometano en 3 porciones cada 3 h. Finalmente, la mezcla de reacción se agitó durante 24 h a 60 ± 1 °C.

Posteriormente, el TMACS se precipitó en 250 mL de acetona; este precipitado se recolectó por centrifugación y se disolvió en una solución de NaCl al 15 % (p/v). Finalmente, la solución se dializó utilizando una membrana de diálisis con un corte de peso molecular (MWCO) de 12–14 kDa durante 3 días, con cambios de agua cada 6 h, y luego se congeló y liofilizó (ver Figura 7 de esquema de reacción) (Sajomsang et al., 2008, 2009).

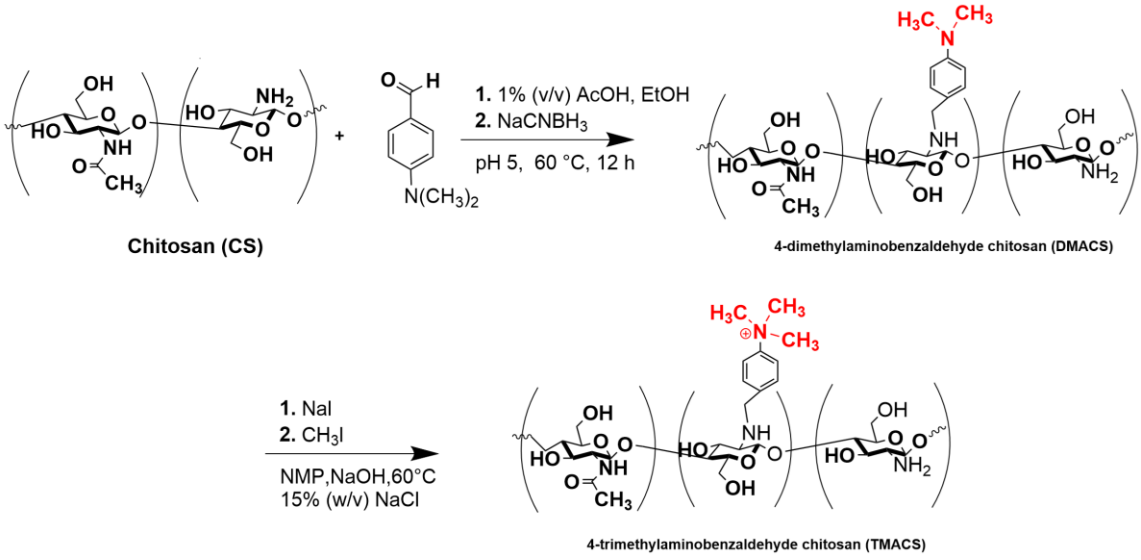



**Figura 7:Síntesis de derivados de N-aril quitosano. Elaboración propia mediante ChemDraw®**

### 4.2.3 Caracterización espectroscópica del quitosano y sus derivados arílicos

Las muestras obtenidas fueron caracterizadas por Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear de Protón ($^1$H-RMN) utilizando un equipo Bruker Avance de 400 MHz (Bruker, Billerica, MA, EE. UU.). Los espectros obtenidos se analizaron mediante la integración de las señales características para determinar el porcentaje de modificación del DMACS y el grado de cuaternización del TMACS (Ver ec. 1S). Los espectros de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR-ATR) se obtuvieron empleando un espectrofotómetro Jasco 4X equipado con un accesorio de Reflectancia Total Atenuada (ATR) de reflexión única con prisma de diamante, registrando los espectros en el intervalo de 4000–400 $cm^{-1}$. Las características estructurales de las muestras se evaluaron mediante Difracción de Rayos X (DRX) utilizando un difractómetro RIGAKU Geigerflex operado con radiación Cu Kα (40 kV y 20 mA), registrando los difractogramas en un rango de 2θ entre 5° y 80° a una velocidad de barrido de 1° $min^{-1}$. El Análisis Termogravimétrico (TGA) se llevó a cabo empleando un equipo NETZSCH QMS 403C/TG 209 F1 bajo atmósfera de $N_2$, con una velocidad de calentamiento de 10 °C $min^{-1}$ y en un rango de temperatura de 25 a 600 °C.

## 4.3 FORMACIÓN DE COMPLEJOS POLIELECTROLÍTICOS Y OBTENCIÓN DE MICROPARTÍCULAS POR SECADO POR ASPERSIÓN

### 4.3.1 Formación de complejos polielectrolíticos (PECs) TMACS/LCG

Los complejos polielectrolíticos se prepararon a partir de soluciones acuosas de TMACS y λ-carragenina (LCG), utilizando 20 relaciones comprendidas entre 0,05 y 3,0 (Ver Tabla 3). En todos los experimentos, la concentración de TMACS se mantuvo constante, mientras que la concentración de LCG se ajustó de acuerdo con la relación molar seleccionada.

El orden de adición fue el siguiente: (i) se añadió el volumen calculado de la solución de TMACS, (ii) se incorporó el volumen necesario de agua desionizada hasta alcanzar el volumen final, y (iii) se agregó lentamente la solución de LCG bajo agitación vigorosa, manteniendo la agitación durante 1 min para favorecer la formación del complejo, tal como se muestra en la Figura 8.

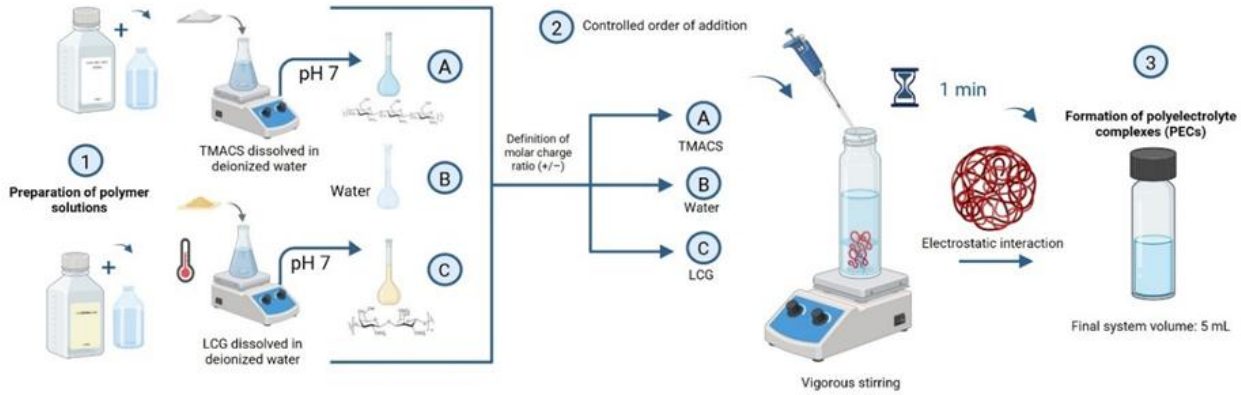



**Figura 8:Diagrama de formación de los complejos polielectrolíticos (PECs) TMACS/LCG. Elaboración propia mediante BioRender**

**Tabla 3.** Relaciones utilizadas para la formación de biocomplejos.

| Nº exp. | Relación (aniónica/catiónica) | Porción aniónica | Porción catiónica | [Aniónica] (g/L) | [Catiónica] (g/L) |
|---|---|---|---|---|---|
| **1** | 0,05 | 1 | 20 | 0,0125 | 0,2500 |
| **2** | 0,10 | 2 | 20 | 0,0250 | 0,2500 |
| **3** | 0,20 | 4 | 20 | 0,0500 | 0,2500 |
| **4** | 0,30 | 6 | 20 | 0,0750 | 0,2500 |
| **5** | 0,40 | 8 | 20 | 0,1000 | 0,2500 |
| **6** | 0,50 | 10 | 20 | 0,1250 | 0,2500 |
| **7** | 0,60 | 12 | 20 | 0,1500 | 0,2500 |
| **8** | 0,70 | 14 | 20 | 0,1750 | 0,2500 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **9** | 0,80 | 16 | 20 | 0,2000 | 0,2500 |
| **10** | 0,90 | 18 | 20 | 0,2250 | 0,2500 |
| **11** | 1,00 | 20 | 20 | 0,2500 | 0,2500 |
| **12** | 1,10 | 22 | 20 | 0,2750 | 0,2500 |
| **13** | 1,20 | 24 | 20 | 0,3000 | 0,2500 |
| **14** | 1,30 | 26 | 20 | 0,3250 | 0,2500 |
| **15** | 1,40 | 28 | 20 | 0,3500 | 0,2500 |
| **16** | 1,50 | 30 | 20 | 0,3750 | 0,2500 |
| **17** | 1,75 | 35 | 20 | 0,4375 | 0,2500 |
| **18** | 2,00 | 40 | 20 | 0,5000 | 0,2500 |
| **19** | 2,50 | 50 | 20 | 0,6250 | 0,2500 |
| **20** | 3,00 | 60 | 20 | 0,7500 | 0,2500 |

## 4.4 Obtención de micropartículas (TMACS/LCG-MPs) mediante secado por aspersión

Las micropartículas se prepararon mediante secado por aspersión utilizando un equipo Büchi Mini Spray Dryer B-290 (Büchi, Suiza), equipado con una boquilla

de tres fluidos (Figura 9), con el objetivo de favorecer la formación de micropartículas con estructura núcleo–corona.

Las soluciones de alimentación, basadas en el sistema de complejos previamente descrito, se prepararon en agua desionizada y se mantuvieron bajo agitación constante antes de la atomización. En la configuración de boquilla de tres fluidos, el canal interno se alimentó con la solución de capreomicina sulfato y quitosano aril trimetilamino (CAP–TMACS), mientras que en el canal externo se suministró la solución de LCG, permitiendo la separación de fases hasta la atomización y promoviendo la organización núcleo–corona.

El proceso de secado por aspersión se realizó utilizando una boquilla de 0,7 mm de diámetro. Las condiciones operacionales (tabla 4) incluyeron una temperatura de entrada de 150°C -160°C y temperaturas de salida entre 60 y 80 °C, con una tasa de aspiración del 95 %. Se aplicaron dos caudales de alimentación: un flujo externo controlado por una bomba externa ajustada a 11 mL $min^{-1}$ y un flujo interno regulado a 9 mL $min^{-1}$. Esta configuración permitió una atomización diferenciada de las soluciones de alimentación, favoreciendo la formación de micropartículas con organización núcleo–corona.

Bajo estas condiciones, se obtuvieron micropartículas con tamaños promedio del orden de los 2 µm, inferiores al tamaño máximo de aproximadamente 10 µm comúnmente reportado para sistemas similares de secado por aspersión (Mardani et al., 2024). Tras el proceso, el polvo recolectado se almacenó

inmediatamente a temperatura ambiente bajo vacío en un desecador, con el fin de minimizar la absorción de humedad.

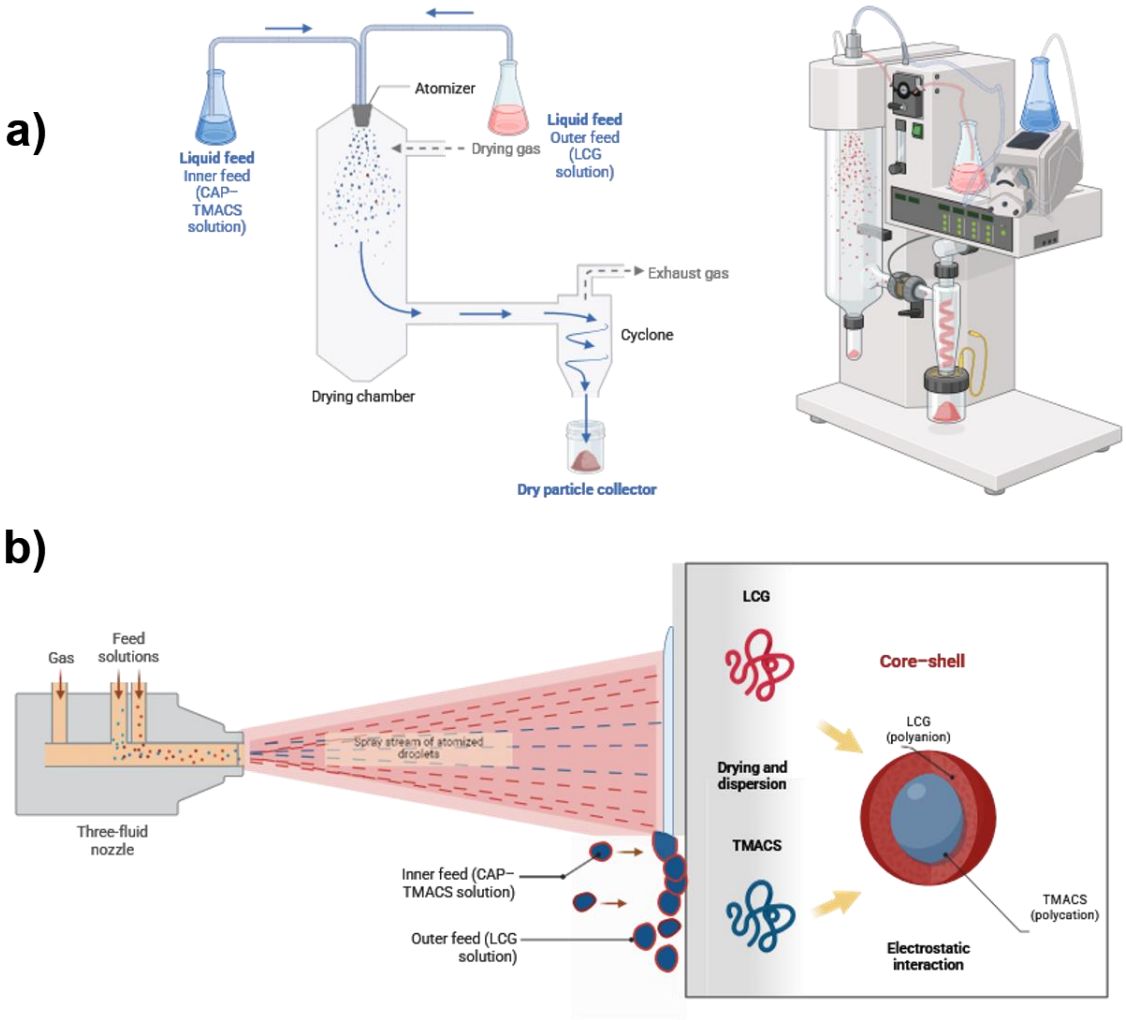



**Figura 9: Equipo Mini Spray Dryer Büchi B-290: a) Representación esquemática del proceso de secado por aspersión utilizando una boquilla de tres fluidos para la producción de micropartículas CAP–TMACS/LCG. (b) Mecanismo propuesto de núcleo-corona. Elaboración propia mediante BioRender.**

El rendimiento del proceso Ecuación (1) se calculó como la relación entre la masa de micropartículas recuperadas después del secado por aspersión y la masa inicial de sólidos presentes en la solución de alimentación, expresado como porcentaje.

$$\%Yield = \left(\frac{mass\ of\ powder\ collected}{initial\ mass\ of\ solids\ in\ the\ feed\ solution}\right) * 100\% \quad (1)$$

**Tabla 4.** Rangos de prueba de los parámetros del proceso de secado por aspersión que serán optimizados.

| Parámetro | Rangos de prueba |
|---|---|
| Temperatura de entrada (Inlet T°) | 150-160°C |
| Temperatura de saída (Outlet T°) | 60-80 °C |
| Bomba interna (Pump setting 0,29) | 9 mL/min |
| Bomba externa (0,182 RPM) | 11 mL/min |
| Caudal de aire (Rotámetro) | 50–60 |

## 4.5 CARACTERIZACIÓN DE LOS PECs Y DE LAS MICROPARTÍCULAS OBTENIDAS POR SECADO POR ASPERSIÓN (CAP–TMACS/LCG-MPs)

### 4.5.1 Turbidez

La turbidez de los PECs se evaluó mediante espectrofotometría UV–Vis con el objetivo de analizar la dispersión de la luz asociada a la formación y estabilidad de los biocomplejos en suspensión. Las mediciones se realizaron

inmediatamente después de la mezcla de las soluciones poliméricas, utilizando un espectrofotómetro UV–Vis en un rango de longitud de onda entre 500–600 nm, seleccionado para minimizar la absorción específica de los polímeros y favorecer la detección de dispersión óptica. Los resultados se expresaron en términos de absorbancia como indicador del grado de complejación y estabilidad coloidal del sistema.

### 4.5.2 Potencial Zeta

El potencial zeta de los PECs se determinó con el fin de evaluar su carga superficial y estabilidad coloidal. Las mediciones se realizaron utilizando un Zetasizer Nano ZS, basado en el principio de movilidad electroforética.

El análisis se llevó a cabo sobre los biocomplejos en dispersión acuosa, sin la adición de agentes dispersantes. Cada muestra se midió por triplicado para asegurar la reproducibilidad y confiabilidad de los resultados.

### 4.5.3 Dispersión dinámica de luz (DLS)

El tamaño hidrodinámico de los PECs se determinó mediante dispersión dinámica de luz (DLS) utilizando un Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments). Las mediciones se realizaron sobre dispersiones recién preparadas en solución acuosa. Las muestras se homogeneizaron suavemente antes del análisis para asegurar mediciones representativas. Cada muestra se analizó por triplicado y

los resultados se reportaron como el diámetro hidrodinámico medio (Z-average) y la correspondiente distribución de tamaño.

### 4.5.4 Estudio de hinchamiento de CAP–TMACS/LCG-MPs

El comportamiento de hinchamiento de las micropartículas se evaluó mediante gravimetría. Una masa conocida de micropartículas secas se pesó inicialmente ($W_0$) y se sumergió en una solución de tampón fosfato salino (PBS, *phosphate-buffered saline*, pH 7,4)., y se mantuvo a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) durante un período total de 18.5 h. Las mediciones se realizaron a tiempos predeterminados de 0, 1, 6, 16 y 18.5 h. En tiempos predeterminados, las muestras

fueron recuperadas, se eliminó el exceso del líquido superficial y se determinó la masa de las muestras hinchadas($W_t$).

El grado de hinchamiento se calculó en función del aumento de masa relativo a la masa inicial seca. El grado de hinchamiento se expresó como porcentaje (%) y se calculó de acuerdo con la Ecuación (2):

$$\textit{Hinchamiento}\ (\%) = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100 \qquad (2)$$

Todas las mediciones se realizaron por triplicado y los resultados se reportaron como media ± desviación estándar.

## 4.6 ANÁLISIS MORFOLÓGICO Y FISICOQUÍMICO DE LAS MICROPARTÍCULAS

### 4.6.1 Microscopía confocal de barrido láser (CLSM)

La morfología y estructura interna de las micropartículas obtenidas por secado por aspersión se analizaron mediante microscopía confocal de barrido láser (CLSM) utilizando un microscopio confocal Zeiss LSM 780 (Carl Zeiss, Alemania). Para permitir la visualización de la arquitectura núcleo–corona, las formulaciones se marcaron fluorescentemente con la rodamina B se añadió a la solución de TMACS (fase núcleo) y el azul de metileno a la solución de λ-carragenina (fase corona) antes del proceso de secado por aspersión. f

La adquisición de imágenes se llevó a cabo utilizando un objetivo de 63x combinado con un zoom digital de 2x, correspondiente a un aumento efectivo de 126x. La rodamina B se detectó utilizando longitudes de onda de excitación en el rango de 540–560 nm y emisión entre 570–620 nm, mientras que el azul de metileno se analizó utilizando longitudes de onda de excitación de 630–670 nm y emisión entre 680–700 nm.

Las imágenes se adquirieron de forma secuencial para cada canal de fluorescencia y se procesaron mediante proyección de máxima intensidad (MIP) para obtener imágenes de canal único y combinadas.

### 4.6.2 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La morfología y el tamaño de las micropartículas se evaluaron mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) utilizando un microscopio JEOL JSM-6380LV equipado con un detector INCA X-Sight 7582, operado a un voltaje de aceleración de 20 kV.

Las micropartículas obtenidas a partir de las diferentes composiciones se analizaron en estado sólido. Previo a la adquisición de imágenes, las micropartículas se recubrieron con una capa conductora de oro de aproximadamente 150 Å de espesor por pulverización catódica Edwards S150, con el fin de mejorar la conductividad superficial y la calidad de imagen.

### 4.6.3 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) se utilizó para analizar la estructura química y las posibles interacciones entre grupos

funcionales de las micropartículas obtenidas por secado por aspersión. Las espectros se registraron utilizando un espectrofotómetro Jasco 4X equipado con un accesorio de reflectancia total atenuada (ATR) de reflexión única con prisma de diamante, en un intervalo espectral de 4000–400 $cm^{-1}$.

### 4.6.4 Análisis termogravimétrico (TGA)

La estabilidad térmica de las micropartículas obtenidas por secado por aspersión se evaluó mediante análisis termogravimétrico (TGA). El Análisis Termogravimétrico (TGA) se llevó a cabo empleando un equipo NETZSCH QMS 403C/TG 209 F1 bajo atmósfera de $N_2$, con una velocidad de calentamiento de 10 °C $min^{-1}$ y en un rango de temperatura de 25 a 600 °C.

### 4.6.5 Difracción de rayos X (DRX)

La estructura cristalina de las micropartículas obtenidas por secado por aspersión se analizó mediante difracción de rayos X (DRX). Empleando un difractómetro D4 Endeavor (Bruker AXS, Alemania). Los patrones de difracción se registraron en un rango de 2θ de 5–40°.

## 4.7 EVALUACIÓN CINÉTICA DE LIBERACIÓN IN VITRO

Los estudios de carga del fármaco y liberación *in vitro* se realizaron utilizando micropartículas obtenidas por secado por aspersión CAP-TMACS/LCG. Además, se incluyeron como control micropartículas de quitosano aril trimetilamino y capreomicina (CAP/TMACS) y capreomicina/ λ carragenina (CAP/LCG), con el fin de evaluar la contribución individual de cada polímero en la liberación del principio activo.

Para los ensayos de liberación, 10 mg de cada muestra de micropartículas (peso seco) se sumergieron en solución tampón fosfato (PBS) y se incubaron a 37 °C. A intervalos de 5,10,15,25, 30, 60, 90,120, 240, 480 y 1250 min, se retiraron alícuotas del medio de liberación, las cuales fueron reemplazadas inmediatamente por un volumen equivalente de PBS fresco.

Las muestras recolectadas se analizaron mediante espectrofotometría UV–visible (Thermo Scientific Evolution OnePlus). La concentración de CAP se determinó a una longitud de onda de 268 nm utilizando una curva de calibración previamente establecida preparada en PBS en un rango de concentración de 5–80 µg/mL, siguiendo la ecuación y = 0,0076x + 0,0241 con un coeficiente de correlación $R^2$ = 0,9974 (Figura 10). Cada experimento se realizó en triplicado. La cantidad acumulada de fármaco liberado en el tiempo *t (Mt)* se calculó a partir de la curva de calibración correspondiente.

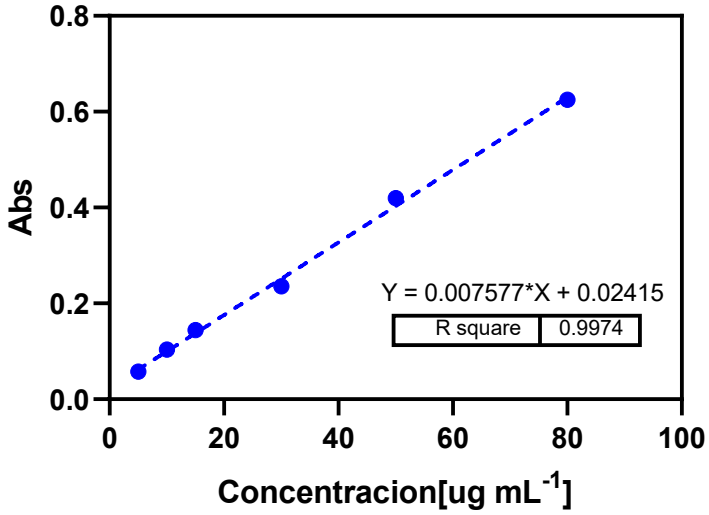



**Figura 10:Curva de calibración de Capreomicina sulfato.**

La eficiencia de encapsulación (EE%), el contenido de carga del fármaco (DLC) y el porcentaje de fármaco liberado ($Q_t$%) se calcularon mediante las Ecuaciones (3), (4) y (5), respectivamente. Todos los experimentos se realizaron por triplicado (Guibet et al., 2006; Sajomsang et al., 2009).

$$\%EE = \frac{M_e}{M_0} * 100\% \quad (3)$$

$$\%DLC = \frac{M_e}{m} * 100\% \quad (4)$$

$$\%\ Q_t = \frac{M_t}{M_e} * 100\% \quad (5)$$

donde $M_0$ corresponde a la masa inicial de fármaco añadida al material (mg), $M_e$ es la masa de fármaco cargada en las micropartículas (mg), m representa la masa de micropartículas (g) y $M_t$ es la masa de fármaco liberada en el tiempo *t.*

Para analizar el mecanismo de liberación del fármaco desde las micropartículas, los datos experimentales de liberación se ajustaron a distintos modelos cinéticos, incluyendo el modelo de orden cero (Ecuación 6), el modelo de primer orden (Ecuación 7), el modelo de Korsmeyer–Peppas (Ecuación 8) y el modelo de difusión controlada de Higuchi (Ecuación 9).

Las ecuaciones correspondientes se presentan a continuación:

$$Q_t = Q_0 + k_0 t \quad (6)$$

$$log\ Q_t = log\ Q_0 - k_1 t \quad (7)$$

$$log\left(\frac{M_t}{M_\infty}\right) = log k_p + n * log t \quad (8)$$

$$Q_t = k_H * t^{1/2} \quad (9)$$

donde $Q_t$ es la cantidad de fármaco liberado en el tiempo t, $Q_0$ es la cantidad inicial de fármaco, $k_0$ es la constante de liberación de orden cero (% $min^{-1}$), $k_1$ es la constante de liberación de primer orden ($min^{-1}$), $M_t/M\infty$ es la fracción de fármaco liberada en el tiempo t, $k_p$ es la constante cinética, $K_H$ es la constante de Higuchi (% $min^{-1/2}$) y n es el exponente de liberación indicativo del mecanismo de liberación.

Para matrices con geometría esférica, valores del exponente n ≤ 0,43 indican un mecanismo de difusión Fickiana, controlado principalmente por el gradiente de concentración. Valores comprendidos entre 0,43 y 0,85 corresponden a un

transporte no Fickiano (anómalo), que implica una combinación de difusión del fármaco y relajación de la matriz polimérica. Un valor de n cercano a 0,85 es característico del transporte Caso I, dominado por la relajación del polímero, mientras que valores de n > 0,85 se asocian con un transporte Super Caso II, relacionado con fenómenos de hinchamiento y reorganización estructural de la matriz (Korsmeyer et al., 1983).

## 4.8 EVALUACIÓN DE CITOTOXICIDAD CELULAR MEDIANTE ALAMARBLUE™

La viabilidad celular se evaluó en fibroblastos humanos HFF-1 (CVCL_3285) utilizando el ensayo de reducción de alamarBlue. Las células se sembraron en placas de 96 pocillos a una densidad de 5 × $10^3$ células por pocillo en medio DMEM completo y se cultivaron hasta alcanzar aproximadamente un 50 % de confluencia. Antes del tratamiento, el medio fue reemplazado por DMEM fresco suplementado con 5 % de suero fetal bovino (FBS), L-glutamina y penicilina/estreptomicina. Posteriormente, las células fueron expuestas a CAP libre, micropartículas sin fármaco (TMACS/LCG-MPs, TMACS-MPs y LCG-MPs) o micropartículas cargadas con CAP (CAP-TMACS/LCG-MPs, CAP-TMACS-MPs y CAP-LCG-MPs). La CAP libre se evaluó a concentraciones finales de 0,

3, 15, 30 y 60 µg $mL^{-1}$, mientras que las formulaciones de micropartículas se evaluaron a concentraciones finales de 0, 10, 50, 100 y 200 µg $mL^{-1}$, expresadas como masa seca de partículas. Para las micropartículas cargadas con CAP, las concentraciones se refieren a la masa seca total de las micropartículas, salvo que se indique lo contrario. Las células sin tratamiento se utilizaron como control de viabilidad (100 %). Las células se incubaron con los tratamientos durante 48 h a 37 °C, en una atmósfera humidificada con 5 % de $CO_2$.

Después del tratamiento, el medio fue retirado y reemplazado por medio de cultivo fresco que contenía 10 % (v/v) del reactivo alamarBlue™. Las placas se incubaron durante 2 h adicionales bajo las mismas condiciones de cultivo y protegidas de la luz. Posteriormente, la fluorescencia se midió utilizando un lector de microplacas Synergy (BioTek, EE. UU.), con la configuración de fluorescencia para alamarBlue™ (Ex/Em = 560/590 nm). Se incluyeron pocillos blanco que contenían medio, alamarBlue™ y los tratamientos correspondientes en ausencia de células para corregir la fluorescencia de fondo. La viabilidad celular relativa se calculó mediante la siguiente ecuación:

Viabilidad celular (%) = [(Fmuestra − Fblanco)/(Fcontrol − Fblanco)] × 100, donde Fcontrol corresponde a las células sin tratamiento.

Los experimentos se realizaron en tres ensayos independientes, con cuadruplicados técnicos para cada condición. El análisis estadístico se realizó

utilizando GraphPad Prism 8.0.1 (GraphPad Software, EE. UU.). Los datos se analizaron mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Dunnett frente al control sin tratamiento (0 μg $mL^{-1}$). Las diferencias estadísticamente significativas se representaron de la siguiente manera: $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (), $p < 0,001$ (*) y $p < 0,0001$ (****).

# 5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 5.1 CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA DE LOS DERIVADOS N-ARILADOS DE QUITOSANO Y DE LA λ-CARRAGENINA

La Figura 11a presenta los espectros de $^{1}$H-RMN del quitosano desacetilado (CS), sus derivados arílicos (DMACS y TMACS) y la lamba-carragenina (LCG). En el caso de DMACS, se observaron señales superpuestas entre 2.5 y 3.2 ppm, atribuidas a los protones H2 y H2′ de los grupos $N(CH_3)_2$ provenientes del dimetilaminobenzaldehído. A partir del análisis integral de estas señales se determinó el porcentaje de modificación del 83.8 % (Ver ec. 1S). Después del proceso de metilación (TMACS), en la región de 2.0–4.0 ppm se identificaron señales características de los grupos $N^{+}(CH_3)_3$: un singlete a 3.8 ppm asociado al sustituyente aromático y otro a 3.6 ppm correspondiente al quitosano

cuaternizado. Con base en la integración de estas señales se calculó el grado de cuaternización (DQ), obteniéndose valores de 54.9 % para el grupo arílico (DQAr) y 30.3 % para el esqueleto del quitosano (DQCS), lo que corresponde a un DQtotal de 85.2 % (Ver ec. 2S). Asimismo, tras la modificación arílica para ambos derivados, aparecen nuevas señales en forma de dobletes en la región de 6.2–8.0 ppm, correspondientes a los cuatro protones aromáticos, confirmando la incorporación del anillo bencénico en la estructura biopolimérica. En ambos derivados se mantiene la señal del protón anomérico (H1′) en la región de 4.8–5.0 ppm, junto con multipletes entre 3.4 y 4.2 ppm atribuidos a los protones H3–H6 del esqueleto del polisacárido. La señal alrededor de 2.0 ppm se asocia a los protones acetilo residuales del quitosano parcialmente desacetilado. Por su parte, la lamba-carragenina muestra señales amplias y superpuestas en la región de 3.2-4.5 ppm, correspondientes a los protones H-2 a H-6 de las unidades de galactosa, comportamiento típico de polisacáridos sulfatados debido a su naturaleza polimérica y alto grado de sustitución (Lengyel et al., 2019; Rafiee & Abdul Rasool, 2021b; Tsung et al., 2023).

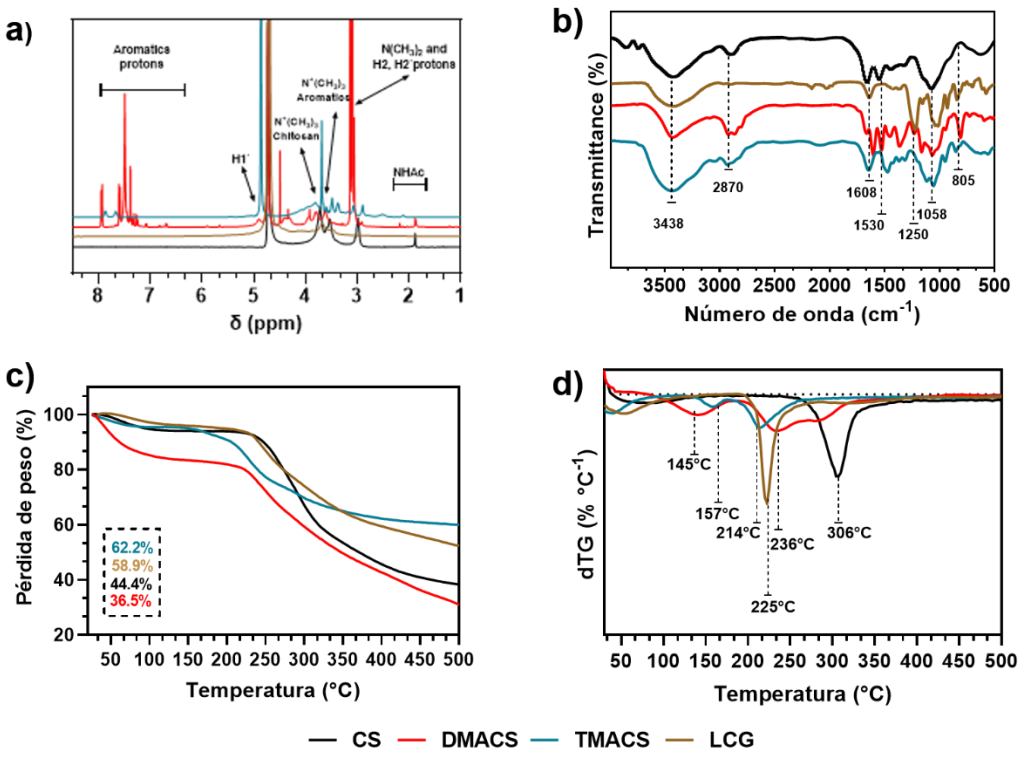



**Figura 11: Caracterización polimérica de CS, DMACS, TMACS y LCG: a) Espectro $^{1}$H-RMN, b) FT-IR c) TGA y d) dTG.**

La Figura 11b presenta los espectros FT-IR de CS, DMACS, TMACS y LCG. En CS, DMACS y TMACS se observa una banda ancha entre 3200 y 3500 $cm^{-1}$, atribuida a las vibraciones de estiramiento de los grupos OH y NH del esqueleto del polisacárido del quitosano. Asimismo, las señales entre 2850 y 2950 $cm^{-1}$ corresponden al estiramiento C–H de grupos alifáticos. En el espectro de DMACS se observa la aparición de señales asociadas al anillo aromático en la región de 1500–1600 $cm^{-1}$, junto con modificaciones en las bandas de grupos amino, lo que confirma la incorporación del sustituyente arílico al quitosano. En TMACS, el aumento de las señales relacionadas con grupos metilo y las modificaciones en

la región de 1400–1500 $cm^{-1}$ se atribuyen a la formación de grupos trimetilamonio cuaternario (Esquivel et al., 2026).

Por su parte, LCG presentó las bandas características de polisacáridos sulfatados, incluyendo una banda amplia de OH alrededor de 3200–3500 $cm^{-1}$, señales C–O–C/C–O en la región de 1000–1100 $cm^{-1}$, una banda cercana a 1220–1260 $cm^{-1}$ atribuida al estiramiento asimétrico S=O de los grupos sulfato, y una señal alrededor de 830–850 $cm^{-1}$ asociada a vibraciones C–O–S. Estas señales confirman la presencia de grupos sulfato en la LCG (Badawy & Rabea, 2014; Vandanjon et al., 2023).

Los análisis TGA (Figura 11c) y dTG (Figura 11d) del quitosano (CS), sus derivados arílicos (DMACS y TMACS) y la lamba-carragenina (LCG) evidencian perfiles de degradación térmica diferenciados. El CS presenta una única temperatura principal de degradación a 306,9 °C, atribuida a la descomposición de las unidades de N-glucosamina en su estructura polimérica. Además, el CS mostró una masa residual cercana al 36 % al finalizar el análisis TGA. lo que refleja su estabilidad térmica característica (Dong et al., 2021; Hamman, 2010; Le & Le Cerf, 2022). En comparación con el CS no modificado, los derivados arílicos DMACS y TMACS exhibieron un comportamiento térmico más complejo, presentando tres etapas de degradación. La primera, entre 25 y 100 °C, corresponde a la evaporación de la humedad y la eliminación de agua físicamente adsorbida. La segunda, entre 145 y 157 °C, se atribuye a la descomposición

inicial de los grupos funcionales introducidos durante la modificación química, incluyendo los grupos amonio cuaternario en TMACS y los sustituyentes aromáticos/metilados presentes en DMACS, lo que conduce a la formación de productos intermediarios térmicamente inestables, de acuerdo con reportes previos de Bajer y Kaczmarek que relacionan este evento térmico con la degradación de los grupos funcionales introducidos durante la modificación química del CS (Bajer & Kaczmarek, 2022). Finalmente, la tercera etapa, entre 214 y 236 °C, corresponde a la degradación final de la estructura polimérica funcionalizada y a la formación de residuos carbonizados (Esquivel et al., 2026). Asimismo, DMACS y TMACS presentaron masas residuales de 42 % y 56 %, respectivamente, indicando una mayor estabilidad térmica respecto al CS sin modificar (Dong et al., 2021; Hamman, 2010; Le & Le Cerf, 2022).

Por su parte, la LCG presentó dos etapas principales: una primera pérdida de masa entre 25 y 100 °C asociada a la eliminación de agua adsorbida y fisi-adsorbida en la matriz polisacárida. La segunda etapa, alrededor de 225 °C. corresponde a la degradación de la cadena sulfatada, incluyendo la ruptura de enlaces glicosídicos, generando productos intermedios y residuos carbonizados finales. Además, LCG presento una masa residual cercana al 38% tras el análisis (Dong et al., 2021; Hamman, 2010; Le & Le Cerf, 2022).

## 5.2 FORMACIÓN DE COMPLEJOS Y OBTENCIÓN DE MICROPARTÍCULAS MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN

### 5.2.1 Análisis del tamaño de partícula, turbidez y potencial Zeta de los PECs

La Figura 12a muestra la formación de los complejos polielectrolíticos (PECs), mientras que la Figura 13 presenta una ampliación de las estructuras observadas en la Figura 12a, facilitando su identificación a las diferentes relaciones TMACS/LCG. Se observa un aumento progresivo de la opalescencia al incrementar la relación, este fenómeno se atribuye a las interacciones electrostáticas entre los grupos amonio cuaternario $–N^{+}(CH_3)_3$ del TMACS y los grupos sulfato $–OSO_3^{-}$ de LCG. La formación de múltiples pares iónicos intermacromoleculares favorece la asociación de las cadenas poliméricas y la generación de agregados coloidales, lo que incrementa la dispersión de la luz y se manifiesta visualmente como opalescencia (Gradzielski, 2022).

Por otra parte, en la Figura 12b se presenta la variación del diámetro hidrodinámico y la turbidez en función de la relación [TMACS/LCG]. En cada experimento se observó una correlación directa entre ambos parámetros. El aumento inicial del tamaño de partícula puede atribuirse a la neutralización progresiva de las cargas opuestas, lo que reduce la repulsión electrostática y

favorece la agregación intermacromolecular. Este incremento en el tamaño conduce a una mayor dispersión de la luz, reflejada en el aumento de la turbidez. Sin embargo, a relaciones elevadas el polianión, el sistema tiende a estabilizarse nuevamente debido a la sobrecompensación de carga superficial, observándose una meseta o una disminución en ambos parámetros (Gradzielski, 2022).

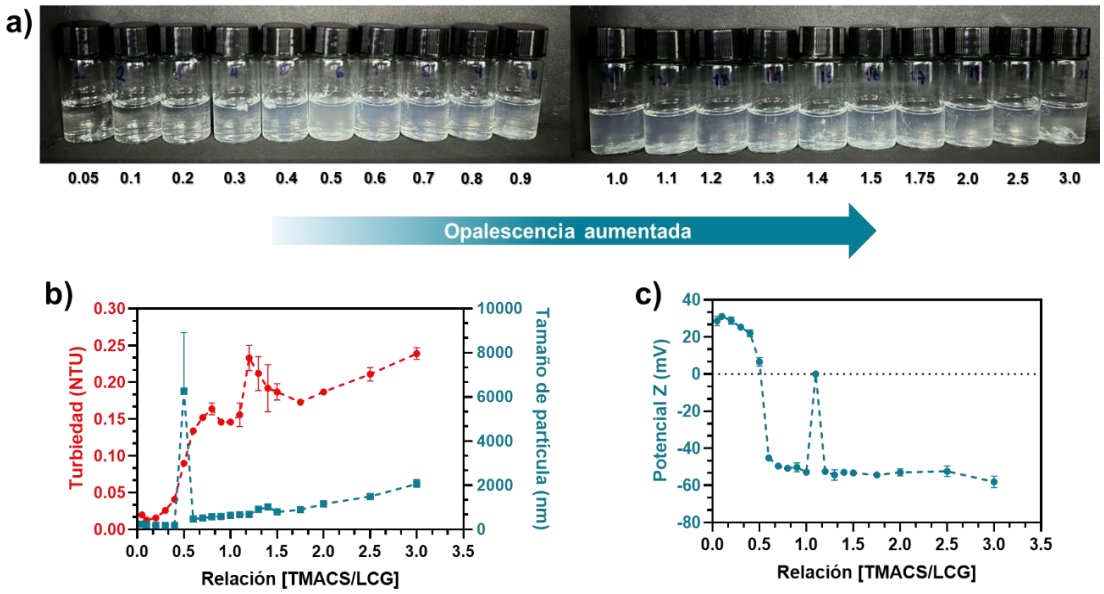



**Figura 12: a) PECs observados a diferentes relaciones [TMACS/LCG], b) Gráfico del diámetro de partícula y la turbidez en función de la relación [TMACS/LCG], y c) Potencial Zeta en función de la relación [TMACS/LCG].**

**Figura 13. Ampliación de los complejos polielectrolíticos (PECs) obtenidos a diferentes relaciones [TMACS/LCG].**

En la Figura 12c se muestra el potencial Zeta en función de la relación [TMACS/LCG]. Se observó que, a medida que aumentó la proporción de LCG, el potencial Z disminuyó progresivamente desde valores positivos hasta aproximarse a la neutralidad y posteriormente adoptar valores negativos. Este comportamiento se atribuye a la neutralización progresiva de las cargas positivas del TMACS por los grupos sulfato de la LCG. En la región cercana a la neutralidad de carga, la reducción de la repulsión electrostática favorece la agregación interparticular, en concordancia con el aumento del diámetro y la turbidez previamente descritos. A relaciones elevadas de polianión, la sobrecompensación de carga genera una inversión en el potencial restableciendo la repulsión electrostática y contribuyendo a la estabilización coloidal del sistema.

Considerando los datos obtenidos a partir de las gráficas de diámetro hidrodinámico, potencial Zeta y turbidimetría, se seleccionó la relación [TMACS/LCG] = 3.0, registrando un diámetro hidrodinámico promedio de (2.07 µm), un potencial Zeta de -58.07 mV y una turbidez de 0.239 NTU. Estos resultados evidencian la interacción electrostática entre TMACS y LCG, indicando la formación efectiva de complejos polielectrolíticos y un estado de sobrecompensación de carga aniónica asociado al predominio superficial de grupos sulfato provenientes de la LCG. La estabilidad coloidal observada permitió seleccionar esta relación como la formulación más adecuada para su posterior procesamiento mediante secado por aspersión.

## 5.3 CARACTERIZACIÓN DE LAS CAP–TMACS/LCG-MPS OBTENIDAS POR SECADO POR ASPERSIÓN

### 5.3.1 Caracterización espectroscópica

En la Figura 14a se presentan los espectros FT-IR de CAP, CAP-TMACS/LCG-MPs, así como de las micropartículas blancas TMACS/LCG-MPs, y aquellas obtenidas sólo con un polímero como componente de matriz: CAP/LCG-MPs, CAP/TMACS-MPs. En las micropartículas se observaron bandas amplias alrededor de 3350 $cm^{-1}$, atribuidas a la superposición de las vibraciones de estiramiento de grupos OH y $NH_2$ presentes en TMACS y LCG. Asimismo, la

señal a 2940 $cm^{-1}$ correspondiente al estiramiento C–H de los grupos metilo asociados a los grupos amonio cuaternario del TMACS, mientras que las bandas cercanas a 1050 $cm^{-1}$ atribuidas al estiramiento simétrico C–O–C de los enlaces glucosídicos.

Las formulaciones que contenían LCG mostraron además una banda alrededor de 1220 $cm^{-1}$ correspondiente al estiramiento asimétrico del grupo sulfato (S=O), y señales alrededor de los 830 $cm^{-1}$ atribuidas a vibraciones S-O de los grupos sulfato (Pudžiuvelytė et al., 2025a; Rodrigues et al., 2024). En esta misma región se observan contribuciones asociadas a la deformación C–H fuera del plano del grupo aromático presente en TMACS.

Por otra parte, las formulaciones cargadas con CAP presentaron un incremento de la banda alrededor de 1510 $cm^{-1}$, atribuida a vibraciones N–H de aminas primarias, y una señal en los 1650 $cm^{-1}$ correspondiente al estiramiento del grupo amida (C=O), evidenciando la incorporación del fármaco en las micropartículas (Vandanjon et al., 2023).

En la Figura 14b, el difractograma de rayos X de las micropartículas cargadas con CAP obtenidas mostró tres señales principales a ángulos 2θ, aproximadamente en 22.2°, 27.6° y 32.1°, asociada a la contribución estructural

de la capreomicina sulfato, lo que sugiere que una fracción del fármaco conserva cierto grado de orden estructural dentro de las micropartículas, esto se debe principalmente a su naturaleza peptídica cíclica que hace que se puedan formar redes cristalinas estabilizadas por interacciones intermoleculares. Asimismo, se observaron dos picos en la regios de 20–25° (2θ), los cuales han sido reportados para compuestos peptídicos y sistemas donde el principio activo mantiene dominios estructurales parcialmente ordenados y detectables mediante DRX. (Cambronero-Rojas et al., 2015a; Westberry et al., 2022).

En los 27.6°, se presenta un pico asociado a dominios semicristalinos derivados de la estructura del TMACS, los cuales típicamente presentan señales en el rango 2θ ≈ 19–30°, relacionado con el empaquetamiento parcial de las cadenas poliméricas estabilizadas por interacciones intermoleculares entre grupos hidroxilo y amino. En el caso de derivados de quitosano, como el TMACS, estas reflexiones suelen aparecer más amplias y de menor intensidad debido a la interrupción de la red, asociada a las modificaciones que reducen la regularidad estructural de la cadena polimérica (Esquivel et al., 2026).

El pico observado alrededor de los 2θ ≈ 32.1°, se atribuye principalmente a la LCG, indicando la presencia de dominios localmente ordenados asociados a la organización de las cadenas de LCG. Aunque las carrageninas generalmente presentan un comportamiento amorfo con una banda ancha cercana a 2θ ≈ 20°-22°, se han reportado reflexiones más definidas en DRX alrededor de 2θ ≈ 31°–

32°, asociadas a reorganizaciones estructurales y empaquetamiento parcial inducido por interacciones intermoleculares dentro de la matriz polimérica (Esquivel et al., 2026; A. Wang et al., 2025).

Los análisis de caracterización de los materiales de partida (CS y LCG) se presentan en las Figuras suplementarias S1–S2 para fines comparativos.

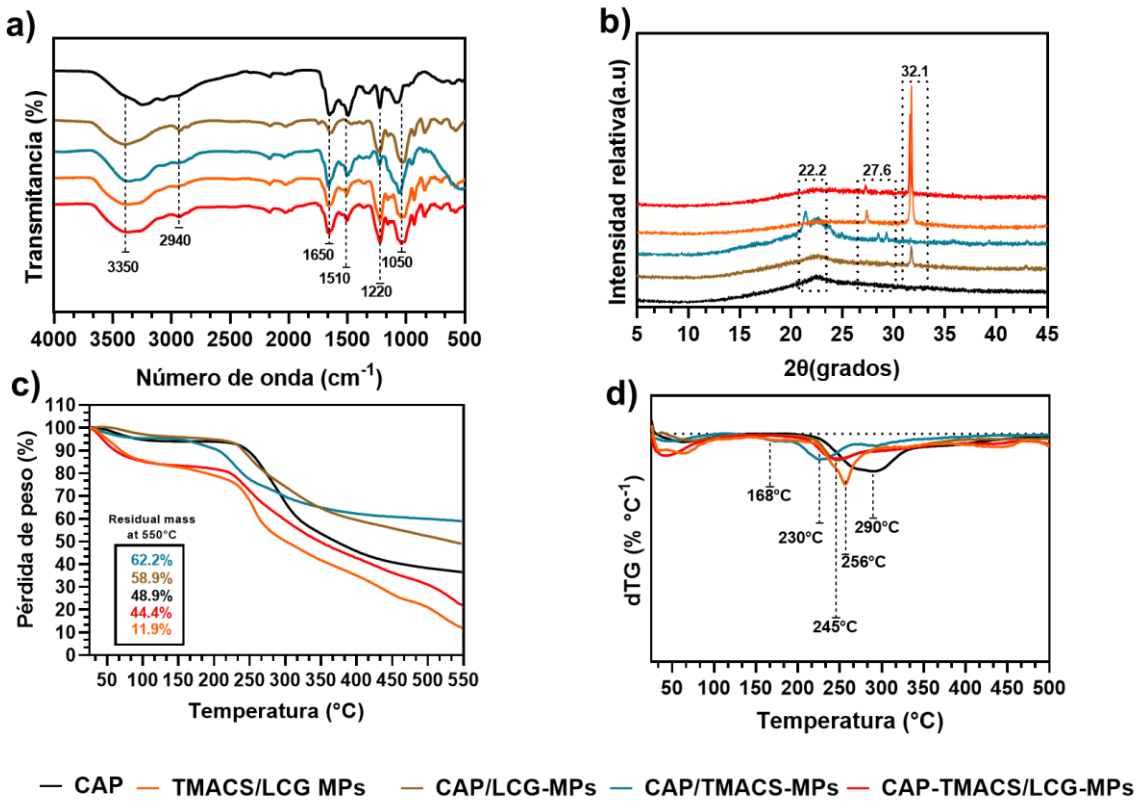



**Figura 14: Micropartículas obtenidas por Spray Drying: a) Espectros FTIR, b) DRX c) TGA y d) dTG.**

En las Figuras 14c y 14d, todos los sistemas de micropartículas mostraron diferentes perfiles de degradación térmica, evidenciando cambios en la estabilidad termotérmica asociados a interacciones polímero-fármaco y composición de la matriz. El CAP/TMACS-MPs mostró tres eventos de degradación en 168, 230 y 290 °C, con una masa residual del 62%. Los dos primeros eventos se atribuyen a la degradación progresiva de la matriz polimérica en TMACS, un comportamiento coherente con el reportado en derivados de quitosano cuaternizados, que presentan múltiples etapas de degradación asociadas a la descomposición de los grupos funcionales introducidos y el esqueleto polisacárido (Luan et al., 2018). El tercer evento, observado a 290 °C, coincide con la temperatura de degradación característica de la CAP. La presencia de este pico sugiere que parte del fármaco conserva una huella térmica distintiva en la matriz. La alta masa residual final sugiere una mayor formación de residuos carbonosos y una estructura más compacta tras la descomposición térmica.

Las micropartículas basadas en TMACS/LCG mostraron una única degradación a 256 °C, desplazadas hacia temperaturas más altas en comparación con TMACS, lo que sugiere un efecto estabilizador asociado a la incorporación de LCG en la estructura núcleo-corona. La interacción electrostática entre los grupos sulfato del LCG y los grupos amonio cuaternario del TMACS favorece una mayor estabilidad térmica del sistema, dejando una masa residual final del 12%. Este comportamiento es coherente con lo que reportaron Meng et al. (Meng et al.,

2018). Observaron un desplazamiento de los eventos de degradación hacia temperaturas más altas en materiales basados en carragenina debido al fortalecimiento de las interacciones intermoleculares dentro de la matriz polimérica. su comportamiento térmico y la estabilidad de los compuestos encapsulados.

Los CAPs/LCG-MPs mostraron un único paso dominante de degradación a 245 °C y una masa residual final del 58%. El evento unificado de degradación sugiere una descomposición térmica coordinada del sistema polímero-fármaco, lo que indica una integración estructural más fuerte en comparación con los CAPs/TMACS-MPs. De manera similar, CAP-TMACS/LCG-MP mostró un pico de degradación primaria a 245 °C con una masa residual final del 44%. El perfil de evento único permite la formación de una red ternaria integrada, en la que la degradación del fármaco se acopla térmicamente a la matriz polimérica. La menor masa residual sugiere un proceso de degradación más homogéneo y menos formación de carbono. Para comparar, la PAC libre se degradó a 290 °C con una masa residual del 49%. La ausencia de un pico de degradación del distintivo CAP en CAP/LCG-MP y CAP-TMACS/LCG-MP confirma un mayor confinamiento del fármaco dentro de estas matrices. En general, las variaciones en las etapas de degradación y las masas residuales reflejan diferencias en la compacidad de la matriz, la distribución del polímero y el acoplamiento térmico entre la CAP y las estructuras núcleo-corona formadas durante el secado por pulverización. La arquitectura y morfología de las partículas generadas por esta

técnica pueden influir significativamente en su comportamiento térmico y en la estabilidad de los compuestos encapsulados (Yang et al., 2025).

### 5.3.2 Caracterización morfológica

La Figura 15 muestra las micrografías SEM y los histogramas de distribución de tamaño de las micropartículas obtenidas mediante secado por aspersión, en términos generales, todas las formulaciones presentaron partículas predominantemente esféricas o cuasi-esféricas, con diámetros medios comprendidos entre 1,25 ± 0,35 y 2,01 ± 0,61 µm (n = 50). Asimismo, se observó cierto grado de agregación interparticular y heterogeneidad en la distribución de tamaños.

Las diferencias morfológicas observadas pueden estar relacionadas con las distintas velocidades de difusión de los componentes durante el secado. Debido a las diferencias estructurales y de peso molecular entre TMACS y LCG, la redistribución de ambos polímeros dentro de la gota atomizada puede ocurrir de manera diferencial, influyendo en la organización de los materiales durante la formación de la micropartícula. En este contexto, la velocidad con que los polímeros se redistribuyen dentro de la gota respecto a la velocidad de evaporación del solvente puede desempeñar un papel relevante en la morfología final de las partículas (Vehring, 2008). Adicionalmente, variaciones en el

contenido total de sólidos y en el comportamiento de atomización puede contribuir a la heterogeneidad observada en el tamaño. Se ha reportado que un aumento en la concentración de sólidos favorece la formación de gotas de mayor tamaño durante la atomización, lo que puede traducirse en micropartículas de mayor diámetro tras el secado (Cambronero-Rojas et al., 2015b; Schmitt et al., 2022). En conjunto, estos factores sugieren que las diferencias observadas entre las formulaciones están asociadas a la interacción entre la composición del sistema y los fenómenos fisicoquímicos que ocurren durante el Secado por aspersión(Cambronero-Rojas et al., 2015a; Vehring, 2008).

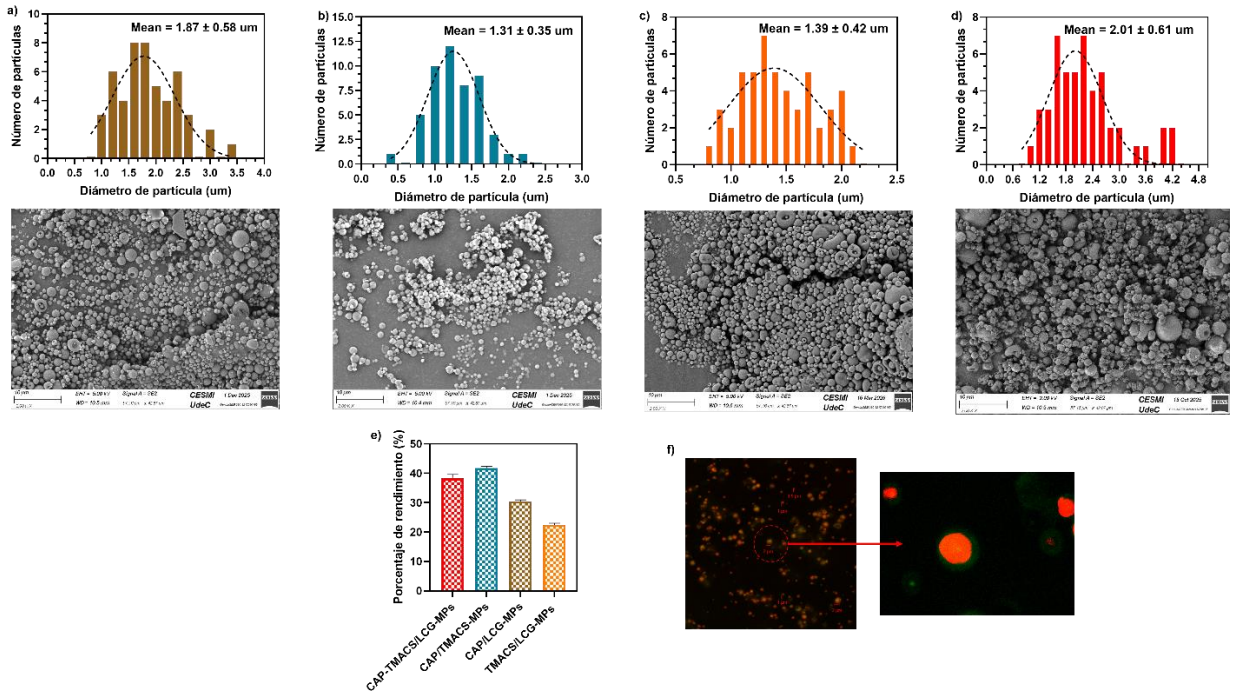



**Figura 15: imágenes SEM de micropartículas obtenidas por Spray Drying: a) CAP/LCG-MPs, b) CAP/TMACS-MPs c) TMACS/LCG-Mps y d) CAP-TMACS/LCG-MPs, e) Porcentajes de rendimiento, f) Imágenes CLSM de TMACS/LCG-MPs.**

En la Figura 15e se presenta el porcentaje de rendimiento de las micropartículas obtenidas mediante secado por aspersión. Los valores obtenidos variaron entre 22.49 ± 0.53% para TMACS/LCG-MPs hasta 41.83 ± 0.63% para CAP/TMACS-MPs.

De manera general, el rendimiento en Secado por aspersión depende de múltiples factores relacionados tanto con las propiedades fisicoquímicas de la formulación como con las condiciones operacionales del proceso. Diferencias en la composición polimérica pueden modificar el comportamiento de atomización y secado de las gotas, afectando la recuperación final de las partículas obtenidas (Cambronero-Rojas et al., 2015b; Schmitt et al., 2022). Asimismo, fenómenos como la adhesión del material a las paredes de la cámara de secado, las pérdidas durante la separación ciclónica y la recuperación del producto pueden contribuir a la disminución del rendimiento (Ré, 2006).

Cabe señalar que los rendimientos obtenidos corresponden a ensayos realizados a escala de laboratorio, donde factores asociados a la manipulación experimental, la recuperación manual del producto y las pérdidas inherentes al proceso pueden influir significativamente en la eficiencia global de recuperación. En conjunto, estos resultados sugieren que el rendimiento final no depende exclusivamente de la composición de la formulación, sino también de las características operacionales propias del proceso de secado por aspersión y de la escala de producción empleada.

Por otro lado, en la figura 15f, las imágenes de Microscopia de Fluorescencia CLSM) de las TMACS/LCG-MPs muestran una clara conformación espacial de los polímeros dentro de las micropartículas. La señal naranja intensa, correspondiente a TMACS marcado con rodamina B, se concentró mayormente en la región central de las partículas. En contraste, la señal verde, asociada a LCG marcada con azul de metileno, se localiza en la periferia formando un halo externo, confirmando la arquitectura núcleo–corona de las micropartículas. La escasa superposición de señales indica que, aunque existe interacción electrostática entre ambos polímeros, el suministro de las soluciones de cada polímero por canales diferentes a través de una boquilla de tres fluidos favorece una reorganización espacial diferenciada en lugar de una mezcla homogénea.

Durante el secado por aspersión, la evaporación del solvente genera gradientes de concentración dentro de la gota, promoviendo una redistribución diferencial de los componentes en función de sus propiedades fisicoquímicas. Sumado a esto, el polímero que es suministrado por el canal interno tiende a redistribuirse hacia regiones más internas de la gota, mientras que aquel suministrado por el canal externo, tiende a concentrarse en la periferia conforme avanza el secado (Ré, 2006; Vehring, 2008). Este comportamiento es consistente con la localización de TMACS en la región central y de LCG en la capa externa de las micropartículas, dando lugar a la arquitectura núcleo-corona observada experimentalmente (N. Fu et al., 2020; Pudžiuvelytė et al., 2025b). Esta organización estructural confirma

que la arquitectura diseñada se mantiene tras el proceso de atomización y respalda la hipótesis de encapsulación del núcleo basado en TMACS.

### 5.3.3 Estudio de hinchamiento de CAP–TMACS/LCG-MPs

El perfil de hinchamiento de las micropartículas en PBS (Figura 16) muestra un incremento inicial rápido durante las primeras horas, aumentando desde 2.563 ± 0.025% a 1 h hasta aproximadamente 3.090 ± 0.010% a 6h, seguido por una tendencia a la estabilización, lo que sugiere un proceso de hinchamiento progresivo dependiente del tiempo hasta alcanzar un estado de equilibrio. Este comportamiento es característico de sistemas poliméricos donde la absorción de agua ocurre inicialmente por difusión hacia las regiones más accesibles de la matriz, seguida de una limitación progresiva a medida que la estructura se hidrata (Li et al., 2013).

El incremento observado entre 1 y 2 h puede atribuirse a la rápida penetración del medio acuoso en la superficie de las partículas. Posteriormente, la leve variación en el porcentaje de hinchamiento a tiempos mayores, alcanzando 3.090 ± 0.010% a las 6 h, 3.123 ± 0.015% a las 16 h y 3.203 ± 0.025% a las 18.5 h, sugiere que el sistema alcanza un estado de equilibrio, en el cual las fuerzas osmóticas y las interacciones polímero–polímero restringen una mayor absorción de agua.

El bajo grado de hinchamiento (~3%) es consistente con la formación de complejos polielectrolitos entre TMACS (cargado positivamente) y LCG (cargada negativamente). Las interacciones electrostáticas entre ambos polímeros favorecen una red densa que limita la expansión de la matriz y reduce la capacidad de hidratación (Li et al., 2013). Este comportamiento podría tener implicancias relevantes en la liberación del fármaco, sugiriendo que el transporte del principio activo estaría influenciado principalmente por procesos difusivos a través de la matriz polimérica, en lugar de procesos dominados por hinchamiento o relajación del polímero.

La tendencia observada es coherente con lo reportado por Piyakulawat y colaboradores para sistemas de complejos polielectrolitos basados en quitosano y carragenina, donde las interacciones electrostáticas entre ambos polímeros favorecen la formación de matriz con una capacidad limitada de hinchamiento (Piyakulawat et al., (2007).

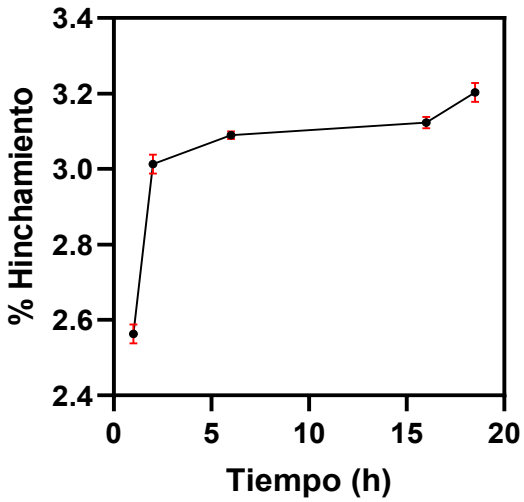



**Figura 16: Gráfico de hinchamiento de las micropartículas CAP-TMACS/LCG en PBS. Los datos se expresan como media ± desviación estándar (n = 3).**

### 5.3.4 Evaluación del perfil de liberación de capreomicina

La Figura 17a muestra el perfil de liberación acumulativa de CAP en función del tiempo, evaluado en solución salina tamponada con fosfato (PBS, pH 7.4) a 37 °C utilizando 100 mL de medio de liberación bajo condiciones fisiológicas simuladas. El estudio se realizó durante un período de hasta 1250 minutos, con el fin de evaluar el comportamiento de liberación hasta alcanzar una tendencia al equilibrio en el perfil acumulativo. Bajo estas condiciones, el fármaco libre (CAP) presentó una liberación rápida y prácticamente completa, alcanzando aproximadamente el 100% a los 240 min, lo que confirma la ausencia de barreras difusionales cuando el principio activo no se encuentra asociado a una matriz

polimérica (Arısoy et al., 2024). En contraste, las micropartículas mostraron una disminución significativa en el porcentaje de liberación, evidenciando la capacidad de la matriz polimérica para modular la salida del fármaco. Los perfiles de liberación exhibieron un comportamiento bifásico, caracterizado por una etapa inicial de liberación más rápida seguida de una fase sostenida. La liberación inicial puede asociarse al fármaco localizado en regiones superficiales o débilmente retenido en la matriz, mientras que la etapa posterior estaría gobernada por fenómenos combinados de hidratación, relajación de la red polielectrolítica y difusión del fármaco a través de los dominios hidratados. El bajo porcentaje de hinchamiento observado (Figura 16) sugiere además la formación de una matriz relativamente compacta, capaz de restringir la salida de CAP.

Las formulaciones CAP-TMACS/LCG-MPs y CAP/TMACS-MPs alcanzaron porcentajes finales de liberación similares (42.7% y 42.5%, respectivamente). Sin embargo, a tiempos intermedios se observaron diferencias significativas entre todas las formulaciones evaluadas ($P < 0.0001$) (Figura 17b). A los 420 min, correspondientes al inicio de la fase de meseta, CAP/TMACS-MPs presentó el mayor porcentaje de liberación (39.49 ± 0.63%), seguido de CAP-TMACS/LCG-MPs (18.29 ± 0.32%), mientras que CAP/LCG-MPs mostró el menor valor de liberación a este tiempo (14.72 ± 0.62%). Además, esta formulación presentó el menor porcentaje de liberación acumulada final (25.6%). Estos resultados evidencian que la presencia de LCG en la formulación contribuye a generar una barrera difusional adicional, disminuyendo la liberación inicial rápida y modulando

la cinética de liberación. En particular, la organización núcleo–corona en CAP-TMACS/LCG-MPs podría favorecer un comportamiento intermedio de liberación respecto a los sistemas constituidos únicamente por TMACS o LCG. Asimismo, la menor liberación observada en CAP/LCG-MPs sugiere una mayor retención del fármaco dentro de la matriz, atribuida a interacciones electrostáticas entre CAP y los grupos sulfato ($–OSO_3^-$) presentes en LCG. Considerando que CAP posee múltiples grupos amino ionizables con valores de pKa de 6.2, 8.2, 10.1 y 13.3, la molécula presenta carácter catiónico predominante a pH fisiológico (pH 7.4), favoreciendo la formación de pares iónicos con los grupos aniónicos de LCG y restringiendo la movilidad del fármaco dentro de la red polimérica (De La Paz et al., 2021). Además, el valor negativo de Log P (−9.609) evidencia el carácter altamente hidrofílico de CAP, favoreciendo su interacción con el medio acuoso y su difusión a través de dominios hidratados. En contraste, las formulaciones con mayor contenido relativo de TMACS mostraron porcentajes de liberación superiores, lo que podría relacionarse con una menor intensidad de interacción electrostática entre CAP y la matriz polimérica (Mzoughi et al., 2021; Shao et al., 2023).

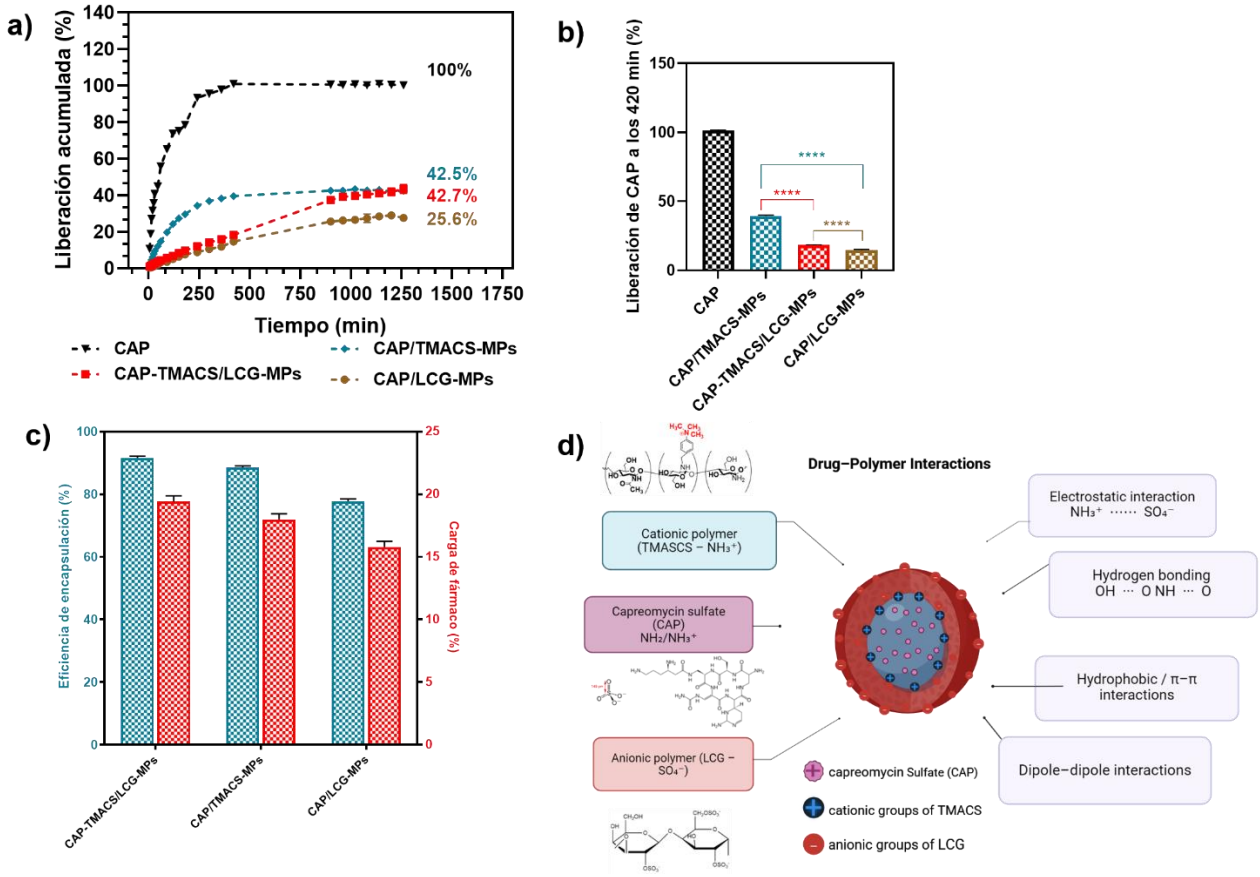



**Figura 17: Perfiles de liberación de capreomicina (CAP) desde micropartículas: (a) perfiles de liberación acumulada en PBS (pH 7,4) en función del tiempo; (b) porcentaje de CAP liberado a los 420 min; (c) eficiencia de encapsulación y capacidad de carga del fármaco; y (d) representación esquemática de las posibles interacciones entre CAP y la matriz polimérica que influyen en el comportamiento de liberación.**

La Figura 17c muestra la eficiencia de encapsulación (EE%) y el contenido de fármaco cargado (DLC%) para las distintas formulaciones. La formulación CAP–TMACS/LCG-MPs presentó los mayores valores tanto de eficiencia de encapsulación (91.53 ± 0.61%) como de carga de fármaco (19.40 ± 0.46%), seguida de CAP/TMACS-MPs, con valores de 88.50 ± 0.52% y 17.97 ± 0.46%, respectivamente. Por otro lado, CAP/LCG-MPs mostró los menores valores de EE% (77.73 ± 0.76%) y DLC% (15.78 ± 0.45%). Estos resultados evidencian que

la combinación de TMACS y LCG favorece una mayor incorporación y retención de CAP dentro de la matriz polimérica.

La mayor capacidad de encapsulación y retención de CAP observada en la formulación CAP–TMACS/LCG-MPs puede atribuirse a la formación de una red polielectrolítica integrada que contiene dominios cargados de naturaleza opuesta, generando múltiples sitios de interacción con la capreomicina (Berger et al., 2004). Dado que CAP es un péptido con grupos funcionales ionizables, su retención en la matriz podría estar mediada no solo por interacciones electrostáticas, sino también por enlaces de hidrógeno e interacciones dipolares, favoreciendo su estabilización dentro de la red heterogénea (Hamman, 2010; Mitragotri et al., 2014).

Las formulaciones basadas en un solo polímero (CAP/TMACS-MPs y CAP/LCG-MPs) también mostraron eficiencias elevadas (>70%) y valores de carga de fármaco superiores al 15%, lo que confirma la capacidad individual de cada matriz para incorporar el CAP. En el sistema basado únicamente en TMACS, la posible repulsión electrostática parcial entre los grupos amonio cuaternario y las regiones catiónicas del fármaco podría limitar ligeramente su retención. Por otro lado, CAP/LCG-MPs mostró los menores valores de EE% y DLC%. Aunque la presencia de grupos sulfato aniónicos en LCG podría favorecer interacciones electrostáticas con CAP, las diferencias observadas respecto a las demás formulaciones podrían estar relacionadas con cambios en la organización de la

matriz polimérica y en la accesibilidad durante el proceso de extracción utilizado para la determinación de EE% y DLC%. Por lo tanto, no puede descartarse que parte de la variabilidad observada responda a factores asociados al proceso de extracción empleado para cuantificar el fármaco encapsulado.

Con el fin de comprender el comportamiento encapsulación y liberación observado en las Figuras 17a y 17c, en la Figura 17d se propone un esquema de las posibles interacciones presentes dentro del sistema microparticulado y de la organización estructural tipo núcleo–corona.

En primer lugar, se representan las interacciones fármaco–polímero, principalmente que contribuirían a la retención de CAP dentro de la matriz. Dado que la capreomicina posee múltiples grupos amino protonables ($–NH_2^+$/$–NH_3^+$), hidroxilo (–OH) y amida (–CONH–), su incorporación podría estar favorecida por una combinación de interacciones electrostáticas, enlaces de hidrógeno e interacciones ion–dipolo con los grupos funcionales presentes en TMACS, principalmente grupos amonio cuaternario ($–N^+(CH_3)_3$) e hidroxilo (–OH), y en LCG, principalmente grupos sulfato ($–OSO_3^-$) e hidroxilo (–OH). Estas interacciones no covalentes contribuirían a la estabilización del fármaco dentro de la red polimérica y a su retención durante el proceso de secado.

Por otra parte, la estabilidad estructural de las micropartículas estaría determinada por las interacciones polímero–polímero entre TMACS y LCG. En particular, los grupos amonio cuaternario permanentes de TMACS ($–N^+(CH_3)_3$)

pueden interactuar electrostáticamente con los grupos sulfato aniónicos de LCG, favoreciendo la formación del complejo polielectrolítico y la generación de una red polimérica más estable y cohesiva. Estas interacciones contribuirían a la organización núcleo–corona observada experimentalmente, donde TMACS participaría predominantemente en la formación del núcleo, mientras que LCG tendería a redistribuirse hacia la periferia formando la corona externa. En conjunto, esta organización estructural favorecería la retención de CAP y la modulación de los procesos de hidratación, hinchamiento y difusión del fármaco dentro de la matriz polimérica.

### 5.3.5 Estudios cinéticos de liberación del Capreomicina sulfato.

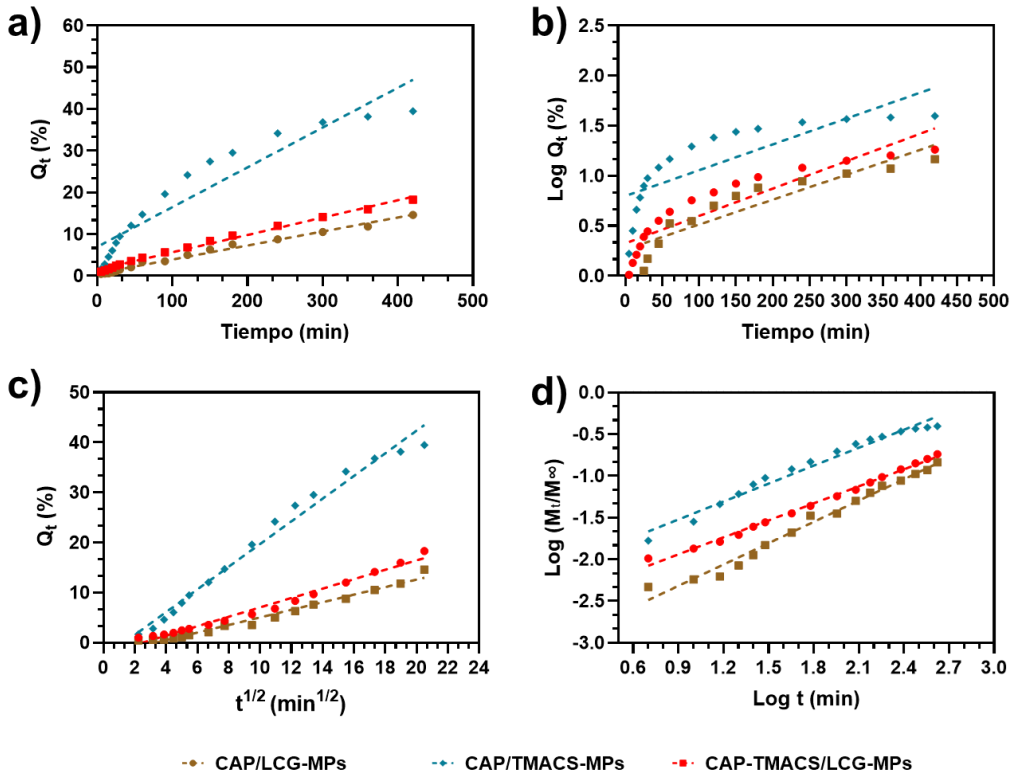



**Figura 18:Modelos cinéticos de liberación del fármaco: a) Modelo de orden cero, b) Modelo de primer orden, c) Modelo de Higuchi y d) Modelo de Korsmeyer–Peppas**

La Figura 18 y la Tabla 4 presentan el ajuste de los perfiles de liberación de capreomicina a los modelos cinéticos de orden cero, primer orden, Higuchi y Korsmeyer–Peppas para las diferentes formulaciones desarrolladas. En el caso de las micropartículas CAP-TMACS/LCG-MPs, el modelo que mejor describe el comportamiento de liberación es el modelo de Korsmeyer–Peppas, con un coeficiente de correlación $R^2 = 0.9940$ y un valor de $n = 0.6796$. Considerando que las micropartículas presentan geometría aproximadamente esférica, este valor de $n$ ($0.45 < n < 0.89$) indica un mecanismo de transporte anómalo (no

Fickiano), lo que sugiere que la liberación del fármaco está gobernada por una combinación de difusión a través de la matriz polimérica y relajación estructural del sistema, comportamiento ampliamente reportado en sistemas poliméricos de liberación controlada descritos mediante el modelo de korsmeyer-Peppas (Lakshani et al., 2023). Asimismo, el modelo de orden cero también mostró un ajuste elevado ($R^2$ = 0.9925), lo que sugiere una liberación relativamente controlada en el tiempo.

En contraste, para las micropartículas CAP/TMACS-MPs, el modelo de orden cero mostró un mejor ajuste ($R^2$ = 0.9883), indicando una velocidad de liberación relativamente constante durante el periodo evaluado. Este comportamiento sugiere que la matriz basada en TMACS favorece una liberación sostenida del fármaco. Sin embargo, la incorporación de LCG en la formulación núcleo-corona sugiere que el control efectivo de la difusión se logra mediante la coraza LCG, la cual actúa como una barrera adicional. Resultados similares han sido descritos en sistemas polielectrolíticos basados en quitosano y carragenina, donde la formación de una red compleja favorece una liberación más sostenida respecto a matrices constituidas por un único polímero (Grenha et al., 2010a). Este comportamiento se ve respaldado por el modelo de Higuchi el cual presentó un $R^2$ = 0.9831, con una constante $k_H$ = 2.266 $\%\cdot min^{-1/2}$, indicando que la liberación ocurre de manera relativamente constante en el tiempo y está gobernada principalmente por difusión desde la matriz.

En el caso de CAP/LCG-MPs, la liberación de capreomicina se ajustó bien al modelo de Korsmeyer–Peppas ($R^2$ = 0.9829) con un exponente n = 0.8523, indicando un mecanismo de difusión no Fickiano o anómalo, donde tanto la difusión como la relajación de la matriz polimérica contribuyen al proceso de liberación. El ajuste al modelo de Higuchi ($R^2$ = 0.9793) respalda además la importancia de la difusión a través de la red polielectrolítica como vía dominante de liberación. Este comportamiento concuerda con lo descrito para micropartículas de quitosano obtenidas mediante secado por aspersión, donde la difusión ha sido identificada como uno de los principales mecanismos responsables de la liberación (C. Liu et al., 2006).

**Tabla 5. Parámetros cinéticos de liberación del fármaco a partir de las CAP-TMACS/LCG-MPs.**

| | **Kinetic parameters of drug release** | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **Zero-Order** | | **First-Order** | | **Higuchi** | | **Korsmeyer-Peppas** | | |
| **Sample** | $k_0$ **(%·min$^{-1}$)** | **$R^2$** | $k_1$ **(min$^{-1}$)** | **$R^2$** | $k_H$ **(%·min$^{-1/2}$)** | **$R^2$** | **n** | $k_{KP^*}$ **(min$^{-n}$)** | **$R^2$** |
| **CAP-TMACS/LCG-MPs** | 0,04164 ± 0,0009 | 0,9925 | 0,0027 ± 0,0003 | 0,8294 | 0,9387 ± 0,0300 | 0,983 1 | 0,6796 ±0,0140 | -2,552 ± 0,0267 | 0,9940 |
| **CAP/TMACS/-MPs** | 0,09539 ± 0,00870 | 0,9883 | 0,0025 ± 0,0005 | 0,6498 | 2,266 ± 0,0700 | 0,983 1 | 0,7166 ± 0,0310 | -2,167 ± 0,0600 | 0,9735 |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **CAP/LCG** | 0,03359 | 0,8942 | 0,0024 | 0,8404 | 0,7562 | 0,979 | 0,8523 | -3,085 | 0,9829 |
| **/-MPs** | ± 0,00090 | | ± 0,0003 | | ± 0,0300 | 3 | ± 0,030 | ± 0,0571 | |
| | | | | | | | 00 | | |

***Los valores negativos no tienen sentido físico.**

## 5.4 Evaluación de viabilidad celular

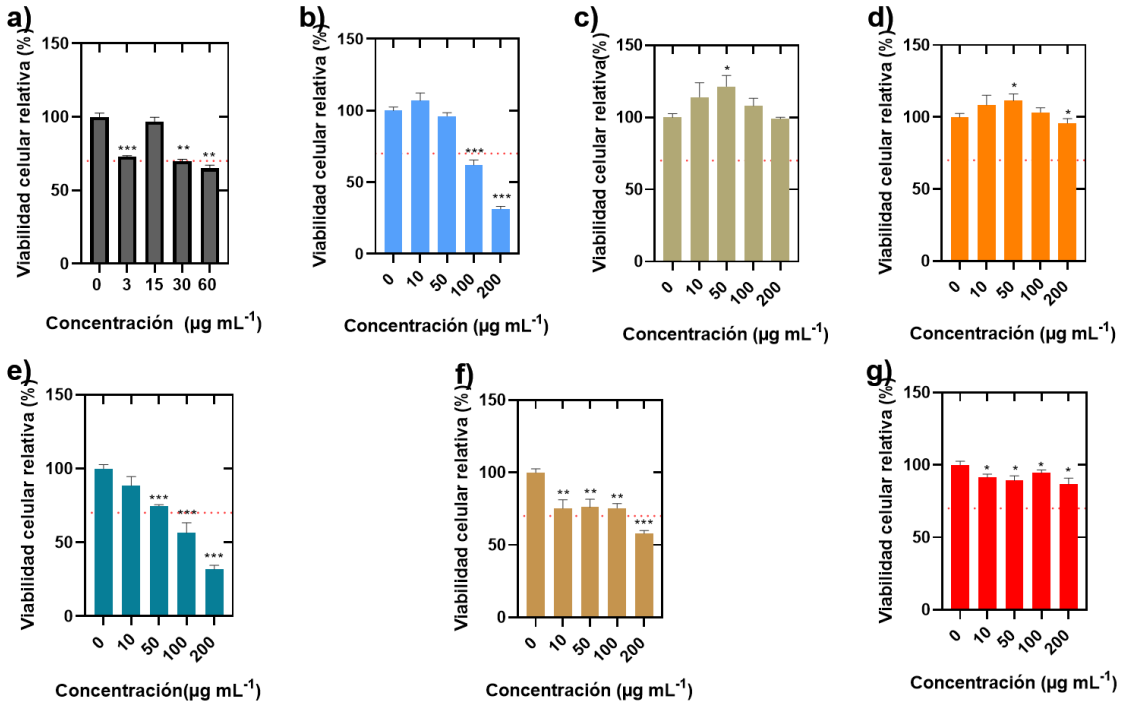



**Figura 19 Ensayo de viabilidad celular en fibroblastos HFF-1 expuestos a diferentes formulaciones de micropartículas: (a) CAP, (b) TMACS-MPs, (c) LCG-MPs, (d) TMACS/LCG-MPs, (e) CAP-TMACS-MPs, (f) CAP-LCG-MPs y (g) CAP-TMACS/LCG-MPs. La línea punteada indica el 70% de viabilidad celular. Los datos se presentan como media ± desviación estándar (DE) (n = 3). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de una vía (one-way ANOVA) seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Dunnett (*$p < 0,05$; **$p < 0,01$; ***$p < 0,001$; ****$p < 0,0001$).**

La evaluación de viabilidad celular en HFF-1 presentada en la Figura 19 mostró un efecto diferencial dependiendo del tratamiento y la concentración. Las formulaciones CAP-LCG-Mps y CAP-TMACS-Mps indujeron una disminución significativa de la viabilidad celular en comparación con el control, particularmente a concentraciones elevadas. CAP-LCG-Mps redujo la viabilidad celular hasta aproximadamente un 57% a 200 μg $mL^{-1}$ ($p < 0,001$), mostrando un efecto citotóxico moderado, mientras que CAP-TMACS-Mps presentó el efecto citotóxico más pronunciado, alcanzando valores cercanos al 30% de viabilidad a la concentración máxima evaluada ($p < 0,001$), evidenciando un comportamiento dosis-dependiente.

En contraste, las formulaciones sin CAP presentaron una menor afectación sobre la viabilidad celular. LCG-Mps y TMACS/LCG-Mps mantuvieron valores cercanos o superiores al 100% de viabilidad en la mayoría de las concentraciones evaluadas, sugiriendo una adecuada biocompatibilidad. Resultados similares fueron reportados por Tkachenko et al., quienes observaron que la exposición de fibroblastos a carragenina no afectó significativamente la viabilidad celular en un amplio rango de concentraciones de hasta 10 mg $mL^{-1}$ (Tkachenko et al., 2021). Sin embargo, TMACS-Mps mostró una disminución significativa de la viabilidad a concentraciones de 100 y 200 μg $mL^{-1}$, alcanzando aproximadamente un 60% y 35% de viabilidad, respectivamente ($p < 0,001$). Este comportamiento

concuerda con lo descrito para derivados trimetilados de quitosano, donde el aumento de la carga catiónica puede favorecer interacciones con la membrana celular y reducir la viabilidad a concentraciones elevadas (Z. Zhou et al., 2016). La diferencia observada entre TMACS-MPs y TMACS/LCG-MPs sugiere además que la presencia de LCG podría mitigar parcialmente estos efectos, favoreciendo una mejor respuesta celular.

Los resultados obtenidos difieren parcialmente de los reportados para diversos sistemas basados en TMACS y LCG descritos en la literatura. Por ejemplo, hidrogeles de quitosano modificado evaluados en fibroblastos HFF-1 mantuvieron viabilidades superiores al 80 % después de 48 h, evidenciando una adecuada citocompatibilidad del sistema (Kazeminava et al., 2022). De manera similar, Frigaard et al. reportaron que nanopartículas de quitosano mostraron viabilidades celulares superiores al 80% en diferentes líneas celulares, incluso a concentraciones comprendidas entre 20 y 100 µg/mL, dependiendo de la formulación y modelo celular (Frigaard et al., 2022). Asimismo, Felice et al. describieron que derivados cuaternizados de quitosano fueron no tóxicos en fibroblastos hasta concentraciones comprendidas entre 10 y 100 µg $mL^{-1}$, dependiendo del grado de modificación química del polímero (Felice et al., 2015). Por otra parte, estudios realizados en fibroblastos 3T3 mostraron una viabilidad de 67.2 % a concentraciones elevadas como 4 mg $mL^{-1}$ (Howling et al., 2001). En comparación con estos antecedentes, la marcada disminución observada para CAP-TMACS-MPs podría atribuirse a la elevada densidad de carga positiva

del TMACS, la presencia simultánea de CAP encapsulada y la concentración utilizada, factores que podrían favorecer interacciones más intensas con la membrana celular y potenciar la respuesta citotóxica observada. Por otro lado, la formulación combinada CAP-TMACS/LCG-Mps mostró una menor citotoxicidad global, manteniendo valores de viabilidad superiores al 80% en fibroblastos HFF-1 en todo el rango de concentraciones analizadas, aunque se observaron diferencias significativas respecto al control. Este comportamiento es consistente con estudios previos realizados en nanopartículas de quitosano y carragenina, las cuales mantuvieron viabilidades superiores al 80% en fibroblastos L929 a concentraciones de 0.1 y 1 mg $mL^{-1}$. Aunque a 3 mg $mL^{-1}$ se observó una disminución de la viabilidad celular, los autores atribuyeron este efecto a las condiciones experimentales del ensayo más que a una citotoxicidad intrínseca de las nanopartículas (Grenha et al., 2010b). La elevada viabilidad observada para CAP-TMACS/LCG-MPs sugiere que la incorporación de LCG contribuye a mejorar la compatibilidad biológica del sistema, pese a la presencia de TMACS y del fármaco encapsulado.

Sin embargo, la literatura disponible sobre capreomicina se ha centrado principalmente en su actividad antimicobacteriana, mecanismos de resistencia y efectos adversos sistémicos asociados a su uso clínico, particularmente nefrotoxicidad y ototoxicidad (Freimane et al., 2023), existiendo escasa información sobre su evaluación directa en fibroblastos o sobre su impacto en la viabilidad celular in vitro. En este contexto, la disminución observada para las

formulaciones cargadas con CAP podría estar relacionada con la exposición al fármaco liberado desde las micropartículas; sin embargo, se requieren estudios adicionales para establecer la contribución específica de CAP al efecto observado (Muraoka et al., 1968).

En conjunto, esta evaluación permitió determinar el impacto de la composición polimérica y de la incorporación de CAP sobre la respuesta celular, aportando información relevante sobre la biocompatibilidad de los sistemas desarrollados. Estos resultados respaldan el uso de complejos polielectrolíticos basados en TMACS y LCG como plataformas para la encapsulación y administración controlada de fármacos, donde la interacción entre los componentes del sistema puede influir significativamente en su comportamiento biológico.

# 6 CONCLUSIONES

Se desarrollaron micropartículas núcleo-corona basadas en complejos polielectrolíticos de quitosano ariltrimetilamonio y λ-carragenina para la encapsulación y liberación controlada de capreomicina sulfato. La caracterización estructural confirmó la modificación eficiente del quitosano y la formación de complejos polielectrolíticos estables, encontrándose la relación más adecuada para su procesamiento mediante secado por aspersión.

Las técnicas de caracterización fisicoquímica confirmaron la incorporación de capreomicina en micropartículas y la formación de una arquitectura núcleo-corona. Las formulaciones desarrolladas presentaron altas eficiencias de encapsulación y capacidad de carga, lo que evidencia el efecto favorable de la combinación de dominios catiónicos y aniónicos en el atrapamiento del fármaco.

Los estudios de liberación demostraron que las micropartículas modularon significativamente la liberación de capreomicina. El sistema núcleo-corona mostró un comportamiento de transporte anómalo descrito por el modelo de Korsmeyer–Peppas por lo que se confirma que la composición y la arquitectura de la matriz influyen directamente en el mecanismo de transporte y liberación del fármaco.

Finalmente, el ensayo de viabilidad celular en HFF-1 permitió identificar dos comportamientos diferenciados entre las micropartículas evaluadas. En general, las formulaciones basadas en matrices poliméricas mixtas, como las micropartículas núcleo-corona desarrolladas, mostraron mejor compatibilidad celular, mientras que aquellas con mayor contribución catiónica y/o cargadas con capreomicina presentaron una disminución más marcada de la viabilidad, especialmente a concentraciones elevadas. En conjunto, estos resultados demuestran que la arquitectura núcleo-corona basada en quitosano ariltrimetilamonio y λ-carragenina constituye una estrategia eficaz para mejorar la encapsulación, modular la liberación y mantener la compatibilidad biológica de

capreomicina, representando una plataforma promisoria para el desarrollo de sistemas de liberación controlada orientados al tratamiento prolongado de la tuberculosis multirresistente.

# 7 BIBLIOGRAFÍA


Abdelwahed, W., Degobert, G., Stainmesse, S., & Fessi, H. (2006). Freeze-drying of nanoparticles: Formulation, process and storage considerations☆. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *58*(15), 1688–1713. https://doi.org/10.1016/j.addr.2006.09.017

Akbarzadeh, A., Rezaei-Sadabady, R., Davaran, S., Joo, S. W., Zarghami, N., Hanifehpour, Y., Samiei, M., Kouhi, M., & Nejati-Koshki, K. (2013). Liposome: Classification, preparation, and applications. *Nanoscale Research Letters*, *8*(1), 102. https://doi.org/10.1186/1556-276X-8-102

Alavi, S. E., Alharthi, S., Alavi, S. Z., Raza, A., & Ebrahimi Shahmabadi, H. (2024). Bioresponsive drug delivery systems. *Drug Discovery Today*, *29*(1), 103849. https://doi.org/10.1016/j.drudis.2023.103849

Alsayyed, R., Ribeiro, A., & Cabral-Marques, H. (2024). Polyelectrolytes and Polyelectrolyte Complexes as Future Antibacterial Agents. *Bacteria*, *3*(4), 452–475. https://doi.org/10.3390/bacteria3040031

Anaya, B. J., Kara, A., Raposo, R., Tirado, D. F., Lalatsa, A., González-Burgos, E., & Serrano, D. R. (2025). Integration of 3D-printed micromixers and spray drying for pulmonary delivery of antimicrobial microparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, *674*, 125493. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2025.125493

Arısoy, S., Bux, K., Herwig, R., & Şalva, E. (2024). Development, Evaluation, and Molecular Dynamics Study of Ampicillin-Loaded Chitosan–Hyaluronic Acid Films as a Drug Delivery System. *ACS Omega*, *9*(18), 19805–19815. https://doi.org/10.1021/acsomega.3c08076

Bachhav, R., Bachhav, P., Deore, R., Sonawane, G., Surana, K., & Mahajan, S. (2025a). Biodegradable Polymers in Drug Delivery: A Detailed Review. *Asian Journal of Pharmaceutical Research*, 153–158. https://doi.org/10.52711/2231-5691.2025.00025

Bachhav, R., Bachhav, P., Deore, R., Sonawane, G., Surana, K., & Mahajan, S. (2025b). Biodegradable Polymers in Drug Delivery: A Detailed Review. *Asian Journal of Pharmaceutical Research*, 153–158. https://doi.org/10.52711/2231-5691.2025.00025

Badawy, M. E. I., & Rabea, E. I. (2014). Synthesis and antifungal property of N-(aryl) and quaternary N-(aryl) chitosan derivatives against Botrytis cinerea. *Cellulose*, *21*(4), 3121–3137. https://doi.org/10.1007/s10570-014-0333-0

Bajer, D., & Kaczmarek, H. (2022). Thermal Stability of Fluorescent Chitosan Modified with Heterocyclic Aromatic Dyes. *Materials*, *15*(10), 3667. https://doi.org/10.3390/ma15103667

Berger, J., Reist, M., Mayer, J. M., Felt, O., & Gurny, R. (2004). Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, *57*(1), 35–52. https://doi.org/10.1016/S0939-6411(03)00160-7

Bhardwaj, S., Rani, R., Kumar, R., Singh, A. P., & Singh, A. P. (2024). Microencapsulation: An updated review article. *International Journal of Pharmaceutics and Drug Analysis*, 1–7. https://doi.org/10.47957/ijpda.v12i1.567

Cambronero-Rojas, A., Torres-Vergara, P., Godoy, R., Von Plessing, C., Sepúlveda, J., & Gómez-Gaete, C. (2015a). Capreomycin oleate microparticles for intramuscular administration: Preparation, in vitro release and preliminary in vivo evaluation. *Journal of Controlled Release*, *209*, 229–237. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.05.001

Cambronero-Rojas, A., Torres-Vergara, P., Godoy, R., Von Plessing, C., Sepúlveda, J., & Gómez-Gaete, C. (2015b). Capreomycin oleate microparticles

for intramuscular administration: Preparation, in vitro release and preliminary in vivo evaluation. *Journal of Controlled Release*, *209*, 229–237. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.05.001

Caro-León, F. J., Silva-Campa, E., Navarro-López, R. A., Fernández-Quiroz, D., Figueroa-León, V. A., Trujillo-Ramirez, M. A., López-Martínez, L. M., Aguilar, M. R., & Álvarez-Bajo, O. (2025). Production and Characterization of Nanoparticulate Polyelectrolyte Complexes of Chitosan–Catechol, Ulvan, and Hyaluronic Acid. *ACS Omega*, *10*(4), 3474–3485. https://doi.org/10.1021/acsomega.4c07429

Cazorla-Luna, R., Martín-Illana, A., Notario-Pérez, F., Ruiz-Caro, R., & Veiga, M.-D. (2021). Naturally Occurring Polyelectrolytes and Their Use for the Development of Complex-Based Mucoadhesive Drug Delivery Systems: An Overview. *Polymers*, *13*(14), 2241. https://doi.org/10.3390/polym13142241

Chenxi, Z., Hemmat, A., Thi, N., & Afrand, M. (2025). Nanoparticle-enhanced drug delivery systems: An up-to-date review. *Journal of Molecular Liquids*, *424*, 126999. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2025.126999

Cunha, L., Rodrigues, S., Rosa Da Costa, A. M., Faleiro, L., Buttini, F., & Grenha, A. (2019). Inhalable chitosan microparticles for simultaneous delivery of isoniazid and rifabutin in lung tuberculosis treatment. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, *45*(8), 1313–1320. https://doi.org/10.1080/03639045.2019.1608231

Curti, E., De Britto, D., & Campana-Filho, S. P. (2003). Methylation of Chitosan with Iodomethane: Effect of Reaction Conditions on Chemoselectivity and Degree of Substitution. *Macromolecular Bioscience*, *3*(10), 571–576. https://doi.org/10.1002/mabi.200300030

Dai, Z., Yin, W., Li, J., Ma, L., Chen, F., Shen, Q., Hu, X., Xue, Y., & Ji, J. (2025). Zein and Trimethyl Chitosan-Based Core–Shell Nanoparticles for Quercetin Oral Delivery to Enhance Absorption by Paracellular Pathway in Obesity Mice. *Biomaterials Research*, *29*, 0193. https://doi.org/10.34133/bmr.0193

Dash, M., Chiellini, F., Ottenbrite, R. M., & Chiellini, E. (2011). Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, *36*(8), 981–1014. https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.02.001

De La Paz, N., Fernández, M., López, O., Garcia, C., Nogueira, A., Torres, L., Turiño, W., & Heinämäki, J. (2021). Spray Drying of Chitosan Acid Salts: Process Development, Scaling Up and Physicochemical Material Characterization. *Marine Drugs*, *19*(6), 329. https://doi.org/10.3390/md19060329

Dogaris, I., Pylypchuk, I., Henriksson, G., & Abbadessa, A. (2024). Polyelectrolyte complexes based on a novel and sustainable hemicellulose-rich lignosulphonate for drug delivery applications. *Drug Delivery and Translational Research*, *14*(12), 3452–3466. https://doi.org/10.1007/s13346-024-01573-2

Dong, Y., Wei, Z., & Xue, C. (2021). Recent advances in carrageenan-based delivery systems for bioactive ingredients: A review. *Trends in Food Science & Technology*, *112*, 348–361. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.012

Dulong, V., Thebault, P., Karakasyan, C., Picton, L., & Le Cerf, D. (2024). Polyelectrolyte complexes of chitosan and hyaluronic acid or carboxymethylpullulan and their aminoguaiacol derivatives with biological activities as potential drug delivery systems. *Carbohydrate Polymers*, *341*, 122330. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.122330

El-Ridy, M. S., Mostafa, D. M., Shehab, A., Nasr, E. A., & Abd El-Alim, S. (2007). Biological evaluation of pyrazinamide liposomes for treatment of Mycobacterium tuberculosis. *International Journal of Pharmaceutics*, *330*(1–2), 82–88. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.09.017

Esfahani, G., Trutschel, M.-L., Reichert, D., & Mäder, K. (2023). Characterization of Controlled Release Starch-Nimodipine Implant for Antispasmodic and Neuroprotective Therapies in the Brain. *Molecular Pharmaceutics*, *20*(11), 5753–5762. https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.3c00618

Esquivel, S. E., Rebolledo, M., Gilles, E. R., Gomez-Gaete, C., -Requena, V. H. C., Toledo Alonso, J. R., Meléndrez, M. F., & Palacio, D. A. (2026). Development of a cationic bionanocomplex from N-aryl-chitosan derivatives for

controlled drug release. *Carbohydrate Polymers*, *380*, 125124. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2026.125124

Felice, F., Zambito, Y., Belardinelli, E., Fabiano, A., Santoni, T., & Di Stefano, R. (2015). Effect of different chitosan derivatives on in vitro scratch wound assay: A comparative study. *International Journal of Biological Macromolecules*, *76*, 236–241. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.02.041

Freimane, L., Barkāne, L., Kivrane, A., Sadovska, D., Ulanova, V., & Ranka, R. (2023). Assessment of Amikacin- and Capreomycin-Related Adverse Drug Reactions in Patients with Multidrug-Resistant Tuberculosis and Exploring the Role of Genetic Factors. *Journal of Personalized Medicine*, *13*(4), 599. https://doi.org/10.3390/jpm13040599

Frigaard, J., Jensen, J. L., Galtung, H. K., & Hiorth, M. (2022). The Potential of Chitosan in Nanomedicine: An Overview of the Cytotoxicity of Chitosan Based Nanoparticles. *Frontiers in Pharmacology*, *13*, 880377. https://doi.org/10.3389/fphar.2022.880377

Fu, L. M., & Shinnick, T. M. (2007). Genome-wide exploration of the drug action of capreomycin on Mycobacterium tuberculosis using Affymetrix oligonucleotide GeneChips. *Journal of Infection*, *54*(3), 277–284. https://doi.org/10.1016/j.jinf.2006.05.012

Fu, N., You, Y.-J., Quek, S. Y., Wu, W. D., & Chen, X. D. (2020). Interplaying Effects of Wall and Core Materials on the Property and Functionality of

Microparticles for Co-Encapsulation of Vitamin E with Coenzyme Q10. *Food and Bioprocess Technology*, *13*(4), 705–721. https://doi.org/10.1007/s11947-020-02431-y

Gairola, A., Benjamin, A., Weatherston, J. D., Cirillo, J. D., & Wu, H. (2022). Recent Developments in Drug Delivery for Treatment of Tuberculosis by Targeting Macrophages. *Advanced Therapeutics*, *5*(6), 2100193. https://doi.org/10.1002/adtp.202100193

Goletti, D., Meintjes, G., Andrade, B. B., Zumla, A., & Shan Lee, S. (2025). Insights from the 2024 WHO Global Tuberculosis Report – More Comprehensive Action, Innovation, and Investments required for achieving WHO End TB goals. *International Journal of Infectious Diseases*, *150*, 107325. https://doi.org/10.1016/j.ijid.2024.107325

Gradzielski, M. (2022). Polyelectrolyte–Surfactant Complexes As a Formulation Tool for Drug Delivery. *Langmuir*, *38*(44), 13330–13343. https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.2c02166

Great Iruoghene Edo, Ndudi, W., Ali, AliB. M., Yousif, E., Jikah, A. N., Isoje, E. F., Igbuku, U. A., Mafe, A. N., Opiti, R. A., Madueke, C. J., Essaghah, A. E. A., Ahmed, D. S., & Umar, H. (2025). Biopolymers: An inclusive review. *Hybrid Advances*, *9*, 100418. https://doi.org/10.1016/j.hybadv.2025.100418

Grenha, A., Gomes, M. E., Rodrigues, M., Santo, V. E., Mano, J. F., Neves, N. M., & Reis, R. L. (2010a). Development of new chitosan/carrageenan

nanoparticles for drug delivery applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, *92A*(4), 1265–1272. https://doi.org/10.1002/jbm.a.32466

Grenha, A., Gomes, M. E., Rodrigues, M., Santo, V. E., Mano, J. F., Neves, N. M., & Reis, R. L. (2010b). Development of new chitosan/carrageenan nanoparticles for drug delivery applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, *92A*(4), 1265–1272. https://doi.org/10.1002/jbm.a.32466

Guibet, M., Kervarec, N., Génicot, S., Chevolot, Y., & Helbert, W. (2006). Complete assignment of 1H and 13C NMR spectra of Gigartina skottsbergii λ-carrageenan using carrabiose oligosaccharides prepared by enzymatic hydrolysis. *Carbohydrate Research*, *341*(11), 1859–1869. https://doi.org/10.1016/j.carres.2006.04.018

Guo, Z., Wei, Y., Zhang, Y., Xu, Y., Zheng, L., Zhu, B., & Yao, Z. (2022). Carrageenan oligosaccharides: A comprehensive review of preparation, isolation, purification, structure, biological activities and applications. *Algal Research*, *61*, 102593. https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102593

Hamman, J. H. (2010). Chitosan Based Polyelectrolyte Complexes as Potential Carrier Materials in Drug Delivery Systems. *Marine Drugs*, *8*(4), 1305–1322. https://doi.org/10.3390/md8041305

Harugade, A., Sherje, A. P., & 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

Howling, G. I., Dettmar, P. W., Goddard, P. A., Hampson, F. C., Dornish, M., & Wood, E. J. (2001). The effect of chitin and chitosan on the proliferation of human skin fibroblasts and keratinocytes in vitro. *Biomaterials*, *22*(22), 2959–2966. https://doi.org/10.1016/S0142-9612(01)00042-4

Huynh, T. V., Cao, H. T. T., Hieu, V. M. N., Tran, V. H. N., Van, T. T. T., Nguyen, T. T., Thuy, T. T. T., Trung, V. T., Thinh, P. D., Trinh, P. T. H., & Duc, T. M. (2024). Chemical Composition, Structural Properties, and Bioactivity of Carrageenan from Field-Cultivated Betaphycus gelatinus. *Processes*, *12*(11), 2610. https://doi.org/10.3390/pr12112610

Hwang, S., Yang, K., Yoon, H. S., & Roh, Y. H. (2026). 3D printed pectin-chitosan polyelectrolyte hydrogels for controlled gastrointestinal release and colon-targeted delivery. *Carbohydrate Polymers*, *376*, 124802. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2025.124802

Jabeen, F., Zil-e-Aimen, Ahmad, R., Mir, S., Awwad, N. S., & Ibrahium, H. A. (2025). Carrageenan: Structure, properties and applications with special emphasis on food science. *RSC Advances*, *15*(27), 22035–22062. https://doi.org/10.1039/D5RA03296B

Jadhav, S., Khivansara, R., & Sherje, A. P. (2025a). Chitosan-pectin complexes: A new frontier in biopolymer-based drug delivery systems. *Journal of*

*Biomaterials Science, Polymer Edition*, 1–32. https://doi.org/10.1080/09205063.2025.2561007

Jadhav, S., Khivansara, R., & Sherje, A. P. (2025b). Chitosan-pectin complexes: A new frontier in biopolymer-based drug delivery systems. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 1–32. https://doi.org/10.1080/09205063.2025.2561007

Johansen, S. K., Maus, C. E., Plikaytis, B. B., & Douthwaite, S. (2006). Capreomycin Binds across the Ribosomal Subunit Interface Using tlyA-Encoded 2′-O-Methylations in 16S and 23S rRNAs. *Molecular Cell*, *23*(2), 173–182. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2006.05.044

Kazeminava, F., Javanbakht, S., Nouri, M., Gholizadeh, P., Nezhad-Mokhtari, P., Ganbarov, K., Tanomand, A., & Kafil, H. S. (2022). Gentamicin-loaded chitosan/folic acid-based carbon quantum dots nanocomposite hydrogel films as potential antimicrobial wound dressing. *Journal of Biological Engineering*, *16*(1), 36. https://doi.org/10.1186/s13036-022-00318-4

Kim, J.-H., Taluja, A., Knutson, K., & Han Bae, Y. (2005). Stability of bovine serum albumin complexed with PEG-poly(l-histidine) diblock copolymer in PLGA microspheres. *Journal of Controlled Release*, *109*(1–3), 86–100. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2005.09.016

Korsmeyer, R. W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P., & Peppas, N. A. (1983). Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *International*

*Journal of Pharmaceutics*, *15*(1), 25–35. https://doi.org/10.1016/0378-5173(83)90064-9

Kotzé, A. R., Lueβen, H. L., De Leeuw, B. J., De Boer, B. G., Verhoef, J. C., & Junginger, H. E. (1997). N-Trimethyl Chitosan Chloride as a Potential Absorption Enhancer Across Mucosal Surfaces: In Vitro Evaluation in Intestinal Epithelial Cells (Caco-2). *Pharmaceutical Research*, *14*(9), 1197–1202. https://doi.org/10.1023/A:1012106907708

Lakshani, N., Wijerathne, H. S., Sandaruwan, C., Kottegoda, N., & Karunarathne, V. (2023). Release Kinetic Models and Release Mechanisms of Controlled-Release and Slow-Release Fertilizers. *ACS Agricultural Science & Technology*, *3*(11), 939–956. https://doi.org/10.1021/acsagscitech.3c00152

Le, H. V., & Le Cerf, D. (2022). Colloidal Polyelectrolyte Complexes from Hyaluronic Acid: Preparation and Biomedical Applications. *Small*, *18*(51), 2204283. https://doi.org/10.1002/smll.202204283

Lee, J., Wi, G., & Choi, M.-J. (2023). The rheological properties and stability of gelled emulsions applying to κ-carrageenan and methyl cellulose as an animal fat replacement. *Food Hydrocolloids*, *136*, 108243. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108243

Lengyel, M., Kállai-Szabó, N., Antal, V., Laki, A. J., & Antal, I. (2019). Microparticles, Microspheres, and Microcapsules for Advanced Drug Delivery. *Scientia Pharmaceutica*, *87*(3), 20. https://doi.org/10.3390/scipharm87030020

Li, C., Hein, S., & Wang, K. (2013). Chitosan-Carrageenan Polyelectrolyte Complex for the Delivery of Protein Drugs. *ISRN Biomaterials*, *2013*, 1–6. https://doi.org/10.5402/2013/629807

Liu, C., Desai, K. G. H., Tang, X., & Chen, X. (2006). Drug Release Kinetics of Spray-Dried Chitosan Microspheres. *Drying Technology*, *24*(6), 769–776. https://doi.org/10.1080/03602550600685325

Liu, S., Li, J., Zhang, Y., Zhang, X., Ding, Y., Zhang, W., Rao, J., & Zhang, Y. (2025). Progress in the Preparation and Applications of Microcapsules for Protective Coatings Against Corrosion. *International Journal of Molecular Sciences*, *26*(4), 1473. https://doi.org/10.3390/ijms26041473

Lobel, B. T., Baiocco, D., Al-Sharabi, M., Routh, A. F., Zhang, Z., & Cayre, O. J. (2024). Current Challenges in Microcapsule Designs and Microencapsulation Processes: A Review. *ACS Applied Materials & Interfaces*, *16*(31), 40326–40355. https://doi.org/10.1021/acsami.4c02462

Loiko, O. P., Herk, A. M. V., Ali, S. I., Burkeev, M. Zh., Tazhbayev, Y. M., & Zhaparova, L. Zh. (2013). Controlled release of Capreomycin sulfate from pHresponsive nanocapsules. *E-Polymers*, *13*(1), 018. https://doi.org/10.1515/epoly-2013-0118

Lopez, R., & Lee, Y. (2025). Advancing Particle Engineering: A Review of Three-Fluid Nozzle Spray Drying for Developing Applications for Food. *Food*

*and Bioprocess Technology*, *18*(7), 5891–5908. https://doi.org/10.1007/s11947-025-03811-y

Luan, F., Wei, L., Zhang, J., Tan, W., Chen, Y., Dong, F., Li, Q., & Guo, Z. (2018). Preparation and Characterization of Quaternized Chitosan Derivatives and Assessment of Their Antioxidant Activity. *Molecules*, *23*(3), 516. https://doi.org/10.3390/molecules23030516

Manoj Lalwani, S., Eneh, C. I., & Lutkenhaus, J. L. (2020). Emerging trends in the dynamics of polyelectrolyte complexes. *Physical Chemistry Chemical Physics*, *22*(42), 24157–24177. https://doi.org/10.1039/D0CP03696J

Mardani, M., Siahtiri, S., Besati, M., Baghani, M., Baniassadi, M., & Nejad, A. M. (2024). Microencapsulation of natural products using spray drying; an overview. *Journal of Microencapsulation*, *41*(7), 649–678. https://doi.org/10.1080/02652048.2024.2389136

Maus, C. E., Plikaytis, B. B., & Shinnick, T. M. (2005). Mutation of *tlyA* Confers Capreomycin Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *49*(2), 571–577. https://doi.org/10.1128/AAC.49.2.571-577.2005

Meng, F., Zhou, Y., Liu, J., Wu, J., Wang, G., Li, R., & Zhang, Y. (2018). Thermal decomposition behaviors and kinetics of carrageenan-poly vinyl alcohol bio-composite film. *Carbohydrate Polymers*, *201*, 96–104. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.07.095

Mitragotri, S., Burke, P. A., & Langer, R. (2014). Overcoming the challenges in administering biopharmaceuticals: Formulation and delivery strategies. *Nature Reviews Drug Discovery*, *13*(9), 655–672. https://doi.org/10.1038/nrd4363

Monshupanee, T., Johansen, S. K., Dahlberg, A. E., & Douthwaite, S. (2012). Capreomycin susceptibility is increased by TlyA-directed 2′- *O* -methylation on both ribosomal subunits. *Molecular Microbiology*, *85*(6), 1194–1203. https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2012.08168.x

Mura, P., Maestrelli, F., Cirri, M., & 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

Muraoka, Y., Hayashi, Y., & Minesita, T. (1968). Studies of capreomycin nephrotoxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, *12*(3), 350–359. https://doi.org/10.1016/0041-008X(68)90144-0

Mzoughi, J., Vandamme, T., & Luchnikov, V. (2021). Biphasic Drug Release from Rolled-Up Gelatin Capsules with a Cylindrical Cavity. *Pharmaceutics*, *13*(12), 2040. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13122040

Napiórkowska, A., & Kurek, M. (2022). Coacervation as a Novel Method of Microencapsulation of Essential Oils—A Review. *Molecules*, *27*(16), 5142. https://doi.org/10.3390/molecules27165142

Ning, L. G., Kang, E.-T., Wang, Y. B., Hu, X. F., & Xu, L. Q. (2018). Recent Developments in Controlled Release of Antibiotics. *Current Pharmaceutical Design*, *24*(8), 911–925. https://doi.org/10.2174/1381612824666180315094947

Nkanga, C. I., Noundou, X. S., Walker, R. B., & Krause, R. W. M. (2019). Co-encapsulation of Rifampicin and Isoniazid in Crude Soybean Lecithin Liposomes. *South African Journal of Chemistry*, *72*. https://doi.org/10.17159/0379-4350/2019/v72a11

Opriș, O., Mormile, C., Lung, I., Stegarescu, A., Soran, M.-L., & Soran, A. (2024). An Overview of Biopolymers for Drug Delivery Applications. *Applied Sciences*, *14*(4), 1383. https://doi.org/10.3390/app14041383

Pandey, R., Zahoor, A., Sharma, S., & Khuller, G. K. (2003). Nanoparticle encapsulated antitubercular drugs as a potential oral drug delivery system against murine tuberculosis. *Tuberculosis*, *83*(6), 373–378. https://doi.org/10.1016/j.tube.2003.07.001

Patel, S. S., Pushpadass, H. A., Franklin, M. E. E., Battula, S. N., & Vellingiri, P. (2022). Microencapsulation of curcumin by spray drying: Characterization and fortification of milk. *Journal of Food Science and Technology*, *59*(4), 1326–1340. https://doi.org/10.1007/s13197-021-05142-0

Peng, L., Gao, Z., Liang, Y., Guo, X., Zhang, Q., & Cui, D. (2025). Nanoparticle-based drug delivery systems: Opportunities and challenges in the treatment of

esophageal squamous cell carcinoma (ESCC). *Nanoscale*, *17*(14), 8270–8288. https://doi.org/10.1039/D4NR05114A

Pereira Parchen, G., Quaillet, M., Alves De Freitas, R., & Hillaireau, H. (2025a). Chitosan-based nano-objects for drug delivery: A review of their chemical modifications, supramolecular organization and biological fate. *RSC Pharmaceutics*, *2*(6), 1292–1322. https://doi.org/10.1039/D5PM00095E

Pereira Parchen, G., Quaillet, M., Alves De Freitas, R., & Hillaireau, H. (2025b). Chitosan-based nano-objects for drug delivery: A review of their chemical modifications, supramolecular organization and biological fate. *RSC Pharmaceutics*, *2*(6), 1292–1322. https://doi.org/10.1039/D5PM00095E

Pitner, R. A., Durham, P. G., Stewart, I. E., Reed, S. G., Cassell, G. H., Hickey, A. J., & Carter, D. (2019). A Spray-Dried Combination of Capreomycin and CPZEN-45 for Inhaled Tuberculosis Therapy. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *108*(10), 3302–3311. https://doi.org/10.1016/j.xphs.2019.05.024

Piyakulawat, P., Praphairaksit, N., Chantarasiri, N., & Muangsin, N. (2007). Preparation and evaluation of chitosan/carrageenan beads for controlled release of sodium diclofenac. *AAPS PharmSciTech*, *8*(4), 120. https://doi.org/10.1208/pt0804097

Pratap-Singh, A., Guo, Y., Baldelli, A., & Singh, A. (2023). Mercaptonicotinic acid activated thiolated chitosan (MNA-TG-chitosan) to enable peptide oral

delivery by opening cell tight junctions and enhancing transepithelial transport. *Scientific Reports*, *13*(1), 17343. https://doi.org/10.1038/s41598-023-44178-4

Pudžiuvelytė, L., Petrauskaitė, E., Stabrauskienė, J., & Bernatonienė, J. (2025a). Spray-Drying Microencapsulation of Natural Bioactives: Advances in Sustainable Wall Materials. *Pharmaceuticals*, *18*(7), 963. https://doi.org/10.3390/ph18070963

Pudžiuvelytė, L., Petrauskaitė, E., Stabrauskienė, J., & Bernatonienė, J. (2025b). Spray-Drying Microencapsulation of Natural Bioactives: Advances in Sustainable Wall Materials. *Pharmaceuticals*, *18*(7), 963. https://doi.org/10.3390/ph18070963

Rafiee, M. H., & Abdul Rasool, B. K. (2021a). An Overview of Microparticulate Drug Delivery System and its Extensive Therapeutic Applications in Diabetes. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 1. https://doi.org/10.34172/apb.2022.075

Rafiee, M. H., & Abdul Rasool, B. K. (2021b). An Overview of Microparticulate Drug Delivery System and its Extensive Therapeutic Applications in Diabetes. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 1. https://doi.org/10.34172/apb.2022.075

Rahman, M. A., Jalouli, M., Yadab, M. K., & Al-Zharani, M. (2025). Progress in Drug Delivery Systems Based on Nanoparticles for Improved Glioblastoma Therapy: Addressing Challenges and Investigating Opportunities. *Cancers*, *17*(4), 701. https://doi.org/10.3390/cancers17040701

Rao, S. S., Venkatesan, J., Yuvarajan, S., & Rekha, P.-D. (2022). Self-assembled polyelectrolyte complexes of chitosan and fucoidan for sustained growth factor release from PRP enhance proliferation and collagen deposition in diabetic mice. *Drug Delivery and Translational Research*, *12*(11), 2838–2855. https://doi.org/10.1007/s13346-022-01144-3

Ré, M.-I. (2006). Formulating Drug Delivery Systems by Spray Drying. *Drying Technology*, *24*(4), 433–446. https://doi.org/10.1080/07373930600611877

Ricardo, F., Pradilla, D., Luiz, R., & Alvarez Solano, O. A. (2021). A Multi-Scale Approach to Microencapsulation by Interfacial Polymerization. *Polymers*, *13*(4), 644. https://doi.org/10.3390/polym13040644

Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, *31*(7), 603–632. https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001

Rodrigues, M. G., De Morais, L. C., & Pasquini, D. (2024). Preparação e caracterização de complexos polieletrolíticos a partir de polímeros de fontes renováveis. *OBSERVATÓRIO DE LA ECONOMÍA LATINOAMERICANA*, *22*(2), e3349. https://doi.org/10.55905/oelv22n2-169

Rupert, R., Rodrigues, K. F., Thien, V. Y., & Yong, W. T. L. (2022). Carrageenan From Kappaphycus alvarezii (Rhodophyta, Solieriaceae): Metabolism, Structure, Production, and Application. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 859635. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.859635

Sajomsang, W., Gonil, P., & Saesoo, S. (2009). Synthesis and antibacterial activity of methylated N-(4-N,N-dimethylaminocinnamyl) chitosan chloride. *European Polymer Journal*, *45*(8), 2319–2328. https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2009.05.009

Sajomsang, W., Tantayanon, S., Tangpasuthadol, V., & Daly, W. H. (2008). Synthesis of methylated chitosan containing aromatic moieties: Chemoselectivity and effect on molecular weight. *Carbohydrate Polymers*, *72*(4), 740–750. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.10.023

Schmitt, J. M., Baumann, J. M., & Morgen, M. M. (2022). Predicting Spray Dried Dispersion Particle Size Via Machine Learning Regression Methods. *Pharmaceutical Research*, *39*(12), 3223–3239. https://doi.org/10.1007/s11095-022-03370-3

Serri, C. (2025). Editorial on Special Issue: “Advances in Nanotechnology-Based Drug Delivery Systems.” *Pharmaceutics*, *17*(8), 1038. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17081038

Shao, Z., Chow, M. Y. T., Chow, S. F., & Lam, J. K. W. (2023). Co-Delivery of D-LAK Antimicrobial Peptide and Capreomycin as Inhaled Powder Formulation to Combat Drug-Resistant Tuberculosis. *Pharmaceutical Research*, *40*(5), 1073–1086. https://doi.org/10.1007/s11095-023-03488-y

Shao, Z., Tai, W., Qiu, Y., Man, R. C. H., Liao, Q., Chow, M. Y. T., Kwok, P. C. L., & Lam, J. K. W. (2021a). Spray-Dried Powder Formulation of Capreomycin

Designed for Inhaled Tuberculosis Therapy. *Pharmaceutics*, *13*(12), 2044. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13122044

Shao, Z., Tai, W., Qiu, Y., Man, R. C. H., Liao, Q., Chow, M. Y. T., Kwok, P. C. L., & Lam, J. K. W. (2021b). Spray-Dried Powder Formulation of Capreomycin Designed for Inhaled Tuberculosis Therapy. *Pharmaceutics*, *13*(12), 2044. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13122044

Sousa, V. I., Parente, J. F., Marques, J. F., Forte, M. A., & Tavares, C. J. (2022). Microencapsulation of Essential Oils: A Review. *Polymers*, *14*(9), 1730. https://doi.org/10.3390/polym14091730

Suryani, S., Chaerunisaa, A., Joni, I. M., Ruslin, R., Aspadiah, V., Anton, A., Sartinah, A., & 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*, *Volume 17*, 41–57. https://doi.org/10.2147/NSA.S450026

Szymańska, E., Szekalska, M., Czarnomysy, R., Lavrič, Z., Srčič, S., Miltyk, W., & Winnicka, K. (2016). Novel Spray Dried Glycerol 2-Phosphate Cross-Linked Chitosan Microparticulate Vaginal Delivery System—Development, Characterization and Cytotoxicity Studies. *Marine Drugs*, *14*(10), 174. https://doi.org/10.3390/md14100174

Tkachenko, A., Prokopiuk, V., Onishchenko, A., & Shevchenko, M. (2021). Effects of E407a on the viability, metabolic and functional activity of dermal

fibroblasts. *Journal of Clinical Medicine of Kazakhstan*, *18*(5), 49–53. https://doi.org/10.23950/jcmk/11229

Torres, J., Pereira, J. M., Marques-Oliveira, R., Costa, I., Gil-Martins, E., Silva, R., Remião, F., Peixoto, A. F., Sousa Lobo, J. M., & Silva, A. C. (2023). An In Vitro Evaluation of the Potential Neuroprotective Effects of Intranasal Lipid Nanoparticles Containing Astaxanthin Obtained from Different Sources: Comparative Studies. *Pharmaceutics*, *15*(4), 1035. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15041035

Tsung, T.-H., Tsai, Y.-C., Lee, H.-P., Chen, Y.-H., & Lu, D.-W. (2023). Biodegradable Polymer-Based Drug-Delivery Systems for Ocular Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(16), 12976. https://doi.org/10.3390/ijms241612976

Uzakova, A. B., Yergaliyeva, E. M., Yerlanuly, A., & Mukatayeva, Z. S. (2025). A Systematic Review of Advanced Drug Delivery Systems: Engineering Strategies, Barrier Penetration, and Clinical Progress (2016–April 2025). *Pharmaceutics*, *18*(1), 11. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics18010011

Vandanjon, L., Burlot, A.-S., Zamanileha, E. F., Douzenel, P., Ravelonandro, P. H., Bourgougnon, N., & Bedoux, G. (2023). The Use of FTIR Spectroscopy as a Tool for the Seasonal Variation Analysis and for the Quality Control of Polysaccharides from Seaweeds. *Marine Drugs*, *21*(9), 482. https://doi.org/10.3390/md21090482

Vehring, R. (2008). Pharmaceutical Particle Engineering via Spray Drying. *Pharmaceutical Research*, *25*(5), 999–1022. https://doi.org/10.1007/s11095-007-9475-1

Venkatachalam, C., Damodaran, S., Natarajan, A., Shahulhameed, M., Ravichandran, S., & Sengottian, M. (2026). Microencapsulation techniques: A comprehensive review. *Food and Feed Research*, *53*(1), 107–131. https://doi.org/10.5937/ffr0-55787

Wang, A., Wang, M., Zhang, Y., Zhang, Q., & Yuan, G. (2025). Study on the preparation, characterization, and antibacterial properties of keggin POMs functionalized carrageenan composite films. *Scientific Reports*, *15*(1), 29935. https://doi.org/10.1038/s41598-025-13936-x

Wang, H., & 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

Westberry, B. P., Mansel, B. W., Ryan, T. M., Lundin, L., & Williams, M. A. K. (2022). X-ray scattering and molecular dynamics simulations reveal the secondary structure of κ-carrageenan in the solution state. *Carbohydrate Polymers*, *296*, 119958. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119958

Xia, Y., Wang, D., Liu, D., Su, J., Jin, Y., Wang, D., Han, B., Jiang, Z., & Liu, B. (2022). Applications of Chitosan and its Derivatives in Skin and Soft Tissue

Diseases. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *10*, 894667. https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.894667

Yan, C., & Kim, S.-R. (2024). Microencapsulation for Pharmaceutical Applications: A Review. *ACS Applied Bio Materials*, *7*(2), 692–710. https://doi.org/10.1021/acsabm.3c00776

Yang, B., Dai, S., Tang, Y., Xu, T., Wang, J., Zhu, W., Xie, J., Tong, X., Wang, H., & Jiang, L. (2025). Salting-Out Effect Behavior of Protein/λ-Carrageenan Composite Gels Enhanced by Enzymatic Pretreatment: Focusing on Microstructure, Interactions and the Potential for Dysphagia Food. *Foods*, *14*(21), 3662. https://doi.org/10.3390/foods14213662

Yessentayeva, N. A., Galiyeva, A. R., Daribay, A. T., Sadyrbekov, D. T., Moustafine, R. I., & Tazhbayev, Y. M. (2024). Optimization of Polylactide-Co-Glycolide-Rifampicin Nanoparticle Synthesis, In Vitro Study of Mucoadhesion and Drug Release. *Polymers*, *16*(17), 2466. https://doi.org/10.3390/polym16172466

Zhao, J., Wei, W., Yan, H., Zhou, Y., Li, Z., Chen, Y., Zhang, C., Zeng, J., Chen, T., & Zhou, L. (2019). Assessing capreomycin resistance on tlyA deficient and point mutation (G695A) Mycobacterium tuberculosis strains using multi-omics analysis. *International Journal of Medical Microbiology*, *309*(7), 151323. https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2019.06.003

Zhao, R., Tang, B., Xu, Z., & Fang, G. (2025). β-Cyclodextrin-based polyelectrolyte complexes for drug delivery. *Coordination Chemistry Reviews*, *534*, 216581. https://doi.org/10.1016/j.ccr.2025.216581

Zhou, X. (2025). Microencapsulation Materials, Processes, and Their Applications in Drug Formulations. *Journal of Food Science, Nutrition and Health*, *3*(1), 42–48. https://doi.org/10.54254/3029-0821/2025.21098

Zhou, Z., Yan, D., Cheng, X., Kong, M., Liu, Y., Feng, C., & Chen, X. (2016). Biomaterials based on N,N,N-trimethyl chitosan fibers in wound dressing applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, *89*, 471–476. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.02.036

Zhu, J., He, J., Zhou, J., Yang, Z., Li, X., Li, Y., & You, Z. (2024). Recent progress in microencapsulation technology and its applications in petroleum industry. *Journal of Molecular Liquids*, *407*, 125162. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2024.125162

Ziaee, A., Albadarin, A. B., Padrela, L., Femmer, T., O'Reilly, E., & Walker, G. (2019). Spray drying of pharmaceuticals and biopharmaceuticals: Critical parameters and experimental process optimization approaches. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, *127*, 300–318. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.10.026

Zięba, T., Raszewski, B., Kapelko-Żeberska, M., & Kobryń, J. H. (2024a). A review on methods for the production of microcapsules and their application in

drug and food technology. *Polymers in Medicine*, *54*(2), 117–125. https://doi.org/10.17219/pim/196538

Zięba, T., Raszewski, B., Kapelko-Żeberska, M., & Kobryń, J. H. (2024b). A review on methods for the production of microcapsules and their application in drug and food technology. *Polymers in Medicine*, *54*(2), 117–125. https://doi.org/10.17219/pim/196538

Žigrayová, D., Mikušová, V., & Mikuš, P. (2024). Advances in Chitosan Derivatives: Preparation, Properties and Applications in Pharmacy and Medicine. *Gels*, *10*(11), 701. https://doi.org/10.3390/gels10110701

# 8 ANEXOS

**Método S1 Determinación del grado de N-sustitución y del grado de cuaternización**

El grado de N-sustitución (DS) y el grado de cuaternización (DQ) se determinaron generalmente mediante espectroscopía de RMN de ¹H a partir de las ecuaciones (1) y (2), respectivamente:

$$DS(\%) = \frac{Ar}{n \times Ar_{H2+H2'} \times Degree\ CS} \quad (1)$$

$$DQ(\%) = \frac{N^{+}(CH_3)_3}{9 \times H1'} x\ 100 \quad (2)$$

donde Ar corresponde al área integral de los protones aromáticos, n es el número de átomos de hidrógeno aromáticos por sustituyente, $Ar_{H2+H2''}$ es la suma de las señales integradas de los protones H2 y H2′, CS corresponde al grado de desacetilación, $N^{+}(CH_3)_3$ corresponde a la integral del grupo trimetilamonio (presente en la región del reactivo modificante o en la región del quitosano), y H1′ corresponde a la integral de los protones en el intervalo de 5,3–5,7 ppm.

**Tabla S1.** Porcentaje de desacetilación y grupos amino disponibles.

| Muestra | %DA | mmol $NH_2 \cdot g^{-1}$ |
|---|---|---|
| Quitosano comercial | 35,5 | 2,21 |
| Quitosano desacetilado | 98,7 | 6,13 |

**Figura S1.** Caracterización estructural de CS y TMACS (a) Termograma TGA, (b) dTG y (c) DRX.

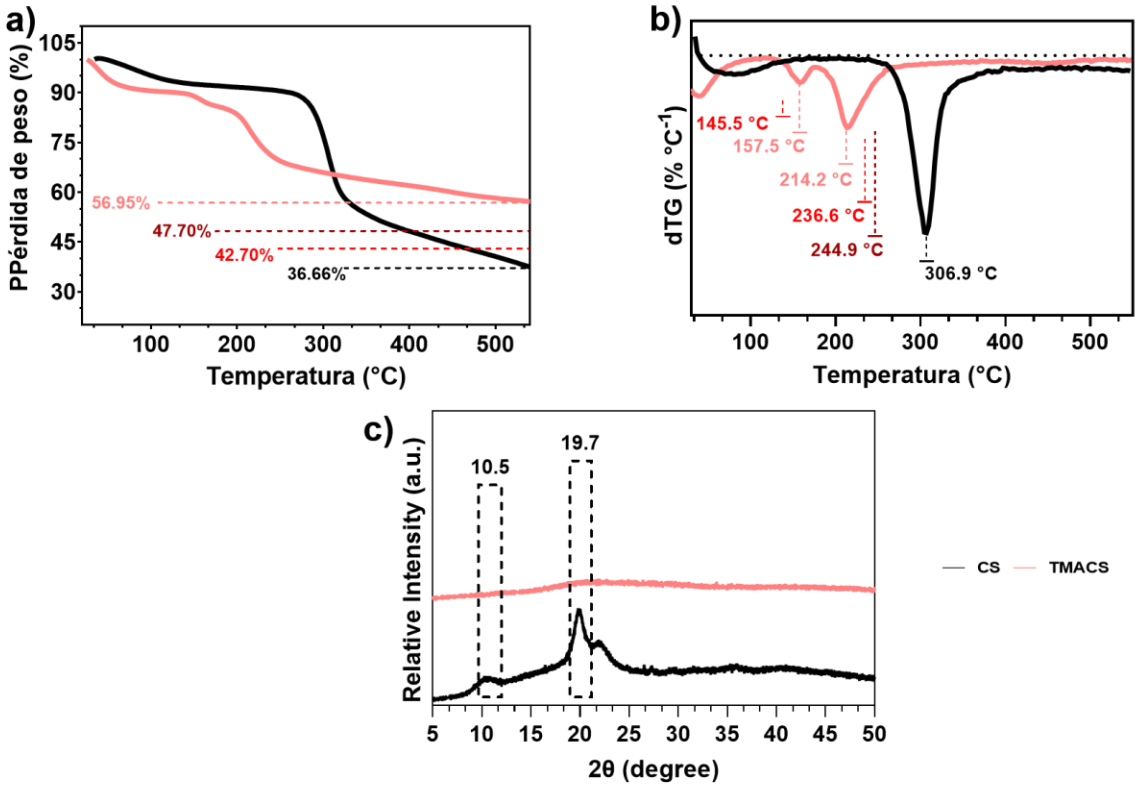
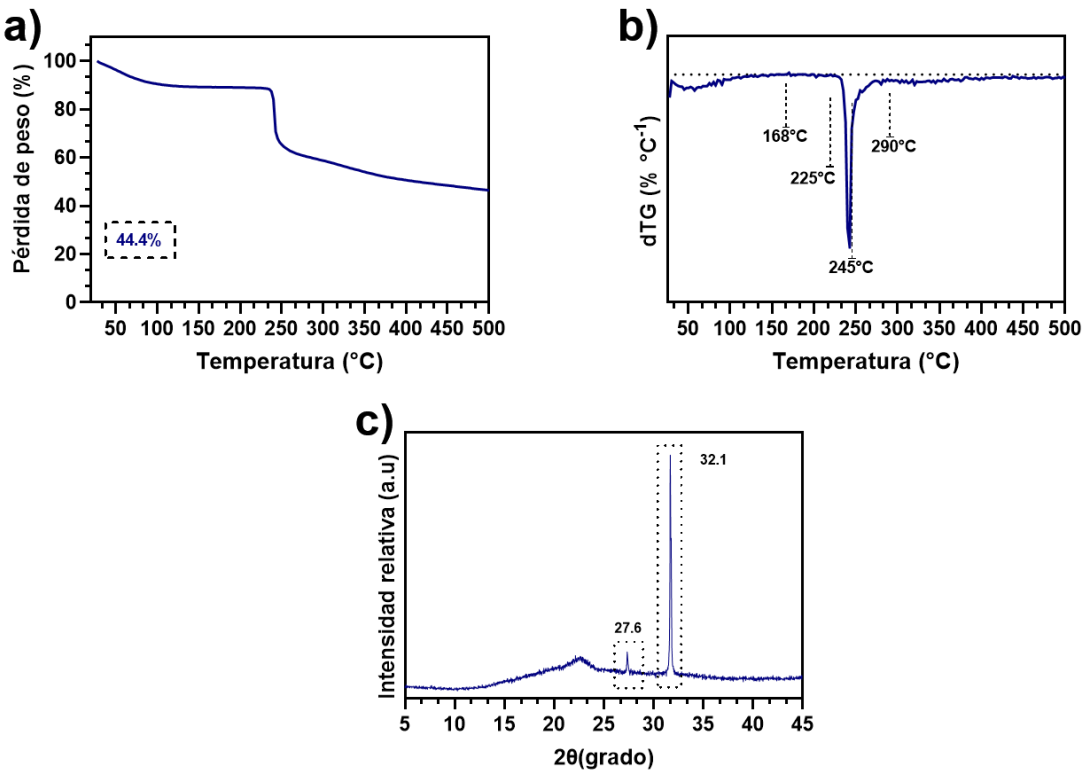



**Figura S2.** Caracterización estructural de LCG (a) Termograma TGA, (b) dTG (c) DRX


a)
Pérdida de peso (%)
100
80
60
40
20
0
44.4%
50 100 150 200 250 300 350 400 450 500
Temperatura (°C)
b)
dTG (% °C-1)
168°C
225°C
290°C
245°C
50 100 150 200 250 300 350 400 450 500
Temperatura (°C)
c)
Intensidad relativa (a.u)
32.1
27.6
5 10 15 20 25 30 35 40 45
2θ(grado)