

Sistemas para la Liberación Sostenida de Doxorrubicina basados en sílice mesoporosa y quitosano: una revisión

Systems for the Sustained Release of Doxorubicin based on mesoporous silica and chitosan: a review

Raúl Moreno Ruíz¹, Antonia Martínez Luévanos², Sofía Estrada Flores²,
María Cristina Ibarra Alonso^{3*}.

¹Maestría en Ciencia y Tecnología Química. Facultad de Ciencias Químicas.
Universidad Autónoma de Coahuila. Boulevard Venustiano Carranza. 25280. Saltillo,
Coahuila, México.

²Departamento de Materiales Cerámicos Avanzados y Energía.
Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Coahuila.
Boulevard Venustiano Carranza. 25280. Saltillo, Coahuila, México.

³Cátedras Conacyt-Universidad Autónoma de Coahuila.
Boulevard Venustiano Carranza. 25280.
Saltillo, Coahuila, México.

Correo: raulmorenoruiz@uadec.edu.mx;

*Autor por correspondencia: ibarra.cristina@uadec.edu.mx

Resumen

En última década se han desarrollado numerosos sistemas de liberación sostenida de diversos fármacos, sin embargo, es necesario continuar investigando sobre este tipo de sistemas para su empleo en la liberación controlada de fármacos anticancerígenos, puesto que aún no se cuenta con un sistema de liberación adecuado para su uso *in vivo*. Los biomateriales a base de quitosano y sílice han presentado resultados eficientes de liberación sostenidas *in vitro*, por lo que representan una excelente alternativa para su futuro empleo *in vivo*.

Palabras clave: biomateriales, liberación sostenida, quitosano, sílice, doxorubicina.

Abstract

In recent decades, numerous sustained-release anticancer drug systems have been developed. However, the development and research of these systems must be further expanded to achieve efficient platforms or systems in the controlled release of anticancer drugs, since there is still no adequate delivery system to scale their use *in vivo*. Biomaterials based on chitosan and silica have demonstrated efficient sustained release results *in vitro*, thus representing an excellent alternative for future use *in vivo*.

Keywords: biomaterials, sustained release, chitosan, silica, doxorubicin.

1. Introducción

La problemática del cáncer va incrementando a nivel mundial y la quimioterapia se utiliza como el principal tratamiento para esta enfermedad. En general el tratamiento de quimioterapia activa los sistemas inmunológicos inherentes para eliminación de

células cancerosas, sin embargo, los fármacos utilizados para la quimioterapia también pueden dañar las células sanas, causando efectos secundarios no deseados. Los biomateriales compuestos como sistemas de entrega fármacos anticancerígenos son una alternativa a los tratamientos convencionales contra el cáncer, principalmente por su biocompatibilidad y prometedora entrega en el sitio adecuado y el control de la dosificación por periodos largos (Esquivel y col., 2019; Shi y col., 2011).

Esta revisión presenta un análisis de la síntesis de biomateriales a base sílice y quitosano y de su uso como sistemas de entrega de doxorubicina (DOX) para el eficiente tratamiento del cáncer. En particular, se hace un análisis sobre algunas de las características o condiciones deseables para su uso como sistemas de administración de fármacos, como el tamaño de poro, área superficial específica, funcionalización de la superficie, estabilidad frente al pH, así como en el tamaño promedio de partícula del fármaco, para finalmente proporcionar una eficiente guía para preparación sistemas a base de sílice y quitosano para la entrega de DOX.

2. Biomateriales

Los biomateriales son ampliamente utilizados en el área médica y se clasifican principalmente en tres categorías, que incluyen polímeros, metales y cerámicos (Pezzotti y col., 2021). Actualmente su uso en la biomedicina es muy amplio, sobresale su uso en ingeniería de tejido óseo, en odontología como implantes dentales, biocementos y en la medicina como vehículos o sistemas para la liberación de fármacos de manera sostenida. En la Figura 1 se presentan diversos tipos de aplicación de los biomateriales (Calambás y col., 2014).

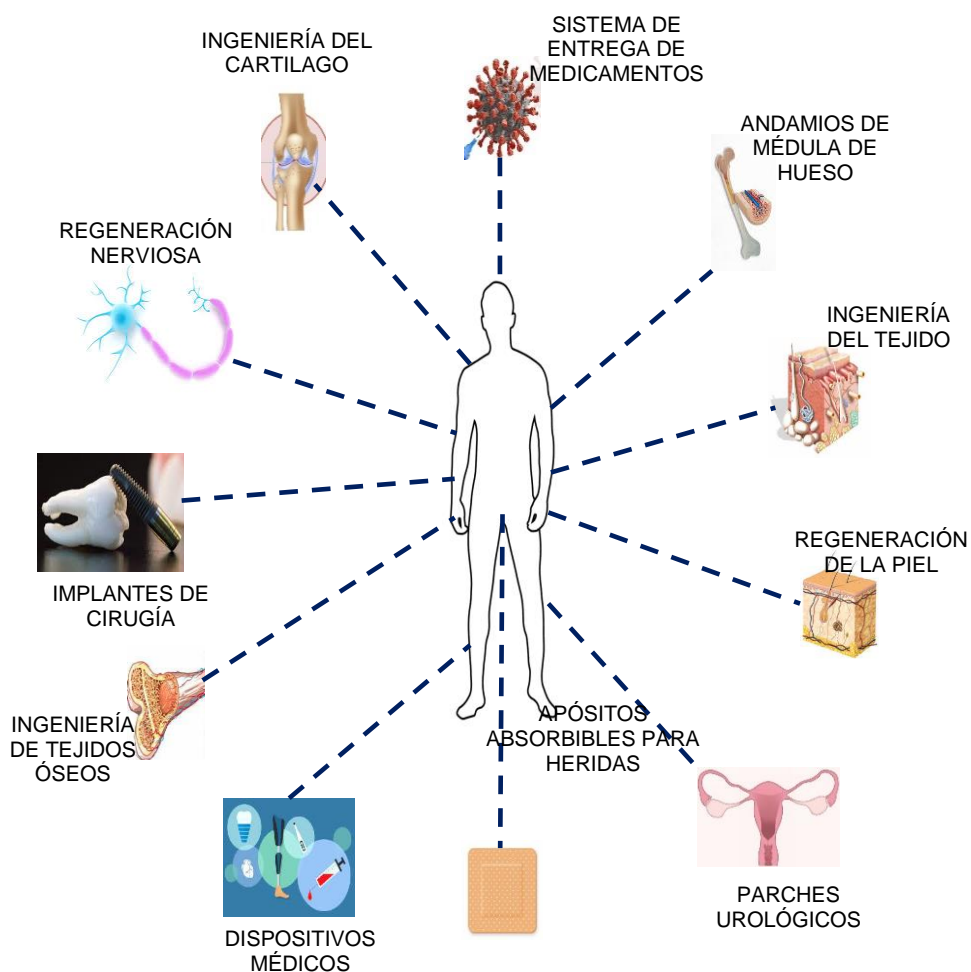


Figura 1. Aplicaciones de los biomateriales (Adaptada de Calambás y col., 2014).

2.1 Tipos de Biomateriales

Biocerámicos

Los biocerámicos son ampliamente utilizados debido a su excelente biocompatibilidad (Pezzotti y col., 2021). La sílice (SiO_2), zirconia (ZrO_2), alúmina (Al_2O_3) y titania (TiO_2), son algunos de los biocerámicos empleados para aplicaciones biomédicas (Gul y col., 2020; Prenzel y col., 2013).

La sílice, en particular las nanopartículas de sílice mesoporosa (NP-mSiO_2) ha sido ampliamente investigada para usarla como sistemas de liberación de diversos tipos de fármacos, debido principalmente a su estructura mesoporosa. El proceso de mineralización es la ruta más comúnmente estudiada hacia la síntesis de cerámicos como la sílice, lo cual se logra a través del uso de tensioactivos como el bromuro de hexadeciltrimetilamonio, CTAB, o el Pluronic P123) y utilizando como fuente de sílice al tetraetil ortosilicato (TEOS), en condiciones ácidas y básicas (Panek y col., 2021). Las sílices comercialmente llamadas SBA-15 y MCM-41, han sido propuestas como sistemas de liberación controlada de fármacos en aplicaciones biomédicas. La sílice SBA-15 tiene un tamaño de partícula de $150 \mu\text{m}$, con tamaño de poro de 2 a 10 nm, área superficial de 450 a $550 \text{m}^2/\text{g}$ y sus poros tienen una morfología hexagonal; por otro lado, la sílice MCM-41 tiene un valor de área superficial menor de $1000 \text{m}^2/\text{g}$, tamaño de poro de 2.1 a 2.7 nm. La principal diferencia entre estas dos sílices es que la SBA-15 contiene mesoporos anchos interconectados y la sílice MCM-41 tiene mesoporos estrechos (Janus y col., 2020; Panek y col., 2021).

Con respecto a la absorción de fármacos en MCM-41 y SBA-15, la absorción se encuentra limitada por el diámetro del poro, es decir, el tamaño de poro está directamente relacionado con el tamaño del fármaco huésped, por lo que su eficiencia de carga puede ser buena si el tamaño de la molécula del fármaco es menor a los 10 nm (Sakatani y col., 2008). La doxorubicina tiene un tamaño aproximado de 1.5 a 2.5 nm de diámetro, por lo que se absorbe fácilmente en los poros de la sílice (Bilalis y col., 2016; Lin y col., 2021; Landon y col., 2011).

En general, los biocerámicos presentan estructuras muy porosas y son muy biocompatibles, pero tienen como desventaja su baja resistencia mecánica (George y col., 2020), por lo que actualmente se pueden encontrar sistemas de liberación a base de biocerámicos y biopolímeros, es decir, biocompositos tipo cerámico/polímero.

Biomateriales poliméricos

Los biopolímeros son biodegradables y biocompatibles; según la literatura, son menos tóxicos y menos inmunogénicos, comparados con otros materiales (Ankit y col., 2021; George y col., 2020), por lo que son candidatos prometedores para el desarrollo de sistemas de administración de fármacos. Los polímeros más utilizados como materiales biomédicos son el polietileno de alto peso molecular, poliamidas, siliconas y los polímeros biodegradables por ejemplo como la celulosa, ácido poliglicólico el quitosano (Tahir y col., 2022), son ampliamente usados en aplicaciones médicas, siendo el quitosano el que nos interesa en el presente trabajo.

Quitosano

En la actualidad el quitosano es uno de los biopolímeros más empleados para la administración de fármacos (Tahir y col., 2022). El Quitosano es un polímero catiónico derivado de la quitina, el cual es un polisacárido natural y abundante, que se encuentra en los organismos marinos como camarones, langostas, cangrejos calamares y pulpos (Teng y col., 2001).

La cadena macromolecular de quitosano obtenida por desacetilación de quitina contiene grupos amino por lo que tiene gran reactividad. Siendo el 64% de desacetilación, para considerar como un biopolímero al quitosano. La presencia de grupos amino brinda la posibilidad de muchas reacciones químicas, como alquilación y quelación de metales (Yilmaz y col., 2019). La secuencia del grupo

amino y del grupo acetil-amino de las moléculas de quitosano, son un parámetro importante que afecta las propiedades físicas del quitosano. El grupo amino hace que el estado de carga del quitosano sea susceptible a la influencia del valor del pH, lo cual puede ser utilizado como un estímulo para el control de la liberación. Cuando el valor de pH del sistema de disolución de quitosano es menor de 6, el grupo amino se carga positivamente por protonación, lo que hace que el quitosano se convierta en un polisacárido catiónico soluble en agua (Pillai y col., 2009). Cuando el valor del pH es superior a 6, la desprotonación de los grupos hará que las macromoléculas de quitosano pierden carga y sean insolubles, por lo que, el quitosano a menudo se disuelve en ácidos diluidos.

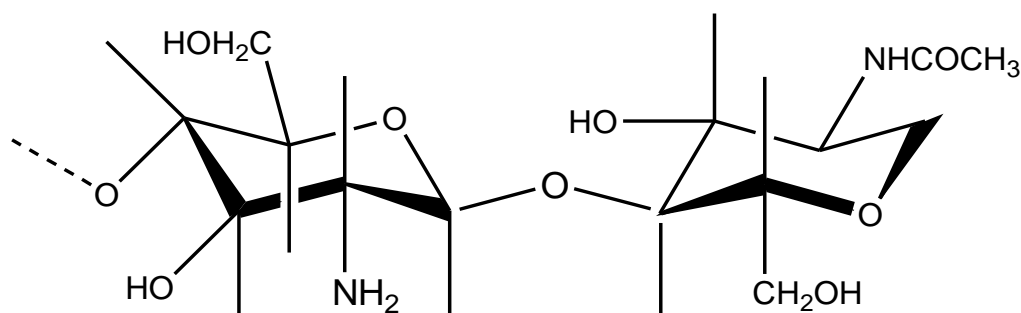


Figura 2. Estructura química del quitosano (Tsai y col., 2011).

3. Carga de fármacos en sistemas a base de sílice mesoporosa

Actualmente se emplean diferentes procedimientos de carga de fármacos, los métodos más comunes emplean solventes orgánicos, para llevar a cabo la carga como lo son la difusión o impregnación del ingrediente, evaporación del solvente, tecnología de CO₂ líquido y supercrítico, encapsulamiento del fármaco (Yilmaz y col., 2019).

Trzeciak y col., mencionan que para obtener una eficiente carga en sílice mesoporosa existen tres desventajas principales a vencer, la primera es la pérdida

significativa del fármaco en la etapa final, al emplear la filtración o al centrifugar para recuperar los sistemas cargados, la segunda desventaja es la dificultad en monitorear in situ el porcentaje de carga del fármaco, y la tercera es la pobre disolución de la mayoría de los fármacos, o que solo sean solubles en solventes tóxicos (Trzeciak y col 2020). Trzeciak y col., propusieron un método fácil y eficiente para la carga de fármacos en los poros de sílice mesoporosas, mediante difusión, utilizaron MCM-41 y etanol como solvente. El procedimiento consistió en realizar una mezcla física del fármaco y de la sílice mesoporosa. Esta mezcla se colocó en un recipiente cerrado conteniendo etanol, durante 3 horas y a temperatura ambiente (Figura 3). Finalmente, el etanol se elimina de la sílice cargada, calentando en un horno a 50 °C durante 6 h. La funcionalidad de este método consiste en que el fármaco al estar muy cerca del poro de la sílice, requiere un volumen mínimo de solvente para introducirse en los poros. Técnicamente, este proceso se lleva en dos etapas; en la primera etapa, aunque no hay contacto directo entre etanol y la mezcla física (sílice y fármaco), si existe contacto entre ellos mediante la difusión de los vapores del solvente y la mezcla, en la segunda etapa, los vapores penetran los poros de la sílice, condensándose y difundiendo dentro de los poros. Este método ha sido probado para la carga de ibuprofeno, pero tiene gran potencial para cargar diferentes fármacos (Trzeciak y col 2020).

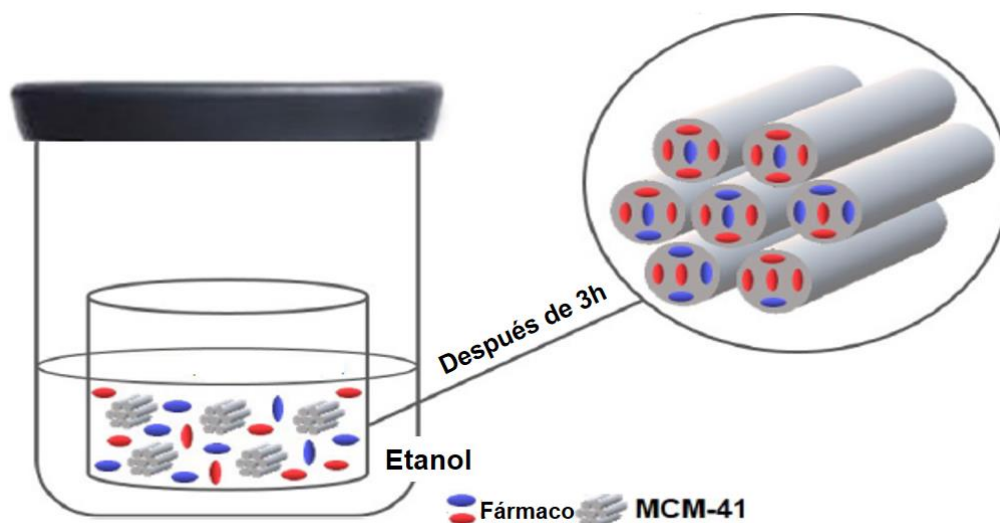


Figura 3. Ilustración esquemática de la carga de fármacos en los poros de sílice (MCM-41) (Adaptada de Trzeciak y col., 2020).

4. Compositos a base de quitosano y sílice, como eficientes sistemas en la entrega de doxorrubicina

Los compositos son materiales constituidos por lo menos de dos tipos de materiales de distinta composición química y presentan propiedades distintas y/o mejoradas con respecto a las de los componentes individuales, por lo que los compositos de SiO_2 y quitosano resultaran ser altamente biocompatibles, con mayor capacidad de carga y de liberación de fármaco dirigida. Debido a estas ventajas, en la literatura se reporta ampliamente la síntesis de compositos de SiO_2 /quitosano para diversas aplicaciones como biomateriales. Sin embargo, el principal desafío en la administración controlada de fármacos es la unión del sistema y la parte específica del cuerpo donde se desea liberar el fármaco; por esta razón, se han estado realizando grandes esfuerzos de forma continua para satisfacer esta necesidad. Estímulos como la temperatura, cambios de pH y cinética de liberación, son

estrategias que pueden permitir una liberación inteligente del fármaco (Peng y col., 2019).

En cuanto a los fármacos que se han empleado en tratamientos de cáncer, está la DOX; este es un fármaco hidrófobo, eficiente en el tratamiento de diversos tipos de cáncer, principalmente el de mama, debido a su eficiente actividad antitumoral al inhibir al ácido nucleico del material genético en células cancerosa, sin embargo, su aplicación es limitada debido a su alta toxicidad, junto con otras deficiencias asociadas con la quimioterapia convencional. Por lo tanto, es importante desarrollar un sistema de administración de DOX, que permita disminuir sus efectos dañinos. Los hidrogeles a base de quitosano, de acuerdo con Chen y col., contienen la concentración óptima de DOX y la viscosidad específica, para la eficiente liberación. Los hidrogeles cargados con DOX y recubiertos con Ferumoxytol (FMT) pueden absorber aún más una gran cantidad de agua en su estructura, lo cual conduce a un mayor índice de viscosidad, estado óptimo para la administración local *in vivo*, con una aplicación de baja movilidad, por lo que un mayor índice de viscosidad pudiera ser un eficiente estímulo, para la liberación óptima de DOX en los hidrogeles de quitosano (Chen y col., 2018).

Con el objetivo del transporte eficiente de DOX, los autores fabricaron un compuesto con estructura de tipo core-shell a base de sílice mesoporosa ($mSiO_2$) y quitosano (CS), empleando 3-glicidoxipropil-trimetoxisilano (GPTMS) como agente de reticulación (Lin y col., 2021; Lohiya y col., 2021). Los autores indican que estímulos como el pH y la temperatura, no solo afectan en la liberación de fármaco, también se ve afectada la estabilidad coloidal y morfología de las partículas de sílice al variar estos estímulos (Figura 4). Al incrementar la temperatura de reacción de 50 a 60 °C, la dispersión de partículas de sílice fue más evidente, debido a que, al incrementar la temperatura, se obtiene una mayor velocidad de reacción de hidrólisis, por consiguiente, es más rápida la velocidad de crecimiento de núcleos, resultando en

una mejor dispersión de nanopartículas, sin embargo, en forma de varilla (Lin y col., 2021).

El valor de pH también tiene efecto en la síntesis de sílice; a pH 10 a 10.5, los autores Lin y col., 2021 describen una morfología irregular. En contraste a un valor de pH más alcalino (pH =11.5), la esfericidad de las nanopartículas se vuelve más redonda (Lin y col., 2021). Respecto a la sensibilidad al pH y su efecto en la liberación de DOX, a un valor de pH igual a 3, se mejoró el efecto terapéutico, obteniéndose una óptima liberación. Estos vehículos o compositos a base de sílice mesoporosa y quitosano reticulado con GPTMS son una idea novedosa y una excelente alternativa para la liberación de fármacos comúnmente utilizados en los tratamientos contra el cáncer (Lin y col., 2021).

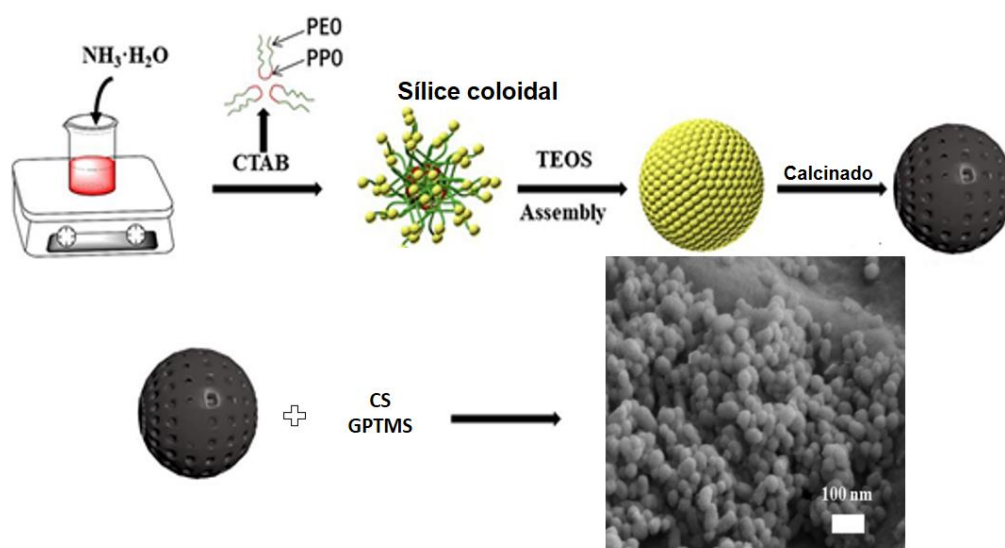


Figura 4. Diagrama esquemático de la síntesis de SiO₂/CS (Adaptada de Lin y col., 2021).

Los aerogeles de quitosano también han sido investigados como sistemas para liberación de fármacos. Zhao y col., en 2016, fabricaron aerogeles de quitosano ultraligeros y con alta porosidad, posicionándose como materiales novedosos para la carga y liberación de fármacos (Zhao y col., 2016). Adicionalmente, sus moléculas pueden variar en los valores de masa molecular y grados de desacetilación promedio o grupos aminos libres, lo cual determina la calidad y el uso de estos biomateriales. Por lo general, el método de síntesis de los aerogeles consiste en la eliminación de todos los agentes de hinchamiento en el estado gel, sin una reducción sustancial del volumen, o degradación (Doshi y col., 2018).

Zhao y col., prepararon aerogeles a base de quitosano y sílice mesoporosa a través ruta sustentable mediante la congelación de ácido silícico con quitosano en medios acuosos. Las propiedades físicas, específicamente la gelificación de los aerogeles resulto ser dependiente del cambio de pH. Se obtuvo una estructura aleatoria "racimo-racimo" entrelazada a nivel molecular, con la adición de sílice mesoporosa en los aerogeles quitosano. Este biocompuestos inorgánicos/ orgánicos, posee gran potencial como sistemas de liberación. La Figura 5 ilustra la síntesis y el aspecto físico del aerogel a base de sílice mesoporosa y quitosano, con estructura aleatoria "racimo-racimo" (Zhao y col., 2016).

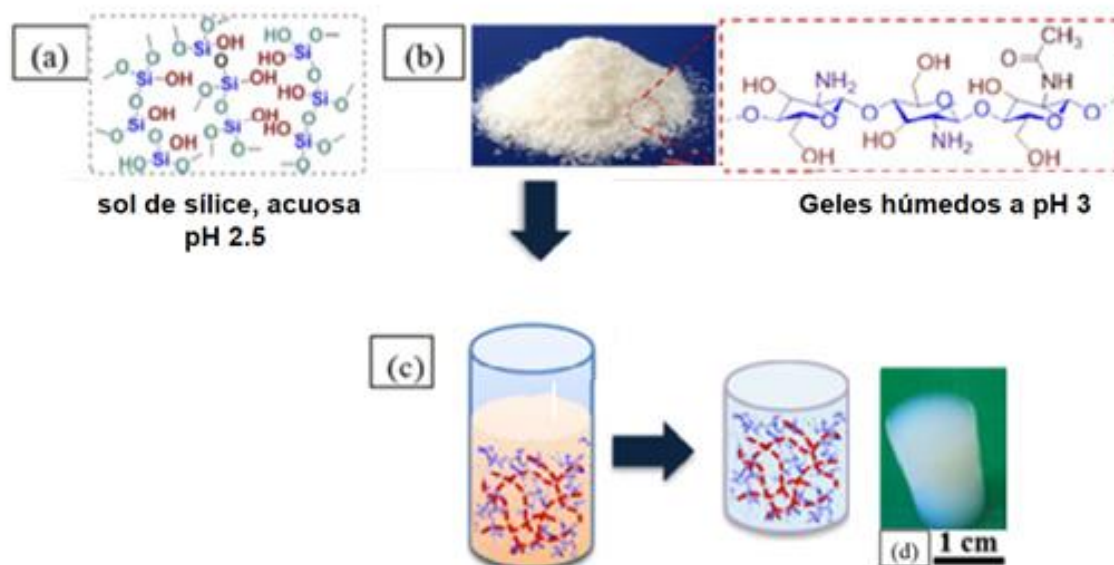


Figura 5. Esquema que ilustra la síntesis del aerogeles compuestos de quitosano y SiO_2 , (a) estructura de racimos coloidales de SiO_2 (b) quitosano (c) ilustración de la sílice con quitosano en medios acuosos (d) Fotografía digital del aerogeles.

SCD significa secado supercrítico (Adaptada de Zhao y col., 2016).

Los sistemas de liberación de sílice y quitosano permiten optimizar la liberación y reducir los efectos secundarios, mediante una concentración terapéutica del fármaco que sea estable en el organismo. Se trata de alcanzar una cinética de liberación de orden cero y sin cambios en la concentración del fármaco en el organismo, comparándolo con los cambios intermitentes de concentración en las dosificaciones convencionales (Pezzotti y col., 2021). Las investigaciones más recientes se enfocan en la búsqueda de un sistema que libere DOX de manera dirigida hacia un lugar específico del cuerpo. En este sentido, se trata de asegurar que el fármaco se libere en el lugar requerido. Los sistemas de liberación basados en sílice/quitosano representan una alternativa prometedora para este fin.

5. Conclusiones

En este artículo se analizaron las diferentes estrategias para la obtención de sistemas de SiO₂, quitosano y sus compositos para la liberación de doxorubicina. El conjunto de propiedades de la sílice (no tóxica y porosa) y del quitosano (biodegradable y sensible al pH), son cruciales para la formación de sistemas con aplicaciones farmacéuticas. Aunque algunos estudios sobre el desarrollo de sistemas de liberación basados en biomateriales de quitosano/sílice indican que estos son excelentes plataformas para la liberación de DOX *in vitro*, es necesario continuar investigando sobre este tipo de sistemas, para poder comprender y mejorar su comportamiento en la cinética de liberación de DOX, con el objetivo de avanzar hacia su posible aplicación *in vivo*.

Agradecimientos

Raúl A. Moreno Ruíz agradece al CONACYT por la beca número 787934, otorgada para sus estudios de Maestría. Antonia Martínez-Luévanos agradece a la Universidad Autónoma de Coahuila el apoyo al proyecto “Desarrollo de biomateriales para su aplicación en ingeniería de tejidos óseos, implantología y liberación controlada de fármacos”. María Cristina Ibarra Alonso agradece al CONACYT por el financiamiento al proyecto con número 287245 (CB-2016-01).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ankit, J., Madhavi, T., Shiv, K. P., & Ashok, A. R. (2021). Biopolymer Matrix Composite for Drug Delivery Applications in Cancer. D. Brabazon (Eds.), *Encyclopedia of Materials: Composites* (pp. 804-817). United States: Elsevier, Netherlands.

Bilalis, P., Tziveleka, L., Spyridon, V., & Iatrou H. (2016). pH-Sensitive nanogates based on poly(L-histidine) for controlled drug release from mesoporous silica nanoparticles. *Polymer Chemistry*, 7:1475–1485

Calambás, H. (2014). “Materiales compuestos de alúmina-zirconia para aplicaciones biomédicas.” Tesis de Doctoral. Universidad Nacional de la Plata, Argentina Pp. 90.

Chen, B., Sun, J. S., Fan F., Zhang, X., Qin, Z., Wang, P., Li, Y., Xiquan, Z., Fei, L., Yanlong, L., Min, J., & Ning, G. (2018). Ferumoxitol of ultrahigh magnetization produced by hydrocooling and magnetically internal heating co-precipitation. *Nanoscale*. 10:7369–7376.

Doshi, B., Sillanpää, M., & Kalliola, S. (2018). A review of bio-based materials for oil spill treatment. *Water Research*. 135:262-277.

Esquivel, C. A., Ibarra, A. C., Oliva, U. J., & Martínez, L. A. (2018). Porous aerogel and core/shell nanoparticles for controlled drug delivery: A review. *Materials Science and Engineering: C*. 96:915-940.

George, A. M., Reddy, S. P., Thakur, G., & Concy, R. (2020) 29-Biopolymer-based scaffolds: Development and biomedical applications. K. Pal, I. Banerjee, P. Sarkar, D. Kim, W. Deng, K. Dubey, K. Majumder (Eds.), *Biopolymer-Based Formulations* (pp. 717-749). United States: Elsevier, Netherlands.

Gul, H., Khan, M., & Khan, S. A. (2020) 3-Bioceramics: types and clinical applications. S. Khan, A. A. Chaudhry (Eds.), *In Woodhead Publishing Series in Biomaterials, Handbook of Ionic Substituted Hydroxyapatites* (pp. 53-58). United States: Elsevier, Netherlands.

Janus, P., Janus, R., Dudek, B., Drozdek, M., Silvestre, A., Rodríguez, R. F., & Kuśtrowski, P. (2020). On mechanism of formation of SBA-15/furfuryl alcohol-derived mesoporous carbon replicas and its relationship with catalytic activity in oxidative dehydrogenation of ethylbenzene. *Microporous and Mesoporous Materials*. 299:110118 (Pp.13).

Landon, C., Park, J., Needham, D., & Dewhirs M. (2011). Nanoscale Drug Delivery and Hyperthermia: The Materials Design and Preclinical and Clinical Testing of Low Temperature-Sensitive Liposomes Used in Combination with Mild Hyperthermia in the Treatment of Local Cancer. *The Open Nanomedicine Journal*. 3:38-64.

Lin, J., Peng, C., Ravi, S., Nur, A. S., Zheng, J., & Balkus K. (2020). Biphenyl Wrinkled Mesoporous Silica Nanoparticles for pH-Responsive Doxorubicin Drug Delivery. *Materials*. 13: 1998-2008.

Lin, Z., Gong, C., Tang, L., Bilang, C., Sheng, F., Zhong, W., & Yong-guang, B. (2021). Study on preparation and in vitro anti-tumor activity of chitosan-modified mesoporous silica hybrids by GPTMS cross-linking agent. *Reactive and Functional Polymers*. 169:105072 (Pp. 13).

Lohiya, G., & Katti, D. (2022). Carboxylated chitosan-mediated improved efficacy of mesoporous silica nanoparticle-based targeted drug delivery system for breast cancer therapy. *Carbohydrate Polymers*. 277: 118822 (Pp. 16).

Panek, R., Szelağ, M., & Franus, W. (2021). Effect of the MCM-41 mesoporous silica on the microstructure and performance of cement matrix. *Journal of Building Engineering*. 44:103421 (Pp 10).

Pezzotti, G. (2021). 13-Surface chemistry of bioceramics: The missing key. A. Osaka and R. Narayan (Eds.), *In Elsevier Series on Advanced Ceramic Materials, Bioceramics* (pp 297-324). United States: Elsevier, Netherlands.

Peng, N., Ding, X., Wang, Z., Cheng, Y., Gong, Z., Xu, X., Gao, X., Cai, Q., Huang, S., & Liu, Y. (2019). Novel dual responsive alginate-based magnetic nanogels for onco-theranostics. *Carbohydrate Polymers*. 204:32-41.

Pillai, C., Paul, W., & Sharma, C. (2009). Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Prog. Polym. Sci.* 34:641–678.

Prenzel, T., Mehner, A, Lucca, DA., Qi, Y., Harriman, T. A., Mutlugünes, Y., & Swiderek, P. (2013). Chemical and mechanical properties of silica hybrid films from NaOH catalyzed sols for micromachining with diamond cutting tools. *Thin Solid Films*. 531:208–216.

Sakatani, Y., Boissière, C., Grosso, D., Nicole, L., Soler, I., Galo, J. & Sanchez, C. (2008). Coupling Nanobuilding Block and Breath Figures Approaches for the Designed Construction of Hierarchically Templated Porous Materials and Membranes. *Chemistry of Materials*. 20:1049–1056.

Shi, J., Xiao, Z., Kamaly, N., & Farokhzad, O. (2011). Self-Assembled Targeted Nanoparticles: Evolution of Technologies and Bench to Bedside Translation. *Accounts of Chemical Research*. 44:1123–1134.

Tahir, A. M., Murteza, S., Neyaz, A. M., Saquib, H. M., & Kumar, N. (2022). Chitosan as a responsive biopolymer in drug delivery. S. Hasnain, S. Beg and A. K Nayak (Eds.), *Chitosan in Drug Delivery, Academic Press* (pp. 389-410). United States: Elsevier, Netherlands.

Teng, L. W., Khor, E., Tan, T. K., Lim, L., & Tan, S. C. (2001). Concurrent production of chitin from shrimp shells and fungi, *Carbohydrate Research*. 332:305–316.

Trzeciak, K., Kaźmierski, S., Wielgus, E., & Potrzebowski, M. J. (2020). DiSupLo-New extremely easy and efficient method for loading of active pharmaceutical ingredients into the pores of MCM-41 mesoporous silica particles. *Microporous and Mesoporous Materials*. 308: 110506 (Pp. 17).

Tsai, M. L., Chen, R. H., Bai, S. W., & Chen W. Y. (2011). The storage stability of chitosan/tripolyphosphate nanoparticles in a phosphate buffer, *Carbohydrate Polymers*. 84: 756–761.

Yilmaz, T., Maldonado, L., Turasan, & H., Kokini, J. (2019). Thermodynamic mechanism of particulation of sodium alginate and chitosan polyelectrolyte complexes as a function of charge ratio and order of addition. *Journal of Food Engineering*. 254:42–50.

Zhao, S., Malfait, W., Jeong, E., Fischer, B., Zhang, Y., Xu, H., Emanuele, A., William, R., William, S., & Koebel, M. (2016). Facile One-Pot Synthesis of Mechanically Robust Biopolymer–Silica Nanocomposite Aerogel by Cogelation of Silicic Acid with Chitosan in Aqueous Media. *American Chemical Society*, 4:5674–5683.