



**Centro de Investigación en Alimentación y
Desarrollo, A.C.**

**MICROPARTÍCULAS DE PECTINAS FERULADAS COMO
ACARREADORAS DE DOXORRUBICINA: EVALUACIÓN DE
SU LIBERACIÓN *IN VITRO***

Por:

Karla Guadalupe Félix Arias

TESIS APROBADA POR LA

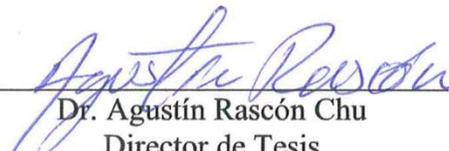
COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL

Como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRÍA EN CIENCIAS

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Karla Guadalupe Félix Arias la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias.


Dr. Agustín Rascón Chu
Director de Tesis


Dra. Elizabeth Carvajal Millán
Integrante del comité de tesis


M.C. José Alfonso Sánchez Villegas
Integrante del comité de tesis


M.C. Rafael Canett Romero
Integrante del comité de tesis

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis “Micropartículas de Pectinas Feruladas como Acarreadoras de Doxorubicina: Evaluación en Liberación *In Vitro*” es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial de la autora Karla Guadalupe Félix Arias, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del director(a) de tesis.



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.**
Coordinación de Programas Académicos

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Pablo Wong González", is written over a horizontal line. Below the line, the name and title are printed in a black, sans-serif font.

Dr. Pablo Wong González
Director General

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico brindado para mis estudios de Maestría.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C., por darme la oportunidad de realizar mis estudios de maestría en esta institución además de contribuir en mi formación académica.

Agradezco al proyecto CB-2015-01-254297 dirigido por mi director de tesis el Dr. Agustín Rascón Chu así como a mis asesores, la Dra. Elizabeth Carvajal Millán y el M.C. Rafael Canett Romero por su confianza y apoyo durante la realización de la presente tesis.

Agradezco al personal técnico por su apoyo y guía para la experimentación de este trabajo, a M.C. Karla Martínez Robinson, Q.B. Alma Consuelo Campa Mada y al M.C. José Alfonso Sánchez Villegas, quien además de formar parte de mis asesores siempre estuvo pendiente de mí, ofreciéndome su ayuda incondicional y buscando junto conmigo alternativas y soluciones, volviéndose un gran amigo.

A mis amigos de la maestría, Mary Vega, Zuleth Romero, José Teutle, Joel Cervantes, Federico Ohlmaier, Claudia Lara, Luz González, Rosy Esquer, Francisco Alday, Ana Laura Flores que en paz descansa, a mi mejor amigo M.B.I. Gonzalo Córdoba López, Halmak Sánchez, a todos ellos gracias por su apoyo incondicional y por siempre animarme cuando las cosas se tornaban difíciles. Y ante todo agradezco a Dios y a mis padres por todo, a mi madre especialmente, que nunca me dejó sola y todo lo que soy y seré se lo debo a ella.

Agradezco a todas las personas que me apoyaron directa e indirectamente para que esta investigación llegara a un buen término.

Muchas Gracias.

DEDICATORIA

Primeramente agradezco a Dios por todas las cosas que ha permitido que logre, por lo que dedico este trabajo a mis padres, Miriam Arias Jerónimo y Marcos Antonio Félix Chable, quienes desde que nací su amor y apoyo se han reflejado hasta la fecha.

A mis hermanos, Mayra Lizbeth, Pablo Andrés y Zurisaday Félix, por apoyarme incondicionalmente.

A mi tía Norma Micaela Arias Jerónimo quien siempre me ha aconsejado y me ha brindado sabiduría, quien ha sido como una madre, una abuela y una amiga, doy las gracias con todo mi corazón.

A mis abuelos, María Chable y Andrés Félix, por siempre animarme y preocuparse por mí.

A mi madre, que en paz descansa; no pudo verme concluir, pero estuvo en todo el proceso de esta maestría, le dedico este logro más y todos los que siguen.

CONTENIDO

| | |
|---|----|
| DECALARACIÓN INSTITUCIONAL | 3 |
| AGRADECIMIENTOS | 4 |
| DEDICATORIA | 5 |
| LISTA DE FIGURAS | 8 |
| LISTA DE CUADROS | 9 |
| RESUMEN | 10 |
| ABSTRACT | 11 |
| 1. INTRODUCCIÓN | 12 |
| 2. ANTECEDENTES | 14 |
| 2.1. Generalidades de Doxorubicina..... | 14 |
| 2.1.1. Naturaleza Química de la Doxorubicina..... | 14 |
| 2.1.2. Interacción de Doxorubicina con el ADN..... | 15 |
| 2.1.3. Cardiotoxicidad..... | 16 |
| 2.2. Ruta Metabólica de Doxorubicina..... | 18 |
| 2.3. Farmacocinética de Doxorubicina..... | 19 |
| 2.3.1. Distribución..... | 20 |
| 2.3.2. Metabolismo..... | 20 |
| 2.3.3. Eliminación..... | 21 |
| 2.4. Aplicaciones Terapéuticas..... | 21 |
| 2.4.1. Efectos Secundarios..... | 21 |
| 2.5. Sistemas Biopoliméricos..... | 22 |
| 2.5.1. Polisacáridos como Acarreadores de Fármacos..... | 23 |
| 2.6. Pectinas..... | 24 |
| 2.6.1. Estructura Química..... | 25 |
| 2.6.2. Propiedades Químicas de las Pectinas..... | 26 |
| 2.6.3. Grado de Esterificación..... | 27 |
| 2.7. Pectinas Feruladas..... | 27 |
| 2.7.1. Ácido Ferúlico..... | 28 |
| 2.8. Electrodispersión..... | 29 |
| 2.9. Sistema de Liberación..... | 31 |
| 2.9.1. Mecanismo de Absorción..... | 32 |
| 2.10. Leyes de Fick..... | 32 |
| 2.10.1. Leyes de Difusión de Fick..... | 32 |
| 2.10.2. Primera Ley de Fick..... | 33 |
| 2.10.3. Segunda Ley de Fick..... | 33 |
| 3. HIPÓTESIS | 35 |
| 4. OBJETIVOS | 36 |
| 4.1 General..... | 36 |
| 4.2 Específicos..... | 36 |

CONTENIDO (continuación)

| | |
|--|----|
| 5. MATERIALES Y MÉTODOS | 37 |
| 5.1 Material Vegetal y Reactivos..... | 37 |
| 5.2. Extracción de Pectinas Feruladas..... | 37 |
| 5.3. Composición Física y Química..... | 38 |
| 5.3.1. Contenido de Azúcares | 38 |
| 5.3.2. Contenido de Ácido Galacturónico | 38 |
| 5.3.3. Determinación de Proteínas | 39 |
| 5.3.4. Contenido de Ácido Ferúlico | 39 |
| 5.3.5. Volumen Parcial Específico..... | 40 |
| 5.3.6. Identidad Molecular FT-IR | 40 |
| 5.4. Características Macromoleculares | 41 |
| 5.5. Actividad Antioxidante | 41 |
| 5.6. Fabricación de Micropartículas | 42 |
| 5.6.1. Tamaño de Micropartículas..... | 42 |
| 5.7. Eficiencia de Encapsulación..... | 43 |
| 5.8. Simulación <i>in vitro</i> Digestión Gastrointestinal..... | 43 |
| 5.8.1. Simulación Colónica <i>in vitro</i> (SC) | 45 |
| 5.9. Cinética de Liberación de Fármaco | 45 |
| 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 48 |
| 6.1. Rendimiento de la Extracción de Pectinas | 48 |
| 6.2. Composición y Características Físicas y Químicas | 49 |
| 6.2.1. Contenido de Ácido Galacturónico y Azúcares Neutros | 49 |
| 6.2.2. Contenido de Proteínas | 50 |
| 6.2.3. Contenido de Ácido Ferúlico | 51 |
| 6.2.4. Volumen Parcial Específico | 51 |
| 6.3. Identidad Molecular y Grado de Metoxilación..... | 51 |
| 6.4. Características macromoleculares..... | 53 |
| 6.5. Actividad antioxidante <i>In vitro</i> | 54 |
| 6.6. Optimización de Fabricación..... | 55 |
| 6.7. Tamaño, Morfología y Esfericidad de Micropartículas | 57 |
| 6.7.1. Morfología y Esfericidad | 58 |
| 6.8. Eficiencia de Encapsulación..... | 61 |
| 6.9. Evaluación <i>In Vitro</i> | 62 |
| 6.10. Mecanismo de Liberación del Fármaco | 63 |
| 7. CONCLUSIONES | 66 |
| 8. RECOMENDACIONES | 67 |
| 9. REFERENCIAS | 68 |

LISTA DE FIGURAS

| Figura | Página |
|---|---------------|
| 1 Representación esquemática de la estructura química de la Doxorrubicina..... | 14 |
| 2 Representación esquemática de los cambios conformacionales del ADN..... | 15 |
| 3 Mecanismos moleculares de la cardiotoxicidad inducida por Doxorrubicina..... | 17 |
| 4 Rutas metabólicas de la Doxorrubicina..... | 19 |
| 5 Representación esquemática de la estructura química de la pectina de remolacha azucarera..... | 26 |
| 6 Esquema de los principales dehidroméros de ácido ferúlico en pectina..... | 28 |
| 7 Esquema de fabricación de micropartículas..... | 42 |
| 8 Esquema representativo de las etapas de la simulación <i>in vitro</i> | 45 |
| 9 Espectroscopia FT-IR de pectina de residuo de remolacha..... | 53 |
| 10 Histograma de las corridas experimentales..... | 57 |
| 11 Distribución de diámetro promedio de micropartículas SBP-DOX (Sugar Beet Pectin Doxorubicin)..... | 59 |
| 12 Representación esquemática de micropartículas SBP-DOX..... | 60 |
| 13 Morfología de SBP-DOX y SBP sin DOX..... | 61 |
| 14 Difusión y liberación <i>in vitro</i> de microesferas SBP-DOX..... | 63 |

LISTA DE CUADROS

| Cuadro | | Página |
|---------------|--|---------------|
| 1 | Principales biopolímeros como vehículos de agentes terapéuticos..... | 24 |
| 2 | Mecanismos de absorción..... | 32 |
| 3 | Corridas Experimentales..... | 47 |
| 4 | Composición química de Sugar Beet Pectin (SBP)..... | 51 |
| 5 | Características macromoleculares de SBP..... | 55 |
| 6 | Índice de esfericidad de los tratamientos de SBP-DOX..... | 61 |
| 7 | Modelo matemático y cinética de liberación SBP-DOX..... | 64 |

RESUMEN

Las pectinas son heteropolisacáridos compuestos por largas cadenas de α -D-galacturónicos intercaladas por una variedad de azúcares neutros. La pectina, debido a su capacidad como gelificante, emulsificante y estabilizante se ha aplicado en diversos campos, además tiene poca degradación en el tracto gastrointestinal superior y puede ser degradada por la microbiota del colon. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar y evaluar las micropartículas de pectinas feruladas cargadas con doxorubicina en simulación tracto gastrointestinal. La remolacha azucarera (*Beta vulgaris*) se usó como fuente de pectina, la cual se obtuvo mediante hidrólisis ácida. Posteriormente se determinó el contenido de azúcares neutros por cromatografía de gases, proteínas por el método de Bradford, ácido ferúlico y galacturónico por HPLC, grado de esterificación por FTIR, características macromoleculares por SEC-MALLS y actividad antioxidante por el método DPPH y ABTS. Las micropartículas se fabricaron por electroaspersión coaxial a un flujo interno de 0.350 mL/h de DOX (2 mg/mL), externo de 0.685 mL/h de pectina (4%) y voltaje de 8.5 kV. El rendimiento de la pectina fue del 6% (p/p). En su composición presentó ácido galacturónico ($51.0 \pm 1.4\%$), arabinosa ($4.00 \pm 0.2\%$), galactosa ($3.62 \pm 0.5\%$), manosa ($3.70 \pm 0.10\%$), glucosa ($8.40 \pm 0.10\%$), proteína ($0.83 \pm 0.10\%$) y ácido ferúlico $0.040 \pm 0.001 \mu\text{g}/\text{mg}$. El grado de esterificación fue de $23.0 \pm 0.7\%$. La viscosidad intrínseca $[\eta]$ fue $23.9 \pm 0.1 \text{ mL}/\text{g}$ y peso molecular (Mw) $358 \pm 1 \text{ kDa}$. La actividad antioxidante fue 31.7 ± 0.8 y $28.4 \pm 2.1 \mu\text{mol TEAC}/\text{g}$. El tamaño de partícula óptimo fue de $41.2 \pm 8.6 \mu\text{m}$, el índice de esfericidad de 0.871 y eficiencia de encapsulación de $62.0 \pm 3.0\%$. La evaluación *in vitro* mostró que la salida de la DOX de las micropartículas es por liberación no fickiana. La liberación de DOX desde la fase oral hasta la intestinal sigue el modelo de Higuchi ($R^2=0.963$). La mejor linealidad fue con el modelo Korsmeyer-Peppas ($R^2=0.999$), lo cual indica que la liberación máxima fue por erosión. La liberación de la carga de DOX que tenían las partículas en cada sección evaluada fue de 11% en simulación salival, 17% en simulación gástrica, 18% en simulación intestinal y 50% en la simulación colónica. Los resultados del estudio demuestran que las pectinas de remolacha azucarera pueden ser utilizadas para la fabricación de micropartículas mediante electroaspersión coaxial y para la encapsulación de DOX como fármaco modelo, el cual bajo condiciones simuladas es entregado principalmente en la sección de colon.

Palabras clave: Remolacha azucarera, cáncer colón, encapsular, electroaspersión, liberación.

ABSTRACT

Pectins are heteropolysaccharides composed of long α -D-galacturonic chains interspersed with a variety of neutral sugars. Pectin, due to its ability as a gelling, emulsifying and stabilizing agent, has been applied in various fields, it also has little degradation in the upper gastrointestinal tract and can be degraded by the colonic microbiota. Therefore, the objective of this study was to characterize and evaluate ferulated pectin microparticles loaded with doxorubicin in simulated gastrointestinal tract. Sugar beet (*Beta vulgaris*) was used as a source of pectin, which was obtained by acid hydrolysis. Subsequently, the content of neutral sugars was determined by gas chromatography, protein content by the Bradford method, ferulic and galacturonic acid by HPLC, degree of esterification by FTIR, macromolecular characteristics by SEC-MALLS and antioxidant activity by the DPPH and ABTS methods. Coaxial electrospray at an internal flow of 0.350 mL/h of DOX (2 mg/mL), external flow of 0.685 mL/h of pectin (4%) and a voltage of 8.5 kV manufactured the microparticles. The pectin yield was 6% (w/w). In its composition, it presented galacturonic acid ($51.0 \pm 1.4\%$), arabinose ($4.00 \pm 0.2\%$), galactose ($3.62 \pm 0.5\%$), mannose ($3.70 \pm 0.10\%$), glucose ($8.40 \pm 0.10\%$), protein ($0.83 \pm 0.10\%$) and ferulic acid $0.040 \pm 0.001 \mu\text{g}/\text{mg}$. The degree of esterification was $23.0 \pm 0.7\%$. The intrinsic viscosity $[\eta]$ was $23.9 \pm 0.1 \text{ mL}/\text{g}$ and the molecular weight (Mw) was $358 \pm 1 \text{ kDa}$. The antioxidant activity was 31.7 ± 0.8 and $28.4 \pm 2.1 \mu\text{mol TEAC}/\text{g}$, respectively. The optimal particle size was $41.2 \pm 8.6 \mu\text{m}$, the sphericity index was 0.871, and the encapsulation efficiency was $62.0 \pm 3.0\%$. The *in vitro* evaluation showed that the release of DOX from the microparticles is by non-fickian release. DOX release from the oral to the intestinal phase follows the Higuchi model. ($R^2=0.963$), while the best linearity was with the Korsmeyer-Peppas model ($R^2 =0.999$), which indicates that the maximum release was due to erosion. The release of the DOX load that the particles had in each section evaluated was 11% in salivary simulation, 17% in gastric simulation, 18% in intestinal simulation and 50% in colonic simulation. The results of the study demonstrate that sugar beet ferulated pectins can be used for the fabrication of microparticles by coaxial electrospray and for the encapsulation of DOX as a model drug which, under simulated conditions, is delivered mainly to the colon section.

Keywords: Sugar beet, colon cancer, encapsulate, electrospray, release.

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer es una de las principales causas de muerte a nivel mundial y es definido por la Organización Mundial de Salud (OMS) como el crecimiento y diseminación incontrolado de células; por esta razón puede ocurrir en cualquier parte del cuerpo y en consecuencia afectar varios órganos. De las diversas causas por las cuales se puede desarrollar el cáncer se encuentran algunos factores como el alto consumo de tabaco y alcohol, obesidad, una mala alimentación e inactividad física y en algunos casos por radiación y exposición a la contaminación (NIH, 2015). De acuerdo con datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2018, a nivel nacional el 75.2% de adultos mayores de 20 años presentan obesidad y sobrepeso debido al alto consumo de bebidas no lácteas y endulzantes, además del consumo de alcohol en un 11.4%.

La alimentación es el pilar fundamental en la salud, la cual debe estar basada en vegetales con cantidades bajas de lácteos y carnes, siendo las carnes rojas y procesadas y bebidas alcohólicas causantes del riesgo a padecer cáncer colorrectal, mientras que el consumo de granos enteros y alimentos ricos en fibras dietéticas puede disminuir dicho riesgo. Por ello se recomienda llevar una vida saludable con dietas ricas en carotenoides, antioxidantes, calcio, vitamina D, folatos o multivitamínicos, además de evitar el tabaquismo y limitar el consumo de alcohol, entre otros factores (Tirado y Mohar, 2008).

El cáncer colorrectal (CCR) ocupa el tercer lugar entre las principales causas de muerte tanto en México como a nivel mundial y ha sido responsable de 700,000 muertes al año, de acuerdo con datos del Instituto Nacional de Cancerología (INCan, 2020). Por su parte, la American Cancer Society revela que la incidencia del CCR está aumentando exclusivamente en adultos jóvenes y países de altos ingresos, con 1,8 millones de casos nuevos a nivel mundial en el 2018, presentándose en México 15 mil casos nuevos por año, según el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS, 2019).

Existen tratamientos contra el cáncer como la terapia por radiación, cirugía y quimioterapia, ésta última basada en el uso de fármacos anticancerígenos, como la doxorubicina, el cual es el antineoplásico más utilizado debido a su mecanismo de acción, que consiste en destruir las células cancerígenas en el proceso de replicación inhibiendo la acción de la topoisomerasa II. El metabolismo de la doxorubicina se da por la reducción del grupo carbonilo 13 (cadena lateral de

azúcar) a un grupo alcohol, formando metabolitos secundarios como el doxorubicinol. La metabolización de la doxorubicina ocurre por vía hepática, proceso de importancia debido a que el cáncer colorrectal tiene como principal sitio de metástasis el hígado dado que el drenaje venoso del colon concurre a este órgano (López-Wilson, 2019).

Existen diversas alternativas para el tratamiento del cáncer, como es el basado en matrices poliméricas (Cheewatanakornkool *et al.*, 2017). La aplicación de estas matrices en el campo biomédico y en sistemas farmacéuticos toma ventaja en la formación de una interfase con el sistema biológico y la biocompatibilidad del polímero (Rojas-Cortés *et al.*, 2008). En general, los polímeros de origen natural son los más prometedores gracias a su capacidad de retención de agua, gelificación y emulsificación, así como su biocompatibilidad y biodegradabilidad y no toxicidad (Noreen *et al.*, 2017).

En este sentido, las pectinas son un grupo de polisacáridos de origen vegetal presente en las paredes celulares de las plantas (Leclere *et al.*, 2013). En general, este grupo de compuestos se ha utilizado ampliamente en las industrias alimentaria y farmacéutica por sus propiedades funcionales (Assifaoui *et al.*, 2015), lo cual la hecho interesante en la administración oral de fármacos dirigidos a colon durante los últimos 20 años. Dicha focalización tiene varias ventajas terapéuticas, debido a que la administración oral de fármacos permite que el exhipiente sea degradado por el ácido estomacal y/o metabolizados por las enzimas pancreáticas (Mooter, 2006). Sin embargo, el uso de pectinas con presencia de ácido ferúlico no se ha explorado en su totalidad; por ello, basándonos en estudios previos, el presente trabajo propone el empleo de micropartículas de pectinas feruladas como acarreadores de doxorubicina, con la hipótesis de que las micropartículas de pectina ferulada pueden dirigir la liberación del fármaco al sitio de interés (colon), sin descartar la posibilidad de un efecto sinérgico con doxorubicina por los oligosacáridos pécticos producidos por erosión enzimática de la partícula por la microbiota intestinal durante el proceso de liberación en colon.

2. ANTECEDENTES

2.1. Generalidades de Doxorubicina

La doxorubicina (DOX) se descubrió en 1950 por la compañía de investigación Farmitalia Research Laboratories, a partir de la cepa *Streptococcus peucetius* var. *Caesiu*. La doxorubicina, tiene la capacidad de intercalarse con el ADN. Produce ruptura sobre cadenas simples y dobles, conduciendo al intercambio de cromátides hermanas, por tanto, tiene propiedades mutagénicas y carcinogénicas (Rodríguez Carranza, 2015).

2.1.1. Naturaleza Química de la Doxorubicina

La doxorubicina es un fármaco hidrofílico quimioterapéutico perteneciente a la familia de las antraciclinas, utilizado en el tratamiento de diversos tipos de cánceres. Está compuesta por una cadena principal de tetrahidronaftacenodiona unida a un amino-azúcar (daunosamina) a través de un enlace *O*-glucosídico en el carbono 7 (**Figura 1**) (Arnold *et al.*, 2004).

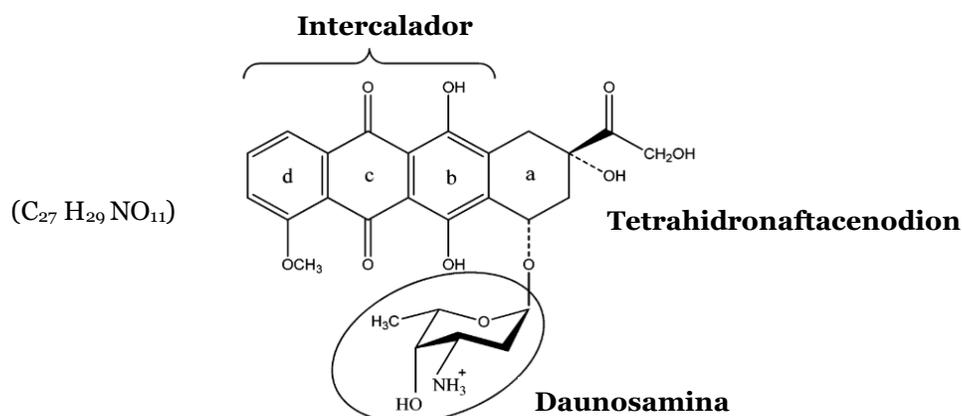


Figura 1. Representación esquemática de la estructura química de la doxorubicina (Adaptado de Pérez-Arnaiz *et al.*, 2014).

2.1.2. Interacción de Doxorrubicina con el ADN

Las antraciclinas son fármacos anticancerígenos que actúan atacando una gran variedad de tumores, por lo que se usan en diversas terapias anticáncer (Domínguez-González, 2016) tanto en adultos como en niños. Sin embargo, el uso de estos fármacos conlleva a efectos secundarios como es el caso de doxorrubicina (DOX) que permanece bajo consideración debido a su cardiotoxicidad, la cual puede variar desde una disminución subclínica de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) hasta una miocardiopatía manifiesta (Reinbolt-Raquel *et al.*, 2017). Dicho efecto secundario se puede deber a la estructura y mecanismo de acción de la DOX puesto que los fármacos correspondientes a las antraciclinas tienen interacción con el ADN. En la **Figura 1** se observan los anillos **D**, **C** y **B**, los cuales actúan como intercaladores del ADN; la función de anclaje a la doble hélice se asocia al anillo **A** mientras que el amino-azúcar se une al surco menor del ADN (Pérez-Arnaiz *et al.*, 2014). Aunado a lo anterior, DOX está relacionada con su capacidad para unirse al ADN e inhibir la síntesis de ácido nucleico. Este fármaco se une en los pares de bases GC y AT adyacentes por intercalación, unión al surco menor, unión exterior o electrostática. Las uniones pueden ser por interacciones hidrofóbicas de apilamiento y puentes de hidrógeno proporcionando un cambio conformacional Z-ADN donde las cadenas de ADN adoptan un plegamiento en zigzag (**Figura 2A**).

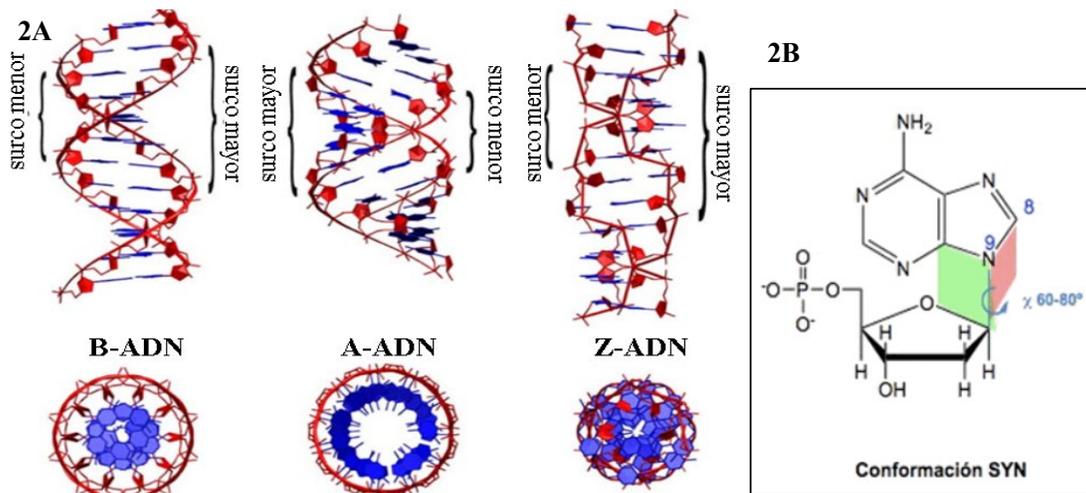


Figura 2A. Representación esquemática de los cambios conformacionales del ADN (A) y conformación syn en purinas (2B).

Conformación A tamaño ancho, surco mayor estrecho y menor amplio, sentido de giro dextrógiro. Conformación B tamaño intermedio, surco mayor amplio y menor estrecho. Conformación Z tamaño estrecho y largo, surco mayor sin profundidad y menor estrecho profundo, sentido de giro levógiro (Lorenzo Corchón, A, 2004).

En las purinas la conformación syn coloca el átomo H-8 lejos del azúcar y el conjunto de la purina bicíclica sobre éste.

El plegamiento en zigzag presenta 12 pares de bases por cada vuelta completa con una distancia entre bases de 0.37 nm. De esa manera, la estructura de las purinas favorece la conformación syn. La variante Z presenta una estructura más delgada y alargada, lo que permite que el surco principal sea apenas perceptible y el surco secundario estrecho y profundo. Cabe mencionar que la función de la variante Z se vincula con la regulación de la expresión génica (Domínguez-González, 2016). En cuanto a la muerte celular vinculada con la concentración de DOX se puede relacionar por múltiples modos de acción como la formación de radicales libres, debido a la ruta metabólica por reducción de electrones, por la intercalación de DOX con el ADN como se mencionó en este apartado o por inducción de rupturas del ADN, aberraciones cromosómicas y alteraciones de las membranas celulares inducidas por DOX (Speth *et al.*, 1988).

2.1.3. Cardiotoxicidad

Dentro de las principales desventajas de DOX se encuentra la cardiotoxicidad, causada por el daño al ADN mediado por la topoisomerasa II, daño que se ha reportado como el principal mecanismo por el cual DOX logra la muerte de las células cancerosas. Asimismo se ha demostrado que el mecanismo molecular de acción de la DOX induce su cardiotoxicidad (Barpe *et al.*, 2010; Bosio *et al.*, 2014; Krischke *et al.*, 2016). La cardiotoxicidad por DOX se desarrolla normalmente a los dos meses de la última dosis, pero en algunos casos la cardiomiopatía puede desarrollarse entre seis meses y años después de haber recibido la última dosis (Casamada, 2017). En ese mismo contexto, la DOX se acumula en el corazón al unirse a la cardiolipina en la membrana mitocondrial interna. La depuración de DOX del miocardio está muy por detrás de la depuración plasmática, lo que puede explicar por qué el corazón es tan susceptible al DOX (Kaiserova *et al.*, 2007). En la **Figura**

3 se plantean algunos mecanismos del efecto cardiotoxico, siendo el mecanismo más popular de DOX el estrés oxidativo.

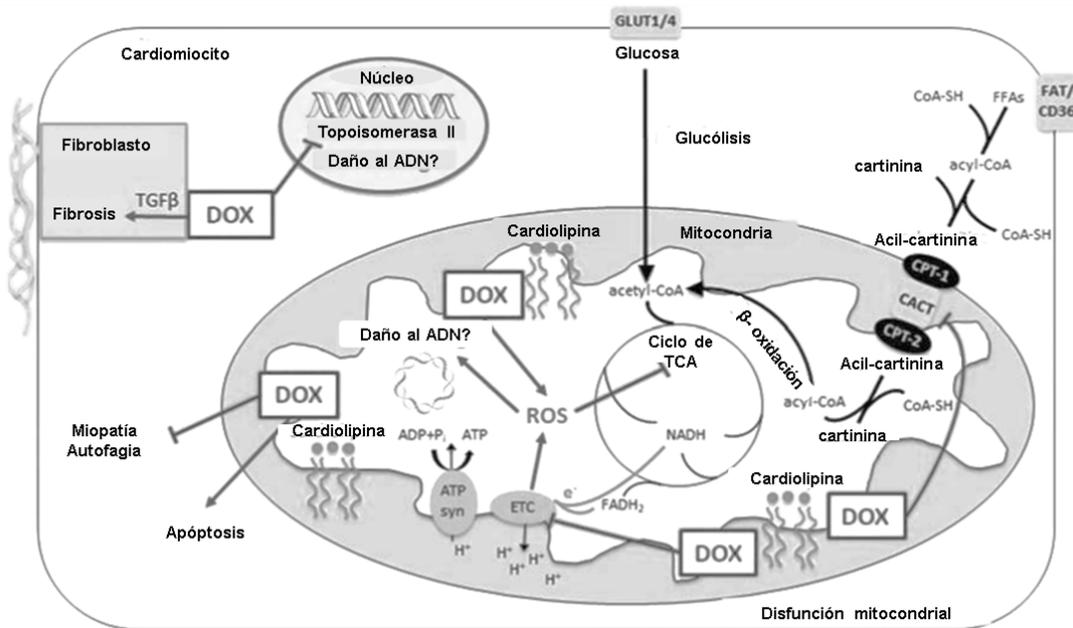


Figura 3. Mecanismos moleculares de la cardiotoxicidad inducida por Doxorribicina (Adaptado de Timm y Tyler, 2020).

En tal sentido, se cree que las especies reactivas de oxígeno (ROS) se generan por diferentes mecanismos, incluida la reacción de Fenton con hierro molecular y redox, ciclando en la mitad quinona de DOX (Kaiserova *et al.*, 2007). DOX se une a la cardiolipina en la membrana mitocondrial interna debido a su proximidad a las proteínas de la membrana, por lo que la DOX interfiere con la cadena de transporte de electrones (ETC), que se cree contribuye a la generación de ROS y a la disfunción mitocondrial. La disfunción mitocondrial en la cardiotoxicidad por DOX se ha revisado ampliamente, DOX inhibe la mitofagia y la autofagia e induce la apoptosis (Varga *et al.*, 2015). En el núcleo, DOX inhibe la topoisomerasa II β , lo que puede provocar daños en el ADN. En los fibroblastos, DOX desencadena la señalización de TGF β , que induce fibrosis (Timm y Tyler, 2020). Como consecuencia de su cardiotoxicidad, la dosis acumulada total se restringe a 550 mg/m² y dosis más bajas de 400 mg/m² (Speth *et al.*, 1988).

En relación con la problemática anteriormente expuesta, se ha planteado que la cardiotoxicidad que

se presenta por la ingestión de DOX se debe a los metabolitos secundarios generados en su ruta metabólica. Entre ellos se encuentra el doxorubicinol, un potente inhibidor de la ATPasa que actúa inhibiendo la captación de Ca^{2+} por el retículo sarcoplasmático, lo que impide la relajación o contracción del tejido cardíaco. La formación de complejos de hierro-antraciclina causan daño en el ADN mitocondrial y daño directo a los miocitos (Reinbolt *et al.*, 2017). Si bien el mecanismo de cardiotoxicidad sigue siendo controvertido, una de las pruebas más sólidas que respaldan la hipótesis del hierro es que el quelante hierro (dexrazoxano) protege contra la toxicidad inducida por la DOX *in vivo*. DOX se puede reducir a doxorubicinol, el cual interfiere con las regulaciones del hierro (por ACO1) y del calcio (por la bomba de calcio del retículo sarcoplásmico, ATP2A2 y la bomba de Na^+/K^+ del sarcolema, RYR2). En resumen, el metabolismo de la DOX dentro de la mitocondria puede interrumpir la respiración y conducir a la liberación de citocromo-C que inicia la apoptosis (Thorn *et al.*, 2011).

Sin embargo, a causa de los efectos secundarios de DOX se han buscado alternativas para disminuir la dosis establecida y así mismo menguar sus efectos adversos para la mejora sobre la calidad de vida de los pacientes con cáncer.

2.2. Ruta Metabólica de Doxorubicina

DOX es capaz de experimentar tres rutas metabólicas: reducción de un electrón, reducción de dos electrones y desglicosidación (**Figura 4**) (Mordente *et al.*, 2009).

La reducción por dos electrones del grupo carbonilo C-13 en la cadena lateral de las antraciclina se considera la vía metabólica primaria, siendo esta ruta la más usual de la DOX, en la cual se produce el doxorubicinol, un metabolito secundario (Gorini *et al.*, 2019). Esta ruta metabólica está catalizada por reductasas citoplasmáticas donde la DOX reacciona con la NADPH citocromo P450 reductasa para formar radicales mediadores de semiquinona. Esto se debe a que DOX posee una tendencia característica para formar un complejo estable con el hierro (III), beneficiando la reducción de éste hasta hierro (II) y dando lugar en el proceso al radical libre de semiquinona, el cual puede reaccionar rápidamente con el oxígeno para producir el radical superóxido, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo (Rebollo-Moro, 2016). En efecto, el resto de quinona en el

anillo C de las antraciclina puede reducirse mediante varias oxidorreductasas monoeléctricas que producen un radical semiquinona; éste regenera rápidamente su quinona original al reducir el oxígeno a ROS, los cuales son considerados como los principales responsables de la cardiotoxicidad de las antraciclina (Varga *et al.*, 2015). Por último, la DOX se puede metabolizar en hidroxiantraciclina (desglicosidación hidrolítica) o desoxiantraciclina (desglicosidación reductora) mediante reacciones de desglicosidación catalizadas por glicosidasas de tipo hidrolasa y reductasa por reacciones dependientes de NADPH (Mordente *et al.*, 2009).

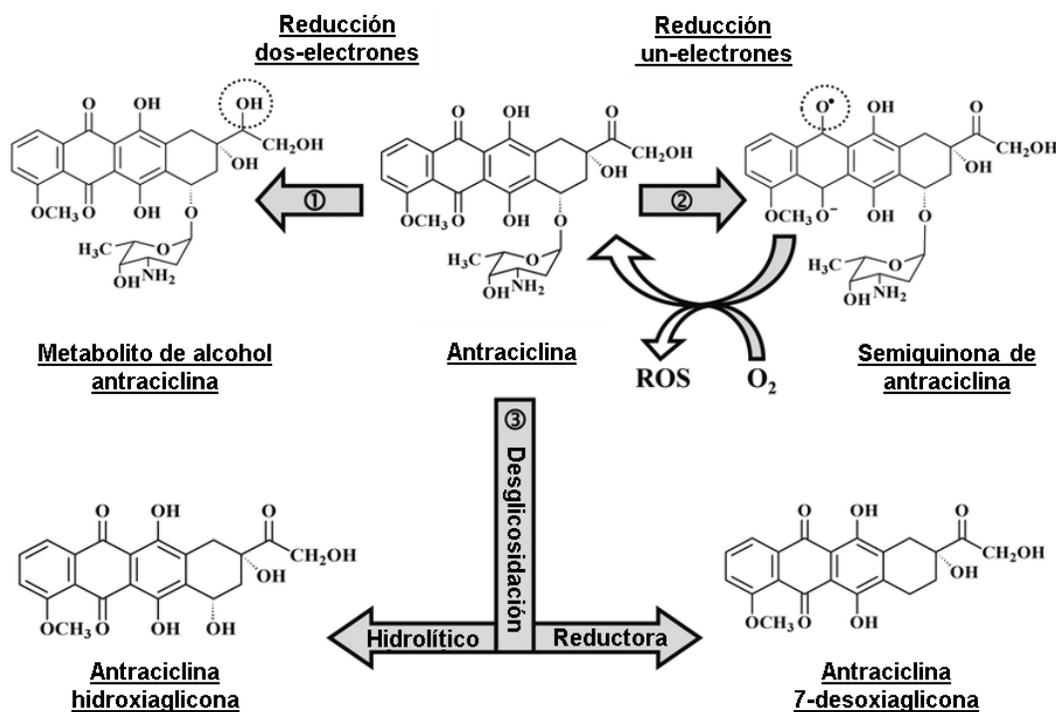


Figura 4. Rutas metabólicas de la Doxorubicina (Adaptado de Mordente *et al.*, 2009).

2.3. Farmacocinética de Doxorubicina

La farmacocinética es la rama de la farmacología que estudia el proceso cinético de los medicamentos a través del organismo en función del tiempo y la dosis, siendo el principal objetivo la optimización de los tratamientos farmacológicos con la finalidad de obtener la máxima eficacia terapéutica y el menor efecto adverso secundario posible (Calvo *et al.*, 2002). La farmacocinética

de DOX se ha estudiado abundantemente debido a su administración por vía intravenosa en la que los niveles sanguíneos disminuyen drásticamente a medida que el fármaco se distribuye en los tejidos como los pulmones, corazón, bazo, ganglios linfáticos, riñones y medula ósea (Gustafson *et al.*, 2002).

2.3.1. Distribución

Posterior a la administración por vía intravenosa, DOX se distribuye ampliamente en el organismo uniéndose de 50-85% a las proteínas plasmáticas. Esta unión es un proceso reversible; una vez que llega a un equilibrio, la fracción libre es farmacológicamente activa, mientras que la que permanece unida actúa como reservorio inactivo (Fort *et al.*, 2016). Además, independientemente de la concentración absoluta del fármaco en el plasma, deja entre el 15 y 50% del fármaco libre (Speth *et al.*, 1988).

2.3.2. Metabolismo

El metabolismo o biotransformación de los fármacos ocurre principalmente en el hígado, órgano en el que se producen una serie de conversiones químicas que dan lugar a compuestos polares e hidrosolubles (Talevi *et al.*, 2016). DOX es metabolizada por vía hepatobiliar, donde el grupo carbonilo de la cadena se reduce mediante la aldoceto reductasa citoplasmática dependiente de NADPH produciendo doxorubicinol (metabolito principal) y por la escisión mediada por el citocromo reductasa del resto de azúcar forma la 7-hidroxi aglicona. La reducción enzimática antes mencionada es de vital importancia, ya que produce los radicales OH que causan daño celular extenso y la muerte celular (Speth *et al.*, 1988; Gustafson *et al.*, 2002).

2.3.3. Eliminación

La DOX junto con sus metabolitos secundarios son eliminados o excretados por vía hepatobiliar, siendo el primer tránsito el hígado, eliminándose más del 50% de DOX, mientras que en la excreción fecal en un tiempo de 7 días se elimina una concentración del 25 al 45%, y aproximadamente el 5.15% de la dosis se elimina por la orina (Gustafson *et al.*, 2002). Aunque la eliminación renal es mínima, en pacientes con insuficiencia renal la velocidad de eliminación del fármaco disminuye (Calvo *et al.*, 2002). DOX se elimina principalmente como glucurónidos o conjugados hidroxilados, donde el doxorubicinol es el metabolito principal (Casamada, 2017).

2.4. Aplicaciones Terapéuticas

Como se mencionó anteriormente, la DOX se aplica vía intravenosa. Además de ser efectiva para cánceres sólidos y hematológicos, principalmente se usa para producir regresión en afecciones neoplásicas diseminadas como leucemia linfoblástica y mieloblástica aguda, tumor de Wilms, neuroblastoma, cáncer de mama y sarcomas óseos. Asimismo, es usada como segunda línea en el cáncer de ovario y testículos. Sin embargo, DOX presenta una actividad marginal en el cáncer de vejiga, próstata, pulmón, estómago, enfermedad de Hodgkin, linfoma maligno y carcinoma broncogénico en el que el tipo histológico de células pequeñas es más sensible en comparación con otros tipos de células (Rebollo-Moro, 2016; Gorini *et al.*, 2019; Casamada, 2017).

2.4.1. Efectos Secundarios

Además de la cardiotoxicidad producida por la DOX, en la quimioterapia se desglosa una serie de efectos secundarios tales como la pérdida de cabello (proceso reversible), diarrea, cambios en la piel como ampollas, fotosensibilidad, sarpullido, hipo e hiperpigmentación y debilitamiento de las

uñas, moretones y sangrados debido a que la DOX puede reducir el número de plaquetas y glóbulos blancos en la sangre, lo cual da lugar a infecciones y mielosupresión (Casamada, 2017; NIH, 2019). De acuerdo con *Oncohealth Institute*, también pueden ocurrir hemorragias nasales, sangrado de encías, machas de sangre o erupciones en la piel y reducción de glóbulos rojos en la sangre, lo cual puede ocasionar anemias, sumado a un cansancio extremo, tanto que el paciente se pueda quedar sin aliento.

En los primeros días de la quimioterapia se pueden notar síntomas como náuseas y vómitos, así como dolor en la boca y pérdida de apetito durante el tratamiento. También se ve afectada la orina, y durante un máximo de 48 h se puede observar una coloración de color rosa o roja lo que es característico de la DOX. Asimismo, DOX puede causar que las células del cáncer se descompongan y se libere ácido úrico (Casamada, 2017). El exceso de ácido úrico puede causar hinchazón y dolor en las articulaciones.

Debido a sus grandes efectos secundarios tóxicos, su uso clínico ha sido limitado, por lo que se han probado varios sistemas de administración dirigidos a tumores para mejorar la eficacia terapéutica de DOX y así reducir sus efectos secundarios (Huan *et al.*, 2013)

2.5. Sistemas Biopoliméricos

En décadas recientes se han reportado grandes ventajas en el desarrollo de sistemas de suministro de fármacos para liberación controlada o dirigida a un sitio de interés. La evaluación de los sistemas en desarrollo requiere establecer la interacción fármaco-organismo mediante el estudio de su farmacocinética que incluye los procesos de absorción, distribución, metabolismo y eliminación en función del tiempo y dosis (Beltrán B, 2004). Sin embargo, dependiendo del agente terapéutico a tratar, habrá diferencias en la unión con las proteínas plasmáticas, provocando cambios en la concentración y efectos secundarios (Calvo *et al.*, 2002).

Actualmente, los sistemas de administración de medicamentos se están estudiando competitivamente con el fin de lograr el máximo efecto terapéutico y minimizar los efectos adversos. Una de las alternativas emergentes y posiblemente con mayor eficacia es el uso de polisacáridos como encapsuladores de tamaño micro o nano (Varan *et al.*, 2019). Soares *et al.*

(2013) mencionan que las micropartículas de polisacáridos poseen la ventaja en la administración de fármacos de mantener la concentración adecuada de medicamentos en el sitio deseado.

2.5.1. Polisacáridos como Acarreadores de Fármacos

Los polisacáridos desempeñan funciones importantes en la vida debido a su diversidad monomérica y se encuentran en organismos vivos como plantas, animales, bacterias y hongos (Ouwehand *et al.*, 2009). En las plantas, los polisacáridos proporcionan resistencia y componentes estructurales, además de que sirven como fuente de energía y energía almacenada, función que también aplica en los animales y los microorganismos, siendo en las bacterias y hongos responsable de formar componentes estructurales de la envoltura celular (Ouwehand *et al.*, 2009; Vorwerk *et al.*, 2004). Los polisacáridos han sido ampliamente estudiados como encapsuladores en la industria alimentaria incluso en el área biomédica gracias a su biodegradabilidad, biocompatibilidad, naturaleza no tóxica y bajo costo (Varan *et al.*, 2019). Sumado a lo anterior, gracias a sus propiedades químicas, físicas y funcionales, los polisacáridos simbolizan un gran interés para el transporte de fármacos (Alonoso *et al.*, 2008).

En el **Cuadro 1** se presentan los polisacáridos más estudiados en los últimos 20 años. En general, las pectinas, alginato, λ -carragenano, quitosano y la goma guar son los más estudiados como matriz polimérica para la administración de fármacos gracias a su biocompatibilidad y propiedades estructurales para una liberación controlada (Günter *et al.*, 2018).

Cuadro 1. Principales biopolímeros utilizados como vehículos de agentes terapéuticos

| Polisacáridos | Aplicaciones | Agentes terapéuticos encapsulados | Referencia |
|--|---|---|--|
| Quitano | Capacidad para reducir lipoproteínas de baja densidad, regeneración de tejidos, usado como lentes de contacto corneales e implantes dentales, entre otras. | Mercaptopurina, insulina, metronidazol, doxorubicina, melatonina | (Fuchs <i>et al.</i> , 2014; Shariatinia, 2018; Naghizadeh <i>et al.</i> , 2018) |
| Goma guar | Liberación controlada y liberación dirigida al colon, supresor del apetito, termorreversible. | Hidrocloruro de propranolol | (Cheewatanakornk ol <i>et al.</i> , 2017; Jackson <i>et al.</i> , 2007) |
| Almidón | Coacervación con proteínas, liberación por hinchazón, difusión, erosión. Utilizado como excipiente para microesferas. | Paracetamol, lidocaína e hidrocloruro de procaína | (Mogoşanu y Grumezescu, 2015; Varan <i>et al.</i> , 2019; Tapia-Hernández <i>et al.</i> , 2018) |
| Carragenina κ , ι , λ - | λ -Carragenano: carga aniónica alta, alta solubilidad, pero no gelificante. κ , ι -Carragenano: el gel elástico termorreversible. Liberación por erosión, eficaz contra el VPH. | Acetaminofeno, teofilina, mesalamina e hidroclorotiazida, hidrocloruro de diltiazem y verapamilo e ibuprofeno | (Fuchs <i>et al.</i> , 2014; Geethanjali <i>et al.</i> , 2014) |
| Alginato | Perlas de alginato para sistemas de administración de fármacos flotantes, perlas de alginato para liberación de ibuprofeno. | Ibuprofeno, diclofenaco | (Mogoşanu y Grumezescu, 2015; Tapia-Hernández <i>et al.</i> , 2015) |
| Pectina (Alto y bajo metoxilo) | Usado como estabilizante, emulsificante y aglutinante. Actividad anticancerígena, antiproliferativa, inmunomoduladora, excipiente en formas farmacéuticas orales solidas/semisólidas. | Clorhidrato de diltiazem e indometacina, teofilina, donepezil, doxorubicina, dihidroartemisinina | (Franchi, 2016; Kodoth <i>et al.</i> , 2019; Liu <i>et al.</i> , 2019; Kaushik <i>et al.</i> , 2019) |

2.6. Pectinas

Las pectinas son una clase de heteropolisacáridos estructurales complejos y es el componente multifuncional más abundante de la pared celular de las plantas terrestres. La pectina normalmente se produce durante las etapas iniciales de crecimiento de la pared celular primaria y constituye

aproximadamente el 35% de la sustancia seca de la pared celular de plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas, hasta un 5% de las paredes de los tejidos leñosos y solo del 2 al 10% de las paredes primarias de las gramíneas y otros comelinoides (Noreen *et al.*, 2017). En cuanto a su estructura química, dependerá de su origen, ubicación en la planta y el método de extracción (Dranca y Oroian, 2018).

2.6.1. Estructura Química

La pectina está compuesta principalmente por largas cadenas de residuos de α -D-galacturónicos que pueden presentar grupos carboxilos metilesterificados, denominadas homogalacturonano (HG) (Niture y Refai, 2013). De igual forma, pueden ser O-acetilados en las posiciones C-2 y C-3. Se presentan regiones intercaladas (región ramificada) por otros azúcares neutros como D-xilosa, D-glucosa, L-ramnosa, L-arabinosa y D-galactosa conocidas como ramnogalacturonano I y II (Kyomugasho *et al.*, 2016). Ramnogalacturonano I (RG-I) puede representar entre el 20-30% del total de la pectina y es una estructura compleja debido a que su esqueleto contiene una cantidad repetida del disacárido α -D-GalpA-(1 \rightarrow 2)- α -L-Rhap-(1 \rightarrow 4). En el caso de las pectinas feruladas, en esta región se encuentra a su vez con ramificaciones de arabinosa y galactosas donde el ácido ferúlico puede estar esterificado a arabinosa en posición O-2, O-5 y/o galactosa en posición O-6 (Ralet *et al.*, 2005). La última región es ramnogalacturonano II (RG-II) que consta del 1-8% en la estructura de la pectina, tiene un esqueleto de α -D-AGal con enlaces (1 \rightarrow 4) y 4 grupos laterales con 12 tipos de azúcares diferentes, entre los cuales se encuentran fucosa, xilosa, ramnosa o galactosa y otros en menor cantidad como apiosa, ácido acérico, ácido 3-desoxi-D-lixo-2-heptulosárico y ácido 3-deoxi-manooctulosónico (Albuquerque *et al.*, 2016; Yu *et al.*, 2014). Debido a la complejidad de su estructura el peso molecular de las pectinas está comprendido entre 50 000 y 180 000 Daltons (Jackson *et al.*, 2007).

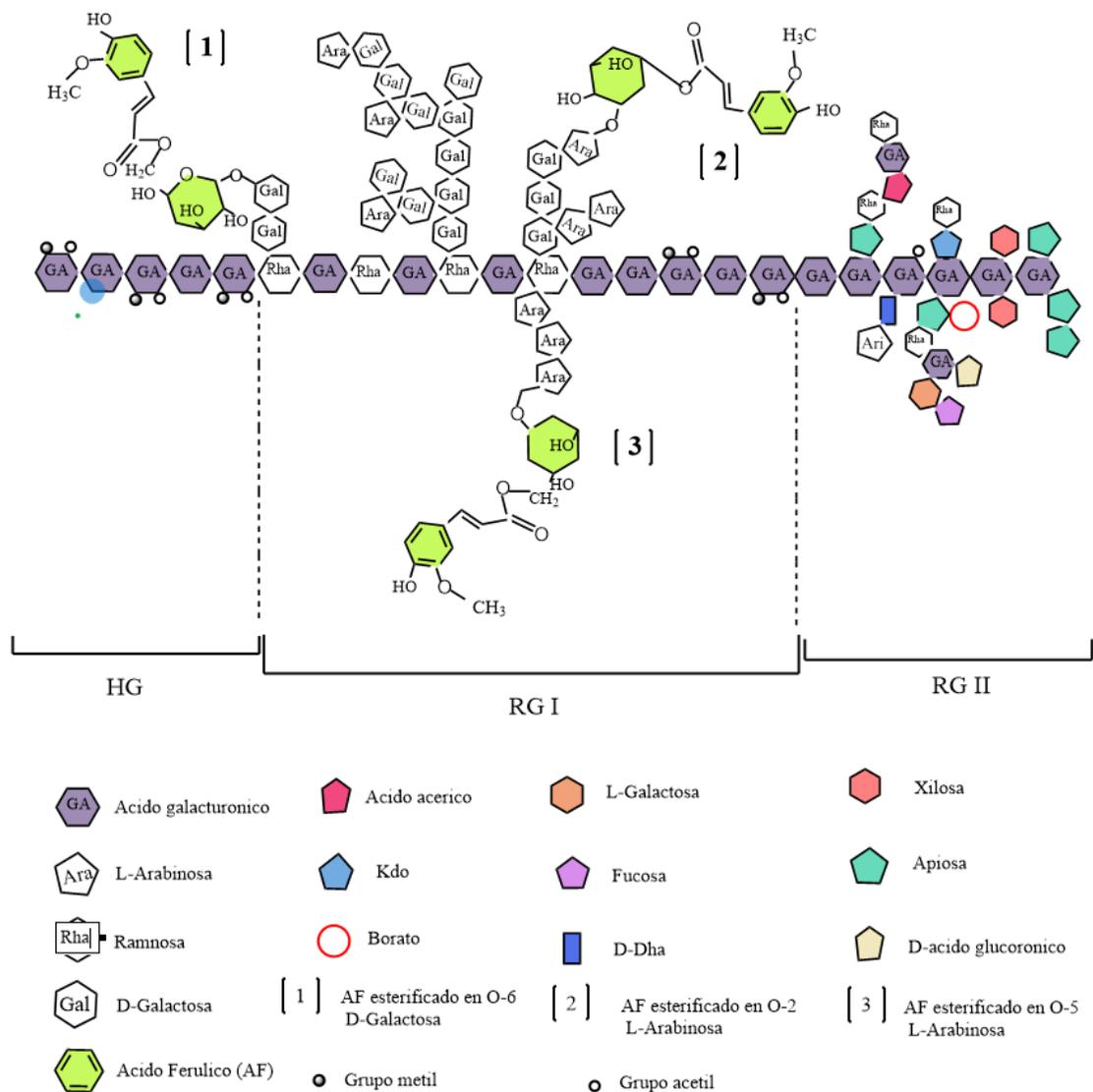


Figura 5. Representación esquemática de la estructura química de la pectina de remolacha azucarera (modificado de Ohlmaier-Delgado, 2021a).

2.6.2. Propiedades Químicas de las Pectinas

En las pectinas hay grupos de éster metílicos unidos a los residuos de ácido galacturónico en la región homogalacturonano (HG). La proporción de éster metílicos a menudo se usa para clasificar a las pectinas y se denomina grado de esterificación (DE). Las pectinas de alto grado de esterificación (DE >50%) forman geles a bajo pH y altas concentraciones de sólidos solubles, mientras que las pectinas de bajo grado de esterificación (DE <50%) forman geles en presencia de

iones Ca^{2+} . De este modo, el grado de metoxilación influye directamente en la capacidad formadora de gel de cada pectina (Zheng *et al.*, 2019).

2.6.3. Grado de Esterificación

Como se mencionó anteriormente, el HG puede contener grupos metilos esterificados al grupo carboxilo de sus unidades. Esta característica influye de manera importante en las propiedades de gelificación. En un análisis más detallado se ha encontrado que la presencia de grupos metoxilo por debajo o por encima del 50% del total de unidades de ácido galacturónico determina el mecanismo de entrecruzamiento predominante, dando origen a la clasificación de pectinas en alto y bajo metoxilo. El grado de metoxilación corresponde al porcentaje de grupos carboxilos esterificados con metanol (Levigne *et al.*, 2002). Sin embargo, en las últimas tres décadas han ganado atención pectinas ricas en ácido ferúlico en su región RG I que se han denominado pectinas feruladas.

2.7. Pectinas Feruladas

En las especies de la familia *Amaranthaceae* (*Caryophyllales*), así como en la remolacha azucarera (*Beta vulgaris*), espinaca (*Spinacia oleracea*), Salicornia (*Salicornia ramosissima*) y la quinoa (*Chenopodium quinoa*), los polímeros pécticos son ferulados (Fry, 1982; Rombouts y Thibault, 1986; Renard *et al.*, 1993a, 1993b). La pulpa resultante de la industrialización de *B. vulgaris* se ha convertido en una fuente comercial de pectina y la más ampliamente estudiada. De hecho, la pectina de *B. vulgaris* tiene propiedades de emulsificación excepcionales debido a sus grupos proteicos y grupos acetilo en comparación con las pectinas de otras fuentes (Wusigale *et al.*, 2020). Por otra parte, el ácido ferúlico (AF) es el principal éster de ácido hidroxicinámico unido a los polisacáridos de la pared celular vegetal y se conjuga con hemicelulosas y pectinas (Saulnier, 1999). El ácido ferúlico es susceptible al acoplamiento oxidativo cuando se expone a oxidación y

forma deshidrodiferulados esterificados que pueden reticular los polisacáridos, contribuyendo al ensamblaje durante la maduración de la pared celular primaria de las gramíneas y cereales (Burr y Fry, 2009). Los principales dímeros de AF (ver **Figura 6**) son 8-O-4, 5-5' y 8-5' (Waldron *et al.*, 1997). Esta propiedad se utiliza para formar hidrogeles covalentes estables a cambios de pH y temperatura (Kuuva *et al.*, 2003). Por otro lado, y aunado a lo anterior, la eliminación de grupos acetilo promueve mayor fuerza en los geles de pectinas de *B. vulgaris* (Marry *et al.*, 2000).

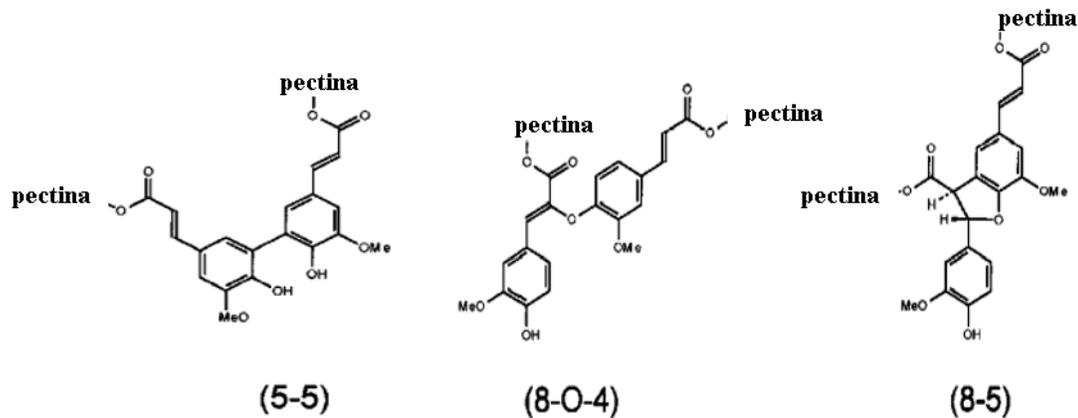


Figura 6. Estructura de los principales dehidrodímeros de ácido ferúlico en pectina (Oosterveld, 1997).

2.7.1. Ácido Ferúlico

El ácido ferúlico (AF) (ácido 4-hidroxi-3-metoxicinámico) es un ácido fenólico que se encuentra ampliamente en verduras, frutas, algunas bebidas y hierbas medicinales, además de estar enlazada con algunos polisacáridos. En pectina de remolacha, el AF se ha reportado que esterifica principalmente en C-2 de residuos arabinofuranosa y/o en el C-6 de residuos galactopiranososa presentes en las ramificaciones de RG I en pectinas de pulpa de remolacha azucarera, mostaza y espinaca (Kyomugasho *et al.*, 2016; Colquhoun *et al.*, 1994). Sin embargo, la extracción del AF de fuentes naturales es un poco complicada porque la mayoría de los ácidos ferúlicos están vinculados con azúcares y ligninas. Cabe resaltar que el AF es de gran interés para las industrias farmacéuticas y médicas debido a su actividad antioxidante, gracias a que neutraliza los radicales

libres (superóxido, óxido nítrico y radical hidroxilo) para proteger las células del daño inducido por la luz ultravioleta, evitando así el cáncer, el estrés oxidativo, las mutaciones y otras enfermedades (Phuengmaung *et al.*, 2019).

En las células cancerígenas se producen concentraciones altas de ROS, incluido H_2O_2 , especialmente en células que son altamente invasivas o metastásicas, por lo que es necesario un cierto nivel de estrés oxidativo para mantener un equilibrio entre la proliferación y la apoptosis. El AF posee propiedades antioxidantes y prooxidantes que se consideran importantes mecanismos anticancerígenos y apoptosis (Hiroe *et al.*, 2002). En las últimas décadas se han dado a conocer numerosos informes que describen las actividades anticancerígenas del ácido ferúlico. Por ejemplo, estudios recientes informan la citotoxicidad de esta molécula hacia células del seno humano, colon Caco-2, linfoma histiocítico U937, osteosarcoma, líneas celulares de cáncer de cuello uterino y melanoma; esto se debe a que el AF eleva las actividades de las enzimas desintoxicantes de la fase II, glutatión S-transferasa m(GST) y quinona reductasa (QR) en el hígado y colon (Ou y Kwok, 2004). Además existen otras rutas como la estimulación de las glucuronosiltransferasas de uridina difosfato (UDP) y la inhibición de la ciclooxigenasa-2 (COX-2), a través de la liberación del citocromo c de las mitocondrias y la activación de la caspasa-3 (inducción de apoptosis), que contribuyen a una mejor desintoxicación de compuestos potencialmente cancerígenos y a la prevención de cánceres como el gastrointestinal (Oliveira Silva y Batista, 2017; Van der Logt *et al.*, 2003). Consecuentemente, el ácido ferúlico ha ganado una atención importante por su actividad anticancerígena contra el cáncer de colon y recto.

2.8. Electroaspersión

La electroaspersión es un proceso de atomización líquida por fuerzas eléctricas también conocido como atomización electrohidrodinámica (Raval *et al.*, 2019).

En este proceso, el líquido de pulverización electrónica se bombea fuera de la aguja a través de una jeringa y se aplica un campo eléctrico entre la aguja y la placa colectora. Cuando el líquido se libera de la aguja, el campo eléctrico hace que las cargas se separen dentro del menisco líquido y toma la forma de un cono en la punta de la aguja, conocido como cono de Taylor, el cual cambia de forma

de acuerdo con las condiciones del proceso (Divvela *et al.*, 2019).

Esta técnica de microencapsulación es muy prometedora porque es fácil de implementar, funciona a temperatura ambiente y a presión atmosférica, puede generar gotas compuestas con una distribución de tamaño pequeño y puede usarse para encapsular una gran variedad de materiales (Olvera-Trejo y Velásquez-García, 2016). Dentro de las ventajas de este sistema de electroaspersión se encuentra su aplicación a polímeros de alto peso molecular y cuyas partículas producidas tienen características controlables con una retención máxima de la materia central (Koo *et al.*, 2014); utiliza menos solventes; no utiliza surfactante y genera pocos residuos. Una desventaja es la obtención de una pequeña cantidad de partículas y en algunos casos usa un agente de reticulación (Tapia-Hernández *et al.*, 2015).

Las partículas elaboradas por electroaspersión tienen ventajas estructurales y funcionales, y se puede utilizar para diferentes fines como el recubrimiento con película, el procesamiento de chocolate y la estabilización de ingredientes alimentarios, la encapsulación de nutraceuticos y medicamentos (Raval *et al.*, 2019). Díaz-Baca *et al.* (2014) elaboraron micropartículas de pectina LM/arabinosilanos como acarreador de insulina por electroaspersión coaxial; más tarde, Ohlmaier-Delgadillo *et al.* (2021b) utilizaron el mismo método para encapsular *Saccharomyces boulardii* en un gel mixto de pectinas LM feruladas/arabinosilanos con el objetivo de incrementar su supervivencia a bajas temperaturas y al pH del tracto gastrointestinal.

2.8.1. Micropartículas como Sistema de Liberación de Fármacos

El sistema a través del cual se libera el fármaco encapsulado capaz de producir una acción terapéutica propia es definido como sistema de administración de fármacos, dentro de los cuales se incluyen nanopartículas, cápsulas, micelas, perlas, geles, andamiaje y micropartículas (Hasnain *et al.*, 2020).

Cabe destacar que una de las ventajas de las micropartículas sobre las nanopartículas es que no atraviesan los espacios intersticiales que se encuentra entre las células principales de un órgano por encima del tamaño de 100 nm, por lo que actúan localmente (Lengyel *et al.*, 2019).

Un sistema de suministro de fármacos controlado es esencial para superar las limitaciones

asociadas con la terapia convencional y para ayudar a mejorar la eficiencia terapéutica del compuesto activo, liberando fármacos por días o meses. Desde este punto de vista, el uso de micropartículas a base de polisacáridos es una opción interesante para encapsular fármacos sólidos o líquidos en un tamaño que varía de 1 a 1000 μm , la cual se verá influenciada en función de la enfermedad a tratar, el sitio diana y el fármaco a encapsular, para así, producir una eficacia terapéutica (Soares *et al.*, 2013). De acuerdo con Bale *et al.* (2016), las micropartículas son sistemas de entrega exitosos que pueden encapsular agentes insolubles en agua y también escasamente solubles en agua, facilitando su eficacia, por su tamaño, forma, estructura, carga de fármacos, eficiencia de atrapamiento, porosidad y perfil de liberación.

La principal ventaja de la administración de medicamentos usando micropartículas es el mantenimiento de la concentración adecuada de medicamentos en el sitio deseado. Por lo cual, las micropartículas a base de polímeros desempeñan un papel clave como vehículos en la administración controlada de diferentes agentes terapéuticos (Jans y Sobolev, 2019; Naghizadeh *et al.*, 2018).

2.9. Sistema de Liberación

Para que un fármaco ejerza su efecto terapéutico es necesario que alcance la circulación general. Este proceso está condicionado por la vía de administración de manera que es necesario que el fármaco atraviese una o más membranas biológicas para alcanzar la circulación sistémica (Negro Álvarez y Barcia Hernández, 2002). La administración sistémica de medicamentos puede ser a través de las membranas nasales (ruta nasal), oftálmicas, transdermal y oral, entre otras.

La administración oral ofrece una accesibilidad excelente, de modo que los sistemas de liberación de fármacos pueden ser incorporados y eliminados con facilidad. Los tres sistemas de liberación comúnmente usados incluyen pastillas adhesivas, geles y parches adhesivos. Sin embargo, deben tenerse en cuenta algunos aspectos fisiológicos y anatómicos como el pH, el volumen de fluido, presencia de enzimas, propiedades adhesivas y la velocidad del flujo sanguíneo en la zona de administración (Sáez-Virginia *et al.*, 2003).

2.9.1. Mecanismo de Absorción

El proceso de absorción se puede efectuar por diferentes mecanismos, dentro de los cuales destaca la difusión a través de membranas lipídicas o bien de poros acuosos (difusión pasiva), por transporte mediado en la cual el fármaco se une a un portador (proteína) de la membrana, y transporte por pares de iones, esta difusión consiste en la unión de los compuestos con carga opuesta (**Cuadro 2**) (Negro-Álvarez y Barcia-Hernández, 2002; Kaur *et al.*, 2018). Los fármacos administrados sistémicamente se absorben en el torrente sanguíneo y, posteriormente, se distribuyen por todo el paciente huésped a través del sistema circulatorio (Namazi y Kanani, 2009; Zhu *et al.*, 2019).

Cuadro 2. Tipos de absorción y su mecanismo.

| Tipos de absorción | Mecanismo |
|-----------------------------|---|
| Difusión pasiva | Difusión a través de membranas lipídicas o de poros acuosos, donde el gradiente de concentración dependerá, principalmente, de la diferencia de concentración de fármaco a ambos lados de la membrana, el pH del medio biológico y de las características fisicoquímicas del fármaco como su pKa y liposolubilidad. |
| Transporte mediado | El fármaco se une a un componente de la membrana (portador) que permite su paso a través de esta. El portador es una proteína que forma parte de la membrana, de modo que primero se une el fármaco a la proteína, para luego producir un cambio conformacional en dicho portador. Por último, se realiza el paso del fármaco al otro lado de la membrana al liberarse de la unión. |
| Transporte por pares | Consiste en la unión de los compuestos de carga contraria, formando un par iónico con carga global nula, de manera que el complejo neutro resultante se difunde a través de la membrana |

2.10 Leyes de Fick

2.10. 1. Leyes de Difusión de Fick

La velocidad de difusión de una sustancia a través de una membrana está determinada por la Ley

de Fick, que dice que la velocidad de difusión es directamente proporcional a una constante (K), a la superficie de absorción (A) y al gradiente de concentración ($C1-C2$), e inversamente proporcional al grosor de la membrana (d) (Hernández-Jerez *et al.*, 2011).

$$V = K \frac{A(C1-C2)}{d} \quad (1)$$

2.10.2. Primera Ley de Fick

La difusión se rige por las leyes de Fick. La primera ley de Fick, también conocida como "ecuación de flujo", describe el flujo de materia resultante de un gradiente de concentración y un coeficiente de difusión dados. El gradiente de concentración es la fuerza impulsora termodinámica para la difusión y la cinética se rige por el coeficiente de difusión, también conocido como difusividad (Aloke Paul *et al.*, 2014).

$$J = -D \frac{d\varphi}{dx} \quad (2)$$

Donde, J: flujo de difusión, D: difusividad, $d\varphi/dx$: gradiente de concentración.

2.10.3. Segunda Ley de Fick

La segunda ley de Fick, también conocida simplemente como la "ecuación de difusión", se deriva de la primera ley de Fick y la conservación de la materia. La ecuación de difusión describe la evolución de los perfiles de concentración en el espacio y el tiempo. Las fuerzas impulsoras adicionales para la difusión pueden incluir gradientes de potencial eléctrico, gradientes térmicos, campos magnéticos y tensiones aplicadas (Rauma y Johanson, 2009).

$$\frac{\partial \varphi}{\partial t} = D \frac{\partial^2 \varphi}{\partial x^2} \quad (3)$$

Donde, D : difusividad, $\partial \varphi / \partial t$: gradiente de concentración.

3. HIPÓTESIS

Las micropartículas de pectinas feruladas de remolacha azucarera pueden ser matrices acarreadoras de doxorubicina que permiten su liberación en colon por acción de la microbiota colónica.

4. OBJETIVOS

4.1 General

Fabricar por electroaspersión micropartículas de pectinas feruladas, caracterizarlas morfológicamente y evaluar su capacidad para funcionar como matrices acarreadoras de doxorubicina que permitan su liberación en colon por acción de la microbiota colónica.

4.2 Específicos

- ❖ Extraer las pectinas feruladas a partir de residuos de remolacha azucarera (*Beta vulgaris*) y determinar su composición y características físicas y químicas.
- ❖ Optimizar condiciones del electroaspersor para la obtención de micropartículas de pectinas feruladas con doxorubicina y evaluar la eficiencia de encapsulación de este fármaco.
- ❖ Caracterizar la morfología de las micropartículas de pectina ferulada con doxorubicina.
- ❖ Evaluar la liberación de doxorubicina a partir de micropartículas de pectinas feruladas bajo condiciones simuladas del tracto gastrointestinal.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Material Vegetal y Reactivos

Los residuos de remolacha azucarera (*B. vulgaris*) provinieron de la industria productora de bioetanol “Destiladora del Noroeste”, ubicada en Caborca, Sonora, México. La doxorubicina (2mg/mL) marca ZODOX se adquirió en RCD PHARMA y fue almacenada bajo condiciones de refrigeración (4 °C) y protegida de la luz.

5.2. Extracción de Pectinas Feruladas

Las pectinas de residuos de *B. vulgaris* se extrajeron por hidrólisis ácida con HCl 0.1 M por 2 h a 85 °C, usando una relación sólido líquido de 1:10 (p/v). El hidrolizado se filtró con tela de organza, el sobrenadante fue centrifugado (Thermo Scientific, EE.UU.) a 10,000 g a 25 °C por 20 min, de acuerdo con la metodología descrita por Li *et al.* (2015) con algunas modificaciones. Posteriormente se recolectó el sobrenadante y se precipitó con etanol al 96% (1:2 v/v) durante 24 h en refrigeración, se retiró el exceso de etanol centrifugando a las condiciones antes descritas y el precipitado se recolectó y lavó 3 veces con etanol al 50%, 75% y 96% (v/v). Las pectinas se secaron por intercambio de solvente etanol-acetona en embudo de borosilicato, se pulverizaron y pesaron. El segundo tratamiento consistió en disolver las pectinas en agua miliQ (1:200) durante 15 h, se filtró por membranas de 3, 1.2 y 0.8 µm, se precipitó con etanol al 70% (v/v), se centrifugó a 10,000 g a 25°C por 10 min y se lavó dos veces más con etanol 96% (v/v). Por último, se repitió el secado por intercambio de solventes con bomba de vacío en embudo de borosilicato (ROBU-GLAS, Alemania) a polvo de acetona. Las pectinas recuperadas fueron molidas, pesadas y almacenadas protegidas de la luz.

5.3. Composición Física y Química

5.3.1. Contenido de Azúcares

El perfil de azúcares de la pectina se determinó por la técnica alditol-acetato reportada por Blakeney *et al.* (1983). Las pectinas se hidrolizaron (20.00 ± 5.00 mg) con 1 mL de H_2SO_4 3 N y 500 μ L de inositol (estándar interno). Las muestras se colocaron en una placa de calentamiento (TECHNE, Dri-Block, DB200/3, New Jersey, EE.UU.) a 120 °C por 3 h. La reacción fue detenida en una cama de hielo y posteriormente se agregaron 0.5 mL de amoníaco. Para la etapa de reducción se tomaron 150 μ L de la muestra hidrolizada y se agregó 1 mL de $NaBH_4$ /DMSO, 100 μ L de ácido acético glacial y se agitó; seguidamente se procedió a la acetilación con 150 μ L de 1-metilimidazol y 2 mL de anhídrido acético. Se agregaron 2 mL de cloroformo y se lavó (2 veces) con 6 mL de agua mili-Q (18,2 M Ω cm), por último, se transfirió 1 mL de la fase clorofórmica a viales de 2 mL, previamente filtrados por membrana de 0.45 μ m (Whatman). Las muestras fueron analizadas por cromatografía de gases (PerkinElmer, Claurus 580, Shelton, Connecticut, EE. UU.) usando una columna capilar (Elite 225, PerkinElmer, 30 mL x 0.32 mm DI x 0.15 μ m) con temperatura de horno de 205 °C, inyector de 220 °C y detector de ionización de flama a 260 °C. Los análisis se realizaron por triplicado.

5.3.2. Contenido de Ácido Galacturónico

El contenido de ácido galacturónico se determinó por el método descrito por Urias-orona *et al.* (2010) usando como estándar interno manitol (500 μ L) en 10 mg de pectina. Se añadieron 500 μ L de TFA 4N y se agitó en vortex, posteriormente se colocó en un termoblock (TECHNE, Dri-Block, DB200/3, New Jersey, EE.UU.) a 120 °C por 2 h para hidrolizar la muestra. Al finalizar se tomaron 500 μ L del hidrolizado, se evaporó a 50°C con aire, se agregaron 200 μ L de agua grado HPLC y se dejó evaporar dos veces más. En la última evaporación la muestra seca se resuspendió en 500

mL de H₂SO₄ 0.001 N, se filtró a 0.45 μm (Whatman) para su lectura en cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, VARIAN Prostar 210 con índice de refracción y detector Prostar 350, Australia) usando columna MetaCarb H Plus (Agilent, Santa Clara, EE.UU., 7.8 x 300 mm) a 70 °C con presión a 794 psi. La fase móvil fue ácido sulfúrico 0.001 N y el flujo de elución de 0.4 mL/min.

5.3.3. Determinación de Proteínas

El contenido de proteínas se determinó por el método de Bradford (1976). El ensayo consistió en mezclar 60 μL de la muestra (10 mg/mL) con 740 μL de agua más 200 μL del reactivo Bio-rad (azul de Coomassie R-250). Se procedió a medir la absorbancia a 595 nm, mediante el espectrofotómetro (HACH modelo DR500 UV-VIS, Alemania). Se utilizó como proteína estándar seroalbúmina bovina en el rango de 0.03 a 0.15 mg/mL.

5.3.4. Contenido de Ácido Ferúlico

La cuantificación de ácidos fenólicos se realizó por cromatografía líquida de alta resolución. El ácido ferúlico (AF) fue extraído mediante un proceso de saponificación controlada y recuperación en éter de acuerdo con Vansteenkiste *et al.* (2004). Se pesaron 100 mg de pectina, se agregaron 10 mL de NaOH 2 N en una atmósfera enriquecida con nitrógeno y se incubaron por 2 h en oscuridad a 35 °C. Posteriormente se adicionaron 100 μL de ácido 3,4,5 trimetoxi-trans-cinámico (TMCA) como estándar interno, se agregaron 5 mL de HCl 4 N y se ajustó el pH a 2.0 ±0.2 con HCl 0.1 N. Los ácidos fenólicos fueron extraídos dos veces con 5 mL de éter dietílico y evaporados bajo un flujo de nitrógeno (T<40 °C). El extracto seco se recuperó en 1 mL de una mezcla metanol/agua (50/50), se filtró (0.45 μm) e inyectó (20 μL) en una columna Altima C18, 5 μm (250 x 4.6 mm, Alltech, Deerfield, IL). Se utilizó como fase móvil una solución reguladora de acetato de sodio 0.07 M (pH 4.6). El equipo utilizado fue un HPLC Waters 996 (Millipore Co., Milford, MA.)

equipado con un detector de arreglo de diodos Waters 996 (Millipore Co., Milford, MA.). La detección se realizó a 320 nm (Carvajal-Millán *et al.*, 2007).

5.3.5. Volumen Parcial Específico

El volumen parcial específico se determinó por el método descrito por Atkins y de Paula (2008). Se pesaron matraces vacíos de 50 mL con sus respectivos tapones, posteriormente se aforó con la mezcla de NaCl y pectina (2 mg/mL) y se pesó (triplicado). El volumen parcial se calculó de acuerdo con la ecuación 4.

$$V \frac{1}{\rho} = \frac{v}{m_{total}} \quad (4)$$

5.3.6. Identidad Molecular FT-IR

La identidad molecular de la pectina se investigó mediante el análisis de Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (FT-IR). Se utilizó un equipo NICOLET IS-50 (Thermo Scientific™, EE.UU.) con detector refractivo atenuado. El espectro se registró de 4000 a 400 cm⁻¹ (Monsoor *et al.*, 2001). Se estimó el grado de esterificación según lo reportado por Urias-Orona *et al.* (2010).

$$DE = \frac{\text{área de grupos carboxilos esterificados}}{\text{área de grupos carboxilos esterificados} + \text{área de grupos carboxilos no esterificados}} \times 100 \quad (5)$$

5.4. Características Macromoleculares

La viscosidad intrínseca ($[\eta]$), las constantes Mark-Houwink-Saturada (K y α), el peso molecular promedio (M_w), el peso molar promedio en número (M_n), el índice de polidispersidad (PDI, M_w/M_n), el radio de giro (RG) y el radio hidrodinámico (R_h) fueron determinados mediante la configuración de cromatografía líquida de alta resolución por exclusión de tamaño combinada con un detector de dispersión de luz láser de ángulo múltiple (SEC-MALLS, Wyatt Technology, Santa Barbara, CA, EE. UU.) La muestra de pectina (5 mg) se dispersó en 1 mL de fase móvil (azida de sodio 0.02% p/v y nitrato de sodio 50 mM), se colocó a baño maría a 80 °C por una hora agitando cada 30 min. Posteriormente se enfriaron a temperatura ambiente y se centrifugó a 15,000 g durante 10 min. Se filtraron por membrana de 0.45 μm y finalmente se inyectó en el equipo con una velocidad de flujo de 0.7 mL/min. El valor del incremento del índice de refracción (dn/dc) fue 0.148 mL.g⁻¹ (Hotchkiss *et al.*, 2020; Ohlmaier-Delgadillo *et al.*, 2021b).

5.5. Actividad Antioxidante

La actividad antioxidante se determinó por el método ABTS y el método DPPH. Se utilizaron curvas de calibración de Trolox (ácido 6-hidroxil-2, 5, 7,8 tetrametilchoman-2-carboxílico) en agua miliQ (0-15.0 $\mu\text{g/mL}$). La dispersión de pectina en agua miliQ (2000 $\mu\text{g/mL}$) se preparó utilizando un homogeneizador ultrasónico (OMNI Sonic Ruptor 400, Kennesaw, GA, EE. UU.) a 50 pulsos y 30% de potencia durante 5 min a 25°C. La solución de DPPH se preparó mezclando 1.8 mg de DPPH y 30 mL de metanol hasta su disolución para posteriormente añadir 20 mL de agua miliQ (protegido de la luz). Se mezclaron alícuotas de 400 μL de las soluciones de muestra con 350 μL de metanol absoluto y 750 μL de DPPH, se agitó en vortex y se dejó en oscuridad analizando a los 40 y 60 minutos en espectrofotómetro de microplacas (Thermo Scientific Multiskan Go, Madrid, España) a 515 nm. El método ABTS se siguió de acuerdo con Malunga y Beta. (2015). La absorbancia del sobrenadante de la muestra más el reactivo ABTS se midió a 734 nm después de 7, 15 y 21 min. Todos los resultados se expresaron como μmol de capacidad equivalente a Trolox por gramo de muestra ($\mu\text{mol TEAC/g}$).

5.6. Fabricación de Micropartículas

La fabricación de las micropartículas de pectina se realizó por el método de electroaspersión coaxial. Se usó un controlador de voltaje (Profector TM, Dublin, Irlanda) y dos bombas programables (WorldPrecision Instruments, AL-1000, Sarasota FL, USA). Se utilizó pectina ferulada de remolacha azucarera al 4% (jeringa externa) y solución de DOX a 2mg/mL (jeringa interna), la recepción de las micropartículas se realizó en un volumen de 100 mL de solución entrecruzante de CaCl₂ al 1% (p/v) disuelta en etanol al 50% (v/v). Las micropartículas se almacenaron en solución de CaCl₂ al 1% a 4 °C. El esquema de la fabricación se muestra en la **Figura 7**. El voltaje aplicado y el flujo de inyección externo se manejaron en base al diseño experimental descrito en la **Cuadro 3**.

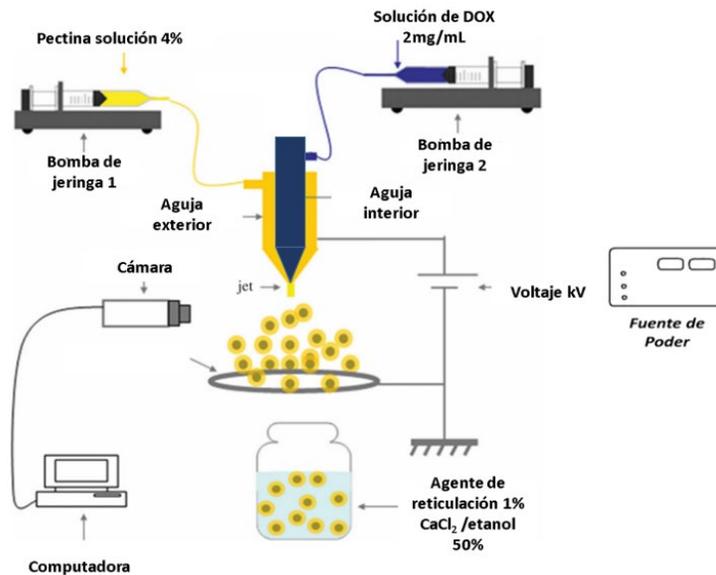


Figura 7. Esquema de fabricación de micropartículas. Adaptado de Enayati *et al.* (2009).

5.6.1. Tamaño de Micropartículas

El tamaño de las micropartículas fabricadas por electroaspersión se determinó en un microscopio

invertido (Zeiss Axio Vert. A1, Carl Zeiss Microscopy, Jena, Alemania) vinculado con el software de análisis de imagen Carl Zeiss. Las micropartículas se colocaron en portaobjeto de vidrio (triplicado) y se fijaron a temperatura ambiente. Posteriormente se observó el tamaño y distribución de las micropartículas (100-150) con el objetivo 5×, 20× y 40×.

5.7. Eficiencia de Encapsulación

La carga de fármaco en las micropartículas de pectina y la eficiencia de encapsulación de las mismas se determinó a partir de la diferencia entre el total de fármaco suministrado en el equipo (W_t) y las concentraciones de fármaco libre (W_f) concentrado en el sobrenadante. La mezcla entre las micropartículas y agua miliQ se centrifugó a 5000 g /15 min /25°C. La cantidad de DOX libre que quedó en el sobrenadante de la solución se determinó midiendo la absorbancia a 485 nm en un espectrofotómetro UV-VIS (HACH modelo DR500 UV-VIS, Alemania) (Kamba *et al.*, 2013). Se utilizó una curva de calibración de DOX en concentraciones de 10, 20, 30, 40, 50, 60 y 70 µg/mL. La carga de fármaco y la eficacia de encapsulación fueron calculadas de acuerdo con las siguientes ecuaciones.

$$\text{Contenido de DOX} = \frac{W_t - W_f}{W_{np}} \quad (6)$$

$$\text{Eficiencia de encapsulación} = \frac{W_t - W_f}{W_t} \times 100 \quad (7)$$

Donde W_t = el peso total del fármaco suministrado, W_f = el peso del fármaco libre no encapsulado, W_{np} = el peso de las micropartículas.

5.8. Simulación *in vitro* Digestión Gastrointestinal

Se prepararon distintas soluciones patrón (0.5 M KCl, 0.5 M KH₂PO₄, 2 M NaHCO₃, 2 M NaCl,

0.15 M MgCl₂ y 0.5 M (NH₄)₂CO₃) a partir de las cuales se simularon las condiciones del fluido salival (SSF), el fluido gástrico (SGF) y el fluido intestinal (SIF). Para SSF se tomaron 6.04 mL de KCl, 1.48 mL KH₂PO₄, 2.72 mL NaHCO₃, 0.2 mL MgCl₂ y 0.024 mL (NH₄)₂CO₃, se añadieron en un matraz volumétrico y se aforó a 200 mL. Para SGF se tomaron 2.76 mL de KCl, 0.36 mL KH₂PO₄, 5 mL NaHCO₃, 4.72 mL NaCl, 0.16 mL MgCl₂ y 0.2 mL (NH₄)₂CO₃, aforado a 200 mL y para SIF se utilizaron 2.72 mL de KCl, 0.32 mL KH₂PO₄, 17 mL NaHCO₃, 3.84 mL NaCl y 0.44 mL MgCl₂, aforado a 200 mL (Minekus *et al.*, 2014).

En la **Figura 8** se muestra el esquema representativo de la simulación *in vitro*. Primeramente, se colocó 1 g de micropartículas SBP-DOX (Sugar Beet Pectin-Doxorubicin) en un tubo Falcon de 50 mL, se añadieron 3.5 mL SSF, 0.5 mL de solución de α-amilasa (150 U/mL) previamente diluida en solución SSF, 25 μL CaCl₂ 0.3 M y 975 μL de agua miliQ, se agitó suavemente, se ajustó el pH a 7 e incubó a 37°C por 2 min a 100 rpm (IKA KS 3000 IC CONTROL, Staufen, Germany). Una vez terminado el tiempo, se tomó una alícuota (1 mL) de muestra y se almacenó a -20 °C. En el mismo tubo se acondicionó la muestra a simulación gástrica (SGF) ajustando la proporción 1:1. Partiendo del volumen final, se añadieron 3.7 mL de SGF, 0.8 mL de pepsina porcina (25000 U/mL de solución SGF), 2.5 μL de CaCl₂ 0.3 M, 0.1 mL de HCl 1 M y 0.347 mL de agua, se ajustó el pH a 3 y se mantuvieron a las mismas condiciones de agitación durante 2 h tomando una alícuota (1 mL) al término de la incubación.

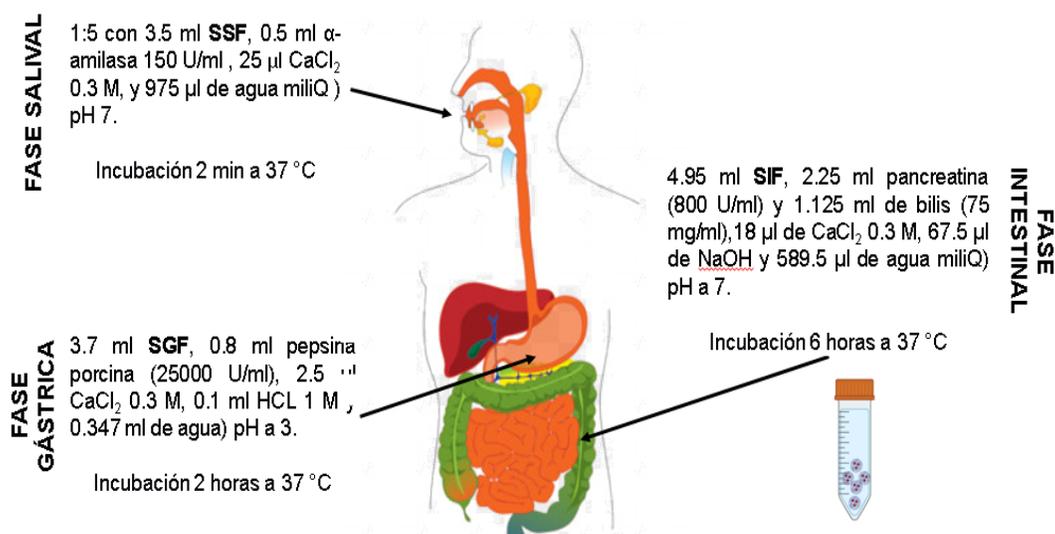


Figura 8. Esquema representativo de las distintas etapas de la simulación *in vitro*.

En el mismo tubo se añadieron 4.95 mL de SIF, 2.25 mL de pancreatina (800 U/mL) y 1.125 mL de bilis (75 mg/mL) diluida en solución SIF, 18 μ L de CaCl_2 0.3 M, 67.5 μ L de NaOH y 589.5 μ L de agua miliQ. Se ajustó pH a 7 (Marseglia *et al.*, 2019) e incubó por 6 h a las mismas condiciones, tomando una alícuota (1 mL) al cabo de 1, 4 y 6 h. Todas las muestras se guardaron en congelación a -20 °C protegidas de la luz, hasta su posterior cuantificación en espectrofotómetro a 485 nm.

5.8.1. Simulación Colónica *in vitro* (SC)

La simulación colónica se realizó siguiendo el protocolo de Pérez-Burillo *et al.* (2021), con algunas modificaciones. Primeramente, se recolectó material fecal humano proporcionado por dos voluntarios sanos, sin consumo de antibióticos en los últimos tres meses, posteriormente se preparó buffer PBS (Tampón Fosfato Salino) 0.1 M a pH 6.8, del cual se tomaron 100 mL y se mezcló con 10 g de heces para enseguida filtrar por tela de organza. Se tomaron 10 mL de la mezcla y se añadieron a los tubos utilizados en la simulación anterior (SIF). Cabe mencionar que se dejó 1 g del sedimentado de la solución de SIF. A continuación se dejó en incubación a 37 °C/30 rpm durante 24 h y se tomó un alícuota (1 mL) al finalizar la incubación.

5.9. Cinética de Liberación de Fármaco

La cinética de liberación de DOX se investigó utilizando las ecuaciones Korsmeyer-Peppas, Higuchi, cinética del orden cero y de primer orden (Cheewatanakornkool *et al.*, 2017). La simulación del modelo y su porcentaje disuelto se calculó con base en la NOM-177-SSA1-1988 (ecuación 12 y 13). Los datos fueron evaluados de acuerdo con las siguientes ecuaciones utilizando los programas Excel, 2013 y KaleidaGraph, 2005.

Modelo orden cero:

$$M_t/M_\infty = kt \quad (8)$$

Modelo primer orden:

$$\ln (1-(M_t/M_\infty)) = -kt \quad (9)$$

Ecuación Higuchi:

$$M_t/M_\infty = kt^{1/2} \quad (10)$$

Modelo Korsmeyer- Peppas:

$$M_t/M_\infty = kt^n \quad (11)$$

Por ciento disuelto:

$$E_i = (X_i) (F_d) (v) \quad (12)$$

$$\% D_i = (D_i/Dosis) * 100 \quad (13)$$

Donde M_t/M_∞ corresponde a la fracción de fármaco liberado al tiempo t ; siendo k la constante de liberación que es característica para las interacciones polímero-fármaco, mientras que n es igual al exponente de difusión que es característico del mecanismo de liberación.

E_i =mg disueltos en el volumen de la muestra tomada al i -ésimo tiempo, X_i = concentración al i -ésimo tiempo, F_d = factor de dilución de la muestra, v = volumen de la muestra, $\% D_i$ = por ciento del principio activo disuelto al i -ésimo tiempo de muestreo, D_i = mg disueltos al i -ésimo tiempo de muestreo y $Dosis$ = mg de principio activo indicado en la etiqueta del fármaco.

5.10. Diseño Experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3^2 presentados en el **Cuadro 3**, con el fin de evaluar la interacción de los parámetros principales de la electroaspersión coaxial y conocer su relación sobre la variable respuesta.

Cuadro 3. Corridas experimentales para la fabricación de micropartículas.

| Corrida | Código | | Decodificado | |
|---------|--------|----|--------------|------------|
| | X1 | X2 | Voltaje kV | Flujo mL/h |
| T1 | -1 | +1 | 8 | 1.4 |
| T2 | -1 | 0 | 8 | 1 |
| T3 | -1 | -1 | 8 | 0.685 |
| T4 | 0 | +1 | 8.5 | 1.4 |
| T5 | 0 | 0 | 8.5 | 1 |
| T6 | 0 | -1 | 8.5 | 0.685 |
| T7 | +1 | +1 | 9.5 | 1.4 |
| T8 | +1 | 0 | 9.5 | 1 |
| T9 | +1 | -1 | 9.5 | 0.685 |

Se utilizaron tres niveles factoriales (-1, 0, 1) y dos parámetros principales, voltaje (X1) del campo eléctrico (kV) y el flujo (X2) de inyección externo (mL/h), resultando 9 tratamientos (T1-T9) teniendo como variable respuesta el tamaño de partícula (μm). Se empleó un modelo lineal general del paquete estadístico NCSS 2021 para el análisis de los datos.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Rendimiento de la Extracción de Pectinas

La pectina extraída a partir del residuo de remolacha azucarera (SBP) tuvo como rendimiento de 6% p/p a partir del peso de residuo de remolacha azucarera (2 kg), los resultados fueron calculados a partir de la fórmula 14 descrita por Seggiani *et al.* (2009).

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{pectina (g)}}{\text{residuos de remolacha azucarera (g)}} \times 100\% \quad (14)$$

Este rendimiento (6% p/p) fue menor al reportado por Pacheco *et al.* (2019) (16.72%) y también por Li *et al.* (2015) (9.54%) en condiciones de hidrólisis de 90 °C por 120 min, un pH de 2 y una relación peso/volumen de 15, condiciones similares a las utilizadas en el presente estudio. Sin embargo, este valor es mayor al reportado por Ohlmaier-Delgadillo *et al.* (2021a) de 4.4% p/p. Un menor rendimiento de extracción se puede asociar con las condiciones de almacenamiento de los residuos de remolacha, las condiciones de extracción, el pH, la naturaleza del ácido, la temperatura y el tiempo de hidrólisis, parámetros en los cuales hace énfasis Santos *et al.* (2020). El uso de altas temperaturas puede disminuir el contenido de homogalacturonanos por la despolimerización de la cadena de las pectinas. Los parámetros óptimos y un solvente adecuado en la extracción pueden hidrolizar la pectina insoluble produciendo pectinas solubles. Igualmente, el tipo de material vegetal influye directamente en la cantidad de pectina extraída, siendo un parámetro de gran interés para aplicaciones futuras. El material de partida del presente trabajo es similar al reportado por Ohlmaier-Delgadillo *et al.* (2021a), lo cual explica valores de rendimiento cercanos.

6.2. Composición y Características Físicas y Químicas

6.2.1 Contenido de Ácido Galacturónico y Azúcares Neutros

La composición química de la pectina de remolacha azucarera (Sugar Beet Waste-Pectin, SBP) se presenta en el **Cuadro 4**. El contenido de ácido galacturónico fue del 50.1% p/p, el cual es comparable con el valor reportado por Pacheco *et al.* (2019) de 49% y Ohlmaier-Delgadillo *et al.* (2021a) de 52.2%. Ambos autores partieron de un material vegetal similar al utilizado en el presente trabajo para la extracción de pectinas. Un alto porcentaje de ácido galacturónico en pectinas está relacionado con su pureza, por lo que su cuantificación es importante para determinar el contenido de pectina en el producto. Además, como se mencionó anteriormente, las condiciones de extracción podrían inducir cambios en la estructura química de las pectinas extraídas, como el contenido de ácido galacturónico.

SBP presenta también ramnosa ($1.40 \pm 0.10\%$), arabinosa ($4.00 \pm 0.22\%$), galactosa ($3.62 \pm 0.05\%$) y manosa ($3.70 \pm 0.03\%$), azúcares correspondientes a la estructura ramificada de las pectinas. Estos resultados son comparables con los de Pacheco *et al.* (2019) en la cantidad de arabinosa (2.82%), manosa (3.06%) y glucosa (12.60%). El contenido de xilosa (0.3%) es comparable con el de Li *et al.* (2015). El contenido notablemente alto de glucosa (8.4%) en SBP, frente a los demás azúcares, concuerda con la posible presencia de oligómeros de celulosa unida a la pectina, como lo sugiere Nunes *et al.* (2012). En su estudio, estos autores mencionan que al extraer pectina de diferentes orígenes por hidrólisis ácida mostró residuos de glucosa o celobiosa unida a la cadena ácido α -(1 \rightarrow 4)-D-galacturónico. Por otro lado, es de interés mencionar que los oligosacáridos de pectina (arabinooligosacáridos, ramnogalacturonoligosacáridos y arabinogalactooligosacáridos), son una fuente benéfica que puede actuar como prebiótico (Corzo *et al.*, 2015), sin embargo, no hay suficientes estudios que destaquen dicha capacidad.

Cuadro 4. Composición química de SBP.

| Componente | % en base seca de pectina |
|--|----------------------------------|
| Ácido galacturónico | 50.1 ± 1.4 |
| Ramnosa * | 1.4 ± 0.1 |
| Arabinosa* | 4.0 ±0.2 |
| Xilosa* | 0.61±0.05 |
| Manosa * | 3.70 ±0.03 |
| Galactosa * | 3.62 ±0.05 |
| Glucosa * | 8.4 ±0.1 |
| Proteína * | 0.8 ± 0.1 |
| Ácido ferúlico total (µg/mg) | 0.037 ± 0.001 |
| Dímeros de ácido ferúlico 5-5' (µg/mg) | 0.0007 ± 0.001 |

Valores presentados en media ± desviación estándar (n=3)

*Resultados mostrados en % en base seca (g/100g de SBP)

6.2.2. Contenido de Proteínas

El contenido de proteínas fue menor a lo reportado por Ohlmaier-Delgadillo *et al.* (2021b) (2.4 ± 0.1%) Esta proteína tiene un papel importante en la propiedad emulsificante de la pectina. La importancia de estas moléculas se deriva de la función que ejerce al unirse covalentemente a ramificaciones de la pectina, interacción que contribuye a su propiedad emulsificante (Mungure *et al.*, 2018). La cuestión planteada anteriormente está relacionada con la capacidad de las moléculas de proteína para abrirse en un medio acuoso-lipídico, de tal manera que permite que sus grupos externos cargados eléctricamente se unan a las moléculas de agua y que los aminoácidos no polares internos se liberen y se unan a partículas oleosas (emulsión) (Pacheco *et al.*, 2019). Por todo lo anterior, la composición fisicoquímica contribuye a la estabilidad de la dispersión de moléculas de interés en un ambiente acuoso.

6.2.3. Contenido de Ácido Ferúlico

La presencia de residuos de ácido ferúlico (AF) así como los grupos carboxílicos esterificados en las cadenas del ácido galacturónico también influyen en la eficiencia de emulsificación de la pectina (Chen *et al.*, 2015).

Por otra parte, la presencia de ácido ferúlico en SBP puede ser de gran interés en la industria farmacéutica debido a su propiedad antioxidante (García-Conesa *et al.*, 1997). El contenido de AF en SBP fue de 0.037 ± 0.001 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de pectina, cantidad menor a la reportada por Phatak *et al.* (1988) de 0.68 mg/g, Ralet *et al.* (2005) de 2.1 mg/g y Ohlmaier-Delgadillo *et al.* (2021a) de 2.1 ± 0.1 mg/g. En cuanto a los dímeros y trímeros de AF, solo una cantidad menor (0.0007 $\mu\text{g}/\text{mg}$) del dímero 5-5' fue registrada. El valor tan bajo de AF no permite el entrecruzamiento covalente por acoplamiento oxidativo como en otros reportes de pectinas de *Beta vulgaris*; sin embargo, su presencia favorece la interacción con moléculas de diversos tipos.

6.2.4. Volumen Parcial Específico

En cuanto al volumen parcial específico, el valor fue de 0.9984 mL/g. Esta variable indica el volumen ocupado por unidad de masa. No depende de la cantidad de materia ya que es una propiedad intrínseca, su valor permanece inalterable y dependerá principalmente de la composición y estructura química de la sustancia a tratar (López, 2020). Sin embargo, para pectina de residuos de remolacha no se ha reportado dicho valor.

6.3. Identidad Molecular y Grado de Metoxilación

El FT-IR de SBP se muestra en la **Figura 9**. Se puede observar que la muestra presenta bandas de absorción desde $500\text{-}4000$ cm^{-1} , siendo las bandas anchas de 3000 cm^{-1} y 3245 cm^{-1}

correspondientes a la vibración de estiramiento de los grupos O-H unidos por enlaces de hidrógeno del ácido galacturónico para SBP (Ohlmaier-Delgadillo *et al.*, 2021a). La banda 2920 cm^{-1} corresponde a los ésteres metílicos de ácidos galacturónicos, mientras que las bandas 1720 cm^{-1} se asocian con las vibraciones de los grupos carboxilos esterificados o éster carbonilo (C=O) y el pico o banda 1600 cm^{-1} pertenece a los grupos carboxilos libres (COO^-). En el caso de las pectinas, la espectroscopia muestra que entre las bandas 1200 cm^{-1} y 1950 cm^{-1} se presenta la “huella digital” característica para pectina según lo descrito por Monsoor *et al.* (2001). Dentro de esta región, una pequeña señal a 1410 cm^{-1} puede atribuirse a las vibraciones de estiramiento simétrico del grupo funcional COO^- de cadenas laterales de compuestos derivados producidos por el efecto del proceso de extracción. Cabe mencionar que se observan las diferencias esperadas en las bandas correspondientes a los carboxilos esterificados y no esterificados, donde en la pectina presenta una pequeña banda correspondiente a los carboxilos no esterificados (1698 cm^{-1}) y carboxilos esterificados (1504 cm^{-1}). Con estos datos se pudo estimar el grado de esterificación (GE) de acuerdo con la fórmula utilizada por Urias-Orona *et al.* (2010), infiriendo un GE del $23\pm 0.66\%$ e indicando ser pectina de bajo metoxilo.

Cabe resaltar que el grado de esterificación y las propiedades de la pectina influyen en el mecanismo de gelificación (Hwang *et al.*, 1992).

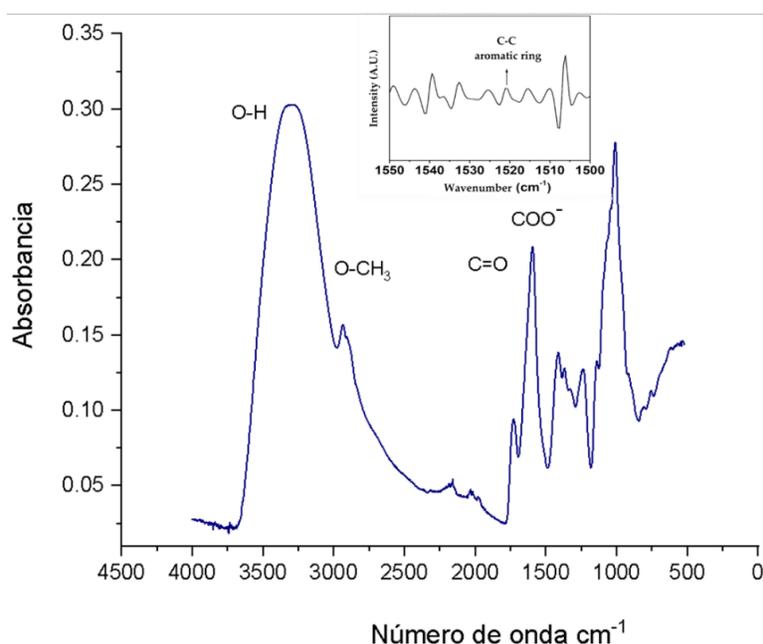


Figura 9. Espectroscopia FT-IR de pectina de residuo de remolacha azucarera.

6.4. Características Macromoleculares

El **Cuadro 5** presenta las características macromoleculares de SBP. El valor de la viscosidad intrínseca $[\eta]$ de 23.93 g/mL es menor a los reportados para pectinas de otras fuentes. Aunque Kar y Arslan (1999) dan a conocer que la viscosidad de la pectina se ve afectada por el tamaño molecular, el grado de metoxilación, el pH, la presencia de contraiones y la sacarosa, un valor bajo de $[\eta]$ en la pectina de remolacha puede estar relacionado con cadenas moleculares bastante rígidas provocada por su estructura altamente ramificada (RG I y RG II). Una baja viscosidad puede resultar benéfica para el desarrollo de bebidas bajas en calorías con alto contenido de fibra (Phatak *et al.*, 1988). El peso molecular (M_w) (358 kDa) está en el rango reportado por otros autores para pectina de remolacha de desechos industriales similares como Ohlmaier-Delgadillo *et al.* (2021b) y Phatak *et al.* (1998). El M_n de pectina de remolacha fue de 67 kDa, la relación entre M_w y M_n muestra el valor del índice de polidispersidad (PDI), que es una medida de la amplitud de la distribución del peso molecular. Para SBP el PDI fue de 5.67, un valor alto que indica que existen cadenas de diversos tamaños. Por otra parte, el radio de giro (RG) y radio hidrodinámico (Rh) fueron 46.7 nm y 8.40 nm, respectivamente. El valor de RG obtenido en el presente estudio es cercano al reportado por Ohlmaier-Delgadillo *et al.* (2021b) de 45 nm. Los valores de RG, Rh y $[\eta]$ encontrados en el presente estudio son comparables con los de Hotchkiss *et al.* (2020), los cuales variaron de 40-48.9 nm, de 52-63.3 nm y de 37-280 mL·g⁻¹, respectivamente. Cabe resaltar que el valor de Rh es menor a lo obtenido por los autores antes mencionados y esto se puede deber a la fuente vegetal o a las condiciones de extracción, como se había mencionado en la sección de rendimiento.

Las constantes Mark-Houwink-Sakurada para la pectina de remolacha fueron $\alpha = 0.327$ y $K = 0.680$. Estas constantes se pueden utilizar para estudiar la conformación molecular de SBP. Se ha establecido que el exponente α generalmente se encuentra en el rango de 0.5-0.8 para polisacáridos, siendo más alto al aumentar la rigidez de la cadena. La constante α es un indicador de la interacción entre el polisacárido y el solvente, donde un valor de α bajo indica un solvente pobre y un valor de α alto indica un buen solvente (Fishman *et al.*, 2008). En nuestro caso, SBP presentó un valor menor a 0.5, lo que indica que el solvente utilizado (nitrato de sodio) probablemente no fue la mejor opción para SBP. Por el contrario, el valor de K obtenido en este estudio fue mayor al reportado

por Masuelli (2016) de $K=0.062$ en pectina. Los valores altos de K describen un polisacárido con conformación de ovillo aleatorio (Ohlmaier-Delgadillo *et al.*, 2021a).

Si bien la viscosidad y el peso molecular son parámetros de gran importancia para la capacidad de gelificación de la pectina, las pectinas de bajo peso molecular a pesar de formar geles débiles presentan beneficios a la salud, por lo que la funcionalidad de la pectina depende de sus características estructurales y químicas (Lara-Espinoza *et al.*, 2021).

Cuadro 5. Características macromoleculares de SBP

| Componente | Valor |
|--------------------------------|-----------------|
| Mw (kDa) | 358 ± 1 |
| Mn (kDa) | 67 ± 2 |
| PDI ($M_w \cdot M_n^{-1}$) | 5 ± 2 |
| RG (nm) | 47 ± 4 |
| Rh (nm) | 8.4 ± 0.4 |
| $[\eta]$ ($mL \cdot g^{-1}$) | 23.9 ± 0.0 |
| Mark-Houwink-Sakurada α | 0.327 ± 0.0 |
| Mark-Houwink-Sakurada K | 0.68 ± 0.14 |

6.5. Actividad antioxidante *In vitro*

Diversos estudios farmacológicos han demostrado que las pectinas poseen propiedades biológicas como actividad antioxidante, antitumoral y antiinflamatoria (Xu *et al.*, 2018). En la evaluación *in vitro* de la actividad antioxidante de SBP se encontró un valor de $28.4 \pm 2.1 \mu\text{mol TEAC/g}$ por el método ABTS y de $31.7 \pm 0.8 \mu\text{mol TEAC/g}$ por el método DPPH. La actividad de eliminación de radicales de la pectina está relacionada con la presencia de grupos hidroxilos y la transferencia de electrones de la pectina (ROH o RO⁻). Dicha actividad biológica se puede deber a las características estructurales y el peso molecular del polisacárido.

Celus *et al.* (2018) revelaron en su estudio que la pectina de bajo metoxilo (<33%) tenía una capacidad antioxidante lipídica significativa en comparación con las de alto metoxilo (>58%). Por lo tanto, la capacidad antioxidante de la pectina de remolacha puede deberse a la presencia de su

bajo grado de esterificación y al contenido de proteínas (Hromádková *et al.*, 2013). Previos estudios reportan que en las pectina de cítricos, batata, pomelos y pectina cítrica comercial su actividad antioxidante se debe a los grupos carboxilos en su estructura (Ogotu y Mu, 2016). La capacidad antioxidante también se puede asociar a la presencia del ácido ferúlico. Un estudio realizado por García-Conesa *et al.* (1997) menciona que el di-AF 5-5' es un inhibidor eficaz de la peroxidación lipídica, además de que los dímeros que tienen cuatro grupos de hidroxilos libres mejoran tanto la quelación del hierro como la donación de hidrógeno, lo cual contribuye a la eficacia antioxidante, y, si bien se puede presentar diferentes estructuras o posiciones del ácido ferúlico, este va a tener su capacidad antioxidante dependiente de su naturaleza unido a éster. Igualmente, las propiedades de terminación de los derivados del ácido ferúlico depende del número total de grupos hidroxilos fenólicos y la presencia de las cadenas de alquilo del ácido hidroxicinámico así como del número de sitios que pueden acomodar un electrón desapareado. El dímero 5-5' tiene un hidroxilo fenólico y cuatro sitios potenciales para acomodar un electrón desapareado.

Chen *et al.* (2016), en su estudio con pectina de cáscara de mandarina, revelaron que las propiedades de captación de OH y DPPH se veían afectados por el peso molecular, así como por la composición de monosacáridos.

6.6. Optimización de Fabricación

En la **Figura 10** se presentan los tamaños de partícula de pectina obtenidos bajo las distintas condiciones detalladas en el **Cuadro 3**. En el tratamiento 1 (T1= 8 Kv y 1.4 mL/h) se obtuvo un tamaño medio de partícula de $33.08 \pm 11.7 \mu\text{m}$, sin diferencia significativa ($p < 0.05$) con el T9 (9 kV y 0.686 mL/h) con tamaños de $32.98 \pm 11.2 \mu\text{m}$. Con las condiciones de 8 kV y 1 mL/h (T2), 8.5 kV y 1.4 mL/h (T4), 8.5 kV y 1 mL/h (T5), 8.5 kV y 0.685 (T6) mL/h, se obtuvieron tamaños de partícula entre 40 y 50 μm .

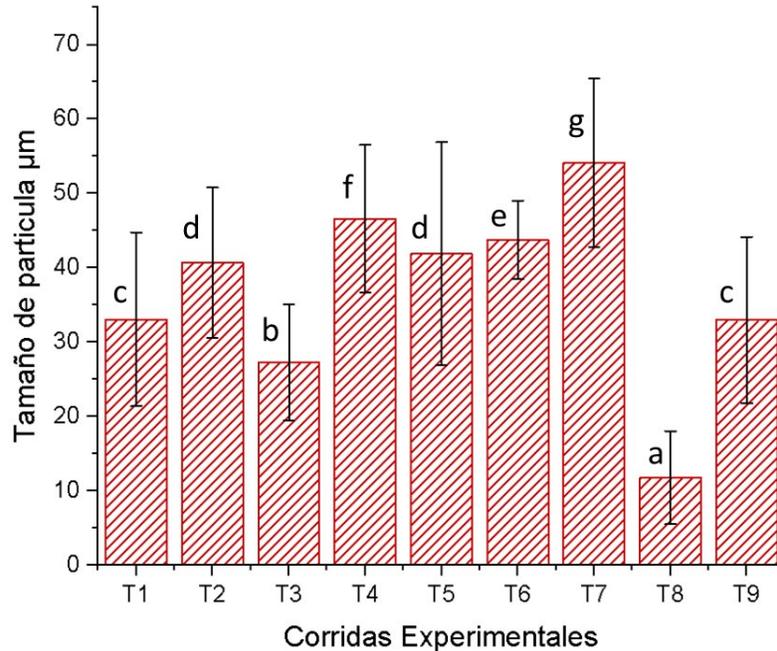


Figura 10. Histograma de las corridas experimentales.

En las condiciones de 9.5 kV y flujo de 1.4 mL/h (T7) se obtuvo un tamaño medio de partícula de $54 \pm 11 \mu\text{m}$. Con ese mismo voltaje, pero a una velocidad de flujo de 1 mL/h (T3), se generaron tamaños de $12 \pm 6 \mu\text{m}$, por lo que este resultado confirma el efecto de la combinación de los parámetros sobre el tamaño de las partículas durante la fabricación de micropartículas de pectina por electroaspersión coaxial.

Por lo anterior, la corrida experimental T6 (8.5 kV, 0.685 mL/h) cuenta con la menor desviación estándar ($5.3 \mu\text{m}$), por lo que se tomó como condición óptima para la fabricación de micropartículas de pectina ferulada con DOX.

Leilei *et al.* (2013) menciona que el tamaño de partícula, así como la morfología de las mismas, es afectada por los parámetros de fabricación como el efecto del voltaje, que juega un papel importante en la formación de un cono estable, el flujo y la distancia. De igual forma, la concentración del polisacárido afecta la talla de manera indirecta, por lo que se debe controlar la concentración del líquido para facilitar la formación de las partículas, dado que, si la concentración es demasiado baja es difícil formar la partícula y si es demasiado alta es poco probable lograr un cono de Taylor estable debido a la viscosidad y tensión superficial del líquido (Gao *et al.*, 2015).

Jafari *et al.* (2015) señalan que en flujos de 0.2-0.5 mL/h las partículas se pueden mostrar irregulares, siendo los flujos superiores a 1 mL/h los que proporcionan partículas esféricas. Los

flujos mayores de 3 mL/h pueden generar partículas no esféricas o amorfas (Enayati *et al.*, 2010; Gao *et al.*, 2015). Las características morfológicas y diámetro medio de las partículas tienen un efecto en la capacidad de liberación de compuestos bioactivos y fármacos. Duan *et al.* (2016) observaron que en las micropartículas compuestas de quitosano/alginate la adhesión al colon de ratas incrementa cuando el tamaño decrece de 100 a 10 μm y que un tamaño de partícula de $35.3\pm 3.6 \mu\text{m}$ permite una liberación sostenida con una alta mucoadhesión. Las partículas de liberación controlada deben presentar propiedades viscoelásticas y morfológicas apropiadas (Yildiz *et al.*, 2015), las cuales están determinadas por la concentración del polisacárido y su peso molecular (Wang *et al.*, 2009). Un gel fabricado con polisacáridos de bajo peso molecular puede ocasionar morfologías irregulares debido a la debilidad de las interacciones de las cadenas en la formación de los geles.

6.7. Tamaño, Morfología y Esfericidad de Micropartículas

En la **Figura 11** se muestra la distribución de tamaños de las micropartículas, la cual corresponde a una campana de Gauss con diámetros entre 35 y 55 μm , teniendo una media de $41\pm 9 \mu\text{m}$. Además de mantener un rango de tamaño de partícula y morfología adecuado, las micropartículas deben ser capaces de transportar a través de las barreras de la mucosa intestinal, particularmente en partículas cargadas con DOX, debido a que es un factor muy importante en la biodisponibilidad del fármaco (Díaz-Baca, 2014; Yildiz *et al.*, 2015).

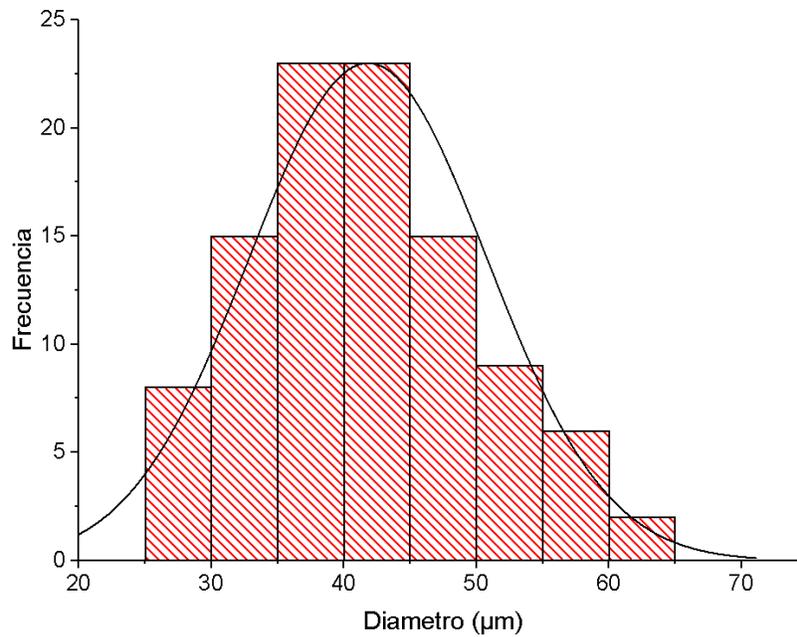


Figura 11. Distribución de diámetro promedio de micropartículas SBP-DOX. Condiciones de electroaspersor: 8.5 kV, 0.685 mL/h, 7 cm de distancia, dispersión de pectina al 4% y 2 mg/mL de DOX.

6.7.1. Morfología y Esfericidad

En cuanto a la morfología, los resultados especulan que las micropartículas poseen en el núcleo moléculas de DOX distribuidas homogéneamente y una coraza de pectina formada por la interacción iónica con Ca^{2+} . Por lo anterior, el esquema de la **Figura 12** propone la estructura de las partículas de SBP-DOX, mostrando geometría esférica y porosa, lo cual beneficia a los sistemas de liberación prolongada. Es importante mencionar que los parámetros del electroaspersor tuvieron un papel importante sobre esta característica.

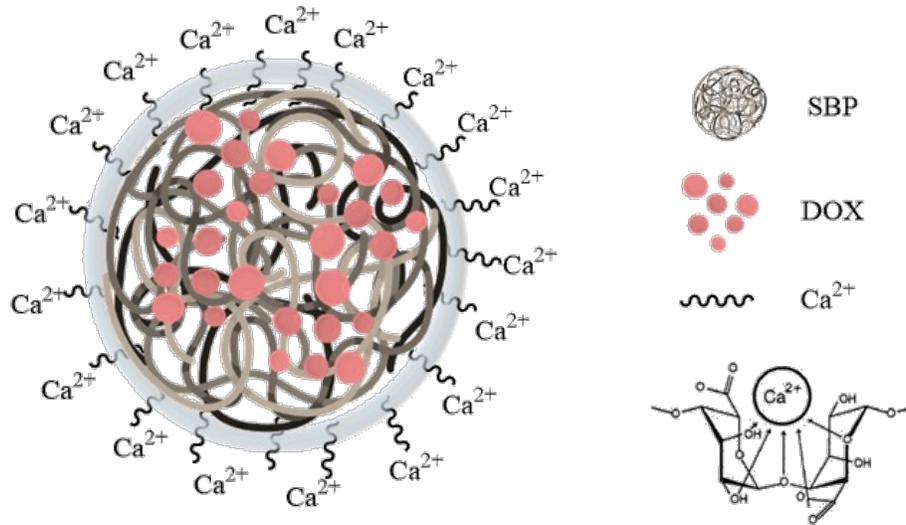


Figura 12. Representación esquemática de micropartículas SBP-DOX.

La morfología de las partículas poliméricas núcleo-coraza pueden variar desde esféricas, semiesféricas y de forma achatada, características que tienen aspectos importantes en la administración controlada de fármacos y la ingeniería de materiales biomédicos (Takei *et al.*, 2013).

En la **Figura 13**, Inciso A), se muestran las micropartículas SBP-DOX, las cuales no muestran coalescencia ni agregación. En el inciso B) y D) se muestran partículas esféricas y mínimamente aplanadas. Sin embargo, el inciso C) muestra una micropartícula amorfa y con presencia de DOX inclinada en el borde derecho, siendo los incisos E), F) y G) los que muestran tamaños deseables, además de moléculas de DOX distribuidas en el centro. Estos resultados morfológicos se compararon con el inciso H), en el cual se muestran micropartículas de pectina sin DOX, por lo tanto se observan partículas semiesféricas, comprobando que aun después de la carga del fármaco las micropartículas SBP mantienen su morfología.

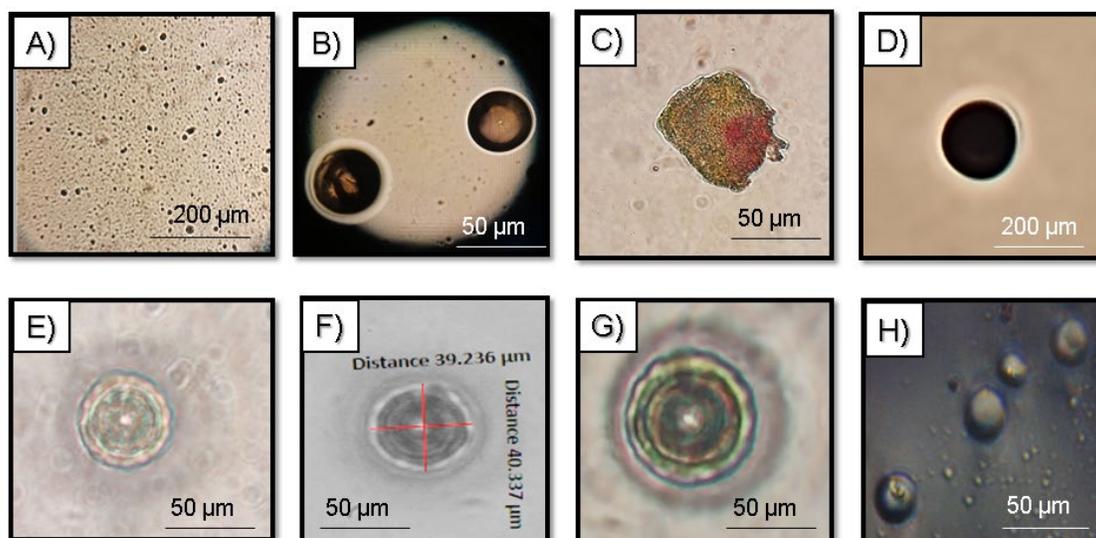


Figura 13. Morfología de SBP-DOX y SBP sin DOX. **A), B), D), E), F), G),** morfología esférica de SBP-DOX con tamaños de 40 μm aprox. **13 C)** morfología subdiscoidal y **H)** micropartícula SBP sin DOX.

Para comprobar lo antes descrito se calculó el índice de esfericidad que se muestra en el **Cuadro 6**. Para el tratamiento T6 se obtuvo un índice de esfericidad de 0.87 siendo esta la condición óptima, no obstante, los demás tratamientos contaron con un índice de esfericidad similar entre 0.86 y 0.87. La importancia de la esfericidad radica en el sistema de liberación de fármacos.

Cuadro 6. Índice de esfericidad de los tratamientos de SBP-DOX más significativos.

| Tratamientos | Díámetro Axial (μm) | Díámetro Ecuatorial (μm) | Índice de Esfericidad |
|--------------|----------------------------------|---------------------------------------|-----------------------|
| T2 | 41 ± 10 | 35 ± 8 | 0.87 |
| T3 | 27 ± 8 | 29 ± 6 | 0.86 |
| T4 | 47 ± 10 | 41 ± 9 | 0.86 |
| T5 | 42 ± 15 | 43 ± 14 | 0.87 |
| T6 | 44 ± 5 | 49 ± 6 | 0.87 |
| T7 | 54 ± 11 | 36 ± 14 | 0.87 |
| T8 | 12 ± 6 | 18 ± 5 | 0.86 |
| T9 | 33 ± 11 | 43 ± 7 | 0.87 |

La esfericidad es una medida de compacidad mayormente utilizada, existiendo dos teorías: la primera basada en mediciones de longitud y la segunda en el volumen y área de superficie (esfericidad verdadera). En este sentido, los resultados muestran partículas esféricas, partículas discoidales limitadas y redondas hasta bien redondeadas. Los resultados de T6 se trataron en base al diámetro axial y ecuatorial, con un radio promedio de $20\pm 5 \mu\text{m}$.

Con la información antes mencionada, se demuestra que la combinación de pectina con DOX en un sistema coaxial permite la formación y estabilización de micropartículas. Asimismo, controlar los parámetros para la obtención de tamaños de partícula y morfología es clave para su uso en la industria farmacéutica para efecto de lograr un perfil de liberación del fármaco predecible.

6.8. Eficiencia de Encapsulación

La eficiencia de encapsulación (EE) puede definirse como el porcentaje de fármaco que fue encapsulado en la partícula con respecto al peso inicial y la tasa de carga (DL) como el porcentaje de fármaco que existe dentro del total de partículas pesadas. La eficiencia de encapsulación y la tasa de carga obtenida en el presente estudio fue de $62\pm 3\%$ (EE) y $0.11\pm 0.03\%$ (DL), resultados que se pueden comparar con los de Paşcalău *et al.* (2019), quienes elaboraron microcápsulas con seroalbúmina bovina, pectina, quitosano y ácido hialurónico (BSA gel/P/chi/ HA) para encapsular DOX y los evaluaron a diferentes pH. Estos autores encontraron que a una concentración de 0.5 mg/mL de DOX y un pH de 6.8 se lograba una EE de 40% y tasa de carga de 0.14%, mientras que a una concentración de 2 mg/mL y pH de 5.6 se obtuvo 44% y 0.31%, respectivamente.

Cabe mencionar que a mayor concentración del polisacárido mayor tasa de carga, con una menor eficiencia de encapsulación. Dicha eficiencia también puede verse afectada por el peso molecular del polisacárido, el método de preparación, la solubilidad del fármaco y del polisacárido, así como las interacciones fármaco-polímero y solvente (Bale *et al.*, 2016).

6.9. Evaluación *In Vitro*

En la **Figura 14. A)** se muestra la liberación de DOX para cada fase de la simulación. Se observa un comportamiento de liberación sostenida hasta la simulación colónica, donde se registró un comportamiento distinto. Las matrices poliméricas pueden tener varios mecanismos de liberación como la difusión, erosión superficial y masiva y desintegración. En el caso de SBP-DOX, la liberación inicialmente fue por difusión. La mayor liberación de DOX a partir de SBP ocurrió en la simulación colónica.

En la simulación del fluido salival se encontró una concentración de 28.3 $\mu\text{g/mL}$ de DOX, dicha concentración se asocia al contenido superficial de DOX en las micropartículas. Ver **Figura 14. B)**. En la simulación gástrica la liberación fue de 35.2 $\mu\text{g/mL}$ DOX y en la simulación intestinal fue de 35.6 $\mu\text{g/mL}$ DOX, lo cual sugiere una liberación inicial por difusión. Bajo condiciones de simulación colónica, la liberación fue de 55.9 $\mu\text{g/mL}$ DOX, lo cual sugiere que las micropartículas SBP-DOX sufren una erosión enzimática por la microbiota del colon.

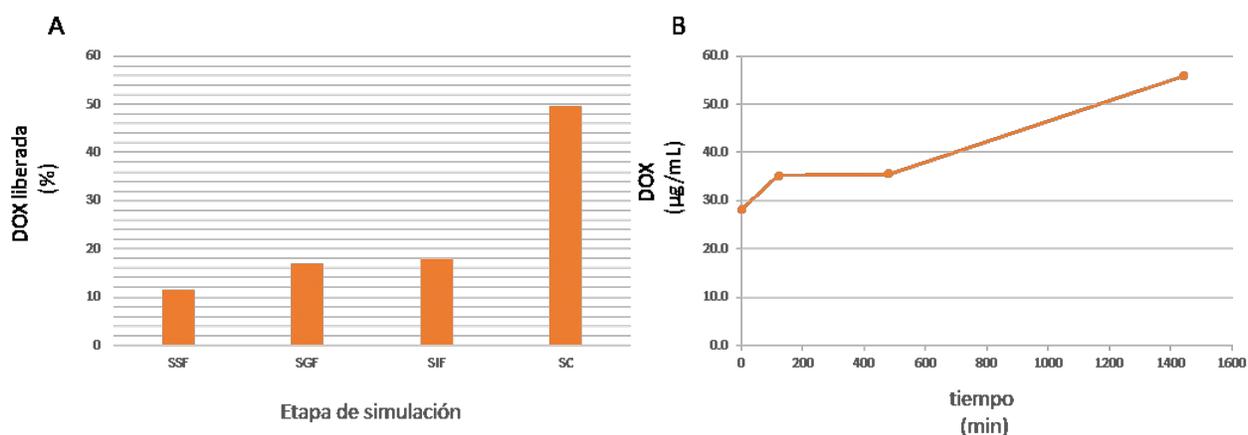


Figura 14. Difusión y liberación *in vitro* de SBP °C. **A)** difusión *in vitro* de microesferas de pectina cargadas con doxorubicina en simulación salival (SSF, pH 7), simulación gástrica (SGF, pH 3) simulación intestinal (SIF, pH 7) y colon (SC, pH 6.8). **B)** Liberación de DOX en simulación *in vitro* respecto al tiempo de simulación.

En función de lo antes descrito, el porcentaje del principio activo disuelto se calculó con base en la NOM-177-SSA1-1988 (ecuación 12 y 13). Los resultados obtenidos se muestran en la **Figura**

14. A). La liberación presentó valores de 11% (SSF), 17% (SGF), y 18% (SIF) con una liberación en la simulación colónica (SC) de 50%, completando el 96% del total encapsulado. Los resultados sugieren que la microbiota del colon degrada la pectina, lo cual facilita la liberación del fármaco.

6.10. Mecanismo de Liberación del Fármaco

Con el objetivo de investigar los posibles mecanismos de liberación del fármaco modelo desde el sistema matricial se realizó un análisis cinético mediante la utilización de varios modelos empíricos. Cabe mencionar que los mecanismos cinéticos más importantes que regulan la velocidad de liberación sostenida o controlada de un fármaco son la difusión, la disolución e hinchamiento y la erosión (Bibby *et al.*, 2000). El fenómeno que afecta principalmente a la velocidad de la liberación es el gradiente de concentración. Respecto al mecanismo por disolución, la liberación depende del grado de solubilidad del polisacárido y del fármaco en los fluidos biológicos. Por último, si es por erosión, el mecanismo es más complejo ya que implica el hinchamiento, la difusión y la disolución del sistema.

En el **Cuadro 7** se muestran los resultados obtenidos de acuerdo con los modelos matemáticos que incluían las ecuaciones de orden cero, primer orden, Higuchi y Korsmeyer-Peppas para comprender mejor el mecanismo de liberación de SBP-DOX, utilizando el coeficiente de correlación para las R^2 .

Cuadro 7. Modelo matemático y cinética de liberación SBP-DOX

| | R^2 Orden cero | R^2 primer orden | R^2 Higuchi | Korsmeyer-Peppas R^2 n K | | |
|----------------------------|------------------------|--------------------------|------------------|------------------------------------|------|-------|
| Micropartículas SBP-DOX | 0.914 | 0.935 | 0.963 | 0.999 | 0.77 | 0.095 |

El modelo de orden cero describe la liberación de fármacos a una tasa constante y el modelo de primer orden indica que la liberación es proporcional a la cantidad de fármaco sobrante en la forma

farmacéutica; el cual describe la absorción y liberación del fármaco desde matrices porosas (Andretta, 2003). La R^2 obtenida del orden cero fue 0.914 y de primer orden 0.935. Al observar estos datos no se encuentra una diferencia significativa entre dichos modelos, sin embargo, el modelo de Higuchi con R^2 0.963 señala que la difusión del fármaco se lleva a cabo en una sola dimensión, que la difusividad del fármaco es constante y que en el medio de disolución se alcanzan condiciones buenas de inmersión. Visto de esta forma, se puede asociar que la simulación del fluido salival hasta la intestinal se ajusta mejor al modelo de Higuchi.

En último término, el modelo de Korsmeyer –Peppas con R^2 de 0.999, sugiere que la liberación es controlada por la relajación de las cadenas poliméricas generando una penetración del medio de disolución en la matriz, formando poros y erosionándola (Yarce *et al.*, 2016). A fin de conocer la R^2 de dicho modelo se estimó primeramente la constante K y n , mediante extrapolación. La n obtenida fue de $n=0.77$ y, de acuerdo con la literatura, un valor de n igual a 0.5 indica que el mecanismo de liberación del fármaco es de tipo fickiano; valores entre 0.5 y 1 indican un mecanismo de liberación no fickiano, mientras que n igual a 1 sugiere que el mecanismo es similar a una cinética de liberación de orden cero. De esta manera, los resultados concuerdan con Cheewatanakornkool *et al.* (2017), obteniendo un mecanismo no fickiano en caso de la simulación colónica, sin embargo, el modelo de Korsmeyer-Peppas, a pesar de que se ajusta mejor es difícil contextualizar para el caso en estudio.

Las micropartículas SBP-DOX sugieren una liberación bifásica debido a que hay una liberación lenta durante la fase salival hasta la fase intestinal. Pero una vez entrando a la simulación colónica la liberación de DOX siguió el mecanismo no fickiano, lo que concuerda con la esperada erosión de las micropartículas en presencia de la microbiota colónica. Además de tener una combinación entre difusión e hinchamiento de acuerdo con los resultados por el modelo de Kosmeyer-Peppas, la liberación tuvo cierta afinidad (R^2 0.963) al modelo de Higuchi, lo cual sugiere una liberación controlada por difusión.

En relación con este tema, los sistemas de administración de fármacos dirigidos a colon se diseñan para liberarse en respuesta al entorno colónico, evitando en lo posible la liberación prematura en el tracto gastrointestinal superior, evento que se pudo comprobar ya que la mayor liberación ocurrió en el microambiente del colon. Cabe mencionar que los pacientes con enfermedades colónicas producen altos niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) y citoquinas inflamatorias, tienen un desequilibrio de antioxidantes importantes y sufren de lesión de la mucosa (Bhattacharyya *et*

al., 2014; He *et al.*, 2018). Las pectinas constituyentes de las micropartículas estudiadas muestran actividad antioxidante y se ha reportado su efecto benéfico sobre la mucosa.

Se predice que la reproducibilidad de la digestión de la matriz y liberación del fármaco en el colon es un efecto de interacción del pH del colon y el efecto de la microbiota en combinación con las propiedades fisicoquímicas del fármaco (Wong *et al.*, 2011).

Estos resultados demuestran el potencial que tienen las micropartículas como matriz acarreadora de medicamentos. Además, el método de encapsulación fue eficiente. Las estrategias utilizadas para el desarrollo de microacarreadores se basan en la explotación de polisacáridos o biopolímeros altamente biocompatibles y biodegradables, por lo que el uso de microacarreadores por administración oral muestra potencial para la liberación a un sitio anatómico de interés. En el presente trabajo, la liberación de DOX se llevó a cabo en las condiciones de simulación de colon. El sistema aquí reportado resulta prometedor debido a que en la administración de fármacos hacia las membranas mucosas, las pectinas promueven la absorción del fármaco y la permeabilidad a través de la capa de gel de moco para llegar directamente al epitelio subyacente (Netsomboon *et al.*, 2016).

7. CONCLUSIONES

Los resultados de esta investigación sustentan que los residuos de remolacha azucarera generados por la industria del bioetanol son una fuente de pectinas con una composición y características fisicoquímicas y macromoleculares similares a las pectinas de otras fuentes. Estas pectinas extraídas pueden ser utilizadas para la fabricación de micropartículas por electroaspersión coaxial, las cuales presentan un diámetro entre 30 y 50 μm y capacidad antioxidante. Las micropartículas de pectina permiten la encapsulación de doxorubicina y la liberación controlada de este fármaco bajo condiciones simuladas del sistema gastrointestinal humano, en especial en colon, siguiendo el mecanismo de liberación no fickiano. Las micropartículas SBP-DOX tienen un potencial prometedor como sistema de administración oral de DOX.

8. RECOMENDACIONES

Se recomienda extraer las pectinas utilizando condiciones óptimas de hidrólisis, cuidando la temperatura y el tiempo para conservar mayor actividad antioxidante. Por otro lado, sería de gran interés investigar la morfología de las partículas mediante microscopía electrónica de barrido y evaluar *in vivo* la liberación de DOX en el sistema gastrointestinal de un modelo murino, debido a las limitaciones inherentes de una simulación *in vitro* respecto a un bioensayo en colon sano o enfermo.

9. REFERENCIAS

- Albuquerque-P., Coelho, L., C.B.B, Teixeira, J., Carneiro-da-Cunha, M. (2016). Approaches in biotechnological applications of natural polymers. *AIMS Molecular Science*, 3(3), 386–425.
- Aloke P., Tomi Laurils., Vesa Vuorinen., S. V. D. (2014). Fick's Laws of Diffusion. In *Thermodynamics, Diffusion and the Kirkendall Effect in Solids* (pp. 115–139).
- Alonoso, J. M., Goycoolea, F. M., & Higuera-Ciapara, I. (2008). Chitosan-polysaccharide blended nanoparticles for controlled drug delivery. *Natural-Based Polymers for Biomedical Applications*, 644–679.
- Andreetta, H. A. (2003). Fármacos de Acción Prolongada: Mecanismos de Liberación. Usos de distintos modelos. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, 22(4), 355–363.
- Arnold, R. D., Slack, J. E., & Straubinger, R. M. (2004). Quantification of Doxorubicin and Metabolites in Rat Plasma and Small Volume Tissue Samples by Liquid Chromatography/electrospray Tandem Mass Spectroscopy. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 808(2), 141–152.
- Assifaoui, A., Lerbret, A., Uyen, H. T. D., Neiers, F., Chambin, O., Loupiac, C., & Cousin, F. (2015). Structural behaviour differences in low methoxy pectin solutions in the presence of divalent cations (Ca²⁺ and Zn²⁺): A process driven by the binding mechanism of the cation with the galacturonate unit. *Soft Matter*, 11(3), 551–560.
- Atkins, P., & de Paula, J. 2008. *Química Física*. 8a edición. Buenos Aires. 1096p.
- Bale, S., Khurana, A., & Singh, D. M. (2016). Overview on Therapeutic Applications of Microparticulate Drug Delivery Systems. *Critical ReviewsTM in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 33(4), 309–361.
- Barpe, D. R., Rosa, D. D., & Froehlich, P. E. (2010). Pharmacokinetic evaluation of doxorubicin plasma levels in normal and overweight patients with breast cancer and simulation of dose adjustment by different indexes of body mass. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 41(3–4), 458–463.
- Beltrán B, C. (2004). Farmacocinética y farmacodinámica de antimicrobianos: Utilidad práctica. *Revista Chilena de Infectología*, 21, 39–44.
- Bibby, D., Davies, N., & Tucker, I. (2000). Mechanisms by which cyclodextrins modified drug release from polymeric drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 197(1), 1-11.
- Bhattacharyya, A., Chattopadhyay, R., Mitra, S., & Crowe, S. E. (2014). Oxidative stress: An essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiological Reviews*, Vol. 94, pp. 329–354.
- Blakeney, A. B., Harris, P. J., Henry, R. J., & Stone, B. A. (1983). A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis. *Carbohydrate Research*, 113(2), 291–299.
- Bosio, V. E., Cacicedo, M. L., Calvignac, B., León, I., Beuvier, T., Boury, F., & Castro, G. R.

- (2014). Synthesis and characterization of CaCO₃-biopolymer hybrid nanoporous microparticles for controlled release of doxorubicin. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 123, 158–169.
- Bradford, M. M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 254, 248–254.
- Burr, S. J., & Fry, S. C. (2009). Extracellular cross-linking of maize arabinoxylans by oxidation of feruloyl esters to form oligoferuloyl esters and ether-like bonds. *The Plant Journal*, 58(4), 554–567.
- Calvo M. V., García M. J., Martínez J., Fernández M. M., (2002). *Farmacocinética clínica*. Retrieved November 9, 2020, from Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria website: <https://www.sefh.es/bibliotecavirtual/fhtomo1/cap212.pdf>
- Carvajal-Millán, E.; Rascón-Chu, A.; Márquez-Escalante, J.; Ponce de León, N.; Micard, V.; Gardea, A. (2007). Maize bran gum: Extraction, characterization and functional properties. *Carbohydr. Polym.* 6, 280–285
- Casamada Ros, L. (2017). Determinación plasmática de doxorubicina en pacientes con carcinoma hepatocelular tras quimioembolización transarterial con microesferas. (Tesis de doctorado). Universidad CEU Cardenal Herrera, Valencia.
- Celus, M., Kyomugasho, C., Salvia-Trujillo, L., Van Audenhove, J., Van Loey, A. M., Grauwet, T., & Hendrickx, M. E. (2018). Interactions between citrus pectin and Zn²⁺ or Ca²⁺ and associated in vitro Zn²⁺ bioaccessibility as affected by degree of methylesterification and blockiness. *Food Hydrocolloids*, 79, 319–330.
- Cheewatanakornkool, K., Niratisai, S., Manchun, S., Dass, C. R., & Sriamornsak, P. (2017). Characterization and in vitro release studies of oral microbeads containing thiolated pectin–doxorubicin conjugates for colorectal cancer treatment. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 12(6), 509–520.
- Chen, H. M., Fu, X., & Luo, Z. G. (2015). Properties and extraction of pectin-enriched materials from sugar beet pulp by ultrasonic-assisted treatment combined with subcritical water. *Food Chemistry*, 168, 302–310.
- Colquhoun, I. J., Faulds, C. B., & Williamson, G. (1994). Structure identification of feruloylated oligosaccharides from sugar-beet pulp by NMR spectroscopy *. *Carbohydrate Research*, 263, 243–256.
- Corzo, N., Alonso, J. L., Azpiroz, F., Calvo, M. A., Cirici, M., Leis, R., Clemente, A. (2015). Prebióticos; Concepto, propiedades y efectos beneficiosos. *Nutricion Hospitalaria*, 31, 99–118
- Díaz-Baca, J. A. (2014). Microesferas Compuestas De Pectinas y Arabinoxilanos Obtenidas Mediante Electroaspersión Coaxial Como Sistemas Acarreadores De Insulina. (Tesis de maestría). Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo.
- Divvela, M. J., Zhang, R., Zhmayev, Y., Pingge, S., Lee, J. H., Kim, S. W., & Joo, Y. L. (2019). Control of formation of viscoelastic droplets and distribution of nano-inclusions in functional deposition for lithium-sulfur batteries. *Soft Matter*, 15(32), 6485–6494.

- Domínguez-González, I. (2016). Empleo de Fármacos Derivados de las Antraciclinas como Agentes Anticancerígenos (tesis de pregrado), Universidad de Sevilla, Andalucía, España.
- Dranca, F., & Oroian, M. (2018). Extraction, purification and characterization of pectin from alternative sources with potential technological applications. *Food Research International*, 113, 327-350.
- Duan, H., Lü, S., Gao, C., Bai, X., Qin, H., & Wei, Y. (2016). Colloids and Surfaces B: Biointerfaces Mucoadhesive microparticulates based on polysaccharide for target dual drug delivery of 5-aminosalicylic acid and curcumin to inflamed colon. *Colloids and Surfaces Biointerfaces*, 145, 510–519.
- Enayati, M., Ahmad, Z., Stride, E., & Edirisinghe, M. (2009). One-step electrohydrodynamic production of drug-loaded micro- and nanoparticles. *Journal of the Royal Society Interface*, 7(45), 667–675.
- ENSANUT. (2018). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. México. [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=https%3A%2F%2Fensanut.insp.mx%2Fencuestas%2Fensanut2018%2Fdoctos%2Finformes%2Fensanut_2018_presentacion_resultados.pdf&clen=1497551&chunk=true](https://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=https%3A%2F%2Fensanut.insp.mx%2Fencuestas%2Fensanut2018%2Fdoctos%2Finformes%2Fensanut_2018_presentacion_resultados.pdf&clen=1497551&chunk=true).
- Fishman, M.L.; Chau, H.K.; Cooke, P.H.; Hotchkiss, A.T., Jr. (2008). Global Structure of Microwave-Assisted Flash-Extracted Sugar Beet Pectin. *J. Agric. Food Chem.* 56, 1471–1478.
- Fort, C. E., Arribas H. L., Bleda-Pérez, C., Muñoz-Sánchez, C., Peiro-Martínez, I., Perayre-Badía, M., & Clopés E. A., (2016). Interacción entre tratamientos oncológicos y soporte nutricional. *Nutrición Hospitalaria*, 33(Supl. 1), 50-57.
- Franchi, M. L., (2016). Aplicación de pectinasas a procesos industriales que involucran la producción frutihortícola: PPasa-SE de *Geotrichum klebahnii*, PGI de *Aspergillus kawachii* y PGzyme de *Aspergillus sojae*, (tesis de pregrado), Universidad Nacional de la Plata, Argentina.
- Fry, S.C., 1982. Phenolic components of the primary cell walls: feruloylated disaccharides of D-galactose and L-arabinose from spinach polysaccharide. *Biochem. J.* 203, 493–504.
- Fuchs, K., Bize, P. E., Dormond, O., Denys, A., Doelker, E., Borchard, G., & Jordan, O. (2014). Drug-eluting beads loaded with antiangiogenic agents for chemoembolization: In vitro sunitinib loading and release and in vivo pharmacokinetics in an animal model. *Journal of Vascular and Interventional Radiology*, 25(3), 379-387.
- Gao, Y., Zhao, D., Chang, M. W., Ahmad, Z., Li, X., Suo, H., & Li, J. S. (2015). Morphology control of electrospayed core-shell particles via collection media variation. *Materials Letters*, 146, 59–64.
- García-Conesa M.T., Plumb G.W., Kroon P.A., W. G. & W. G. (1997). Antioxidant properties of ferulic acid dimers. *Redox Report*, 3, 239–244.
- Geethanjali, R., Sabirneeza, A. A. F., & Subhashini, S. (2014). Polyacrylamide and Pectin-Grafted Polyacrylic Acid: Electrochemical Investigation of Corrosion-Inhibition Behaviour on Mild Steel in 3. 5% NaCl Media. *Indian Journal of Material Science*, 2014, 9.

- Gorini, S., De Angelis, A., Berrino, L., Malara, N., Rosano, G., & Ferraro, E. (2019). “Chemotherapeutic Drugs and Mitochondrial Dysfunction: Focus on Doxorubicin, Trastuzumab, and Sunitinib.” *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 9601435.
- Günter, E. A., Markov, P. A., Melekhin, A. K., Belozerov, V. S., Martinson, E. A., Litvinets, S. G., & Popov, S. V. (2018). Preparation and release characteristics of mesalazine loaded calcium pectin-silica gel beads based on callus cultures pectins for colon-targeted drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*, 120, 2225–2233.
- Gustafson, D. L., Rastatter, J. C., Colombo, T., & Long, M. E. (2002). Doxorubicin Pharmacokinetics : Macromolecule Binding, Metabolism, and Excretion in the Context of a Physiologic Model. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 91(6), 1488–1501.
- Hasnain, S., Ahmed, S. A., Alkahtani, S., Milivojevic, M., Kandar, C. C., Dhara, A. K., & Nayak, A. K. (2020). Biopolymers for Drug Delivery. *Advances in Material Research and Technology*, 1–29.
- He, H., Liu, C., Wu, Y., Zhang, X., Fan, J., & Cao, Y. (2018). A Multiscale Physiologically-Based Pharmacokinetic Model for Doxorubicin to Explore its Mechanisms of Cytotoxicity and Cardiotoxicity in Human Physiological Contexts. *Pharmaceutical research*, 35(9), 174.
- Hernández Jerez, A., Pla Martínez, A., Gil Hernández, F., Conde-Salazar, L. R., & López Guarnido, O. (04 de Marzo de 2011). *Toxicología Básica o Fundamental*. Obtenido de <https://www.ugr.es/~ajerez/proyecto/t37.htm#:~:text=La%20velocidad%20de%20difusi%C3%B3n%20de,al%20grosor%20de%20la%20membrana>
- Hiroe K., Masashi H., Kanae H., Kayo A., H. T. (2002). Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Related Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2161–2168.
- Hotchkiss, A.T.; Chau, H.K.; Strahan, G.D.; Nuñez, A.; Simon, S.; White, A.K.; Dieng, S.; Heuberger, E.R.; Yadav, M.P.; Hirsch, J. (2020). Structure and composition of blueberry fiber pectin and xyloglucan that bind anthocyanins during fruit puree processing. *Food Hydrocoll.*116, 106572.
- Hromádková, Z., Paulsen, B. S., Polovka, M., Košťálová, Z., & Ebringerová, A. (2013). Structural features of two heteroxylan polysaccharide fractions from wheat bran with anti-complementary and antioxidant activities. *Carbohydrate Polymers*, 93(1), 22–30.
- Huan, M., Tian, S., Cui, H., Zhang, B., Su, D., Wang, J., Cao, W. (2013). Deposition of doxorubicin in rats following administration of three newly synthesized doxorubicin conjugates. *BioMed Research International*, 2013.
- Hwang, J. K.; Roshdy, T. H.; Kontominas, M. y J. L. Kokini. (1992). Comparison of dialysis and metal precipitation effects on apple pectins. *Journal of Food Science* 57, 1180-1184.
- IMSS. (Instituto Mexicano del Seguro Social), Revisado el 31 de Marzo de 2019. En <http://www.imss.gob.mx/prensa/archivo/201903/070>
- INCan, (Instituto Nacional de Cancerología), (2020). Cáncer de Colon y Recto. México. <http://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=http%3A%2F%2Fincan-mexico.org%2Fincan%2Fdocs%2Ftransparencia%2Fpropuesta12.pdf&chunk=true>
- Jackson, C. L., Dreaden, T. M., Theobald, L. K., Tran, N. M., Beal, T. L., Eid, M., Mohnen, D. (2007). Pectin induces apoptosis in human prostate cancer cells: Correlation of apoptotic

- function with pectin structure. *Glycobiology*, 17(8), 805–819.
- Jafari, N. M., Barzin, J., & Mobedi, H. (2015). Size and morphology controlling of PLGA microparticles produced by electro hydrodynamic atomization. *Polymers for Advanced Technologies*, 26, 502–513.
- Jans, D. A., & Sobolev, A. S. (2019). Editorial : Targeted Subcellular Delivery of Anti-cancer Agents. *Frontiers in Pharmacology*, 9.
- Kaiserova, H., Simunek, T., Van der Vijgh, W.J., Bast, A., Kvas E. (2007). Flavonoids as protectors against doxorubicin cardiotoxicity: role of iron chelation, antioxidant activity and inhibition of carbonyl reductase. *Biochim. Biophys*, 1772, 1065- 1074
- Kamba, S. A., Ismail, M., Hussein-Al-Ali, S. H., Ibrahim, T. A. T., & Zakaria, Z. A. B. (2013). In vitro delivery and controlled release of doxorubicin for targeting osteosarcoma bone cancer. *Molecules*, 18(9), 10580–10598.
- Kar, F., & Arslan, N. (1999). Effect of temperature and concentration on viscosity of orange peel pectin solutions and intrinsic viscosity-molecular weight relationship. *Carbohydrate Polymers*, 40(4), 277–284.
- Kaur, G., Grewal, J., Jyoti, K., Jain, U. K., Chandra, R., & Madan, J. (2018). Oral controlled and sustained drug delivery systems; Concepts, advances, preclinical, and clinical status. In *Drug Targeting and Stimuli Sensitive Drug Delivery Systems*. Elsevier. 567-626
- Kaushik, P., Priyadarshini, E., Rawat, K., Paulraj, R., & Bohidar, H. B. (2019). pH Responsive Doxorubicin Loaded Zein Nanoparticle Crosslinked Pectin Hydrogel as Effective Site-Specific Anticancer Substrates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 152, 1027–1037.
- Kodoth, A. K., Ghate, V. M., Lewis, S. A., Prakash, B., & Badalamoole, V. (2019). Pectin-based silver nanocomposite film for transdermal delivery of Donepezil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 134, 269–279.
- Koo, S. Y., Cha, K. H., Song, D. G., Chung, D., & Pan, C. H. (2014). Microencapsulation of peppermint oil in an alginate-pectin matrix using a coaxial electrospray system. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(3), 733–739.
- Krischke, M., Hempel, G., Völler, S., André, N., D’Incalci, M., Bisogno, G., Boos, J. (2016). Pharmacokinetic and pharmacodynamic study of doxorubicin in children with cancer: results of a “European Pediatric Oncology Off-patents Medicines Consortium” trial. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 78(6), 1175–1184.
- Kuuva, T., Lantto, R., Reinikainen, T., Buchert, J; y Autio, K. (2003). Rheological properties of laccase-induced sugar beet pectin gels. *Food Hydrocolloids*. 17(5): 679-684
- Kyomugasho, C., Christiaens, S., Van de Walle, D., Van Loey, A. M., Dewettinck, K., & Hendrickx, M. E. (2016). Evaluation of cation-facilitated pectin-gel properties: Cryo-SEM visualisation and rheological properties. *Food Hydrocolloids*, 61, 172–182.
- Lara-Espinoza, C., Sanchez-Villegas, J. A., Lopez-Franco, Y., Carvajal-Millan, E., Troncoso-Rojas, R., Carvallo-Ruiz, T., & Rascon-Chu, A. (2021). Composition, physicochemical features, and covalent gelling properties of ferulated pectin extracted from three sugar beet (*Beta vulgaris* l.) cultivars grown under desertic conditions. *Agronomy*, 11(1).

- Leclere, L., Cutsem, P. Van, & Michiels, C. (2013). Anti-cancer activities of pH- or heat-modified pectin. *Frontiers in Pharmacology*, 4, 1–8.
- Leilei Z., Jiwei H., Ting S., R. X. (2013). Coaxial electrospray of microparticles and nanoparticles for biomedical applications. *National Institute of Health*, 9, 595–612.
- 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).
- Levigne, S., Thomas, M., Ralet, M. C., Quemener, B., & Thibault, J. F. (2002). Determination of the degrees of methylation and acetylation of pectins using a C18 column and internal standards. *Food Hydrocolloids*, 16(6), 547–550.
- Li, D., Du, G., Jing, W., Li, J., Yan, J., & Liu, Z. (2015). Combined effects of independent variables on yield and protein content of pectin extracted from sugar beet pulp by citric acid. *Carbohydrate Polymers*, 129, 108–114.
- Liu, C., Tan, Y., Xu, Y., Julian, D., & Wang, D. (2019). Formation, characterization, and application of chitosan / pectin-stabilized multilayer emulsions as astaxanthin delivery systems. *International Journal of Biological Macromolecules*, 140, 985–997.
- López, A. (24 de septiembre de 2020). Propiedades extensivas e intensivas de los materiales. Obtenido de unionedomex.
- López-Wilson, A. (2019). Tratamiento quirúrgico de metástasis hepáticas sincrónicas de cáncer de colon Surgical treatment of synchronous liver metastases from colon cancer. *UNIMED*, 1(1), 17–27.
- Lorenzo Corchón, A. (2004). “Variaciones en la estructura del ADN”. *Asturnatura.com*. Num. 485, <<https://www.asturnatura.com/articulos/nucleotidos-acido-nucleico-adn/variaciones-estructura-dna.php>>. ISSN 1887-5068
- Malunga, L.N. & Beta, T. (2015). Antioxidant capacity of water extractable arabinoxylan from commercial barley, wheat and wheat fractions. *Cereal Chem.* 92, 29–36
- Marry, M., McCann, M. C., Kolpak, F., White, A. R., Stacey, N. J., & Roberts, K. (2000). Extraction of pectic polysaccharides from sugar-beet cell walls. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(1), 17–28.
- Marseglia, A., Dellafiora, L., Prandi, B., Lolli, V., Sforza, S., Cozzini, P., Caligiani, A. (2019). Simulated gastrointestinal digestion of cocoa: Detection of resistant peptides and *in silico/in vitro* prediction of their ace inhibitory activity. *Nutrients*, 11(5).
- Masuelli, M.A. (2016). Mark-Houwink Parameters for Aqueous-Soluble Polymers and Biopolymers at Various Temperatures. *J. Polym. Biopolym. Phys. Chem.* 2, 37–43. [CrossRef]
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Brodtkorb, A. (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food-an international consensus. *Food and Function*, 5(6), 1113–1124.
- Mogoşanu, G. D., & Grumezescu, A. M. (2015). Pharmaceutical Natural Polymers: Structure and Chemistry. *Handbook of Polymers for Pharmaceutical Technologies*, 1, 477–519.

- Monsoor, M. A., Kalapathy, U., & Proctor, A. (2001). Improved Method for Determination of Pectin Degree of Esterification by Diffuse Reflectance Fourier Transform Infrared. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2756–2760.
- Mooter, G. Van Den. (2006). Colon drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 3, 111–125.
- Mordente, A., Meucci, E., Silvestrini, A., Martorana, G. E., & Giardina, B. (2009). New Developments in Anthracycline-Induced Cardiotoxicity. *Current Medicinal Chemistry*, 16, 1656–1672.
- Mungure, T. E., Roohinejad, S., Bekhit, A. E., Greiner, R., & Mallikarjunan, K. (2018). Potential application of pectin for the stabilization of nanoemulsions. *Food Science*, 19, 72–76.
- Naghizadeh, Z., Karkhaneh, A., & Khojasteh, A. (2018). Simultaneous release of melatonin and methylprednisolone from an injectable in situ self-crosslinked hydrogel / microparticle system for cartilage tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research*, (Cmc), 1–9.
- Namaz, H., & Kanani, A. (2009). Investigation diffusion mechanism of β -lactam conjugated telechelic polymers of PEG and β -cyclodextrin as the new nanosized drug carrier devices. *Carbohydrate Polymers*, 76(1), 46–50.
- Negro Álvarez, S., & Barcia Hernández, E. (2002). Fundamentos de las interacciones farmacocinéticas (II). *Anales de La Real Academia de Farmacia*, 68(3), 611–649.
- Netsomboon, K., & Bernkop-Schnürch, A. (2016). Mucoadhesive vs. mucopenetrating particulate drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 98, 76–89.
- NIH. (14 de Junio de 2019). Instituto Nacional de Cáncer. Recuperado el 16 de Mayo de 2021, de <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/efectos-secundarios/cambios-piel-unas>
- NIH. (23 de Diciembre de 2015). Instituto Nacional de Cáncer. Revisado el Septiembre de 2020, de <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo>
- Niture, S. K., & Refai, L. (2013). Plant pectin: A potential source for cancer suppression. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*, 8(1), 9–19.
- Noreen, A., Nazli, Z. I. H., Akram, J., Rasul, I., Mansha, A., Yaqoob, N., Zia, K. M. (2017). Pectins functionalized biomaterials; a new viable approach for biomedical applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 101, 254–272.
- Nunes, C., Silva, L., Fernandes, A. P., Guiné, R. P. F., Domingues, M. R. M., & Coimbra, M. A. (2012). Occurrence of cellobiose residues directly linked to galacturonic acid in pectic polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 87(1), 620–626.
- Ogutu, F. O., & Mu, T. H. (2016). Ultrasonic degradation of sweet potato pectin and its antioxidant activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 38, 726–734.
- Ohlmaier-Delgadillo, F., Carvajal-Millan, E., López-Franco, Y. L., Islas-Osuna, M. A., Lara-Espinoza, C., Marquez-Escalante, J. A., Rascon-Chu, A. (2021a). Ferulated Pectins from Sugar Beet Bioethanol Solids: Extraction, Macromolecular Characteristics, and Enzymatic Gelling Properties. *Sustainability*, 13(19), 10723.
- Ohlmaier-Delgadillo, F., Carvajal-Millán, E., López-Franco, Y. L., Islas-Osuna, M. A., Micard, V.

- Antoine-Assor, C., & Rascón-Chu, A. (2021b). Ferulated Pectins and Ferulated Arabinoxylans Mixed Gel Electrosprayed Microbeads. *Molecules*, 26.
- Oliveira Silva, E., & Batista, R. (2017). Ferulic Acid and Naturally Occurring Compounds Bearing a Feruloyl Moiety: A Review on Their Structures, Occurrence, and Potential Health Benefits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(4), 580–616.
- Olvera-Trejo, D., & Velásquez-García, L. F. (2016). Additively manufactured MEMS multiplexed coaxial electro spray sources for high-throughput, uniform generation of core-shell microparticles. *Lab on a Chip*, 16(21), 4121–4132.
- Oosterveld, O., Grabber, J., Beldman, G., Ralph, J. & Voragen, A. (1997). Formation of ferulic acid dehydromers through oxidative cross-linking of sugar-beet pectin. *Carbohydr Res* 300:179–181.
- Ou, S., & Kwok, K. (2004). Ferulic acid : pharmaceutical functions, preparation and applications in foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 1261–1269.
- Ouwehand, A. C., Tiihonen, K., Mäkeläinen, H., Rautonen, N., Hasselwander, O., & Sworn, G. (2009). Non-starch polysaccharides in the gastrointestinal tract. In *Designing Functional Foods* (pp. 126–147).
- Pacheco, M., Villamiel, M., Moreno, R., & Moreno, F. J. (2019). Structural and rheological properties of pectins extracted from industrial sugar beet by-products. *Molecules*, 24, 392.
- Paşcalău, V., Pall, E., Tertis, M., Suci, M., Cristea, C., Borodi, G., Popa, C. (2019). In vitro study of BSA gel/polyelectrolyte complexes core shell microcapsules encapsulating doxorubicin for antitumoral-targeted treatment. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 68(1–3), 60–72.
- Pérez-Arnaiz, C., Busto, N., Leal, J. M., & García, B. (2014). New insights into the mechanism of the DNA/doxorubicin interaction. *Journal of Physical Chemistry B*, 118(5), 1288–1295.
- Pérez-Burillo, S., Molino, S., Navajas-Porras, B., Valverde-Moya, Á. J., Hinojosa-Nogueira, D., López-Maldonado, A., Rufián-Henares, J. Á. (2021). An in vitro batch fermentation protocol for studying the contribution of food to gut microbiota composition and functionality. *Nature Protocols*, 16(7), 3186–3209.
- Phatak, L., Chang, K. C., & Brown, G. (1988). Isolation and Characterization of Pectin in Sugar-Beet Pulp. *Journal of Food Science*, 53(3), 830–833.
- Phuengmaung, P., Sunagawa, Y., Makino, Y., Kusumoto, T., Handa, S., Sukhumsirichart, W., & Sakamoto, T. (2019). Identification and characterization of ferulic acid esterase from *Penicillium chrysogenum* 31B: de-esterification of ferulic acid decorated with L-arabinofuranoses and D-galactopyranoses in sugar beet pectin. *Enzyme and Microbial Technology*, 131(July), 109380.
- Ralet, M. C., André-Leroux, G., Quémener, B., & Thibault, J. F. (2005). Sugar beet (*Beta vulgaris*) pectins are covalently cross-linked through diferulic bridges in the cell wall. *Phytochemistry*, 66(24), 2800–2814.
- Rauma, M., & Johanson, G. (2009). Assessment of Dermal Absorption by Thermogravimetric Analysis: Development of a Diffusion Model Based on Fick's Second Law. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 98(11), 4365–4375.

- Raval, D., Kabariya, J., Hazra, T., & Ramani, V. (2019). A review on electrospraying technique for encapsulation of nutraceuticals. *International Journal of Chemical Studies*, 7 (5): 1183-1187.
- Rebollo-Moro, N. (2016). Nuevas estrategias en la administración y liberación de doxorubicina (Tesis de licenciatura). Universidad de Sevilla. Sevilla, España.
- Reinbolt Raquel E. Patel Roshan, Pan Xueliang, Timmers Cynthia Dawn, Pilarski Robert, S. C. & L. M. B. (2017). Risk factors for anthracycline-associated cardiotoxicity. *Support Care Cancer*, 176(1), 139–148.
- Renard, C.M.G.C., Champenois, Y., Thibault, J.-F., 1993a. Characterization of the extractable pectins and hemicelluloses of the cell wall of glasswort, *Salicornia ramosissima*. *Carbohydr. Polym.* 22, 239–245.
- Renard, C.M.G.C., Thibault, J.-F., Liners, F., Van Cutsem, P., 1993b. Immunological probing of pectins isolated or in situ. *Acta Bot. Neerl.* 42, 199–204.
- Rodríguez Carranza, R. (2015). *Vademécum Académico de Medicamentos. Doxorubicina: antineoplásico*. McGrawHill. <https://accessmedicina.mhmedical.com/Content.aspx?bookid=1552§ionid=90369748>.
- Rojas Cortés G., Vallejo Díaz, M., P. J. E. (2008). Los biopolímeros como materiales para el desarrollo de productos en aplicaciones farmacéuticas y de uso biomédico. *Revista Ingeniería e Investigación*, 28, 57–71.
- Rombouts, F.M., Thibault, J.F., 1986. Feruloylated pectic substances from sugar-beet pulp. *Carbohydr. Res.* 154, 177–187.
- Sáez V., Hernández E., López, L. (2003). Liberación controlada de fármacos. Aplicaciones biomédicas. *Revista Iberoamericana Polímeros*, 4(2), 111–122.
- Santos, E. E., Amaro, R. C., Cid, C. C., Hércules, M., Guerra, A., Soares, L. C., Froes, S. (2020). Extraction of pectin from agroindustrial residue with an ecofriendly solvent: use of FTIR and chemometrics to differentiate pectins according to degree of methyl esterification. *Food Hydrocolloids*, 105921.
- Saulnier, L. (1999). Ferulic Acid and Diferulic Acids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(3), 396–402.
- Seggiani, M., Puccini, M., Pierini, M., Giovando, S., Forneris, C. (2009). Effect of different extraction and precipitation methods on yield and quality of pectin. *Int. J. Food Sci. Technol. (UK)*. 44(3):574-580.
- Shariatnia, Z. (2018). Pharmaceutical applications of chitosan. *Advances in Colloid and Interface Science*, 263, 131-194.
- Soares, G. A., Castro, A. D. De, Cury, B. S. F., & Evangelista, R. C. (2013). Blends of cross-linked high amylose starch/pectin loaded with diclofenac. *Carbohydrate Polymers*, 91(1), 135–142.
- Speth, P. A. J., van Hoesel, Q. G. C. M., & Haanen, C. (1988). Clinical Pharmacokinetics of Doxorubicin. *Clinical Pharmacokinetics*, 15(1), 15–31.
- Takei, T., Sugihara, K., Yoshida, M., & Kawakami, K. (2013). Injectable and biodegradable sugar

- beet pectin/gelatin hydrogels for biomedical applications. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 24(11), 1333–1342.
- Talevi Alan, Quiroga Pablo & Ruiz, M. E. (2016). *Procesos biofarmacéuticos (edulp)*. Primera edición. Buenos Aires, Argentina. 4-156
- Tapia-Hernández, J. A., Torres-Chávez, P. I., Ramírez-Wong, B., Rascón-Chu, A., Plascencia-Jatomea, M., Barreras-Urbina, C. G., Rodríguez-Félix, F. (2015). Micro- and Nanoparticles by Electrospray: Advances and Applications in Foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(19), 4699–4707.
- Thorn, C. F., Oshiro, C., Marsh, S., Hernandez-Boussard, T., McLeod, H., Klein, T. E., & Altman, R. B. (2011). Doxorubicin pathways: pharmacodynamics and adverse effects. *Pharmacogenetics and Genomics*, 21(7), 440–446.
- Timm, K. N., & Tyler, D. J. (2020). The Role of AMPK Activation for Cardioprotection in Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity. *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 34, 255–269.
- Tirado, L., & Mohar, A. (2008). Epidemiología del cáncer de colon y recto. In *Gaceta Mexicana de Oncología* (Vol. 7). 13-15 pp.
- Urias-Orona, V., Rascón-Chu, A., Lizardi-Mendoza, J., Carvajal-Millán, E., Gardea, A. A., & Ramírez-Wong, B. (2010). A novel pectin material: Extraction, characterization and gelling properties. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(10), 3686–3695.
- Van der Logt, E. M. J., Roelofs, H. M. J., Nagengast, F. M., & Peters, W. H. M. (2003). Induction of rat hepatic and intestinal UDP-glucuronosyltransferases by naturally occurring dietary anticarcinogens. *Carcinogenesis*, 24(10), 1651–1656.
- Vansteenkiste, E.; Babot, C.; Rouau, X.; Micard, V. (2004). Oxidative gelation of feruloylated arabinoxylan as affected by protein. Influence on protein enzymatic hydrolysis. *Food Hydrocoll.* 18, 557–564
- Varan, G., Varan, C., & Bilensoy, E. (2019). Plant-Based Natural Polymeric Nanoparticles as Promising Carriers for Anticancer Therapeutics. In *Polymeric Nanoparticles as a Promising Tool for Anti-cancer Therapeutics*. Elsevier, Ankara, Turkey. 293-318 pp.
- Varga, Z. V, Ferdinandy, P., Liaudet, L., & Pacher, P. (2015). Drug-induced mitochondrial dysfunction and cardiotoxicity. *J. Physiol. Heart Circ. Physiol*, 309, 1453–1467.
- Vorwerk, S., Somerville, S., & Somerville, C. (2004). The role of plant cell wall polysaccharide composition in disease resistance. *Trends in Plant Science*, 9(4), 1360–1385.
- Waldron, K. W., Ng, A., Parker, M. L., & Parr, A. J. (1997). Ferulic acid dehydromers in the cell walls of *Beta vulgaris* and their possible role in texture. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74(2), 221–228.
- Wang, F., Li, Z., Tamama, K., Sen, C. K., & Guan, J. (2009). Fabrication and Characterization of Prosurvival Growth Factor Releasing, Anisotropic Scaffolds for Enhanced Mesenchymal Stem Cell Survival / Growth and Orientation. *Biomacromolecules*, 2609–2618.
- Wong, T. W., Colombo, G., & Sonvico, F. (2011). Pectin matrix as oral drug delivery vehicle for colon cancer treatment. *AAPS PharmSciTech*, 12(1), 201–214.
- Wusigale, Liang, L., & Luo, Y. (2020). Casein and pectin: Structures, interactions, and

- applications. *Trends in Food Science and Technology*, 97, 391–403.
- Xu, S. Y., Liu, J. P., Huang, X., Du, L. P., Shi, F. L., Dong, R., Cheong, K. L. (2018). Ultrasonic-microwave assisted extraction, characterization and biological activity of pectin from jackfruit peel. *LWT - Food Science and Technology*, 90, 577–582.
- Yarce, C. J., Pineda, D., Correa, C. E., & Salamanca, C. H. (2016). Relación entre las propiedades superficiales y la liberación *in vitro* de fármacos de una matriz comprimida que contiene un material polimérico anfifílico. *Productos farmacéuticos (Basilea, Suiza)*, 9(3), 34.
- Yildiz, H. M., Mckelvey, C. A., Marsac, P. J., Carrier, R. L., C. A., Rebecca, L. (2015). Size selectivity of intestinal mucus to diffusing particulates is dependent on surface chemistry and exposure to lipids dependent on surface chemistry and exposure to lipids. *Journal of Drug Targeting*, 23(7–8), 768–774.
- Yu, C. Y., Wang, Y. M., Li, N. M., Liu, G. S., Yang, S., Tang, G. T., Wei, H. (2014). *In vitro* and *in vivo* evaluation of pectin-based nanoparticles for hepatocellular carcinoma drug chemotherapy. *Molecular Pharmaceutics*, 11(2), 638–644.
- Zheng, J., Chen, J., Zhang, H., Wu, D., Ye, X., Linardt, R. J., & Chen, S. (2019). Gelling mechanism of RG-I enriched citrus pectin: Role of arabinose side-chains in cation- and acid-induced gelation. *Food Hydrocolloids*, 101, 105536.
- Zhu, J., Zhong, L., Chen, W., Song, Y., Qian, Z., Cao, X., Chen, W. (2019). Preparation and characterization of pectin/chitosan beads containing porous starch embedded with doxorubicin hydrochloride: A novel and simple colon targeted drug delivery system. *Food Hydrocolloids*, 95, 562–570.