UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

Tema: Evaluación del efecto antiproliferativo de la cefalexina cargada en nanopartículas de quitosano sobre células de cáncer de próstata.

Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo la obtención del Título de Ingeniero Biotecnólogo, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Este estudio forma parte del Proyecto de Investigación "Desarrollo de modelos celulares tridimensionales para investigación biomédica y medicina regenerativa" aprobado mediante la Resolución: UTA-CONIN-2025-0029-R, por el Consejo de Investigación e Innovación de la Universidad Técnica de Ambato.

Autor: Justin Damián Rodríguez Guaño

Tutor: Dra. Lorena de los Ángeles Núñez Villacís

Ambato – Ecuador

Enero – 2026

APROBACIÓN DEL TUTOR

Dra. Lorena de los Ángeles Núñez Villacís

CERTIFICA:

Que el presente Informe Final del Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 12 de diciembre de 2025

Firmado electrónicamente por:
LORENA DE LOS ANGELES NUNEZ VILLACIS
Validar únicamente con FirmaEC

Dra. Lorena de los Ángeles Núñez Villacís

1804256905

TUTOR

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Justin Damián Rodríguez Guaño, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero Biotecnólogo son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



Justin Damián Rodríguez Guaño

1850421361

AUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final del Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final del Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Justin Damián Rodríguez Guaño

1850421361

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

Firmado electrónicamente por:
LANDER VINICIO
PEREZ ALDAS
Validar únicamente con FirmaEC

Presidente del Tribunal

Firmado electrónicamente por:
HELENA MARITZA DE
LA TORRE OLVERA
Validar únicamente con FirmaEC

Dra. Helena Maritza De La Torre Olvera
1309651998

Firmado electrónicamente por:
MARIA DANIELA
GARCES MONCAYO
Validar únicamente con FirmaEC

Mg. María Daniela Garcés Moncayo
1803571585

Ambato, 06 de enero de 2026

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado, en primer lugar, a mi madre, quien siempre ha sido mi mayor apoyo y fuente de inspiración. Gracias por tu amor incondicional, por tu paciencia y por tu sacrificio. Eres el motor que ha impulsado cada uno de mis pasos, y este logro es tanto mío como tuyo.

A mis amigos, que siempre creyeron en mí, que me acompañaron en cada momento de duda y me motivaron a seguir adelante. Gracias por estar allí cuando más lo necesitaba, por sus palabras de aliento y por su amistad inquebrantable.

A mi tutora, que me guió en este proceso con tanto compromiso y dedicación. Gracias por creer en mi potencial, por permitirme escoger un tema que me apasiona, por su constante motivación y por no darme nunca la espalda. Este trabajo es el reflejo de su apoyo y de la confianza que depositó en mí.

Pero especialmente, me la dedico a mí mismo. Este trabajo es el pilar sobre el que construiré mi futuro profesional. Me lo dedico como recordatorio de que, con esfuerzo, pasión y perseverancia, todo es posible. A mi yo del futuro, que cuando se sienta perdido o enfrente obstáculos, recuerde que este logro fue el fruto de la dedicación constante. Esta es la prueba de que la constancia siempre tiene su recompensa.

Finalmente, se la dedico al futuro Doctor que pienso llegar a ser, que creció profesionalmente gracias a este trabajo, a ese profesional que, con cada paso dado, se ha acercado más a sus sueños.

~Justin ~

AGRADECIMIENTO

Deseo expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a mi madre, cuyo amor, apoyo incondicional y fortaleza han sido el pilar que me ha acompañado durante todo este proceso académico y personal. Gracias por creer en mí incluso en los momentos en los que dudé; por soportar tanto de mi parte y tenerme la paciencia que me has tenido. Extiendo igualmente mi gratitud a toda mi familia, quienes, con su compañía, comprensión y palabras de aliento, me impulsaron a seguir adelante y superar cada desafío con valentía.

Quiero agradecer de manera especial a mi tutora, la Ph. D. Lorena Núñez, por permitirme elegir un tema que me apasionó, su guía constante, su dedicación y por estar siempre dispuesta a acompañarme en cada etapa de este trabajo. Su orientación y compromiso académico han sido pilares esenciales para la culminación de esta investigación.

De igual manera, expreso mi más sincero agradecimiento al Ph. D. Alfredo Valarezo, director del Instituto de Energía y Materiales de la Universidad San Francisco de Quito y al Ph. D. Luis Guamán, docente investigador de la Universidad Técnica Particular de Loja; quienes compartieron generosamente sus conocimientos, me brindaron apoyo técnico y realizaron valiosas observaciones que contribuyeron de manera significativa a la ejecución y culminación de este proyecto.

A mis docentes, Mg. María Daniela Garcés y Ph. D. Orestes López, gracias por estar presentes cuando más necesité de su ayuda y conocimientos. Su apoyo académico ha permitido llegar a donde estoy. Mi gratitud también para la Ing. Carla Peñafiel, encargada de los laboratorios de la UODIDE, quien siempre mostró disposición para brindarme su apoyo y facilitarme las herramientas necesarias para llevar a cabo las actividades de laboratorio.

Le agradezco a Less, por haberme acompañado y guiado todos estos meses como compañeros de laboratorio, gracias por tus consejos, las experiencias y las risas que no faltaron.

Finalmente, agradezco con cariño a mis amigos John, Diani, Pau y Dally, por acompañarme durante el desarrollo de este trabajo y ofrecerme su ayuda incondicional. A Zu, Jos, Andrés y Dafne, gracias por regalarme su mejor sonrisa, su apoyo sincero y por todos los buenos momentos y experiencias que compartimos. Su compañía durante estos cuatro años hizo de este camino uno más hermoso y significativo. Ahora que he llegado al final, no me queda más que agradecerles por todas las cosas que pasamos juntos y desearles un gran futuro, donde espero sigamos juntos. Recuerden que siempre tendrán un amigo aquí para ustedes, los quiero.

A cada uno de ustedes, gracias por ser parte fundamental de este logro.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR ..... **ii**

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN ..... **iii**

DERECHOS DE AUTOR ..... **iv**

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO ..... **v**

DEDICATORIA ..... **vi**

AGRADECIMIENTO ..... **vii**

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS ..... **viii**

ÍNDICE DE TABLAS ..... **xi**

ÍNDICE DE FIGURAS ..... **xii**

ÍNDICE DE ANEXOS ..... **xiii**

RESUMEN EJECUTIVO ..... **xiv**

ABSTRACT ..... **xv**

CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO **1**

1.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS 1

1.1.1 Planteamiento del problema y justificación 1

1.1.2 El cáncer de próstata en el contexto actual 2

1.1.2.1 Anatomía e histología de la próstata 3

1.1.2.2 Desarrollo del cáncer de próstata 4

1.1.2.3 Abordajes terapéuticos convencionales 6

1.1.2.4 Terapias emergentes y dirigidas como tratamientos alternativos 7

1.1.3 Nanomedicina como opción terapéutica 8

1.1.3.1 Biopolímeros empleados para la fabricación de nanopartículas 10

1.1.3.2 Quitosano 10

1.1.3.3 Desarrollo de nanopartículas a partir de quitosano 13

1.1.3.4 Caracterización de nanopartículas 15

1.1.4 Reposicionamiento de fármacos 16

1.1.4.1 Reposicionamiento de medicamentos para tratar el cáncer 17

1.1.4.2 Antibióticos como medicamentos emergentes en enfermedades oncológicas 17

1.1.4.3 Cefalexina como posible agente oncológico 19

1.2 OBJETIVOS 21

1.2.1 Objetivo general....21
1.2.2 Objetivos específicos....21
CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA....22
2.1 MATERIALES....22
2.2 MÉTODOS....24
2.2.1 Elaboración de nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina....24
2.2.1.1 Preparación de la solución de quitosano-cefalexina....24
2.2.1.2 Preparación de la solución de TPP y elaboración de nanopartículas....24
2.2.1.3 Centrifugación y ultracongelación....25
2.2.1.4 Liofilización y obtención de nanopartículas....25
2.2.2 Caracterización de las nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina....25
2.2.2.1 Análisis de la encapsulación de cefalexina en las nanopartículas de quitosano mediante Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR)....25
2.2.2.2 Eficiencia de encapsulación y contenido de carga de cefalexina en las nanopartículas....26
2.2.2.3 Evaluación de la actividad antimicrobiana de la cefalexina nanoencapsulada en quitosano....27
2.2.2.4 Caracterización morfológica de las nanopartículas por microscopía electrónica de barrido (SEM)....28
2.2.3 Análisis de la actividad antiproliferativa de las nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina en la línea celular PC-3 de cáncer de próstata....29
2.2.3.1 Preparación del cultivo celular PC-3....29
2.2.3.2 Tratamiento de las células cancerígenas con cefalexina libre y nanoencapsulada en quitosano....30
2.2.3.3 Ensayo de citotoxicidad por MTS....32
CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN....33
3.1 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS....33
3.1.1 Elaboración de nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina mediante gelificación iónica....33
3.1.2 Caracterización de las nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina....36
3.1.2.1 Análisis de la encapsulación de cefalexina en las nanopartículas de quitosano por FT-IR....36
3.1.2.2 Evaluación de la eficiencia de encapsulación y contenido de carga de cefalexina en las nanopartículas....39

3.1.2.3 Evaluación de la actividad antimicrobiana de la cefalexina nanoencapsulada en quitosano 42
3.1.2.4 Caracterización morfológica de las nanopartículas por microscopía electrónica de barrido (SEM) 45
3.1.3 Análisis de la actividad antiproliferativa de las nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina en la línea celular PC-3 de cáncer de próstata 48
3.1.3.1 Evaluación de la viabilidad de las células PC-3 de cáncer de próstata 48
3.1.3.2 Evaluación de la morfología de las células PC-3 de cáncer de próstata post-tratamientos 53
CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 58
4.1 CONCLUSIONES 58
4.2 RECOMENDACIONES 59
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 60
ANEXOS 70

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Reactivos, material fungible y equipos de laboratorio empleados 22
Tabla 2 Concentraciones de los tratamientos con NP-2 y su equivalente de fármaco 30
Tabla 3 Condiciones experimentales empleadas para la elaboración de las nanopartículas 33
Tabla 4 Cuantificación de cefalexina en sobrenadante y en nanopartículas.....40
Tabla 5 Eficiencia de encapsulación y contenido de la cefalexina en las nanopartículas 41
Tabla 6 Microscopías de las células tratadas con cefalexina (CFX) 54
Tabla 7 Microscopías de las células tratadas con nanopartículas (NP-2) cargadas de cefalexina (CFX) 56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Anatomía de la glándula prostática 3
Figura 2 Evolución histológica del cáncer de próstata 5
Figura 3 Estructura del quitosano y protonación de sus grupos amino en medio ácido 11
Figura 4 Métodos de síntesis de nanopartículas de quitosano 14
Figura 5 Estructura química de la cefalexina 19
Figura 6 Disposición de los tratamientos e inóculos del ensayo microbiológico 28
Figura 7 Controles y tratamientos para el ensayo de viabilidad celular 31
Figura 8 Nanopartículas obtenidas luego del proceso de liofilización 35
Figura 9 Espectro infrarrojo de la cefalexina (CFX) 36
Figura 10 Espectro infrarrojo de las formulaciones de las nanopartículas (NP-1 y NP-2) frente a sus controles 37
Figura 11 Curva de calibración de cefalexina (CFX) 40
Figura 12 Ensayo microbiológico en microplaca para comprobar la actividad de la cefalexina cargada en las formulaciones de nanopartículas (NP-1 y NP-2) 43
Figura 13 Formulación 1 de las nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina 45
Figura 14 Formulación 2 de las nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina 46
Figura 15 Ensayo de viabilidad de células PC-3 tratadas con cefalexina (CFX) por 24 horas 48
Figura 16 Ensayo de viabilidad de células PC-3 tratadas con cefalexina (CFX) por 48 horas 50
Figura 17 Ensayo de viabilidad de células PC-3 tratadas con nanopartículas cargadas de cefalexina (NP) por 24 horas 51
Figura 18 Ensayo de viabilidad de células PC-3 tratadas con nanopartículas cargadas de cefalexina (NP) por 48 horas 52

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Espectro infrarrojo del quitosano.....70
Anexo 2 Datos de absorbancia obtenidos del espectrofotómetro UV de la cefalexina (CFX) para la curva de calibración.....70
Anexo 3 Microscopía electrónica del liofilizado de las nanopartículas de la formulación 1 (NP-1)....71
Anexo 4 Microscopía electrónica del liofilizado de las nanopartículas de la formulación 2 (NP-2)....71
Anexo 5 Ensayos en microplaca de las células PC-3 tratadas con cefalexina (CFX) y nanopartículas (NP-2) a las 24 horas 72
Anexo 6 Ensayos en microplaca de las células PC-3 tratadas con cefalexina (CFX) y nanopartículas (NP-2) a las 48 horas 73

RESUMEN EJECUTIVO

El cáncer de próstata representa una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en hombres a nivel mundial, lo que impulsa la búsqueda de alternativas terapéuticas más efectivas y menos tóxicas que los tratamientos convencionales. En este contexto, la presente investigación evaluó el efecto antiproliferativo de la cefalexina, un antibiótico betalactámico con potencial anticancerígeno emergente, nanoencapsulado en quitosano para su aplicación en células PC-3 de cáncer de próstata. Las nanopartículas se elaboraron mediante gelación iónica con tripolifosfato, obteniendo un sistema nanoestructurado estable y homogéneo. La caracterización por FT-IR confirmó la encapsulación del fármaco mediante la modificación de bandas características, mientras que la eficiencia de encapsulación y el contenido de carga demostraron que el sistema retiene una cantidad significativa de cefalexina. Las microscopías SEM revelaron nanopartículas esféricas y de superficie uniforme, reafirmando la calidad del nanotransportador. En los ensayos biológicos, la cefalexina libre mostró capacidad antiproliferativa dependiente de la concentración y el tiempo; sin embargo, su versión nanoencapsulada alcanzó un efecto citotóxico significativamente mayor. Las células tratadas con nanopartículas presentaron disminución notable de la viabilidad, alteraciones morfológicas características de apoptosis y necrosis, que confirman una mejor internalización y liberación efectiva del fármaco. Las concentraciones más altas generaron daño celular severo, evidenciando que la combinación cefalexina–quitosano potencia la acción anticancerígena frente a la línea PC-3. Estos resultados demuestran que la nanoencapsulación de cefalexina en quitosano mejora sustancialmente su actividad antiproliferativa, posicionando a este sistema como un candidato prometedor dentro del campo del reposicionamiento de fármacos y la nanomedicina oncológica.

Palabras clave: Nanopartículas, Quitosano, Cefalexina, Cáncer de próstata, Actividad antiproliferativa.

ABSTRACT

Prostate cancer is one of the leading causes of morbidity and mortality among men worldwide, driving the search for more effective and less toxic therapeutic alternatives than conventional treatments. In this context, the present study evaluated the antiproliferative effect of cefalexin, a beta-lactam antibiotic with emerging anticancer potential, nanoencapsulated in chitosan for its application in PC-3 prostate cancer cells. The nanoparticles were prepared through ionic gelation with tripolyphosphate, resulting in a stable and homogeneous nanostructured system. FT-IR characterization confirmed the drug encapsulation by the modification of characteristic bands, while encapsulation efficiency and drug content demonstrated that the system retains a significant amount of cefalexin. SEM microscopy revealed spherical nanoparticles with a uniform surface, reaffirming the quality of the nanocarrier. In biological assays, free cefalexin showed antiproliferative capacity dependent on concentration and time; however, its nanoencapsulated version achieved a significantly greater cytotoxic effect. Cells treated with nanoparticles showed a notable reduction in viability, along with morphological alterations characteristic of apoptosis and necrosis, confirming better internalization and effective drug release. Higher concentrations caused severe cellular damage, demonstrating that the cefalexin-chitosan combination enhances anticancer activity against the PC-3 cell line. These results demonstrate that the nanoencapsulation of cefalexin in chitosan substantially improves its antiproliferative activity, positioning this system as a promising candidate in the fields of drug repositioning and oncological nanomedicine.

Keywords: Nanoparticles, Chitosan, Cephalexin, Prostate cancer, Antiproliferative activity.

CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes investigativos

1.1.1 Planteamiento del problema y justificación

El cáncer de próstata es uno de los más frecuentes en hombres a nivel mundial, con aproximadamente 1,5 millones de nuevos casos y 359 000 muertes registradas en 2018. Representa el 7,1 % de todos los cánceres masculinos y es el segundo tumor más común a nivel mundial, lo que lo convierte en una preocupación médica actual (Mallah et al., 2025; X. F. Xia et al., 2022). Esta neoplasia maligna suele originarse en las células acinares, responsables de la secreción prostática, siendo el adenocarcinoma la forma más habitual, con un 90–95 % de los casos (Varaprasad et al., 2023). Para combatir el cáncer de próstata, se emplean tratamientos convencionales como la radioterapia externa, la hormonoterapia, la quimioterapia con fármacos como docetaxel, prednisolona, cabazitaxel; y la prostatectomía radical, que extirpa quirúrgicamente la próstata y tejidos cercanos (Belkahla et al., 2022; Sekhoacha et al., 2022). A pesar de su efectividad, estos tratamientos presentan efectos adversos como la disfunción eréctil, incontinencia urinaria, resistencia a los fármacos, náuseas, vómito y demás (Varaprasad et al., 2023). Esto evidencia la necesidad urgente de desarrollar enfoques terapéuticos más eficaces y menos tóxicos que respondan a las limitaciones de los tratamientos convencionales.

En los últimos años, han surgido terapias innovadoras para el cáncer de próstata, como tratamientos dirigidos e inmunoterapias enfocadas en mejorar la supervivencia y la precisión terapéutica (Fenor de la Maza et al., 2024; Huang et al., 2024). La nanomedicina dirigida se presenta como una alternativa prometedora, que permite el uso de nanopartículas para transportar fármacos de forma eficiente al tumor, mejorando su concentración en el sitio de acción, aumentando la solubilidad del compuesto y disminuyendo su toxicidad sistémica (Belkahla et al., 2022). Esta estrategia ofrece ventajas frente a los tratamientos convencionales, y el primer paso consiste en el diseño de nanopartículas con propiedades adecuadas como biocompatibilidad, capacidad de carga y tamaño (Sell et al., 2023). El quitosano, un biopolímero derivado de la quitina, es uno de los materiales más utilizados en la fabricación de nanovehículos debido a su biocompatibilidad y propiedades fisicoquímicas. Su estructura funcional permite la encapsulación del fármaco y la conjugación con ligandos, favoreciendo el efecto activo de los medicamentos (Kesharwani et al., 2024). Por lo tanto, la necesidad de investigar nanovehículos seguros, personalizables y eficientes es evidente para potenciar la eficiencia terapéutica de compuestos antitumorales y contribuir al desarrollo de nuevos tratamientos.

En este contexto, la presente investigación plantea encapsular cefalexina en nanovehículos de quitosano con el fin de analizar el efecto de la encapsulación sobre la actividad antiproliferativa del medicamento en células cancerígenas de próstata.

1.1.2 El cáncer de próstata en el contexto actual

El cáncer de próstata es una proliferación descontrolada de células neoplásicas originadas en la glándula prostática, el cual crece descontroladamente hasta formar tumores y se esparce hacia otros sectores del cuerpo si es que no es tratado (Mallah et al., 2025). Este tipo de cáncer (también denominado neoplasia maligna) es uno de los más habituales que se presentan hoy en día ya que ocupa el segundo lugar como el más frecuente y el quinto lugar como la causa de muerte más común dentro de la población masculina a nivel mundial, reportando alrededor de 1,41 millones de casos nuevos y más de 375 000 muertes reportadas tan solo en 2020 (Belkahla et al., 2022). Las estadísticas demuestran que esta enfermedad representa el 7% de los nuevos casos de diagnóstico en hombres y el 15% en regiones del mundo desarrolladas; llegando incluso a encontrar un patrón del "cáncer más propenso en varones" determinado en 121 de 185 países (más del 50%) (Berenguer et al., 2023; Rebello et al., 2021). Esto genera una preocupación a nivel mundial debido a la cantidad de muertes que existen por esta causa, ya que los datos registran cerca de 396 792 muertes en 2022; lo que indica un aumento de las víctimas en comparación hace dos años atrás y que no se ha podido contrarrestar este efecto maligno con el fin de salvar la vida de los pacientes (Mallah et al., 2025).

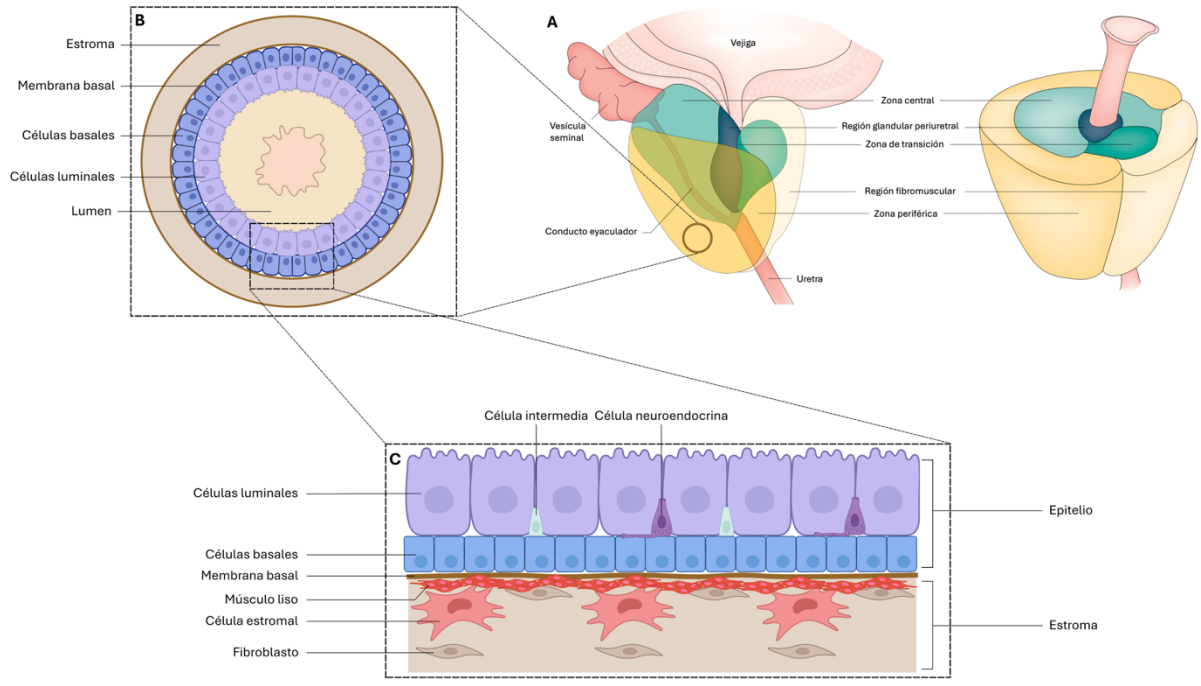
Hablando a nivel regional, la incidencia de este tipo de cáncer perdura en países como Australia, Nueva Zelanda, Estados Unidos, algunas regiones de Europa con un índice de desarrollo humano alto y algunas regiones del sur de América como Brasil (Rebello et al., 2021). Lo interesante de esto es que, en países del continente africano, que tienen la segunda menor la tasa de incidencia de cáncer de próstata a nivel mundial; también es la región con la segunda mayor tasa de mortalidad a nivel mundial, al contario de los países desarrollados que, a pesar de mostrar gran cantidad de casos detectados, la cantidad de muertes por año es muy baja (Wilson & Zishiri, 2024). Dentro de Ecuador, en los últimos 20 años se han contabilizado alrededor de 13 000 muertes por cáncer de próstata, llegando a alcanzar una tasa de mortalidad de 11 hombres por cada 100 000 (Simbaña-Rivera et al., 2023). Esto ha llegado a ser una preocupación debido a que esta enfermedad se está posicionando como una de las primeras causas de muerte por cáncer dentro del país. Toda esta información revela el preocupante aumento de esta neoplasia maligna a nivel mundial, afectando todo tipo de regiones desarrolladas y subdesarrolladas; lo que lo ha convertido en una problemática médica actual. Es por ello que, la ciencia y medicina buscan alternativas para combatirlo, y así mejorar la calidad de vida de las personas.

1.1.2.1 Anatomía e histología de la próstata

La próstata es un órgano glandular del tamaño aproximado de una nuez que se encuentra ubicado en la pelvis masculina y su función principal es secretar líquido seminal junto con solución alcalina que ayuda a los espermatozoides a sobrevivir en ambientes ácidos y mantenerlos viables durante la eyaculación (Varaprasad et al., 2023). Esta glándula se encuentra dividida en 5 regiones principales como lo detalla la **Figura 1A**, de las cuales destaca la zona periférica por ser el lugar de incidencia u origen de la mayoría de los carcinomas (>75% de casos) (Rebello et al., 2021; Wilson & Zishiri, 2024). Esta zona es la región más extensa de la próstata (alrededor del 70% del volumen total del órgano) y dentro de ella, tenemos una región denominada ducto-acinar (**Figura 1B**) compuesta por estructuras secretoras en forma de tubos y sus conductos colectores encargados de la secreción del líquido prostático (Saranyutanon et al., 2020).

Figura 1

Anatomía de la glándula prostática



Nota. A) Esquema de la vista coronal de la próstata, la cual está dividida en 2 regiones y 3 zonas principales (periférica, central y de transición) que recubren desde la uretra hasta la vesícula seminal. B) unidad glandular funcional de la próstata denominada acino prostático en vista transversal en donde se ilustra la disposición de las células luminales y basales. C) Detalle ampliado de la unidad epitelial y estromal, mostrando los tipos de células clave que componen el acino y su interacción funcional. Imagen e información adaptadas de Pitzen & Dehm (2023) y Rebello et al. (2021).

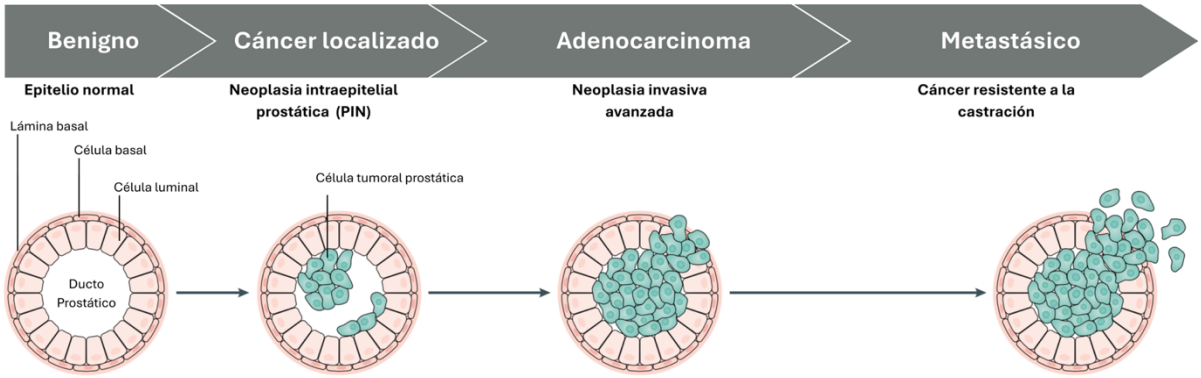
A su vez, existen 2 secciones principales a nivel celular como se ve en la **Figura 1C**: el epitelio y el estroma fibromuscular. El tejido epitelial está compuesto por células luminales encargadas de la producción de secreciones, basales que regeneran el epitelio, neuroendocrinas para la regulación de la secreción e intermedias con el fin de expresar marcadores celulares (Mu et al., 2024; Pitzen & Dehm, 2023). Por otro lado, el estroma es el tejido de soporte que rodea el epitelio y se encuentran formado por fibroblastos, células musculares lisas, vasos sanguíneos y células estromales. Todas estas células en conjunto se encargan de la contracción del músculo durante la eyaculación y le proporcionan nutrientes al epitelio (Di Carlo & Sorrentino, 2024).

1.1.2.2 Desarrollo del cáncer de próstata

El cáncer de próstata en su mayoría se desarrolla a partir de las células glandulares encargadas de la producción de líquido seminal. Sus estructuras se asemejan a un racimo que forma sacos de secreción como se ve en la **Figura 1B** y se las conoce como acinos, de allí se clasifica a esta enfermedad como adenocarcinoma. Alrededor del 95% de todos los cánceres prostáticos son de origen acinar, y de todos ellos el 80% se desarrolla a partir de las células luminales o basales (Wasim et al., 2022). Su evolución empieza mayormente en la zona periférica, y cuenta con 4 etapas: cáncer no presente o benigno, cáncer localizado, adenocarcinoma y cáncer metastásico; en donde las células tumorales empiezan a crecer hasta convertirse en una enfermedad grave tal y como se esquematiza en la **Figura 2** (Mallah et al., 2025; Wilson & Zishiri, 2024). La bibliografía ha demostrado que existe una alta gama de factores de riesgo que favorecen al desarrollo tumoral de esta enfermedad. Entre estos tenemos los no modificables que son aquellos que no podemos cambiar ni alterar y los modificables que se relacionan con el estilo de vida o el ambiente donde se encuentran los pacientes; a estos últimos si los podemos controlar con el fin de reducir la probabilidad de desarrollar tumores prostáticos. Dentro de los factores de riesgo no modificables están: la edad avanzada, la raza o ascendencia, el historial familiar, genes heredados; y para los modificables tenemos: la obesidad, el consumo de drogas, alcohol y la dieta (Belkahla et al., 2022; Varaprasad et al., 2023). A nivel genético, varios estudios demuestran que los genes relacionados con la reparación del ADN por recombinación homóloga (BCRA 1/2, ATM, CHEK2, PALB2) y por desajustes (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) están directamente relacionados con la probabilidad de que un hombre pueda desarrollar cáncer de próstata, además de que la combinación de varios de estos genes llegan a agraviar la enfermedad e incluso aumentar la velocidad de división de las células neoplásicas (Fenor de la Maza et al., 2024; Hall et al., 2024).

Figura 2

Evolución histológica del cáncer de próstata



Nota. Esquema simplificado del aparecimiento y desarrollo de células cancerígenas dentro del acino prostático. Imagen e información adaptadas de Rebello et al. (2021) y Wilson & Zishiri (2024).

Todos estos factores de riesgo se suman a la probabilidad de desarrollar células tumorales, las cuales pasan por un proceso de evolución hasta convertirse en un adenocarcinoma de alto riesgo. La primera fase benigna (**Figura 2**) muestra un epitelio sano, pero que, con el envejecimiento del paciente, el estilo de vida, la inflamación crónica e incluso la exposición a andrógenos; pueden dañar el ADN, generan alteraciones genéticas acumulativas dentro de las células y llevar a una división descontrolada (Berenguer et al., 2023). Esto llega a inflamar la próstata, lo que es una señal clara de una anormalidad y clasificándose como una neoplasia intraepitelial prostática (PIN) debido a que se encuentra todavía dentro de los acinos limitados por la lámina basal (cáncer localizado). Si el paciente no se ha dado cuenta de su condición, el tumor seguirá en constante crecimiento y sumando nuevas alteraciones genéticas que le otorgarán a las células la capacidad de romper la lámina basal y extenderse hasta más allá de los acinos (Wilson & Zishiri, 2024). Así, la enfermedad alcanza un estado de neoplasia invasiva avanzada y se identifica como adenocarcinoma. Finalmente, el cáncer tiene la capacidad de diseminarse a otras secciones del cuerpo como los ganglios linfáticos y zonas óseas, logrando un estado de metástasis al no estar confinado dentro del órgano prostático. En el peor de los casos, el tumor adquiere resistencia a varias terapias y se vuelve resistente a la castración; es decir, las células han desarrollado una gran cantidad de mutaciones genéticas que les otorgan la capacidad de dividirse pese a tratamientos, entornos no favorables y niveles bajos de testosterona (hormona esencial para el desarrollo de estas células cancerígenas) (Pitzen & Dehm, 2023; Rebello et al., 2021).

1.1.2.3 Abordajes terapéuticos convencionales

Con el objetivo de eliminar el cáncer de próstata, se han empleado diversas terapias convencionales aplicadas desde principios del siglo XX hasta inicios del siglo XXI y las cuales también han ido evolucionando en conjunto con el desarrollo de la medicina. Muchas de estas se centran en tratar el tumor de acuerdo a varios factores como: la etapa en la que se encuentre, la agresividad de la enfermedad en el paciente, los efectos secundarios que puedan existir y demás (Belkahla et al., 2022). Para las primeras fases donde las células aún se encuentran localizadas en la próstata y el peligro es menor, existen varios tratamientos. En primera instancia se tiene la radioterapia que actúa sobre el cáncer al aplicar directamente rayos de alta energía (radiación) desde fuera del cuerpo, eliminando las células dañadas y minimizando la afección de tejidos sanos circundantes (Varaprasad et al., 2023). Derivado de la anterior está la braquiterapia, la cual es una forma de radioterapia que emplea fuentes o semillas de radicación insertadas en la glándula prostática con ayuda de ajugas o alambres guiados por ecografías (Mallah et al., 2025; Varaprasad et al., 2023). De este modo, se aplican dosis de alta energía específicamente a las células tumorales con el fin de eliminarlas sin daños colaterales. La crioterapia que, consiste en usar criosondas para alcanzar la próstata, congelar y destruir las células cancerígenas con gas a temperaturas de -100 ºC, se ha empleado para tumores pequeños o como alternativa a la radioterapia (Sekhoacha et al., 2022). Como última opción en cánceres localizados tenemos la prostatectomía radical que consiste en la extirpación por cirugía abierta de la próstata y tejidos circundantes que puedan contener células cancerígenas, y se emplea en pacientes que generalmente han mostrado resistencia a otros tratamientos alternativos como los ya mencionados (Xiao et al., 2024). Todas estas técnicas buscan erradicar el tumor localizado o su entorno de manera inmediata y han sido efectivas en la mayoría de los pacientes con detección temprana.

Sin embargo, cuando el cáncer alcanza fases más desarrolladas como las neoplasias invasivas o la metástasis hacia otras secciones del cuerpo, se han empleado otras técnicas más sofisticadas que tratan de evitar su crecimiento acelerado. La más común de estas es la terapia hormonal o de privación de andrógenos, la cual bloquea la producción de testosterona y otros andrógenos necesarios para el crecimiento celular del cáncer (Rebello et al., 2021). Esto se logra de varias maneras, siendo las principales: cirugía denominada orquiectomía bilateral para extirpar uno o ambos testículos que son la fuente de producción principal de la testosterona; medicamentos llamados agonistas de la hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH), que se encargan de unirse al receptor de la LHRH en la glándula pituitaria para provocar una estimulación inicial seguida de una desensibilización, lo que conduce a una inhibición de la producción hormonal; los fármacos antagonistas de LHRH, que bloquean directamente estos receptores en la hipófisis de forma competitiva, evitando desde el inicio la liberación de testosterona; y finalmente los antiandrógenos, que son fármacos que se unen a los receptores de la

testosterona u otras hormonas en las células cancerígenas, bloqueando su efecto estimulador sobre el tumor (Belkahla et al., 2022; Mallah et al., 2025; Sekhoacha et al., 2022). Esta terapia hormonal ha sido empleada como tratamiento principal siempre y cuando el cáncer sea andrógeno-dependiente; no obstante, si las células dejan de responder a la supresión de testosterona se vuelven resistentes a la castración y se emplea la quimioterapia como alternativa. Esta aplica agentes quimioterapéuticos como el docetaxel, cabazitaxel y la mitoxantrona para destruir células cancerosas y detener su metástasis hacia otras partes sanas del cuerpo (Xiao et al., 2024).

Si bien estos tratamientos convencionales pueden controlar la enfermedad por largos periodos, todos conllevan efectos secundarios significativos y limitaciones. La cirugía y la radioterapia pueden producir incontinencia urinaria, disfunción eréctil, irritabilidad intestinal y otros trastornos urinarios/rectales; la terapia hormonal provoca disfunción cognitiva, dolor óseo, impotencia, fatiga, síntomas de hipogonadismo y eventualmente el cáncer desarrolla resistencia a la castración; la quimioterapia causa toxicidades sistémicas como mielosupresión, fatiga, náuseas, alopecia, astenia y neuropatía (Rebello et al., 2021). Debido a estos efectos adversos y al hecho de que el cáncer de próstata metastásico sigue siendo incurable ya que tarde o temprano la enfermedad progresa a un estado resistente, existe una necesidad continua de desarrollar nuevos tratamientos más eficaces y con menor toxicidad (Mallah et al., 2025). Los abordajes convencionales han prolongado la supervivencia de muchos pacientes, pero sus limitaciones han motivado la búsqueda de terapias más selectivas y tolerables en el manejo del cáncer de próstata.

1.1.2.4 Terapias emergentes y dirigidas como tratamientos alternativos

En años recientes han surgido terapias innovadoras y dirigidas para mejorar el tratamiento del cáncer de próstata, especialmente cuando este se encuentra en una etapa avanzada y se vuelve resistente a la castración o como alternativa a los tratamientos convencionales con menos efectos adversos. La inmunoterapia es uno de los avances más recientes y con resultados modestos, la cual sigue en constate investigación. Hasta ahora, se han desarrollado vacunas terapéuticas contra el cáncer de próstata que estimulan al sistema inmunitario para reconocer y destruir células cancerosas con ayuda de antígenos específicos, y anticuerpos monoclonales específicos como anti-PD-1/PD-L1 con un efecto similar (Varaprasad et al., 2023). Los radiofármacos como el lutecio-177-PSMA se dirigen directa y selectivamente a células tumorales que expresan el antígeno prostático de membrana (PSMA), y han mostrado beneficios de supervivencia en pacientes con enfermedad metastásica resistente a la castración (Mallah et al., 2025). Además, se investigan terapias combinadas que integran terapia hormonal con quimioterapia o métodos dirigidos como los inhibidores de señales celulares PI3K/AKT/mTOR, con el objetivo de superar la resistencia al tratamiento (Sekhoacha et al., 2022). Todos estos avances se

caracterizan por buscar selectividad hacia las células cancerígenas, ya sea con el uso de anticuerpos, moléculas inhibidoras, conjugados de anticuerpo-antígeno e incluso terapias génicas.

Uno de los campos de estudio más atractivo que ha resonado esta última década es la nanomedicina para tratar enfermedades oncológicas. Las terapias de biomedicina dirigida han hecho uso de nanopartículas con el fin de aumentar la eficiencia y selectividad de los tratamientos oncológicos al permitir que un compuesto activo o fármaco sea más soluble, tenga mayor biodisponibilidad en el paciente, cuente con una liberación controlada y se acumule principalmente en el tejido tumoral (Fan et al., 2023). De hecho, muchas de estas nanopartículas han sido funcionalizadas con la ayuda de anticuerpos, péptidos, aptámeros e incluso vitaminas que tienen la capacidad de unirse a receptores específicos dentro de las células cancerígenas y así permitir una entrega más precisa y con menor exposición para tejidos sanos (Tarighi et al., 2025; S. Yan et al., 2024). Con estos, se han incursionado en la investigación de nanopartículas como sistemas dirigidos para el cáncer de próstata. La bibliografía actual describe varios estudios de sistemas de nanotransporte basados en polímeros y lípidos que han logrado la acumulación tumoral de agentes anticancerígenos para la eliminación de la neoplasia maligna; otros incluyen nanopartículas dirigidas al antígeno de membrana específico de próstata (PSMA) que llevan consigo fármacos anticancerígenos y logran reducir los efectos sistémicos secundarios (Fan et al., 2023; Y. Jiang et al., 2024). Sin embargo, todas estas terapias llevan consigo sus contras como: la resistencia generada por los tumores, la dependencia a alteraciones genéticas específicas que no son iguales en todos los pacientes y toxicidades relevantes (Mallah et al., 2025; Rebello et al., 2021). Incluso muchas de estas estrategias siguen aún en constante desarrollo pre-clínico y generalmente han sido probadas solo en ensayos in vitro. De allí surge la necesidad de ahondar más en investigaciones emergentes como la de nanomedicina que provean un enfoque o alternativa distinta sobre los posibles tratamientos para el cáncer de próstata.

1.1.3 Nanomedicina como opción terapéutica

La nanomedicina se define como la aplicación de nanotecnología al campo biomédico y consiste en el uso de materiales y dispositivos de tamaño nanométrico (del orden de 1 a 200 nm, típicamente) para diagnosticar, monitorear y especialmente administrar fármacos de manera más eficiente (Fan et al., 2023). Esta ciencia ha surgido recientemente como alternativa terapéutica gracias a los grandes avances en el desarrollo de técnicas innovadoras como el diseño de nanovehículos para superar las limitaciones de los tratamientos convencionales (Abdullah et al., 2025). A diferencia de la quimioterapia, la inmunoterapia y otros métodos previamente expuestos, las nanoformulaciones cuentas con dos tipos de mecanismos de acción: acumulación pasiva con el efecto de permeabilidad y retención mejorada (EPR), y estrategias de focalización activa con la ayuda de ligandos (Tarighi et al., 2025).

Dentro de las investigaciones para el cáncer de próstata, se han realizado estudios enfocados en nanotransportadores capaces de atravesar las barreras biológicas que se presentan en los tumores y mejorar la selectividad de los compuestos anticancerígenos e incluso ayudando a potenciar la respuesta inmunitaria antitumoral del paciente (Wang et al., 2024). A pesar de que los resultados son prometedores, muchas de estas terapias se encuentran en fases iniciales de estudio y desarrollo; y no se han consolidado hasta la parte clínica. Esto evidencia la necesidad continua de la inversión en la investigación y mejora de nanovehículos con el objetivo de consolidar nuevas alternativas médicas para los diferentes tipos de cánceres.

Para cumplir con ello, la primera etapa de optimización es el diseño y desarrollo de un nanovehículo o nanotransportador eficaz y seguro que tenga la capacidad de trasladar un fármaco hasta las células cancerígenas. A estos generalmente se los denomina nanopartículas, las cuales si se adecuan bien, logran que el compuesto activo tenga mayor estabilidad en el torrente sanguíneo, prolongan su vida útil y ayudan a que su degradación sea mínima para asegurar que llegue al sitio tumoral (Sekhoacha et al., 2022). Incluso estos nanovehículos pueden funcionalizarse con moléculas en su superficie como ligandos, anticuerpos y demás. Así, se les brinda una propiedad de direccionamiento activo para que logren alcanzar células cancerosas específicas (Tarighi et al., 2025). No obstante, para poder dirigir un nanotransportador, lo primeramente esencial es el desarrollo de este, puesto que, sin un nanovehículo eficiente, no se puede seguir adelante con la funcionalización. Es por eso que, varias fuentes explican la importancia del diseño y elaboración de estas nanopartículas. Su desarrollo adecuado revela numerosas ventajas dentro del campo de la biomedicina como el aumento de la concentración de fármaco activo en el tumor y la reducción de los efectos secundarios adversos como los que ya se han mencionado que pueden causar las terapias convencionales; lo que se debe gracias a que se minimiza la exposición de los tejidos sanos a los medicamentos citotóxicos (Fan et al., 2023). Por tanto, la selección y optimización del nanovehículo es crucial para el éxito de las terapias dirigidas a nivel nanométrico, lo que va a depender del tipo de cáncer que se quiera tratar o de las condiciones del paciente.

Hasta la fecha, se han desarrollado varios tipos de nanopartículas orientadas a la estabilización y administración de fármacos oncológicos, entre los cuales destacan: liposomas, nanopartículas poliméricas, micelas, dendrímeros, nanomateriales inorgánicos como bases de oro o sílica, exomas y muchas otras (Wang et al., 2024). De este grupo, uno de los más interesantes desde el punto de vista biomédico son las nanopartículas poliméricas debido a su biocompatibilidad y biodegradabilidad. A pesar de ello, estos nanovehículos siguen en constante mejora e investigación ya que enfrentan varios desafíos significativos como la heterogeneidad del efecto EPR que puede limitar su acumulación

uniforme y la inmunogenicidad presentada de algunas nanopartículas debido a su elaboración (Abdullah et al., 2025).

1.1.3.1 Biopolímeros empleados para la fabricación de nanopartículas

Los biopolímeros son macromoléculas producidas por organismos vivos que, gracias a su biocompatibilidad, fácil degradación, baja toxicidad y facilidad de modificación, resultan perfectos para la creación de matrices nanotransportadoras de fármacos (Wu et al., 2024). Varios autores describen el uso de estas moléculas tales como alginato, celulosa, ácido poliláctico, quitosano, entre otras; y revelan su potencial como agentes de liberación dirigida de medicamentos hacia sitios específicos dentro del organismo (Pathak et al., 2022). En comparación con otros nanomateriales inorgánicos o también polímeros sintéticos, las nanopartículas creadas a partir de biopolímeros presentan ventajas superiores: capacidad de encapsular fármacos hidrofóbicos, protección de sus principios activos, mayor estabilidad y focalización de las células cancerosas (Kesharwani et al., 2024; Sell et al., 2023). Estas propiedades han llamado la atención de la comunidad científica en su búsqueda por terapias alternativas para el cáncer al desarrollar nuevos mecanismos de administración de fármacos con más eficiencia y menos efectos secundarios.

La selección adecuada de un biopolímero a la hora de elaborar un nanotransportador es un factor clave que determina el éxito del tratamiento. Cada una de estas moléculas ofrece propiedades fisicoquímicas particulares que van a influir en la interacción de las nanopartículas dentro del cuerpo y la capacidad de liberación del fármaco (Sell et al., 2023). Dentro de estas tenemos a la albúmina, gelatina, alginato, ácido hialurónico, y el quitosano. Este último sobresale en las investigaciones biomédicas gracias a su versatilidad y a las características únicas que facilitan la elaboración de nanopartículas (Silva et al., 2025). Incluso, este biopolímero se ha empleado como base de varios sistemas de liberación de fármacos más frecuentemente a comparación de las otras macromoléculas.

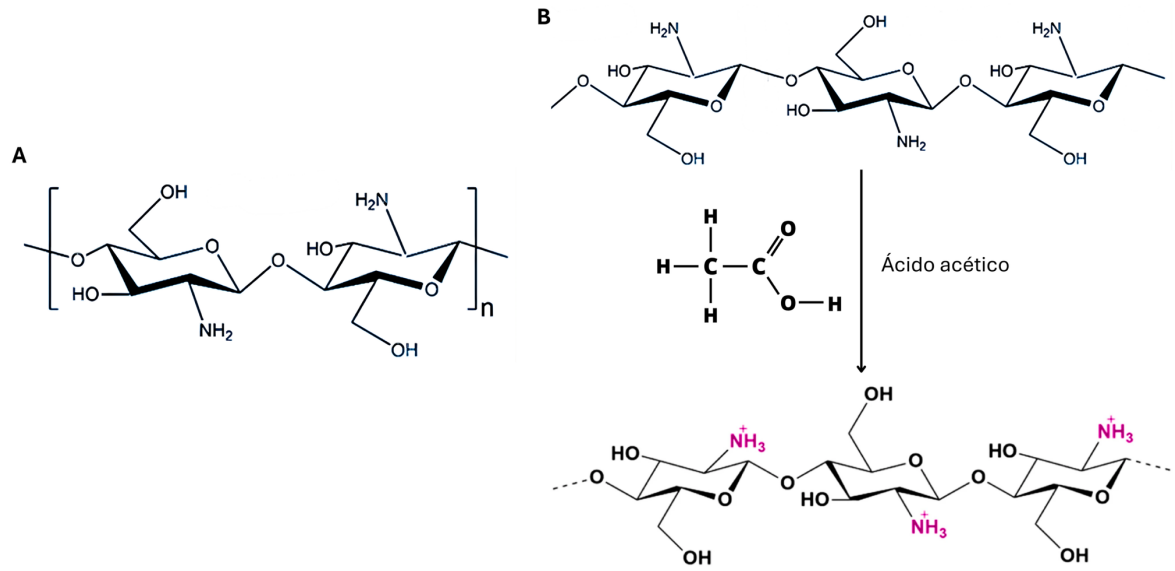
1.1.3.2 Quitosano

El quitosano es un polisacárido lineal de origen natural derivado del proceso de desacetilación de la quitina, el segundo polímero natural más abundante y que se encuentra en el exoesqueleto de crustáceos, en hongos, algunos moluscos y artrópodos (Guarnieri et al., 2022). Su estructura química se constituye de monómeros repetidos de D-glucosamina principalmente y N-acetil-D-glucosamina como lo muestra la **Figura 3A** que se derivan de la eliminación parcial de grupos acetilo de la quitina. Su peso molecular varía en función del grado de polimerización y del grado de desacetilación, pudiendo

abarcar desde unas pocas decenas hasta más de mil kilodaltons. El quitosano se clasifica habitualmente en tres categorías: de bajo peso molecular (<150 kDa), medio (150 –700 kDa) y alto (>700 kDa) (Román-Doval et al., 2023). Además, el grado de desacetilación determina la proporción de monómeros de D-glucosamina presentes en la cadena, por lo que influye directamente en la estructura y en las propiedades fisicoquímicas del polímero (Kesharwani et al., 2024). Un mayor grado de desacetilación implica una mayor cantidad de unidades de D-glucosamina con grupos amino libres, los cuales le confieren sus características de solubilidad, cohesión y adhesión.

Figura 3

Estructura del quitosano y protonación de sus grupos amino en medio ácido



Nota. A) Unidad monomérica del quitosano formada por dos monómeros de D-glucosamina unidos por enlaces β-1,4 con sus grupos aminos libres (-NH_2) y grupos hidroxilo (-OH), los cuales se repiten a lo largo de la cadena polimérica. B) Reacción de protonación de los grupos aminos libres del quitosano en presencia de ácido acético lo que deriva en radicales aminos con un protón adicional (magenta). Imagen adaptada de Guarnieri et al. (2022) y Zhang et al. (2024).

Por su naturaleza, el quitosano es insoluble en medios acuosos, no obstante, sus grupos amino poseen la capacidad de adicionar un protón a su estructura formando -NH_3^+ en presencia de medios ácidos, el más común es ácido acético, como se ve en la **Figura 3B**. Esta protonación le confiere una carga positiva, lo que lo transforma de un polímero no iónico en un polielectrolito catiónico capaz de disolverse en soluciones acuosas ácidas con un pH por debajo de 6 (Frigaard et al., 2022). Por el contrario, a pH neutro o básico el quitosano se vuelve insoluble.

Las investigaciones de este polisacárido han revelado grandes ventajas con fines biomédicos que se consideran esenciales para el desarrollo de nanopartículas. Para empezar, el quitosano es altamente biocompatible con el organismo, es decir, que el cuerpo no lo reconoce como un agente extraño y no genera una respuesta inmune o toxicidad; además de ser biodegradable puesto que enzimas naturales como las lisozimas tienen la capacidad de descomponerlo en unidades básicas de azúcar totalmente inofensivas (glucosamina) que serán posteriormente metabolizadas o excretadas sin toxicidad (Stefanache et al., 2025). La protonación de sus grupos aminos en medio ácido le permite crear interacciones no covalentes con varios tejidos biológicos, favoreciendo así su adherencia y captación de las moléculas por células dianas (Ding & Guo, 2022). Incluso varios estudios han empleado el quitosano para transportar agentes anticancerígenos con menores efectos secundarios a comparación de los tratamientos convencionales. La conjugación de fármacos quimioterapéuticos en sistemas basados en quitosano constituye un claro ejemplo de cómo este polímero puede potenciar el efecto antitumoral y, simultáneamente, reducir la toxicidad sistémica. Esto se debe a su capacidad para favorecer una distribución más selectiva del fármaco y permitir su liberación controlada directamente en el microambiente tumoral (Abdullah et al., 2025). Otras propiedades de esta macromolécula son sus principios bioactivos propios como la actividad inmunoestimulante, antiangiogénica y antimicrobiana, que son explotadas en diversas aplicaciones médicas, desde el desarrollo de matrices para el suministro de fármacos hasta implantes biodegradables (andamios biológicos) que promueven la curación controlada (Wu et al., 2024).

Todas las características antes descritas hacen del quitosano un excipiente clave en la nanomedicina oncológica. Tal es el impacto que incluso la Administración de Alimentos y Fármacos de Estados Unidos (FDA U.S.) lo ha catalogado como no tóxico para su uso humano y generalmente reconocido como seguro (GRAS) (Stefanache et al., 2025). Las investigaciones han descubierto la habilidad de este polímero para formar nanopartículas o nanogeles capaces de resguardar fármacos en su interior y así protegerlos del entorno biológico adverso como la degradación por ácidos gástricos o enzimas del organismo (Pathak et al., 2022). Sus grupos funcionales amino e hidroxilo son químicamente modificables para así poder optimizar la carga y la liberación controlada de algún agente terapéutico, siendo capaz de incluir en su matriz moléculas hidrofóbicas como hidrofílicas. Esto permite la liberación controlada de los fármacos y, en algunos casos, mejora su estabilidad en ambientes ácidos o dentro de lisosomas (Wu et al., 2024). La ciencia actual resalta la eficacia de diferentes tipos de nanoformulaciones a base de quitosano que logran una alta especificidad al dirigir medicinas oncológicas hacia tumores selectivos, incrementando su concentración y reduciendo su exposición sistémica. Otros autores retratan que encapsular o recubrir un fármaco con este polímero mejora de manera significativa la solubilidad de compuestos difíciles de degradar dentro del organismo, o que tengan una alta toxicidad (Ding & Guo, 2022; Frigaard et al., 2022; Stefanache et al., 2025). Gracias a

estas propiedades, el quitosano se considera un componente esencial en el diseño de nanovehículos eficaces, aportando mejoras sustanciales en el perfil farmacocinético y terapéutico de los medicamentos encapsulados.

1.1.3.3 Desarrollo de nanopartículas a partir de quitosano

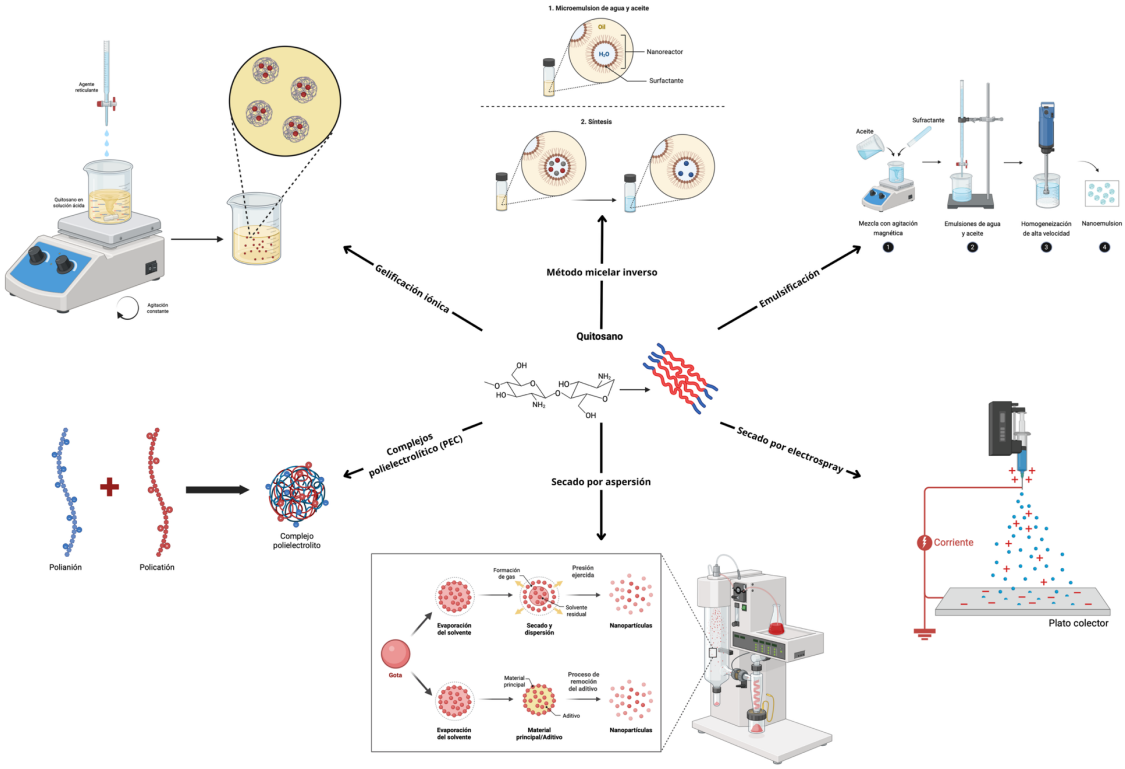
El correcto diseño y desarrollo de un nanovehículo es fundamental si se quiere garantizar su eficacia terapéutica ya que sus características fisicoquímicas influyen sustancialmente en su comportamiento dentro del organismo, la manera en la que interactúa con las células y la forma de entregar fármacos (Wang et al., 2024). Al momento de desarrollar nanopartículas, el tamaño es uno de los principales factores a considerar. Las investigaciones actuales revelan que las dimensiones óptimas para una nanopartícula van desde los 50 nm hasta los 200 nm, ya que así se aprovechan sus propiedades de permeabilidad y retención aumentada dentro del sitio tumoral por acumulación pasiva (Abdullah et al., 2025). De igual manera, características físicas como el tipo de recubrimiento que pueden tener las nanopartículas con otros polímeros, hacen que se vuelvan más resistentes a la degradación dentro del cuerpo, reducen su reconocimiento frente al sistema inmune y logran así mayor eficiencia en llegar al cáncer previsto (Frigaard et al., 2022). Un nanovehículo de quitosano correctamente diseñado debe ser capaz de recoger todas las características antes mencionadas e incluso mejorarlas a través de la funcionalización de las moléculas. Sin embargo, como paso inicial es indispensable establecer un diseño funcional básico de la nanopartícula, de modo que la formulación cumpla al menos con tres características esenciales: estabilidad estructural, tamaño homogéneo y adecuado, y una alta eficiencia de encapsulación. De hecho, la bibliografía ha demostrado que la falta de un primer diseño nanoestructural adecuado ha sido la razón por la cual varias terapias fracasan y no se logran obtener resultados clínicos exitosos (Abdullah et al., 2025).

Todo esto dependerá de la metodología para la síntesis de nanopartículas que se elija, en función del uso previsto y de los fines a los que estén destinadas. Hoy en día existen numerosos métodos de elaboración estudiados y probados, los cuales cuentan con sus ventajas y particularidades propias. La **Figura 4** esquematiza algunos de los mecanismos de fabricación de nanovehículos más comunes y que se han ocupado ampliamente dentro de la investigación biomédica a nivel nano. Uno de los procedimientos más empleados es la emulsificación, que en términos generales, consiste en formar una emulsión tipo agua-en-aceite (W/O) donde la fase dispersa contiene el polímero y el fármaco disuelto en agua, mientras que la fase continua es un medio orgánico inmiscible. Mediante agitación, se forman las nanoemulsiones que se solidifican con un agente reticulante químico y posteriormente se evapora el disolvente. La ventaja de este método es el control del tamaño de las nanopartículas y la facilidad de encapsular fármacos hidrofóbicos. Existen métodos basados en la formación de complejos

polielectrolitos en donde se unen dos polímeros con cargas opuestas, logrando obtener nanopartículas más fácilmente gracias a su autoensamblaje electroestático y sin necesidad de solventes orgánicos u otro tipo de reactivo (Akdaşçi et al., 2025; Jafernik et al., 2023; Stefanache et al., 2025). Algunos procesos incluyen equipos más complejos como la técnica por secado de aspersión, el electrohilado, el electrospray, entre otros. Destaca del resto debido a que estos logran controlar mejor la morfología, la porosidad y la dispersión que tendrán los nanovehículos (Jafernik et al., 2023; Kesharwani et al., 2024). Así como estos, la literatura retrata muchos otros métodos con diferentes parámetros que obtienen distintos tipos de nanopartículas.

Figura 4

Métodos de síntesis de nanopartículas de quitosano



Nota. Información adaptada de Akdaşçi et al. (2025) y Jafernik et al. (2023).

Sin embargo, una de las técnicas más empleadas es la gelación iónica o ionotrópica, la cual destaca por su simplicidad y eficacia a la hora de obtener nanopartículas de quitosano. En este proceso, un polímero catiónico se mezcla con un polianión como agente reticulante y provoca la formación de nanopartículas mediante enlaces iónicos (Stefanache et al., 2025). Gracias a los grupos aminos libres del quitosano, este se puede protonar al disolverse en una solución acuosa ácida y convertirse en un policatión. Existe una variedad de moléculas aniónicas capaces de funcionar como reticulante, pero la más común es el tripolifosfato de sodio (TPP), una sal polianión cargada negativamente, que al entrar

en contacto con los radicales aminos protonados generan enlaces covalentes y forman una red polimérica nanoestructurada gracias a la fuerza electroestática de las moléculas (Silva et al., 2025). Esto se realiza bajo ciertas condiciones de pH, goteo y agitación constante, pero que a comparación con otras metodologías, destaca por su simplicidad y eficacia a la hora de encapsular fármacos. Algunas de sus ventajas más relevantes son: las condiciones suaves evitan la desnaturalización de fármacos lábiles, no genera compuestos tóxicos, idónea para encapsular fármacos hidrofílicos, las nanopartículas resultantes suelen tener un tamaño nano-óptimo y es un proceso relativamente económico (Kesharwani et al., 2024; Weng et al., 2023). Este enfoque de síntesis ha sido uno de los más usados dentro de la biomedicina, por ejemplo, Ahmad et al. (2023) prepararon nanopartículas de quitosano y TPP cargadas con cisplatino y 5-fluorouracilo, con tamaños nanométricos, alta eficiencia de encapsulación y liberación sostenida, demostrando citotoxicidad frente células tumorales. De forma similar, Latif et al. (2025) encapsularon extracto metanólico de *Prangos acaulis* en nanopartículas de quitosano-TPP, logrando aumentar su citotoxicidad frente líneas HT-29 y MCF-7, lo que justifica la robustes y versatilidad del método para diseñar nanosistemas de liberación controlada de fármacos.

1.1.3.4 Caracterización de nanopartículas

Luego de un proceso adecuado de síntesis, las nanopartículas deben pasar por una caracterización físico-química con el fin de relacionar sus características y mecanismo de formación con su comportamiento biológico, eficacia terapéutica y seguridad (Jha & Mayanovic, 2023). Existen varias técnicas que nos ayudan a determinar las características fundamentales de las nanopartículas como el tamaño, la forma y la dispersión. Una de las más usadas es la dispersión de luz dinámica (DLS) para determinar el tamaño de las nanopartículas y la polidispersidad a través del potencial zeta, la cual se relaciona con la carga superficial de las nanopartículas e influye en su estabilidad coloidal y capacidad de interacción celular (Dutta et al., 2022; Kesharwani et al., 2024). Por lo general, los potenciales zeta que tienen una alta magnitud (+20 a +40 mV) les confieren a los nanovehículos gran estabilidad frente a la agregación por repulsión electroestática y promueven la interacción con membranas cargadas negativamente (Hoang et al., 2022). La evaluación morfológica se realiza a través de microscopía electrónica de barrido (SEM) y/o de transmisión (TEM) las cuales emplean microscopios especializados que, con la ayuda de una corriente de electrones, permiten estimar el tamaño, la forma y la superficie de los nanovehículos que se están sintetizando. Estos análisis generalmente son complementarios a los de DLS ya que describen una morfología esférica y de superficie uniforme con tamaños estimados de 80 hasta 800 nm según la bibliografía, lo que se asocia con una mejor capacidad de circulación e internalización celular (Ahmed et al., 2024; Almukainzi et al., 2024). Adicionalmente, se han realizado análisis espectroscópicos por espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR) o Raman, y térmicos por calorimetría diferencial de barrido (DSC) o

análisis termogravimétrico (TGA), los cuales permiten comprobar la incorporación del fármaco y la compatibilidad química de las nanopartículas con su principio activo (El-Saadony et al., 2025; T. Jiang et al., 2024; Sethi et al., 2021). Estos a su vez, van de la mano con técnicas de cuantificación de la eficiencia de encapsulación (EE) obtenidos por métodos analíticos como cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y espectrofotometría UV-Vis que describen la cantidad de fármaco cargado dentro de los nanovehículos (El-Saadony et al., 2025; Owczarek et al., 2023). La caracterización de todos estos parámetros es de suma importancia ya que nos permiten afinar el diseño de las nanopartículas antes de pasar a evaluaciones biológicas.

1.1.4 Reposicionamiento de fármacos

El reposicionamiento de fármacos o también llamado reposicionamiento terapéutico es una técnica que busca usar medicamentos ya existentes y aprobados para nuevas aplicaciones médicas, aprovechando efectos terapéuticos desconocidos. Esta ciencia ha sido de gran interés dentro de la comunidad farmacológica debido a que agiliza y abarata los costos del desarrollo de nuevos tratamientos terapéuticos, aprovechando los perfiles de seguridad, farmacocinética y toxicidad ya conocida de ciertos fármacos (Al Khzem et al., 2024). El desarrollo de nuevos fármacos o moléculas de novo es un proceso complejo que va desde las investigaciones preclínicas para evaluar la citotoxicidad y farmacocinética en líneas celulares hasta los ensayos clínicos de fase I, II y III para determinar su eficacia y seguridad. Este proceso puede durar alrededor de 10 a 15 años y llegar a costar de entre 1000 a 2000 millones de dólares (Y. Xia et al., 2024). El reposicionamiento opta por hacer más eficiente el proceso de sacar un fármaco al mercado al reducir significativamente el tiempo, el costo y el riesgo a comparación del método convencional, gracias a los perfiles de seguridad y toxicidad humana ya conocidos. Incluso, las fuentes afirman que existe un menor riesgo de fracaso al evitar etapas de desarrollo preclínicas, que generalmente es donde el 90% de los fármacos en desarrollo son descartados debido a problemas de eficacia y toxicidad (Zafar et al., 2025). Esto permite redirigir recursos directamente a evaluar la eficiencia en la nueva enfermedad que se desea tratar, aumentando la probabilidad de éxito clínico.

El reposicionamiento de fármacos consta de tres etapas principales: la generación de hipótesis para identificar objetivos, la validación de eficacia en modelos preclínicos y la ejecución de ensayos clínicos. Para mejorar la probabilidad de éxito, hoy en día se combinan métodos experimentales y computacionales avanzados que permiten identificar sistemáticamente medicamentos prometedores y comprender interacciones fármaco-diana alternativas (Y. Xia et al., 2024). Gracias a estas nuevas tecnologías, hoy es posible alinear los efectos de medicamentos existentes con nuevas indicaciones terapéuticas, optimizando así el descubrimiento de tratamientos. Esta readaptación se ha aplicado en

varias enfermedades emergentes, en donde se ha visto varios casos de éxito en los cuales los medicamentos han encontrado una nueva función terapéutica y demostrado su alto potencial (Jourdan et al., 2020). Esto lo clasifica al reposicionamiento de fármacos como una estrategia prometedora para la investigación de terapias innovadoras contra enfermedades complejas de manera más rápida y segura.

1.1.4.1 Reposicionamiento de medicamentos para tratar el cáncer

El reposicionamiento ha surgido recientemente como una estrategia biomédica contra enfermedades oncológicas, la cual se enfoca en investigar y aprovechar efectos anticancerígenos de medicamentos que originalmente fueron diseñados con otra finalidad. Usualmente se prueban fármacos no oncológicos que hayan sido aprobados por la Administración de Alimentos y Fármacos de Estados Unidos (FDA U.S.) como antidiabéticos, antiinflamatorios, antivirales y demás, sobre células de cáncer para controlar o inhibir su crecimiento (Al Khzem et al., 2024). Se ha visto que estos medicamentos actúan de varias maneras sobre dianas moleculares específicas y desencadenan en la apoptosis de las células, la inhibición de la señalización y los transductores de crecimiento, inhibición del metabolismo, activación de la inmunidad antitumoral, reactivación de supresores de crecimiento, supresión de la invasión y más efectos aun no conocidos (Al Khzem et al., 2024; Zafar et al., 2025). Hasta la actualidad existen varios estudios sobre el alcance de medicamentos que han logrado llegar hasta ensayos clínicos e incluso contar con la aprobación de la FDA con fines oncológicos. El mejor ejemplo de esto es la aspirina, un medicamento desarrollado inicialmente como analgésico, que ha sido catalogado como antiagregante plaquetario y es recetado bajo prescripción médica en bajas dosis para pacientes con problemas cardiovasculares. A más de ello, se ha descubierto que la aspirina cuenta con un efecto anticancerígeno al inhibir el crecimiento de células de cáncer de mama y colorrectal, lo cual se explora hoy en día para verificar si se puede tener un tercer efecto terapéutico a parte de los dos ya probados (Al Khzem et al., 2024; Jourdan et al., 2020). La talidomida, un medicamento desarrollado como sedante y que se ha retirado por sus efectos teratogénicos, mostró su eficacia contra el mieloma múltiple de tal manera que hoy en día se ha convertido en un tratamiento estándar sobre este cáncer al mejorar notablemente la supervivencia de los pacientes (Jourdan et al., 2020; Zafar et al., 2025). Estos hallazgos impulsan el estudio de otro tipo de fármacos capaces de tener una actividad antitumoral representativa.

1.1.4.2 Antibióticos como medicamentos emergentes en enfermedades oncológicas

Los antibióticos son medicamentos creados y utilizados para tratar infecciones microbianas al matar bacterias o inhibir su crecimiento a través de distintos mecanismos de acción. Si bien es cierto que su uso común es tratar enfermedades infecciosas, recientemente ha surgido un gran interés en reutilizarlos como agentes antineoplásicos (Pfab et al., 2021). Los estudios más actuales han

demostrado que ciertos antibióticos poseen efectos antitumorales, antiproliferativos y proapoptóticos contra células cancerosas adicionales a su acción antimicrobiana (Al Khzem et al., 2024). De hecho, existe toda una gama de antibióticos denominados antineoplásicos ya reconocidos que se emplean en terapias oncológicas por su capacidad de interferir con el ADN de las células cancerígenas e inducir su apoptosis (Gao et al., 2020). Algunos ejemplos son las tetraciclinas como la doxicilina o la tigeciclina, agentes antimicrobianos que detienen la proliferación de varios tumores al interferir con su metabolismo mitocondrial e inducen estrés oxidativo, autofagia y apoptosis (Al Khzem et al., 2024). Los macrólidos, un grupo de antibióticos de amplio espectro también han demostrado efectos antitumorales relacionados con el bloqueo de la autofagia y mitofagia. En una célula cancerígena, estos mecanismos ayudan a su adaptación en el organismo, por lo que su inhibición altera el metabolismo y genera la muerte celular; lo cual se ha probado en varios tipos de canceres como el de pulmón y páncreas (Nardo et al., 2024). Estos hallazgos motivan a la investigación de que los antibióticos, más allá de combatir infecciones, podrían reorientarse como medicamentos alternativos en terapia anticancerígena.

Muchos de estos fármacos actúan de manera distinta en las células gracias a sus propiedades químicas. Resulta esencial entender los mecanismos de acción antiproliferativa de los antibióticos dentro de las células cancerosas. Lo más común que se ha estudiado es: la inducción de la apoptosis o muerte celular, la intervención del ciclo celular que genera especies reactivas de oxígeno (ROS) toxicas para la célula, y la inhibición de reguladores clave para la proliferación (Karamanolis et al., 2024). Dependiendo el tipo de antibiótico, algunos pueden bloquear el proceso de formación de vasos sanguíneos o angiogénesis que es fundamental para nutrir las células y generar metástasis (Pfab et al., 2021). Otros pueden trabajar de manera sinérgica con tratamientos ya establecidos para el cáncer como la quimioterapia o la radioterapia al aumentar la muerte tumoral, simultáneamente disminuir la toxicidad inducida que comúnmente se genera e incluso reducir la tasa de concurrencia del cáncer (Gao et al., 2020). Las células cancerígenas pueden pasar por una transición epitelial-mesenquimal (EMT), un proceso clave dentro de la metástasis donde las células de cáncer pierden polaridad y adhesión para convertirse en migratorias e invadir otras secciones del organismo. Ciertos medicamentos antimicrobianos pueden cumplir un papel antimetastásico al actuar sobre las vías de señalización clave de la EMT e inhibir su proceso de transición con el fin de bloquear la metástasis (Zafar et al., 2025).

Todas estas investigaciones justifican la idea de reposicionar fármacos antimicrobianos dentro de la oncología, ya que muchos de ellos son seguros, económicos y ampliamente utilizados. No obstante, existe muy poca indagación al respecto debido a que es un tema relativamente nuevo como alternativa terapéutica, muchos mecanismos de inhibición celular no están develados completamente y siguen en etapas preclínicas (Bano et al., 2024; Gao et al., 2020). Es por ello que se requiere de más investigaciones y estudios comparativos para poder generar conocimiento aplicable y definir con

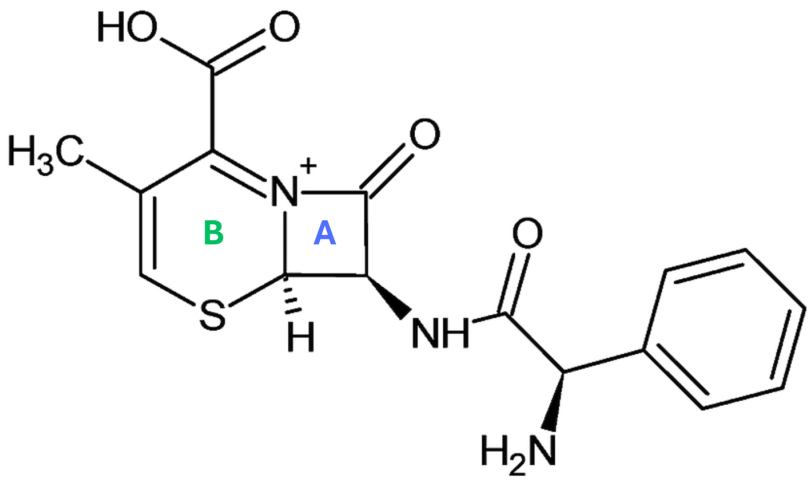
precisión el verdadero potencial clínico de los antibióticos como alternativa terapéutica a enfermedades oncológicas.

1.1.4.3 Cefalexina como posible agente oncológico

La cefalexina es un antibiótico de la clase de las cefalosporinas de primera generación y se clasifica dentro del grupo de los β-lactámicos. Es utilizado contra bacterias grampositivas comunes como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae,* y contra algunas gramnegativas como ciertas cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella* (Knox et al., 2024). Su estructura química es $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, como lo muestra la **Figura 5** y la cual se deriva de la cadena principal β-lactámica: el ácido 7-(5-amino-5-carboxivaleramido) cefalosporánico común entre las cefalosporinas, además de poseer sus sustituyentes a los cuáles se les atribuye sus propiedades farmacológicas (Kanan et al., 2023; Liu et al., 2025).

Figura 5

Estructura química de la cefalexina



Nota. Estructura química conformada por: un anillo betalactámico (A en azul) que le da la actividad antimicrobiana y un anillo dihidrotiazina (B en verde) que le da la estabilidad. Nombre dado por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC): Ácido 7-[(2-amino-2-fenilacetil) amino]-3-metil-8-oxo-5-tia-1-azabiciclo [4.2.0]oct-2-eno-2-carboxílico. Imagen adaptada de National Center for Biotechnology Information (2025) y Rusu et al. (2021).

Este antibiótico cuenta con un peso molecular de 347,40 g/mol y fue aprobado como por la Administración de Alimentos y Fármacos de Estados Unidos (FDA U.S.) en 1971, desde entonces se ha empleado para tratar enfermedades bacterianas como infecciones en las vías respiratorias, gonorrea, infecciones urinarias, escarlatina, septicemia estreptocócica e infecciones estafilocócicas (Knox et al.,

2024; Rusu et al., 2021). Su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la síntesis de la pared celular de las bacterias ya que la cefalexina se une a las proteínas fijadoras de penicilina (PBPs) e impiden la formación del peptidoglicano, componente estructural esencial de la pared bacteriana (Herman & Hashmi, 2023). Una de sus características más importantes es su mayor resistencia a enzimas betalactamasas a comparación de otros antibióticos de similar función como la penicilina; gracias a que su anillo betalactámico se encuentra unido a un anillo heterocíclico dihidrotiazina (**Figura 5**) que le confiere menos tensión estructural y bloquea la actividad enzimática (Herman & Hashmi, 2023; Knox et al., 2024).

Más allá de sus características antimicrobianas, estudios muy recientes revelan que la cefalexina podría poseer un efecto antitumoral añadido y aun no muy bien elucidado pero que hasta ahora ha mostrado resultados prometedores. Para empezar, Karamanolis et al. (2024) investigaron la actividad anticancerígena de varios antibióticos, entre los cuales estaban las cefalosporinas, familia a la que pertenece la cefalexina. Se demostró que varios de estos antibióticos betalactámicos como la ceftriaxona, cefuroxima, cefotaxima, cefmetazol y ceftazidima tienen la capacidad de atacar de manera selectiva a células cancerígenas al inducir la muerte celular mediante ferroptosis, que es un tipo de muerte programada dependiente del hierro. Este mecanismo está regulado por la enzima HMOX1 en las células cancerosas y se encarga de desatar un desbalance redox letal; por lo que las cefalosporinas desatarían esta reacción y representarían una vía conservada sobre su actividad antitumoral (Liu et al., 2025). En base a esto, se han realizado unos pocos estudios sobre la actividad anticancerígena de la cefalexina en líneas celulares. Abdulnabi et al. (2024) demostraron la capacidad de este fármaco para inducir la generación de ROS y activar el estrés oxidativo celular; así como la sobreexpresión del gen TP53 para desencadenar la vía intrínseca de apoptosis. Otro estudio reveló la capacidad de la cefalexina encapsulada en quitosano como nanovehículo protector con el fin de direccionarse hacia células de carcinoma hepatocelular y activar vías moleculares para la inhibición y muerte de este tumor (Ali & Jawad, 2024).

Si bien es cierto la bibliografía muestra resultados favorables sobre la actividad anticancerígena de la cefalexina, existe todavía varios vacíos y limitaciones que no se han cubierto. En primer lugar, el número de estudios sobre este tema es muy reducido, y los que existen tan solo son ensayos en etapa preclínica (Karamanolis et al., 2024). Además, las líneas celulares cancerígenas en las que se ha probado este efecto se limitan a unas pocas, lo que deja muchas otras neoplasias sin investigar. Varios de los mecanismos de acción aún no se han elucidado por completo y no se han determinado bajo qué circunstancias se presentan en las células. Todo esto evidencia la necesidad de más investigaciones exhaustivas que establezcan con certeza esta nueva función que se le atribuye a la cefalexina para así poder aprovechar su disponibilidad clínica, aportar al estudio de terapias alternativas más eficientes

para los distintos tipos de cáncer y mejorar los procedimientos que hoy en día se emplean. Es por ello que, el camino por recorrer dentro del reposicionamiento de este tipo de antibióticos es muy largo y requiere de una gran exploración científica.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

Evaluar el efecto antiproliferativo de la cefalexina cargada en nanopartículas de quitosano sobre células de cáncer de próstata.

1.2.2 Objetivos específicos

- Elaborar nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina.
- Caracterizar las nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina.
- Analizar el crecimiento de células de cáncer de próstata tratadas con nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina.

CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA

2.1 Materiales

El presente trabajo de titulación fue de tipo experimental y se realizó en los laboratorios de la Unidad Operativa de la Dirección de Investigación y Desarrollo de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato en conjunto con el laboratorio de Materiales de la Facultad de Ingeniería Mecánica de la Universidad San Francisco de Quito y el laboratorio de Biología Molecular Humana de la Facultad de Salud de la Universidad Técnica Particular de Loja. A continuación, la **Tabla 1** enlista los reactivos, material fungible y equipos que se utilizaron durante la investigación:

Tabla 1

Reactivos, material fungible y equipos de laboratorio empleados

Reactivos	**Cantidad**
Quitosano	5 g
Ácido acético glacial 1%	25 mL
Hidróxido de sodio (NaOH) 2 M	25 mL
Agua tipo 1	3 L
Agua desionizada	1,5 L
Cefalexina	5 g
Tripolifosfato de sodio (TPP)	2 g
Sacarosa 6%	1 g
Etanol 96%	3 L
Caldo Luria-Bertani (LB)	6 g
Agua peptonada	5 g
Agar MacConkey	25 g
Agar Manitol Salado (MS)	11 g
Agar PCA	12 g
Cloruro de sodio (NaCl)	15 g
Solución de resazurina 0,01%	0,1 L
Solución salina estéril 9%	0,2 L
Inóculo bacteriano de *Escherichia coli* y *Staphyloccocus aureus*	1 c/u
Aire comprimido	1
Medio nutritivo F-12 de Ham	0,5 L
Suero fetal bovino (FBS) 10%	0,1 L
Solución Antibiótico-antimicótico (100X)	0,05 L
L-glutamina	0,05 L
Solución de tripsina 0,25% - EDTA	0,01 L
Solución salina tamponada de fosfato (PBS)	0,1 L
Reactivo MTS	0,02 L
Línea celular PC-3 de cáncer de próstata	1

Material Fungible	**Cantidad**
Matraces Erlenmeyer de 250 mL	5
Vasos precipitados de 50 y 100 mL	5 c/u
Tubos Falcón de 15 mL	100
Puntas de micropipeta de 5000 µL	1 caja
Puntas de micropipeta de 1000 µL	4 cajas
Puntas de micropipeta de 200 µL	2 cajas
Bureta de 50 mL	2
Probetas de 50 mL y 100 mL	2 c/u
Papel filtro	1
Microplacas de 96 pocillos estériles	20
Cajas Petri plásticas	30
Asa de siembra	1
Mechero de alcohol	1
Tubos microbiológicos	10
Frascos de vidrio para medio de cultivo de 250 mL	10
Parafilm	1
Papel absorbente	1
Microespátula	1
Microtubos Eppendorf de 2 mL	50
Cinta de carbono conductora	1
Papel aluminio	1
Gradilla	2
Pipetas plásticas de 5 y 10 mL	10 c/u
Propipeta electrónica	1
Pipetas Pasteur de vidrio	20
Equipos de laboratorio	**Cantidad**
Plancha de agitación	1
Sorbona	1
Soporte universal	2
Balanza analítica	1
Baño ultrasónico	1
Potenciómetro	1
Centrífuga de alta velocidad	1
Refrigerador	1
Ultracongelador	1
Liofilizador	1
Espectrómetro FT-IR	1
Vórtex	1
Desecador	1
Microscopio electrónico de barrido (SEM)	1
Cámara de flujo laminar	1
Micropipeta de 5000 µL	1
Micropipeta de 1000 µL	1
Micropipeta de 200 µL	1
Micropipeta de 20 µL	1
Micropipeta multicanal de 200 µL	1

Incubadora	1
Espectrofotómetro de microplacas	1
Autoclave	1
Cabina de bioseguridad clase II tipo A2	1
Incubadora de CO_2	1
Microscopio invertido	1
Baño de agua	1
Bomba de vació	1

2.2 Métodos

2.2.1 Elaboración de nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina

2.2.1.1 Preparación de la solución de quitosano-cefalexina

Para la síntesis de las nanopartículas de quitosano, se siguió la metodología propuesta por Bidooki et al. (2024) y Elassal & El-Manofy (2019) con ciertas modificaciones: se preparó una solución de quitosano (QS) a una concentración de 0,2% y 0,5%, disolviendo 100 mg y 250 mg de quitosano respectivamente en 50 mL de ácido acético al 1%. Se agitó a 1000 rpm por 30 minutos hasta mezclar y luego se colocó en el baño ultrasónico por 10 minutos hasta obtener una disolución completa. Posteriormente, el pH fue ajustado a 5 utilizando hidróxido de sodio (NaOH) 2 M. Se mantuvo en agitación 30 minutos adicionales para favorecer la protonación del quitosano.

Se pesaron 110 mg y 312,5 mg de cefalexina (CFX) y se disolvió en las soluciones de quitosano al 0,2% y 0,5% respectivamente en constante agitación a 1000 rpm por 30 minutos. Se colocó en el baño ultrasónico por otros 10 minutos para favorecer la incorporación del fármaco al quitosano y luego se continuó la agitación a 1000 rpm por 1 hora adicional.

2.2.1.2 Preparación de la solución de TPP y elaboración de nanopartículas

Se preparó una solución de tripolifosfato de sodio (TPP) a una concentración de 1 mg/mL y 2 mg/mL utilizando agua desionizada. Se añadió gota a gota con ayuda de la bureta 25 mL de las soluciones de TPP sobre los 50 mL de solución QS-CFX al 0,2% y 0,5% a temperatura ambiente, con agitación constante a 1000 rpm. Esta mezcla se agitó durante aproximadamente 2 horas para permitir la formación de nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina (QS-CFX NPs). Posteriormente, la mezcla fue sometida a sonicación durante 15 minutos para homogenizar las nanopartículas.

2.2.1.3 Centrifugación y ultracongelación

La solución de QS-CFX NPs fue llevada a centrifugación a 10,000 rpm durante 60 minutos. El pellet obtenido fue extraído, lavado con agua tipo 1, y posteriormente resuspendido en tubos Falcon de 15 mL con 2 mL de una solución de sacarosa al 6% para proteger las nanopartículas. Estas muestras fueron llevadas al refrigerador a 4 ºC overnight. Luego, los tubos con las nanopartículas se llevaron al ultracongelador a -80 ºC por 6 horas.

2.2.1.4 Liofilización y obtención de nanopartículas

Se sacaron los tubos del ultracongelador y se cubrió el pico del tubo con papel filtro para preparar las muestras para el liofilizador. Se colocaron las muestras dentro de los vasos del liofilizador y se ajustaron las condiciones automáticas del equipo. Las muestras se liofilizaron por 24 horas. Luego de ello, los tubos se taparon y se agitaron con el vórtex para obtener un polvo liofilizado de las nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina.

2.2.2 Caracterización de las nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina

2.2.2.1 Análisis de la encapsulación de cefalexina en las nanopartículas de quitosano mediante Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR)

Para la caracterización de las nanopartículas en el espectro FT-IR, se realizó una preparación de la muestra y los controles necesarios. Inicialmente se limpió cristal con etanol y se secó completamente, para luego hacer un barrido de fondo. De esta manera se eliminó posibles interferencias en el equipo. Con el fin de comprobar la nanoencapsulación del fármaco, se establecieron los siguientes controles:

- Quitosano (s)
- Cefalexina (s)

Se tomó una pequeña cantidad del primer control con ayuda de la microespátula y se colocó sobre el cristal para poder realizar la corrida. En seguida se retiró la muestra con papel y de nuevo se limpió el cristal con etanol, para repetir el proceso con el segundo control. Una vez se tuvo los controles, se pasaron a medir las muestras liofilizadas de nanopartículas:

- Nanopartículas de quitosano formulación 1 (liofilizadas)
- Nanopartículas de quitosano formulación 2 (liofilizadas)

Cabe recalcar que después de cada barrido, se limpió el cristal y se estableció un nuevo fondo para cada una de las corridas que se realizaron. Una vez obtenidos los espectros, se realizó las correcciones del ATR y el ajuste automático de línea base con ayuda del programa y se colocaron las etiquetas correspondientes de los picos significantes en cada espectro. Además, se realizó una superposición de los espectros de nanopartículas con los controles. Finalmente se guardó cada uno de los espectros obtenidos con un nombre específico y en una carpeta única.

2.2.2.2 Eficiencia de encapsulación y contenido de carga de cefalexina en las nanopartículas

Para calcular y determinar la eficiencia del fármaco en las nanopartículas, se realizó una curva de calibración con cefalexina disuelta en ácido acético 1% y con pH de 5 para evitar interferencias. El fármaco se diluyo de manera seriada a las siguientes concentraciones: 0,25; 0,50; 0,75; 1; 1,25; 1,5; 1,75 y 2 mg/mL respectivamente. Se midieron las absorbancias con ayuda del espectrofotómetro a una absorbancia UV de 261 nm. Luego de la centrifugación de las nanopartículas, se extrajo el sobrenadante de cada ensayo, se midió su absorbancia a las condiciones mencionadas con el fin de estimar la concentración de fármaco no encapsulado y se calculó la eficiencia de encapsulación (EE%) de manera indirecta con la siguiente fórmula:

$$\%EE\ de\ CFX = \frac{Cantidad\ total\ de\ CFX\ añadida - Cantidad\ de\ CFX\ no\ encapsulada}{Cantidad\ total\ de\ CFX\ añadida} \times 100\%$$

El contenido total de cefalexina presente en las nanopartículas (CFX-NP) se estimó con ayuda de la siguiente fórmula y con ello se calculó el porcentaje fármaco cargado (% CFX-NP):

$$Contenido\ de\ CFX\ en\ NP = \frac{Cantidad\ de\ CFX\ encapsulada}{Cantidad\ total\ de\ las\ nanopartículas}$$

$$\%\ \text{CFX en NP} = \frac{Cantidad\ total\ de\ CFX\ añadida - Cantidad\ de\ CFX\ no\ encapsulada}{Cantidad\ total\ de\ las\ nanopartículas} \times 100\%$$

2.2.2.3 Evaluación de la actividad antimicrobiana de la cefalexina nanoencapsulada en quitosano

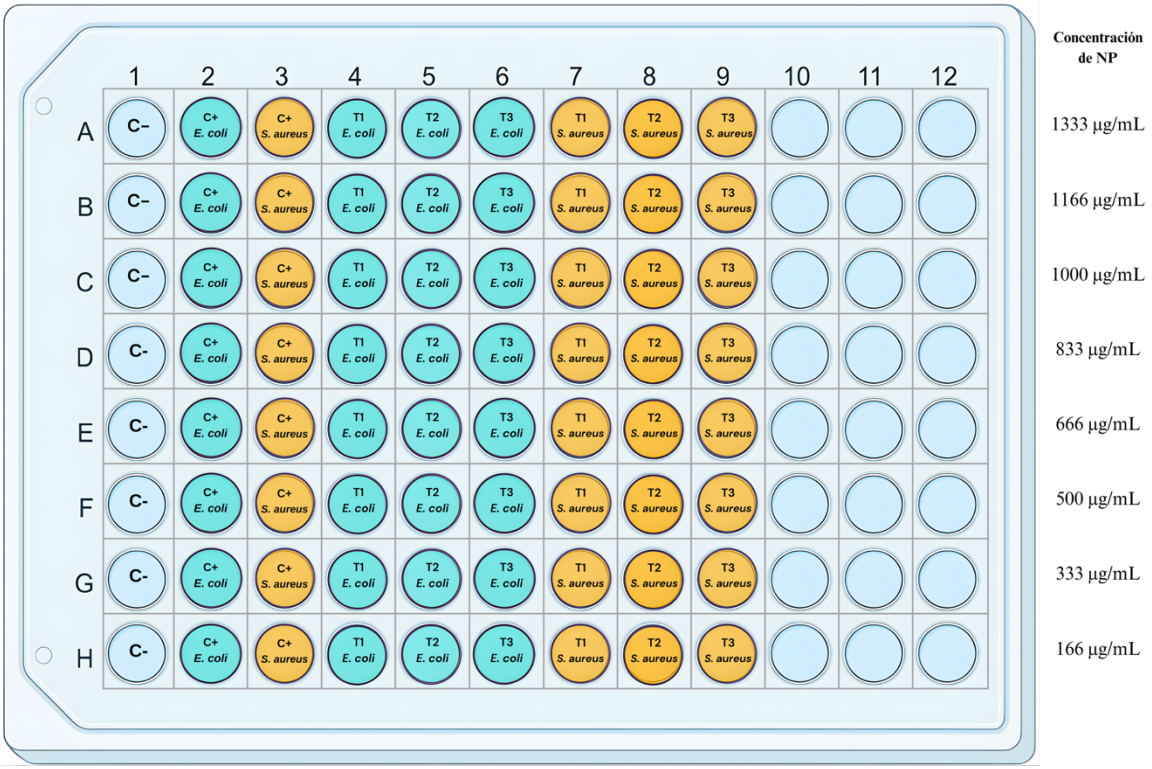
Con el objetivo de poder confirmar que la cefalexina no se haya degradado durante el proceso de elaboración y no haya perdido su actividad, se realizó un ensayo microbiológico adaptado del protocolo MIC y MBC en microplaca con cepas sensibles a este fármaco: *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Para ello, se prepararon y activaron las cepas en agares específicos (MacConkey para *E. coli* y Manitol Salado para *S. aureus*) por 20 horas a 37 ºC. Luego de la activación, se re-cultivaron por otras 20 horas con la técnica de estría escocesa para obtener colonias separadas; se resuspendió una colonia de cada bacteria en tubos con solución salina al 9% estéril y se ajustó para que tenga una turbidez equivalente a 0,5 McFarland (≈$1,5\times10^8$ UFC/mL).

Se preparó y autoclavó 100 mL de caldo Luria-Bertani (LB) y agua peptonada como medio para los ensayos en microplaca. Para la preparación de los tratamientos, se realizaron microdiluciones en tubos Eppendorf de la cefalexina a las concentraciones de 4,0; 3,5; 3,0; 2,5; 2,0; 1,5; 1,0 y 0,5 mg/mL para establecer un perfil dosis-respuesta mediante microdilución en microplaca. En el caso de las dos formulaciones de nanopartículas (NP-1, NP-2), se prepararon diluciones nominales equivalentes a las utilizadas con el fármaco libre con el fin de confirmar la presencia de cefalexina activa en las muestras y realizar una validación funcional complementaria de la eficiencia de encapsulación y capacidad del fármaco cargado en las nanopartículas realizado previamente.

Una vez completadas las microdiluciones, en la cabina de flujo laminar, se colocó en la microplaca inicialmente 100 µL del medio correspondiente (caldo LB o agua peptonada), 100 µL del tratamiento y finalmente 100 µL del inóculo bacteriano de acuerdo a la disposición del ensayo que se esquematiza en la **Figura 6** con sus controles respectivos y las concentraciones finales:

Figura 6

Disposición de los tratamientos e inóculos del ensayo microbiológico



Nota. El ensayo cuenta con control negativo (C-): medio de cultivo LB, C+ de medio de cultivo e inóculo de *E. coli* (pocillos en turquesa), C+ de medio e inóculo de *S. aureus* (pocillos en naranja) y los tratamientos T1: diluciones de cefalexina, T2: diluciones de la primera formulación de nanopartículas (NP-1) y T3: diluciones de la segunda formulación de nanopartículas (NP-2). Las concentraciones de las diluciones se presentan en la parte derecha e inicialmente se colocó caldo LB como medio para los pocillos con inóculos de *E. coli* y agua peptonada para *S. aureus*.

Se incubó la placa por 20 horas a 37 ºC y posteriormente se colocó 10 µL de resazurina 0,01% y se dejó en la oscuridad por dos horas.

2.2.2.4 Caracterización morfológica de las nanopartículas por microscopía electrónica de barrido (SEM)

La caracterización morfológica de las nanopartículas de quitosano se realizó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) en el laboratorio de Materiales de la Facultad de Ingeniería Mecánica de la Universidad San Francisco de Quito. Para ello se tomó una pequeña cantidad de nanopartículas liofilizadas con la microespátula y se colocó sobre un stub metálico de aluminio cubierto

de cinta de carbono conductora. Se eliminó el exceso de muestra con ayuda de aire comprimido y se colocó dentro del microscopio para empezar a observar las muestras.

Adicionalmente, se diluyeron las nanopartículas liofilizadas en medio acuoso acidificado. Se colocó por 10 minutos en el baño ultrasónico hasta obtener una disolución lo menos turbia posible para eliminar agregados y favorecer la separación de las moléculas. Se tomó alrededor de 50 µL de muestra y se colocó sobre la cinta de carbono conductora. El stub metálico se mandó a desecar por 5 días para retirar toda la humedad presente en la muestra y finalmente se observó su morfología con ayuda del microscopio. A partir de las micrografías obtenidas, se evaluó características generales de las nanopartículas como la forma, estado de agregación, superficie de las nanopartículas, y se realizaron estimaciones de su tamaño de acuerdo a la escala provista.

2.2.3 Análisis de la actividad antiproliferativa de las nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina en la línea celular PC-3 de cáncer de próstata

2.2.3.1 Preparación del cultivo celular PC-3

Para poder analizar la actividad antiproliferativa de las nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina, se empleó la línea celular inmortalizada de células de cáncer de próstata del proyecto de Investigación aprobado mediante Resolución Nro. UTA-CONIN-2025-0029-R y se realizó en el laboratorio de Biología Molecular Humana de la Facultad de Salud de la Universidad Técnica Particular de Loja. Para la evaluación de la citotoxicidad, se empleó la línea celular PC-3, correspondiente a un adenocarcinoma de próstata humano metastásico. Las células a utilizar se encontraban conservadas en estado criogénico a –196 °C en nitrógeno líquido, por lo que se descongelaron rápidamente en un baño térmico a 37 °C, durante aproximadamente 1 a 2 minutos. Luego, las células fueron transferidas cuidadosamente a un tubo Falcon de 15 mL que contuvo medio de cultivo F-12 de Ham sin enriquecimiento. El contenido fue posteriormente centrifugado durante 5 minutos a 2000 rpm para sedimentar las células y eliminar crioprotector residual y células muertas. Tras la centrifugación, se descartó el sobrenadante y se recuperó el pellet celular, el cual fue resuspendido suavemente en 1 mL de medio nutritivo enriquecido, compuesto por medio F-12 de Ham y suplementado con 10% de suero fetal bovino (FBS), 1% de solución antibiótica-antimicótica y 1% de L-glutamina. Todo esto se trabajó en cabina de bioseguridad clase II tipo A2 para evitar la contaminación de las células.

Se incubaron a 37 °C con 5% de CO_2 y atmósfera húmeda. El medio fue reemplazado cada 48 hasta alcanzar un 80% de confluencia. De allí, dentro de la cabina de bioseguridad clase II, las células

fueron lavadas con solución salina tamponada de fosfato (PBS) para eliminar células muertas y residuos, seguidas de una tripsinización con tripsina/EDTA al 0,25% y neutralizadas con medio nutritivo enriquecido. Luego, fueron centrifugadas a 2000 rpm por 5 minutos, resuspendidas en 1 mL de medio fresco y contadas con ayuda de una cámara de Neubauer. Se realizaron las diluciones necesarias en 10 mL de medio con el fin de sembrar alrededor de 10000 y 5000 células/pocillo para un ensayo de 24 y 48 horas respectivamente en dos microplacas. Se colocaron 100 µL de las células en los pocillos correspondientes (**Figura 7**) y se incubaron 24 horas para permitir el crecimiento y su adherencia a la caja.

Una vez transcurrido el período de incubación y previo a la administración del tratamiento, se llevó a cabo un análisis morfológico basal de las células PC-3 de adenocarcinoma prostático humano mediante microscopía óptica invertida. Esto permitió establecer el perfil morfológico característico de las células en condiciones normales, sirviendo como referencia comparativa para identificar los posibles cambios estructurales inducidos tras la exposición a la cefalexina nanoencapsulada.

2.2.3.2 Tratamiento de las células cancerígenas con cefalexina libre y nanoencapsulada en quitosano

Con el propósito de evaluar el efecto antiproliferativo de la cefalexina libre frente a su formulación nanoencapsulada, se realizaron microdiluciones del fármaco libre en medio de cultivo enriquecido a las concentraciones de 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 y 8,0 mg/mL. Dado que la encapsulación del medicamento en las nanopartículas no es completamente eficiente, se emplearon las muestras con mejor eficiencia de encapsulación y se utilizó el porcentaje de carga de cefalexina en las NP (%CFX-NP) para calcular la masa de nanopartículas necesaria para alcanzar, en términos de cefalexina equivalente, las mismas concentraciones que en los tratamientos con fármaco libre como se describe en la **Tabla 2**:

Tabla 2

Concentraciones de los tratamientos con NP-2 y su equivalente de fármaco

Concentración de nanopartículas (mg/ml)	Concentración equivalente de cefalexina en las nanopartículas (mg/ml)
0,6	0,5
1,2	1,0
2,5	2,0
3,7	3,0
5,0	4,0
6,2	5,0
7,4	6,0

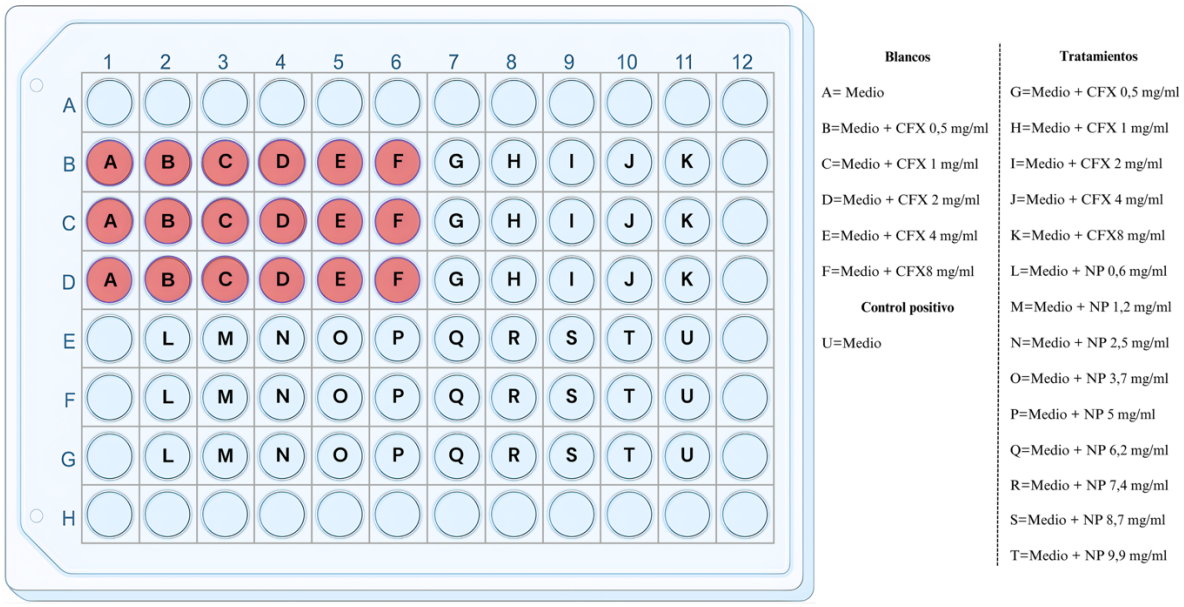
8,7	7,0
9,9	8,0

Nota. Las concentraciones de las microdiluciones fueron redondeadas a un decimal para facilitar su preparación.

Una vez se realizaron las microdiluciones, se estableció la distribución de tratamientos experimentales como lo detalla la **Figura 7**, los cuales permitieron determinar la influencia de las nanopartículas sobre la respuesta morfológica y citotóxica de las células PC-3 de cáncer de próstata. Para ello, se retiró cuidadosamente el medio con ayuda de una bomba de vació y se aplicaron los tratamientos correspondientes tanto de cefalexina como de nanopartículas, los cuales se realizaron en las dos cajas de 96 pocillos, una para su análisis a las 24 h y otra para las 48 h:

Figura 7

Controles y tratamientos para el ensayo de viabilidad celular



Nota. La siembra en la microplaca de las células PC-3 se realizó para los tratamientos y control de la G a la U (pocillos en blanco), mientras que para los controles no se realizó una siembra, por lo que no contienen células (pocillos en rojo).

Una vez aplicados los tratamientos, se incubaron las microplacas durante 24 y 48 horas respectivamente a 37 °C en una atmósfera humidificada con 5% de CO_2.

2.2.3.3 Ensayo de citotoxicidad por MTS

Tras la incubación a las 20 y 44 horas respectivamente, se añadió a cada pocillo 20 µL del reactivo de MTS y las placas se incubaron por 4 horas más en las mismas condiciones hasta alcanzar el tiempo establecido. Esto permitía que las células puedan reducir la sal de tetrazolio MTS a un colorante formazán soluble en el medio. Este es un compuesto tetrazólico que es reducido por las células vivas a un producto soluble en agua llamado formazán. Esta reducción ocurre en presencia de enzimas metabólicas dentro de las células viables, como las deshidrogenasas mitocondriales, que usan los electrones para reducir el MTS. Al alcanzar las 24 y 48 horas, la absorbancia fue medida de inmediato en un lector de microplacas, con una agitación previa de 30 segundos y a una longitud de onda de 490 nm. Los datos obtenidos permitieron calcular el porcentaje de viabilidad celular mediante la siguiente fórmula:

$$Viabilidad\ Celular\ (\%) = \frac{(\text{Absorbancia de la muestra} - \text{Absorbancia del blanco})}{(\text{Arbsorbancia del control positivo} - \text{Absorbancia del blanco})} \times 100\%$$

CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis y discusión de los resultados

3.1.1 Elaboración de nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina mediante gelificación iónica

Las nanopartículas fueron elaboradas en base al principio básico de la gelificación iónica donde el medicamento fue encapsulado gracias a las interacciones electroestáticas entre las cargas opuestas del quitosano al ser un polisacárido catiónico que puede entrecruzarse con los aniones polifosfato del TPP, metodología que fue propuesta inicialmente por Calvo et al. (1997). La **Tabla 3** detalla las condiciones experimentales para la obtención de las nanopartículas y las dos formulaciones realizadas, de las cuales destaca su relación de quitosano, cefalexina y tripolifosfato de sodio; y la concentración de quitosano.

Tabla 3

Condiciones experimentales empleadas para la elaboración de las nanopartículas

Nanopartículas (NP)		**Formulación 1 (NP-1)**	**Formulación 2 (NP-2)**
Volumen final de preparación (mL)		75	75
Quitosano (QS)	**[QS]% (p/v)**	0,13	0,33
	Masa (mg)	100	250
Cefalexina (CFX)	**[CFX]% (p/v)**	0,17	0,42
	Masa (mg)	125	312,5
Tripolifosfato de	**[TPP]% (p/v)**	0,03	0,06
sodio (TPP)	**Masa (mg)**	25	50
Relación en masa de QS:CFX:TPP		4:5:1	5:6,25:1

Nota. Las cantidades y concentraciones se encuentran redondeadas hasta dos decimales.

Uno de los factores determinantes a la hora de elaborar nanopartículas es la concentración del polímero ya que de esto depende el tamaño de las nanopartículas. Para las nanoformulaciones se empleó una concentración final de quitosano de 0,13 y 0,33 %, debido a que la bibliografía reporta que concentraciones altas de altas de quitosano (>0,5%) aumenta notablemente el tamaño de la partícula e incrementa la agregación, lo que hace más difícil su suspensión, presenta morfologías y tamaños heterogéneos y empiezan a aparecer precipitados (Hoang et al., 2022). Por el otro lado, una muy baja concentración del polímero (<1,0 %), si bien cierto da como resultado nanopartículas más pequeñas,

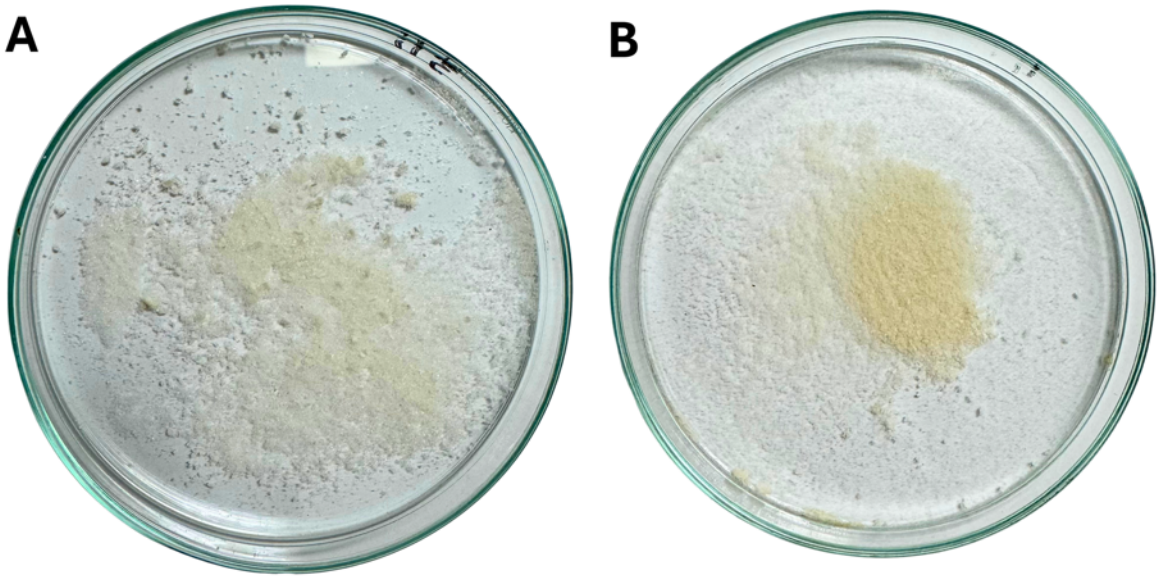
estas corren el riesgo de no encapsular adecuadamente el fármaco y de degradarse mucho más rápido (Bangun et al., 2018). Un rango óptimo de quitosano adecuado para la formación de nanopartículas homogéneas y eficientes va desde un 0,1% de quitosano hasta un 0,5%, como lo reportan Gutiérrez-Ruíz et al. (2024). En base a esto, las dos formulaciones se acomodan dentro del rango óptimo con el fin de evitar problemas de aglomeración y obtener nanopartículas de un tamaño de alrededor de 200 nm. La primera formulación (NP-1) representa un nivel bajo de quitosano, mientras que la segunda (NP-2) un nivel medio, ensayos que permitieron analizar cómo el aumento de la concentración del polímero influye en las propiedades de las nanopartículas.

Además del quitosano, la concentración del agente reticulante en proporciones adecuadas también se relaciona directamente con la producción de nanopartículas eficientes. El tripolifosfato de sodio (TPP) al estar cargado negativamente se encarga de reticular el quitosano y formar enlaces covalentes que crean una matriz nanométrica capaz de encapsular compuestos activos. No obstante, debe existir una proporción ideal en relación con el quitosano, ya que cuando el TPP es insuficiente en la elaboración de las nanopartículas, no existen suficientes aniones que conecten las cadenas de quitosano (Büyük et al., 2020). Pero cuando hay un exceso de este reactivo, va a existir una neutralización de las cargas entre agente reticulante y el quitosano, lo que hará que se formen varios agregados y precipitados debido a la falta de fuerzas de repulsión (Des Bouillons-Gamboa et al., 2024). La bibliografía detalla que una proporción ideal de quitosano y TPP en relación a su masa es de 4:1 para que exista una fuerte interacción entre sus fuerzas electroestáticas y se formen complejos polielectrolitos íntegros (Sunarni et al., 2024). Así, las formulaciones realizadas se ajustan a la bibliografía al mantener una relación de TPP de 1 para mantener condiciones óptimas para la obtención de las nanopartículas y garantizar su integridad nanométrica.

Finalmente, el último factor controlado para la obtención de las nanopartículas fue la concentración del fármaco dentro del sistema de nanoencapsulación. En relación con el quitosano, la cefalexina se agregó en proporción 1:1,25 con el objetivo de tener más fármaco presente capaz de ser atrapado por la red polimérica y mejorar la eficiencia de encapsulación. Elassal & El-Manofy (2019) describen como el aumento en la concentración del fármaco de manera gradual genera partículas nanométricas de menor tamaño y con potencial PDI y zeta ideales. De hecho, las mejores condiciones encontradas fueron cuando la concentración del fármaco superaba ligeramente a la del polímero. Mucho de esto depende de su naturaleza y su interacción. La cefalexina bajo las condiciones de pH de 5 tiende a tener una carga neutra, lo que hace que su encapsulación dependa netamente del atrapamiento físico gracias a la interacción del TPP con el quitosano (Pérez-Pacheco et al., 2025). Por ende, la sobredosificación en el sistema de encapsulación se consideró pensado en dejar más fármaco libre en el medio que pueda ser receptado por las partículas de quitosano.

Figura 8

Nanopartículas obtenidas luego del proceso de liofilización



Nota. A) nanopartículas de la formulación 1 (NP-1) y B) nanopartículas de la formulación 2 (NP-2).

Del proceso de síntesis y liofilización se obtuvo nanopartículas encapsuladas con cefalexina como lo muestra la **Figura 8**. Se ha demostrado que muchos de los sistemas de nanopartículas tienden a degradarse y descomponer su nanoestructura con el paso del tiempo especialmente cuando se mantienen en medios acuosos, por lo que es necesario conservarlas de tal manera que su eficiencia y estabilidad no se pierda (Des Bouillons-Gamboa et al., 2024). La liofilización es uno de los procesos más simples y útiles a la hora de preservar nanopartículas ya que ayuda a conservar las características físicas y químicas de los compuestos activos encapsulados a largo plazo. Muchas de las veces resulta esencial el uso de un compuesto crioprotector debido a que este proceso genera estrés por congelación y deshidratación en las partículas que puede desestabilizarlas (Abdelwahed et al., 2006). De esta manera se conserva la integrar de los compuestos activos y las características de los nanovehículos. Gutiérrez-Ruíz et al. (2024) reportaron el uso de crioprotectores basados en azúcares como la trehalosa y la sacarosa por su habilidad de proteger a las nanopartículas de los cristales de hielo formados durante el proceso de ultracongelación y la capacidad de mantenerlas en un estado pseudohidratado. Se determinó que un 5% resulta eficaz para conservar la estabilidad.

Al utilizar un 6% de sacarosa como crioprotector, el ensayo aseguró que exista una cantidad suficiente de carbohidratos capaces de proteger las nanopartículas de la congelación, mantener la estabilidad de la cefalexina y se mitigó el riesgo de fusión superficial del quitosano durante el proceso de sublimación. Los resultados demuestran una formulación, elaboración y obtención de nanopartículas

eficiente acorde a lo reportado, sin embargo, se puede notar que las NP-1 tienden a generar más agregados en relación con las NP-2 que exhiben un color más intenso y una distribución más homogénea y uniforme. Esto sugiere que las nanopartículas de la primera formulación no cuentan con una correcta estabilización electrostática a nivel molecular, lo que hace que las fuerzas interpartículas entren en acción y se aglomeren como se ve en la **Figura 8** (Hoang et al., 2022). Por lo que resulta necesario la revisión y optimización de la formulación empleada, ya que tal vez las concentraciones de los reactivos en conjunto no son lo suficientemente eficientes como para generar sistemas nanoparticulados estables. Además de ello, es fundamental realizar una caracterización para poder comprobar si las condiciones empleadas logran cumplir con los objetivos de la formulación específicamente en términos de tamaño de partícula, eficiencia de encapsulación (EE) y estabilidad de la cefalexina.

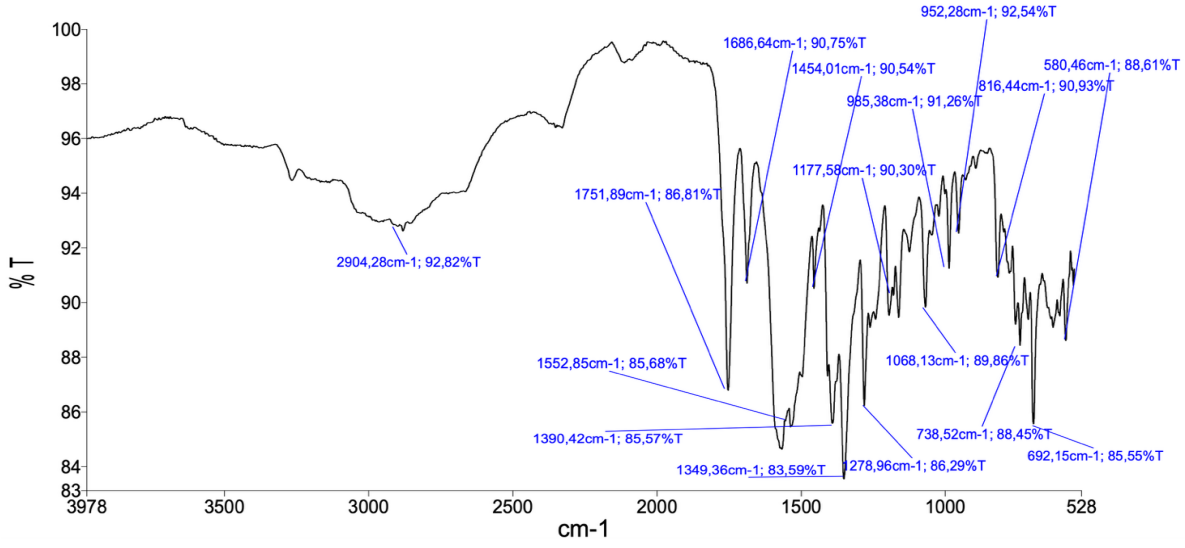
3.1.2 Caracterización de las nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina

3.1.2.1 Análisis de la encapsulación de cefalexina en las nanopartículas de quitosano por FT-IR

El primer paso de caracterización es el análisis de una correcta encapsulación del fármaco dentro de las nanopartículas. Para ello se empleó la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR), la cual comparó la cefalexina pura con las muestras de cefalexina encapsulada en quitosano (formulaciones NP-1 y NP-2).

Figura 9

Espectro infrarrojo de la cefalexina (CFX)

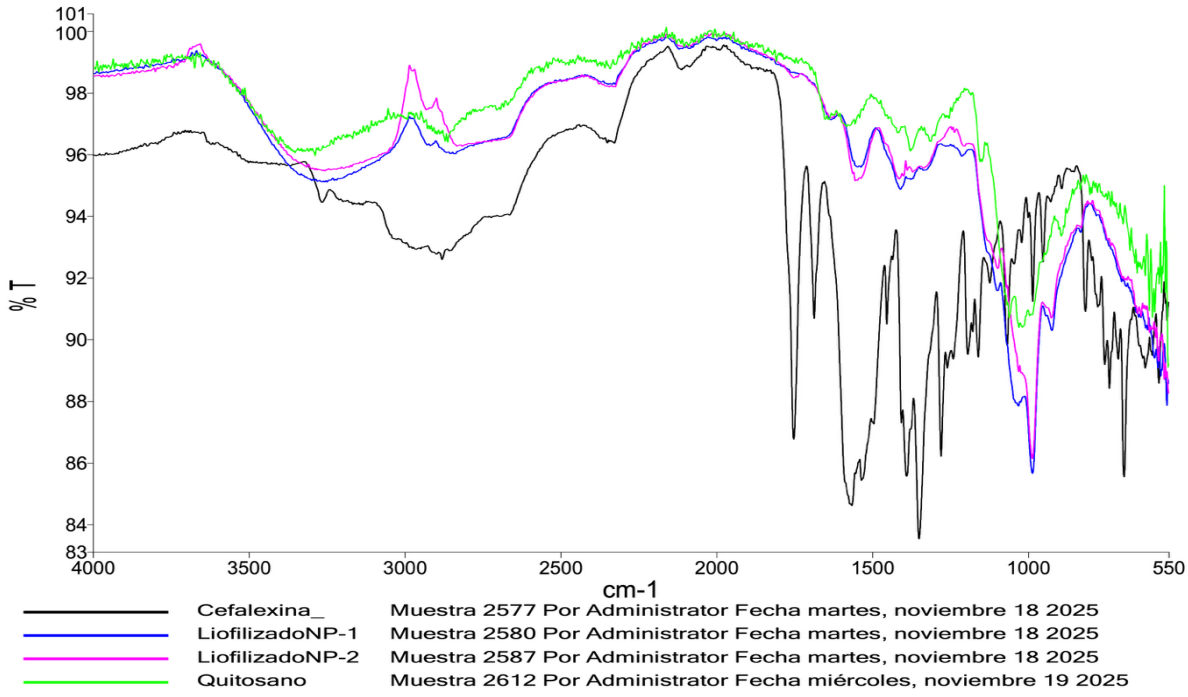


Nota. El espectro muestra todos los picos significantes determinados con ayuda del software Spectrum 10.

Para ello se realizó un ensayo de espectroscopía de FT-IR inicial del medicamento (**Figura 9**) en donde, en base a la bibliografía, se encontraron picos intensos alrededor de 1751 cm^{-1} correspondiente al grupo carbonilo (C=O) del anillo β-lactámico, 1688 cm^{-1} del grupo carbonilo (C=O) de la amida (Yang et al., 2022). Una banda amplia con un pico de 1552 cm^{-1} con un pico más alto no señalado es atribuible a las vibraciones de la flexión entre el nitrógeno-hidrógeno (δN-H) y el grupo carboxilato (COO^-) que según las fuentes puede estar entre 1576–1591 cm^{-1} según sea el caso (Legnoverde et al., 2014; Yang et al., 2022). El pico de 1454 cm^{-1} corresponde a las vibraciones del anillo aromático presente en la cefalexina, el de 1278 cm^{-1} y 1068 cm^{-1} corresponden a las vibraciones de los enlaces carbono-nitrógeno (C-N) y carbono-oxígeno (C-O) respectivamente, y finalmente el pico de 738 cm^{-1} se le asocia con los enlaces de carbono-azufre (C-S) correspondientes del grupo metileno-sulfuro (Abdulnabi et al., 2024; Elassal & El-Manofy, 2019; Legnoverde et al., 2014). Finalmente, los picos predominantes que están entre la región de 2500 y 3400 cm^{-1} (pico encontrado de 2904) corresponden a las vibraciones de estiramiento carbono-hidrógeno (C-H) del anillo aromático, metino, metileno; nitrógeno-hidrógeno (νN-H) de los grupos amino y amida, y oxígeno-hidrógeno (O-H) proveniente del agua (Elassal & El-Manofy, 2019; Vijay et al., 2012). Esta comparativa y análisis permite confirmar la actividad y características de la cefalexina intacta, con el objetivo de hacer un reconocimiento general sobre sus grupos funcionales e interpretarlo como control contra las nanopartículas de quitosano.

Figura 10

Espectro infrarrojo de las formulaciones de las nanopartículas (NP-1 y NP-2) frente a sus controles



Nota. Los espectros muestran un control de cefalexina (negro) y de quitosano (verde), y dos ensayos de nanopartículas cargadas con cefalexina, formulación NP-1 (azul) y NP-2 (magenta).

La **Figura 10** detalla el espectro de las nanopartículas contra la cefalexina y el quitosano, que de por sí muestra bandas características (**Anexo 1**): un amplio pico del estiramiento de los grupos O-H y N-H alrededor de los 3400 cm^{-1}, picos de la interacción entre el C-O a 1080 cm^{-1}, señales de las amidas I y II a un número de onda de 1650 y 1580 cm^{-1} propias de la cadena polimérica y vibraciones entre los grupos C-H y N-H en el rango de 1420 a 1370 cm^{-1} (Drabczyk et al., 2020; Vanti et al., 2024). Las nanoformulaciones cuentan un espectro infrarrojo con bandas muy similares a las del quitosano, solo que estas presentan un espectro más grande, es decir con mayor porcentaje de transmitancia en las regiones asociadas a los grupos O-H/νN-H y a los C=O del grupo amida. Esto se explica ya que la elaboración de las nanopartículas incluye el aumento de enlaces de hidrógeno (H) capaces de unir las moléculas y formar la matriz nanoestructurada encargada de la encapsulación del fármaco (Hamrayev & Kamyar, 2023). De hecho Abbas & Al-Baiati (2023) observaron en el FT-IR de un conjugado quitosano-cefalexina que la banda ancha de ~3397 cm-^{1} (asociada al O–H/N–H libre) cambiaba al formarse enlaces por hidrógeno, indicando la participación de estos grupos en interacciones intermoleculares con el fármaco. Adicionalmente, cabe destacar el hecho de que varias de las bandas de la cefalexina caen generalmente en las mismas regiones que los picos infrarrojos del quitosano debido a su naturaleza química similar. Una vez que el fármaco se encuentra dentro de una nanoestructura, este queda molecularmente disperso sobre el quitosano o cubierto por el mismo, lo que se traduce en el solapamiento de las bandas características del medicamento sobre el polímero que se encuentra como compuesto predominante (Ma et al., 2020). Es por ello que las señales de la cefalexina se solapan con las del quitosano y pueden aparecer como un único pico más amplio o ligeramente desplazado en posición e intensidad.

No obstante, existen algunas bandas específicas del quitosano como el de las regiones de 1358 cm^{-1}; 1022 cm^{-1} y algunos más dentro de la región de 500 a 1000 cm^{-1}, como se ve en el **Anexo 1**, que son más intensas y se encuentran desplazadas de manera significativa en las nanoformulaciones según se observa en la **Figura 10**. Varias investigaciones señalan que este cambio en la posición de las bandas infrarrojas se traduce como una interacción molecular entre los grupos amida y carbonilo del fármaco con el polímero. A pesar de que la fuerza electrostática sea débil, tiene efecto en la disposición de las bandas infrarrojas al aumentar la interacción de las moléculas, especialmente las del hidrógeno (H); lo que se traduce como un desplazamiento notable de los picos característicos del polímero encapsulador (Hamrayev & Kamyar, 2023; Olvera Bernal et al., 2023). Incluso se puede llegar a apreciar pequeños picos como señales tenues o debilitadas de los grupos carbonilo y aminos característicos de la cefalexina dentro de los espectros de las nanoformulaciones que son una señal de la presencia del medicamento.

En esencia, al quedar el antibiótico integrado en la nanopartícula, sus grupos funcionales (carbonilos, aminas, hidroxilos) interactúan con grupos del quitosano, alterando ligeramente las energías de vibración y por ende las posiciones de las bandas.

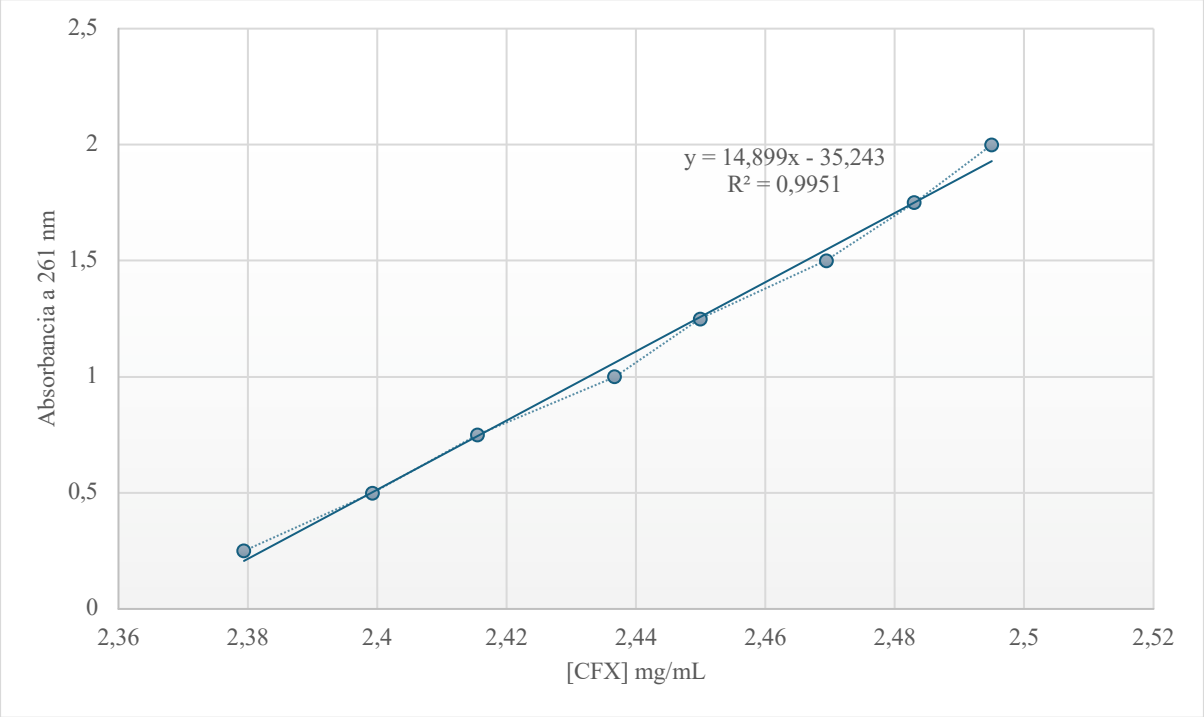
Este comportamiento de desplazamiento y principalmente de solapamiento por parte de los espectros infrarrojos de las nanoformulaciones es muy común en sistemas poliméricos y son evidencia crucial de la correcta encapsulación del fármaco, lo que se sustenta con investigaciones donde se ha visto el mismo efecto de que las señales de los principios activos tienden a perderse en comparación con las del polímero encapsulador (Zaman et al., 2022). De este modo, la supresión de las señales de cefalexina en NP-1 y NP-2 respalda que el fármaco quedó atrapado en la red polimérica, sin interacción química nueva significativa. A pesar de ello, es crucial realizar ensayos de caracterización cuantitativos que demuestren, no solo visualmente, sino de manera cuantitativa, la cantidad de cefalexina que las nanopartículas han logrado encapsular.

3.1.2.2 Evaluación de la eficiencia de encapsulación y contenido de carga de cefalexina en las nanopartículas

Para poder analizar la eficiencia de encapsulación de la cefalexina y conocer su contenido presente en las nanopartículas, se realizó una curva de calibración empleado ácido acético al 1% a un pH de 5 para evitar interferencias en las lecturas y tener absorbancias más limpias. Se empleó la técnica de espectrofotometría UV a una longitud de onda de 261 nm, que es a la cual la cefalexina ha mostrado su máxima absorción de luz según la bibliografía (Panda et al., 2013) Los resultados se muestran en la **Figura 11**:

Figura 11

Curva de calibración de cefalexina (CFX)



Nota. La curva de calibración muestra la ecuación para la estimación de la concentración de cefalexina y su coeficiente de determinación (R^2), el cual es mayor al mínimo aceptable de 0,990; por lo que se valida la robustez y precisión del método. Los datos de absorbancia para su elaboración se ubican en el **Anexo 2**.

La curva de calibración permitió determinar de manera indirecta la concentración y cantidad de cefalexina en las nanopartículas, al medir la absorbancia de los sobrenadantes que fueron obtenidos luego del proceso de centrifugación a alta velocidad.

Tabla 4

Cuantificación de cefalexina en sobrenadante y en nanopartículas

Formulaciones	Abs λ= 261 nm	[CFX] en el sobrenadante (mg/mL)	[CFX] inicial (mg/mL)	[CFX] en NP (mg/mL)	CFX encapsulada (mg)	CFX NO encapsulada (mg)
NP-1	2,4238	0,87	1,67	0,80	59,81	65,19
NP-2	2,4607	1,42	4,17	2,75	206,08	106,42

Nota. La concentración de cefalexina [CFX] en el sobrenadante se determinó a partir de la ecuación generada de la curva de calibración. Los resultados fueron redondeados hasta cuatro decimales según se requiera.

Los datos sobre la cantidad de cefalexina en las nanopartículas se reportan en la **Tabla 4** y en base a estos se calcula en la **Tabla 5** el porcentaje de eficiencia de encapsulación (% EE) y en contenido total de cefalexina presente en las nanopartículas luego de su proceso de liofilización.

Tabla 5

Eficiencia de encapsulación y contenido de la cefalexina en las nanopartículas

Formulaciones	Cantidad de NP-liofilizadas (mg)	Eficiencia de encapsulación (% EE)	Contenido de CFX EN NP (mg de CFX/mg de NP)	% CFX en NP
NP-1	137	47,85	0,43	43,66%
NP-2	254	65,94	0,81	81,13%

Nota. Los resultados fueron redondeados hasta dos decimales.

Los resultados demuestran diferencias significativas entre ambas formulaciones: para las NP-1 se determinó una encapsulación de 59,81 mg de cefalexina, lo que corresponde a un 47,85% de eficiencia; mientras que para las NP-2 se encapsuló alrededor de 206,08 mg de cefalexina y con una eficiencia del 65,94%. Esta diferencia significativa se debe principalmente al diseño y condiciones de elaboración empleadas. Como ya se ha discutido previamente, la concentración del polímero es uno de los factores determinantes de la encapsulación, mientras más moléculas de quitosano estén presentes en el medio de la elaboración, hay más lugares libres donde la cefalexina puede entrar o unirse por sus fuerzas moleculares en la matriz polimérica (Silva et al., 2022). Esto se evidencia claramente en los resultados obtenidos ya que, a pesar de que la relación en masa entre el quitosano y la cefalexina no cambie en ambas formulaciones, son elaboradas en un mismo volumen, lo que aumentará la concentración de dichos compuestos y, por lo analizado, el tener más cantidad de quitosano disponible mejora la eficiencia de la encapsulación.

La concentración de TPP también resulta crucial en la elaboración de nanopartículas. Entre la formulación 1 y 2, hubo una disminución aproximadamente del 25% en relación de masa del agente reticulante. Al haber menos moléculas de TPP que interactúen con el quitosano, existe menos riesgo de neutralización del polímero y más sitios de interacción libre para la cefalexina. Sin embargo, cuando el TPP es insuficiente, la red nanopolimérica queda poco entrecruzada, facilita la pérdida del fármaco al sobrenadante y reduce el % EE (Des Bouillons-Gamboa et al., 2024; Dutta et al., 2022). Por otro lado, este efecto también tiende a reducir la reticulación de la matriz, lo que facilita la incorporación del medicamento, mejorando la eficiencia de encapsulación. Ahondado más en el efecto del fármaco, se sabe que la cefalexina cuenta con un grupo carboxilato (COO^-) cargado negativamente que se va a atraer hacia las aminas protonadas del quitosano que se encuentran cargadas positivamente (Elassal & El-Manofy, 2019). Estas interacciones iónicas mejoran la retención del medicamento al actuar como

fuerzas de unión adicionales a la mera encapsulación física, llegando a obtener porcentajes de eficiencias cercanos al 80% (Tawfik & Farid, 2025). Estos factores determinan cuán óptimo es la elaboración de las nanopartículas y justifica las cantidades de cefalexina que se lograron encapsular para cada uno de los ensayos realizados.

En base a las investigaciones recientes, se ha logrado encapsular compuestos activos con alta eficiencia y condiciones óptimas. Akdaşçi et al. (2025) lograron cargar compuestos fenólicos en nanopartículas de quitosano con una eficiencia del 82% bajo parámetros establecidos. Incluso varias fuentes señalan que, al optimizar y ajustar los parámetros clave de fabricación de nanopartículas, se puede llegar a alcanzar eficiencias de hasta el 90% (Stefanache et al., 2025). Para el caso específico de las cefalosporinas en nanovehículos de quitosano, los estudios demuestran que se ha logrado conseguir un 79% de % EE en el mejor de los casos con la metodología de gelificación iónica (Balde et al., 2020). Esto sugiere que, si bien se podría refinar más la elaboración de las nanopartículas, el hecho de que las NP-2 cuenten con un 65,64% ya supera el 50% y alcanza valores comparables a los sistemas ya investigados. Por el contrario, para las NP-1, no supera el límite deseable de eficiencia, al no incorporar ni la mitad del fármaco inicial. Esto puede resultar en problemas debido a que: en primera instancia existen mejores sistemas más eficientes que emplean los mismos recursos, y la mayor cantidad de nanopartículas requeridas para equiparar la concentración del fármaco implicaría un aumento del polímero y dificultad de solubilización.

La carga del fármaco en las nanopartículas expresada en mg de CFX por mg de NP es uno de los indicadores más importantes ya que expresa la dosis de medicamento que cada mg de NP puede liberar. El hecho de que NP-2 alcance 81% sugiere que la mayor parte de su masa proviene del fármaco incorporado, mejorando el alcance de la cefalexina. Por el otro lado, las NP-1 al contar con un 43% de carga, resulta aceptable en comparación con otros estudios basados en la encapsulación de fármacos, donde se reportan que entre 42 y 47% del compuesto activo en una nanopartícula tiene la capacidad de cumplir con su función principal para la cual se ha diseñado (Ng et al., 2020). En base a ello, es necesaria la caracterización del principio activo de la cefalexina presente en las nanopartículas de quitosano, para poder comprobar que el fármaco no se ha degradado ni ha perdido funcionalidad.

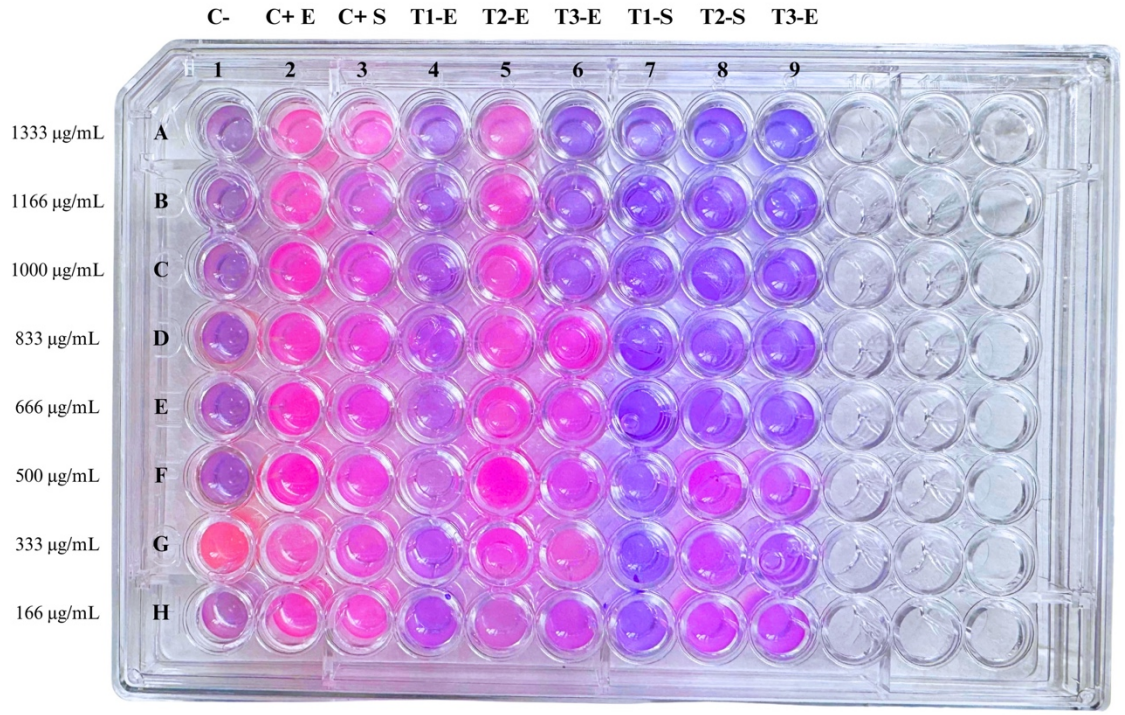
3.1.2.3 Evaluación de la actividad antimicrobiana de la cefalexina nanoencapsulada en quitosano

La verificación de la integridad del fármaco ayuda a corroborar los análisis de encapsulación previos, debido a que no se tiene la certeza a nivel nanoscópico de que el fármaco cuente con su actividad intacta. Es por ello que se realizó un ensayo en microplaca con cepas bacterianas sensibles a

la cefalexina: *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Los resultados son reportados en la **Figura 12**:

Figura 12

Ensayo microbiológico en microplaca para comprobar la actividad de la cefalexina cargada en las formulaciones de nanopartículas (NP-1 y NP-2)



Nota. C-: control negativo de medio LB; C+E: control positivo de *E. coli* (E); C+S: control positivo de *S. aureus* (S); T1: cefalexina; T2: nanopartículas NP-1 cargadas con cefalexina; T3: nanopartículas NP-2 cargadas con cefalexina.

Este ensayo cualitativo brinda una confirmación visual de que el antibiótico encapsulado permanece activo tras la formulación. Se muestra una gradiente de concentración de cefalexina, la cual incluso a la mínima concentración de 166 µg/mL logra inhibir el crecimiento de *E. coli* y *S. aureus*, lo que va a acorde a lo reportado en la bibliografía y permite confirmar la integridad del fármaco utilizado para la síntesis de las nanopartículas. (Haynes et al., 2022). Para el caso de los tratamientos donde se aplicó la misma concentración en masa de nanopartículas, se aprecia que T3-E y T3-S presentan una gradiente de inhibición nítido y consistente para las muestras aplicadas con la segunda formulación de nanopartículas (NP-2) tanto para *E. coli* como para *S. aureus*. A medida que la concentración disminuye, el color rosa característico de crecimiento bacteriano reaparece de manera progresiva, lo que indica una pérdida gradual de la actividad antimicrobiana, acorde con el patrón de dilución. La presencia de pocillos con ausencia de viraje de color en concentraciones altas confirma el hecho de que

la cefalexina encapsulada mantiene su bioactividad, mientras que el restablecimiento del color en concentraciones bajas evidencia el límite de inhibición. Los resultados observados en NP-2 son comparables con los patrones reportados en nanopartículas de quitosano cargadas con antibióticos, donde se describe una disminución progresiva de la actividad a medida que decrece la concentración, lo cual refuerza el efecto esperado del comportamiento de estas formulaciones (Lopez-Flores et al., 2025).

En contraste, los grupos T2-E y T2-S (nanopartículas NP-1) muestran una capacidad inhibitoria menor y menos marcada en comparación con NP-2. Si bien existe inhibición en las concentraciones altas, esta se pierde más rápidamente y el gradiente de color cambia a rosado desde los primeros pocillos. Debido a que son bacterias distintas, se puede apreciar que las NP-1 muestran mejor actividad antimicrobiana contra *S. aureus* a diferencia de *E. coli*, en donde la actividad fue mínima, lo que se relaciona con la naturaleza del antibiótico y su afinidad por ciertas cepas (Herman & Hashmi, 2023). Incluso, esto podría estar relacionado con la menor eficiencia de encapsulación observada en la **Tabla 5** (47,85% frente a 65,94% en NP-2). El menor contenido de cefalexina en esta formulación (0,43 mg de CFX/mg de NP frente a 0,81 mg de CFX/mg de NP en NP-2) se refleja en una menor efectividad antimicrobiana.

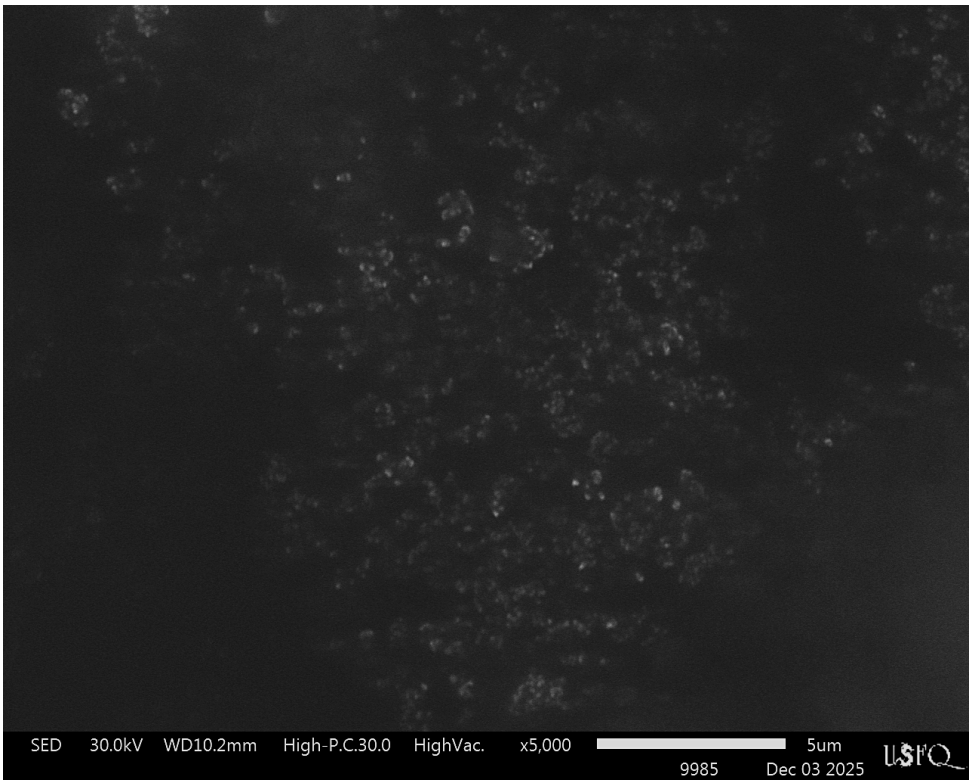
Considerando el hecho de que todas las nanopartículas tiene la misma concentración en masa aplicada a las bacterias, se ve una clara relación directa entre la intensidad de inhibición y el % EE reportado en la **Tabla 5**, el cual es consistente con investigaciones recientes donde las formulaciones con mayor carga de antibiótico muestran halos de inhibición más amplios o una actividad sostenida en ensayos de microdilución (Amini et al., 2024). En base a lo reportado, se logra demostrar que el antibiótico se encuentra realmente encapsulado dentro de la nanopartícula y que, tras la formulación y almacenamiento, su actividad no se ha perdido. La presencia de inhibición bacteriana en las NP-2 y en menor grado en NP-1 valida los resultados de la eficiencia de encapsulación al mostrar mejor actividad antimicrobiana en la segunda formulación. Aunque estos ensayos no miden la concentración exacta liberada, sí corroboran que el fármaco no se degradó ni perdió estabilidad durante su incorporación en la nanopartícula, resultado que también ha sido reportado en estudios donde la actividad antimicrobiana se utiliza como verificación visual de la estabilidad del antibiótico cargado (Ganesan et al., 2022). No obstante, para complementar esta validación microbiológica, resulta indispensable incorporar un análisis morfológico de las nanopartículas, ya que parámetros como el tamaño, la distribución y la uniformidad estructural influyen directamente en la eficiencia de encapsulación y en la interacción con sistemas biológicos.

3.1.2.4 Caracterización morfológica de las nanopartículas por microscopía electrónica de barrido (SEM)

La determinación del tamaño y la dispersión de las nanopartículas son factores clave dentro del proceso de caracterización ya que estos afectan la biodisponibilidad y eficacia terapéutica, además de garantizar su seguridad, estabilidad y reproducibilidad.

Figura 13

Formulación 1 de las nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina



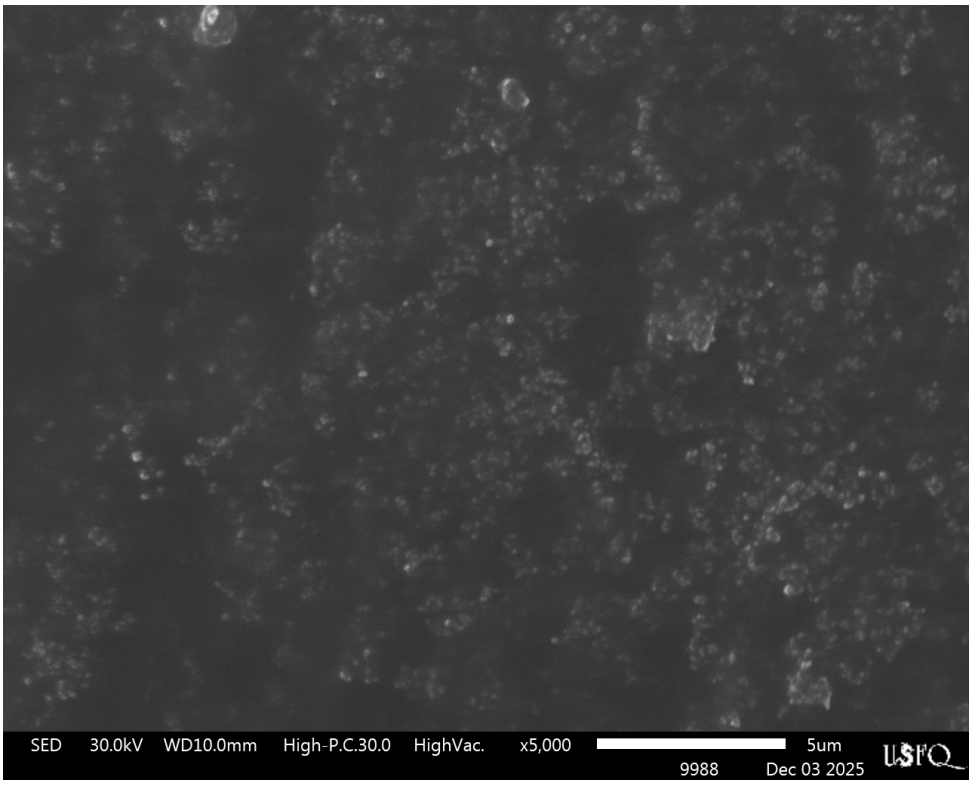
Nota. Las micrografías de las nanopartículas se obtuvieron del microscopio electrónico de barrido marca JEOL (SEM) de la Universidad San Francisco de Quito (USFQ).

La **Figura 13** muestra la microscopía electrónica de la primera formulación de nanopartículas diluidas en medio ácido. De manera general, se muestran morfologías principalmente esféricas, pero con una estructura irregular, rugosa, pero de tamaño homogéneo. Además, se muestra un cierto grado de aglomeración en varias secciones donde se ve gran densidad de nanopartículas. Esta morfología es común cuando estas son sintetizadas mediante métodos como la gelificación iónica o nanoprecipitación sin control estricto de parámetros como el pH, la velocidad de mezcla o la concentración de agentes reticulantes (Villarta et al., 2025). Varios estudios han documentado que la irregularidad y las

superficies rugosas en las nanopartículas pueden surgir debido a la auto-asociación polimérica del quitosano durante el proceso de secado como se puede observar en el **Anexo 1** (Anju et al., 2025).

Figura 14

Formulación 2 de las nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina



Nota. Las micrografías de las nanopartículas se obtuvieron del microscopio electrónico de barrido marca JEOL (SEM) de la Universidad San Francisco de Quito (USFQ).

La **Figura 14** revela nanopartículas con una forma más definida y algo más esférica perteneciente a las NP-2, lo que sugiere una síntesis más optimizada, con condiciones que favorecen la estabilidad de las partículas (T. Jiang et al., 2024). En estudios recientes, se ha observado que la proporción de quitosano/TPP y la optimización de la mezcla y el pH tienden a producir partículas más esféricas y homogéneas, lo que es deseable para aplicaciones farmacéuticas, ya que facilita una distribución uniforme y una liberación más controlada del fármaco (Anju et al., 2025; Silva et al., 2025).

La forma de las nanopartículas es un aspecto crítico en su proceso de caracterización, ya que influye directamente en la biodisponibilidad y absorción del fármaco. Las partículas con una morfología esférica y compacta como las de las NP-2 suelen tener un mejor comportamiento en términos de penetración celular y distribución homogénea en los tejidos, lo que favorece la liberación controlada del fármaco (Wu et al., 2024). Las partículas de la Formulación 1 (NP-1), más irregulares, pueden

presentar una menor eficiencia en la liberación y en la absorción, ya que las superficies rugosas y la falta de forma definida pueden dificultar su interacción con las membranas biológicas.

En cuanto a la aglomeración de las nanopartículas, las NP-1 presenta una notable aglomeración de partículas, formando cúmulos densos. Esto puede ser consecuencia de la falta de estabilidad coloidal debido a la interacción catiónica del quitosano con su entorno, lo que favorece la agregación. Esta aglomeración es un fenómeno común en nanopartículas de quitosano cuando no se ajustan adecuadamente las condiciones de carga superficial y la repulsión electrostática entre las partículas (Zaman et al., 2022). Por el contrario, las NP-2 muestra una menor aglomeración, con las partículas más dispersas en comparación con la primera formulación incluso desde sus muestras liofilizadas (**Anexo 2**) hasta sus muestras en dilución. Esto sugiere que la segunda formulación tiene una mejor estabilidad coloidal, lo que es un indicador de una elaboración óptima. La dispersión uniforme de las nanopartículas es crucial para garantizar una liberación controlada del fármaco y mejor biodisponibilidad, ya que las partículas dispersas tienen una mayor superficie específica disponible para interactuar con las células y los tejidos (Villarta et al., 2025). Una mayor dispersión también mejora la estabilidad de las nanopartículas durante su almacenamiento a largo plazo, reduciendo el riesgo de precipitación o pérdida de actividad.

En cuanto al tamaño de las nanopartículas, estimado visualmente a partir de las imágenes SEM, ambas formulaciones presentan nanopartículas con dimensiones dentro de un rango nanométrico. Al comparar las partículas con la barra de escala de 5 µm, se puede estimar que las nanopartículas de la formulación 1 tienen un tamaño de aproximadamente 150–350 nm, mientras que las de la formulación 2 tienen un tamaño de alrededor de 100–300 nm. Estos tamaños se encuentran dentro del rango óptimo reportado en la literatura para nanopartículas de quitosano cargadas con fármacos, que generalmente oscilan entre los 100 y 600 nm (Jha & Mayanovic, 2023). Estos tamaños son adecuados para aplicaciones en liberación controlada de fármacos y penetración celular, ya que facilitan la absorción de las partículas a través de las membranas biológicas y favorecen una distribución uniforme del fármaco en el organismo (Weng et al., 2023).

La caracterización de las nanopartículas proporciona información esencial sobre sus propiedades físicas, químicas, biológicas y estructurales como se ha demostrado. La información obtenida de las pruebas de caracterización permite seleccionar las formulaciones más prometedoras, optimizando sus propiedades para mejorar la eficacia terapéutica y reducir efectos secundarios. De los ensayos realizados, se ha determinado que la segunda formulación de nanopartículas (NP-2) es la mejor, principalmente, gracias a su capacidad de retención del fármaco, morfología, tamaño y actividad biológica. Con estos datos, las nanopartículas pasan a ser una herramienta lista para su evaluación

posterior en modelos celulares, ya que se cuenta con un alto grado de certeza de que existirá un efecto del fármaco en investigaciones posteriores.

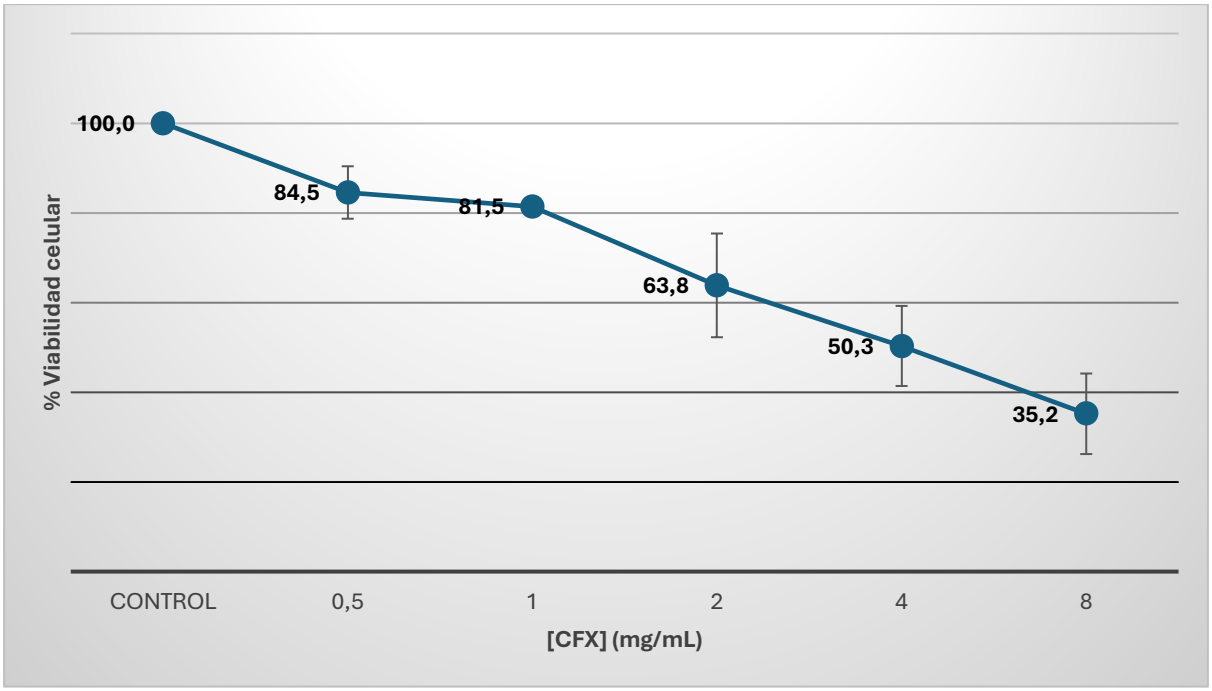
3.1.3 Análisis de la actividad antiproliferativa de las nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina en la línea celular PC-3 de cáncer de próstata

3.1.3.1 Evaluación de la viabilidad de las células PC-3 de cáncer de próstata

Para poder evaluar el efecto antiproliferativo de la cefalexina sobre las células de cáncer de próstata, se ha realizado ensayos de viabilidad celular con MTS, en donde las células viables se encargan de reducir la sal de tetrazolio en un producto de formazán de color café que se puede detectar por espectrofotometría. Los resultados de viabilidad celular se realizaron al comparar las absorbancias del control positivo con los tratamientos celulares de tal manera que se aprecie un estimado de las células no viables o muertas en la microplaca.

Figura 15

Ensayo de viabilidad de células PC-3 tratadas con cefalexina (CFX) por 24 horas

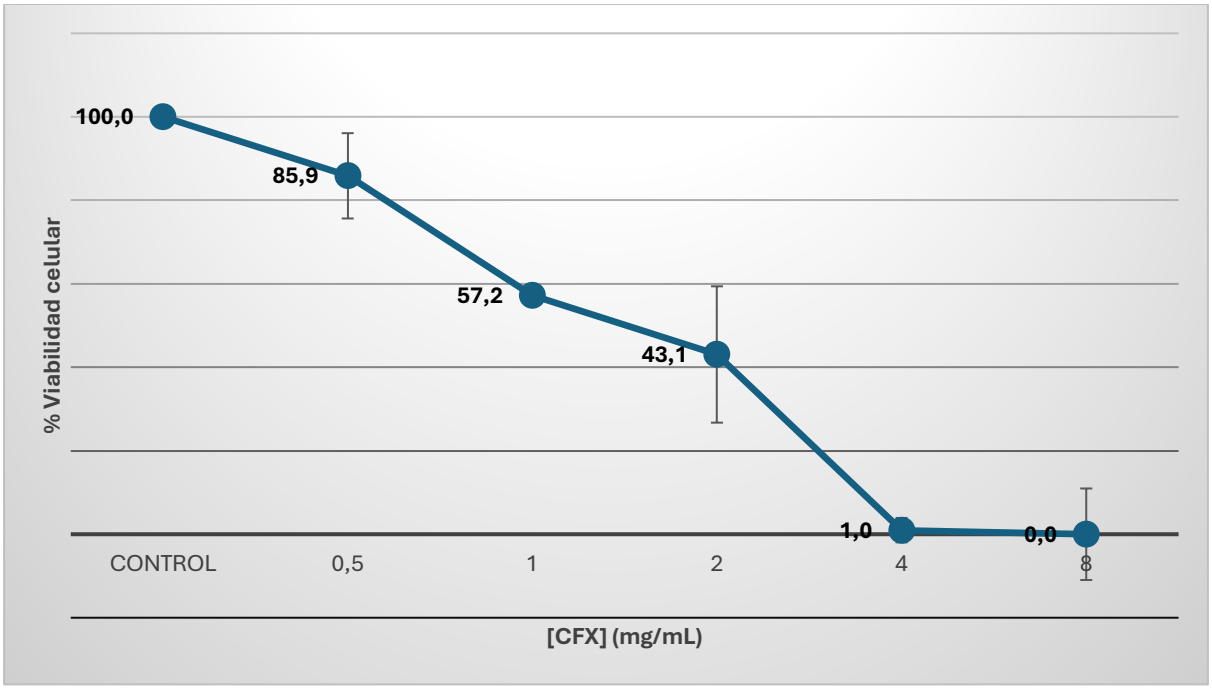


Nota. Los resultados corresponden a dos experimentos independientes (n = 2) con tres réplicas técnicas cada uno, los cuales se evidencian en el **Anexo 5**. Las barras representan la desviación estándar de las mediciones obtenidas en cada concentración de cefalexina (CFX).

Las **Figuras 15** y **16** demuestran el efecto antiproliferativo de la cefalexina libre al producir una disminución notable de la viabilidad celular, la cual es dependiente de la concentración del fármaco. A las 24 horas (**Figura 15**), se observa una inhibición inicial del crecimiento leve de alrededor del 20% de las células totales, lo cual indica una baja toxicidad de la cefalexina. Esto va a acorde a sus propiedades intrínsecas de seguridad puesto que es un fármaco aprobado por la FDA (Knox et al., 2024). Resulta fundamental el empleo de medicamentos no tóxicos en tratamientos para el cáncer, ya que podría generar efectos adversos en los pacientes, resultado en una terapia no viable. La cefalexina, al no inducir la muerte celular a concentraciones bajas, demuestra su perfil de seguridad, lo que le permite funcionar como una opción de tratamiento alternativo seguro contra el cáncer de próstata. Tras las 48 horas del tratamiento (**Figura 16**), se exhibe una muerte celular considerable con respecto a la viabilidad. Esto puede indicar que la cefalexina tiene un efecto antiproliferativo acumulativo en el tiempo, es decir, que mientras más pase el tiempo, la estabilidad y función del fármaco va a seguir matando células cancerígenas. En base a la bibliografía, las cefalosporinas tienen varios mecanismos que actúan sobre las células para inducir su muerte. Ali & Jawad (2024) demostraron que la cefalexina es capaz de activar una proteína supresora tumoral llamada P53 en líneas celulares de carcinoma hepatocelular, iniciando apoptosis. De igual modo, otros trabajos con cefalosporinas señalan la regulación de genes relacionados con estrés oxidativo y muerte celular como el HMOX1 que se asocia a procesos de ferroptosis y apoptosis (Liu et al., 2025). Por lo que, esta disminución de células viables puede indicar un efecto sinérgico de la cefalexina en las PC-3, lo que generaría un daño oxidativo interno y regulación genética como efectos colaterales a la exposición prolongada del medicamento.

Figura 16

Ensayo de viabilidad de células PC-3 tratadas con cefalexina (CFX) por 48 horas

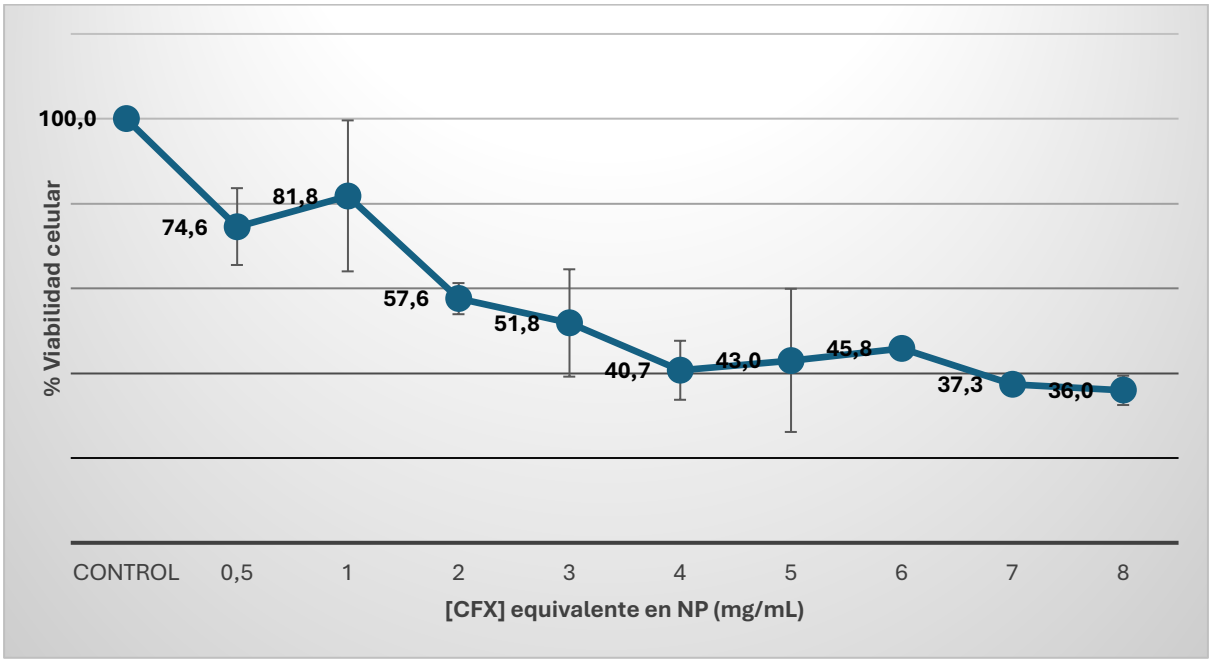


Nota. Los resultados corresponden a dos experimentos independientes n = 2 con tres réplicas técnicas cada uno, los cuales se evidencian en el **Anexo 6**. Las barras representan la desviación estándar de las mediciones obtenidas en cada concentración de cefalexina (CFX).

A nivel celular, la evidencia científica sugiere que la cefalexina libre en el medio parece inducir apoptosis o senescencia en células tumorales, al involucrar la producción de especies reactivas de oxígeno y generar señales pro-apoptóticas. Este enfoque se ha estudiado anteriormente, pero con la combinación de tratamientos convencionales como la radiación (Labay et al., 2016). Con todo esto, el hecho de que a la mayor concentración de CFX libre no existan células viables se atribuye a los daños celulares por un largo periodo de tiempo, sugiriendo que es necesaria la exposición prolongada al fármaco.

Figura 17

Ensayo de viabilidad de células PC-3 tratadas con nanopartículas cargadas de cefalexina (NP) por 24 horas



Nota. Los resultados corresponden a dos experimentos independientes (n = 2) con tres réplicas técnicas cada uno, los cuales se evidencian en el **Anexo 5**. Las barras representan la desviación estándar de las mediciones obtenidas en cada concentración de cefalexina (CFX) equivalente en nanopartículas (NP).

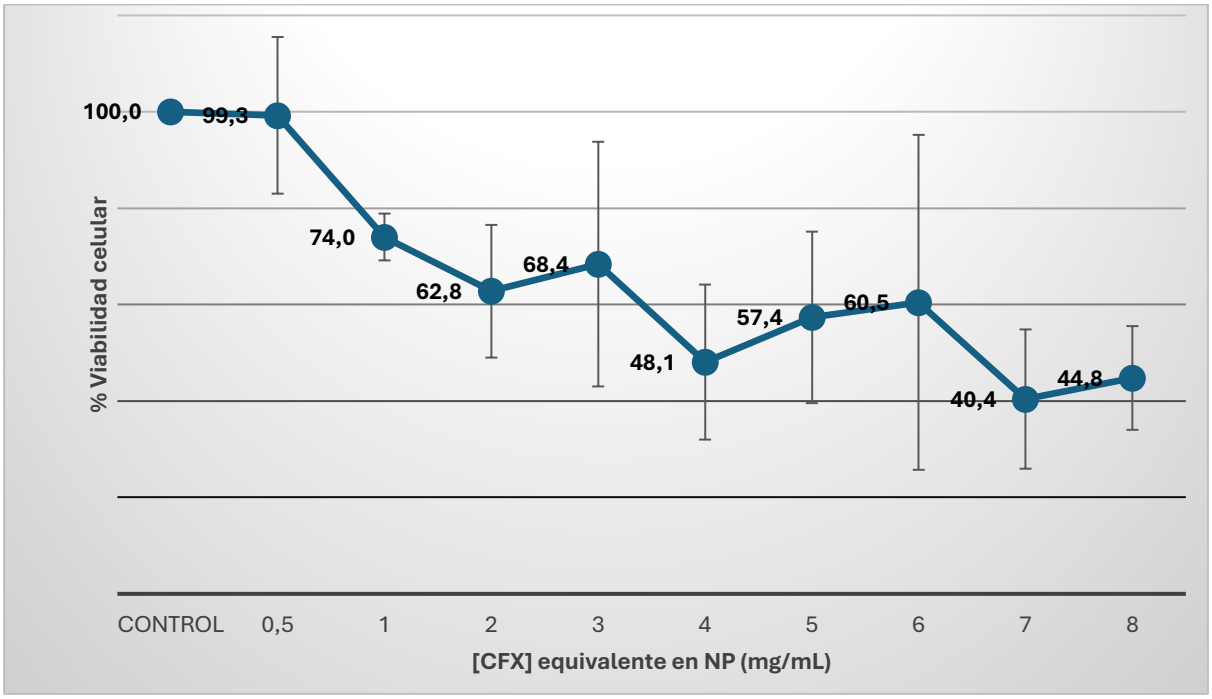
Haciendo uso en los resultados obtenidos de la caracterización, se ha empleado las nanopartículas de la formulación 2 para probar su efecto frente a las células cancerosas. Esto debido a que, las NP-1 al tener menos eficiencia de encapsulación y menos cantidad de cefalexina cargada en su nanoestructura, requeriría más cantidad de nanopartículas. No obstante, debido a la naturaleza del polímero, este es insoluble en medios acuosos, que generalmente es el que se emplea en las células PC-3. La cantidad de quitosano insoluble podría obstruir la lectura de las absorbancias y reflejar datos erróneos que no corresponden a la actividad metabólica de las células (Ozturk et al., 2020).

Las **Figuras 17** y **18** exhiben la capacidad de las nanopartículas (NP-2) para reducir la cantidad de células viables más eficientemente que la cefalexina libre en el medio. A las 24 horas (**Figura 17**) se observa una caída considerable de la viabilidad, tendencia que es constante incluso hasta la exposición a las 48 horas (**Figura 18**). El quitosano es un polímero conocido por sus propiedades anticancerígenas intrínsecas y por facilitar la penetración celular de fármacos, esto sumado a las propiedades de la cefalexina logran mejorar la entrega intracelular del medicamento y prolonga su acción a largo plazo (Ali & Jawad, 2024). Estudios complementarios de este efecto, como el que Abdulnabi et al. (2024) reportaron donde las nanopartículas de quitosano-cefalexina indujeron

producción de ROS y elevada expresión de P53 en células de cáncer de colon (HCT-29), confirmando la vía apoptótica activada. Estos hallazgos apoyan el hecho de que las nanopartículas potencian el efecto antitumoral, no sólo actúan como reservorio que libera sostenidamente la cefalexina, sino que el propio quitosano puede potenciar la muerte celular.

Figura 18

Ensayo de viabilidad de células PC-3 tratadas con nanopartículas cargadas de cefalexina (NP) por 48 horas



Nota. Los resultados corresponden a dos experimentos independientes (n = 2) con tres réplicas técnicas cada uno, los cuales se evidencian en el **Anexo 6**. Las barras representan la desviación estándar de las mediciones obtenidas en cada concentración de cefalexina (CFX) equivalente en nanopartículas (NP).

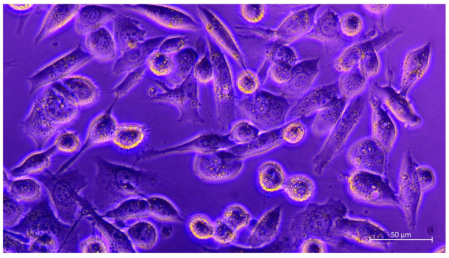
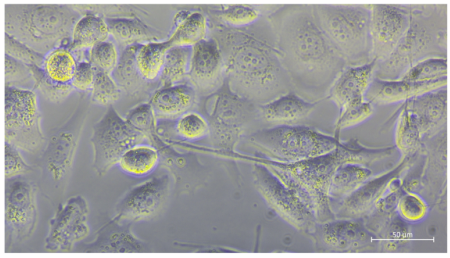
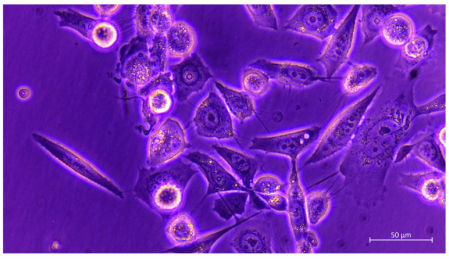
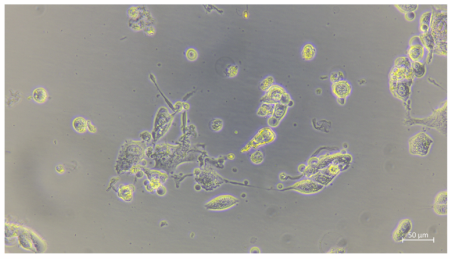
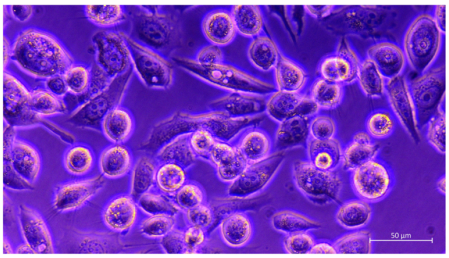
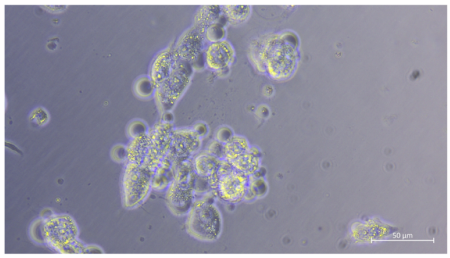
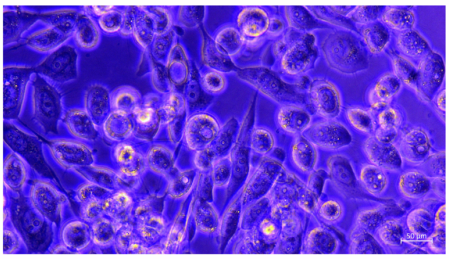
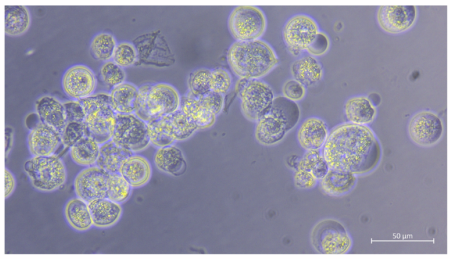
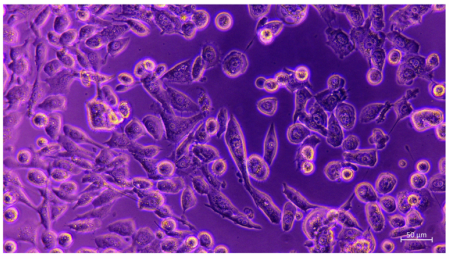
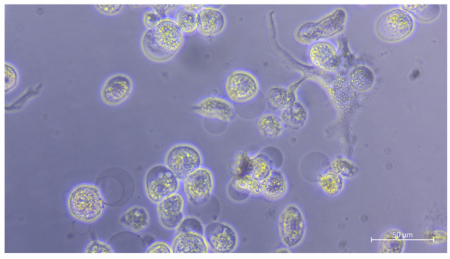
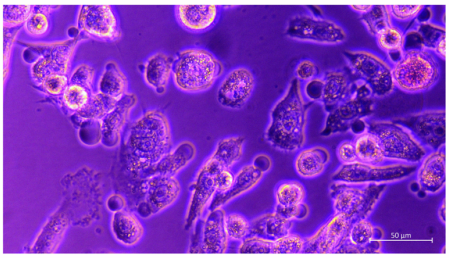
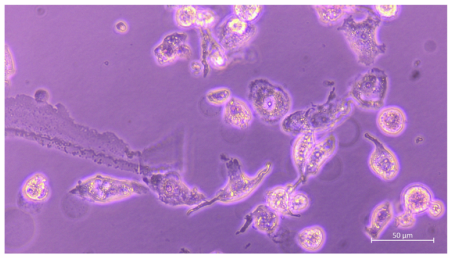
Hay que considerar que las curvas revelan algunos comportamientos irregulares que se ven en forma de mesetas o aumento de la viabilidad celular. Esto generalmente se le atribuye a factores experimentales como la capacidad de la cefalexina para desacoplarse del fármaco, técnicas como la metodología de pipeteo o incluso a fenómenos biológicos no esperados como el de hormesis. Este último se define como la respuesta adaptativa de las células a un estrés moderado, donde empiezan a metabolizar el agente anticancerígeno como aditivo para su proliferación (Bondy, 2023). A pesar de ello, los beneficios de la encapsulación son evidentes al demostrar un efecto anticancerígeno superior al fármaco disuelto. Las curvas a 24 h vs 48 h reflejan la cinética de liberación en donde el efecto citotóxico aumenta con el tiempo de incubación, como es habitual en formulaciones de liberación lenta.

3.1.3.2 Evaluación de la morfología de las células PC-3 de cáncer de próstata post-tratamientos

Como parte de la evaluación de la actividad antitumoral de la cefalexina y las nanopartículas NP-2 se analizó la morfología de las células después de los tratamientos aplicados. La **Tabla 6** y **7** evidencian las microscopías tomadas de las células tratadas con cefalexina y con nanopartículas de quitosano respectivamente. En las células PC-3 control se observa la morfología típica de las células, que son alargadas, adheridas contra la placa y con su membrana intacta. Con bajas concentraciones de cefalexina (**Tabla 6**) de 0,5 a 1 mg/mL de dosis, las células comienzan a mostrar signos iniciales de estrés: adelgazamiento de sus prolongaciones y aparición de protuberancias en la membrana, indicativos de apoptosis temprana (G. Yan et al., 2020). Cuando se aumentó la dosis de cefalexina de 2 a 8 mg/mL, estos cambios morfológicos se hacen más notorios: las células reducen notablemente su tamaño, se vuelven redondas como señas de estrés, se desprenden de la placa y muchas forman vesículas. Todo ello deriva en la reducción de la viabilidad celular observada en los gráficos presentados anteriormente. A dosis altas de 8 mg/mL se distingue una característica notable en la mayoría de las células, que es la necrosis. Esto se representa por células hinchadas con pérdida de integridad de membrana y lisis celular completa sobre todo después de una larga exposición al fármaco a las 48 horas (Y. Xia et al., 2024). Estos fenómenos coinciden con investigaciones de las cefalosporinas y su capacidad para inducir especies reactivas de oxígeno y activar vías de muerte celular programada, así como estudios que han usado nano-quitina cargada con cefalexina para potenciar la inducción de P53 y apoptosis en células cancerosas (Ali & Jawad, 2024; Liu et al., 2025).

Tabla 6

Microscopías de las células tratadas con cefalexina (CFX)

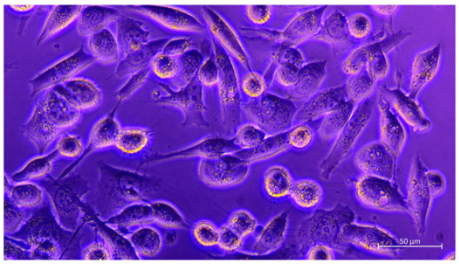
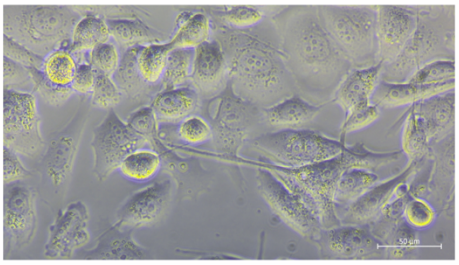
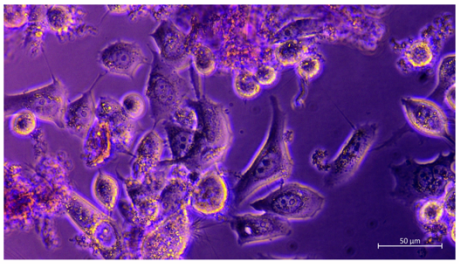
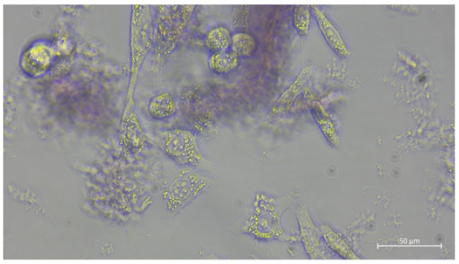
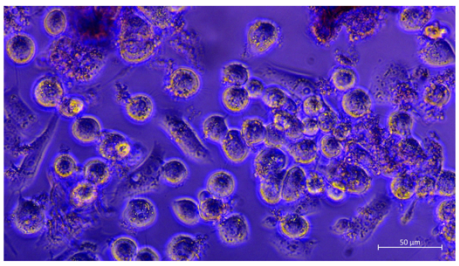
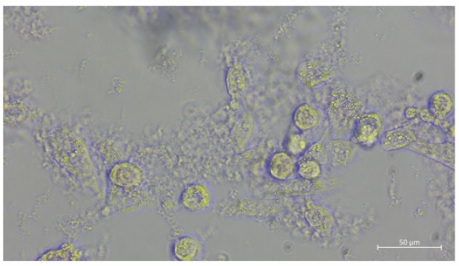
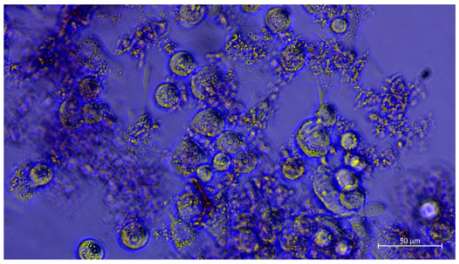
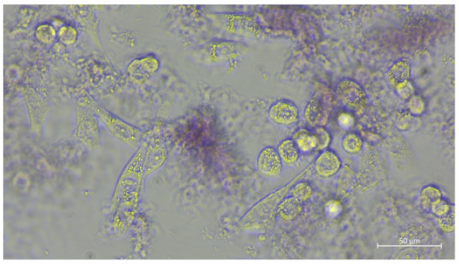
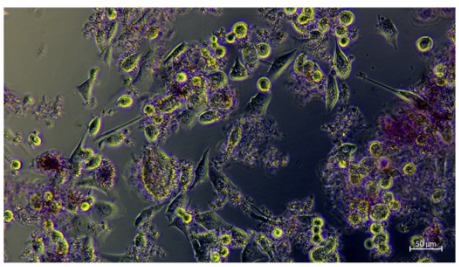
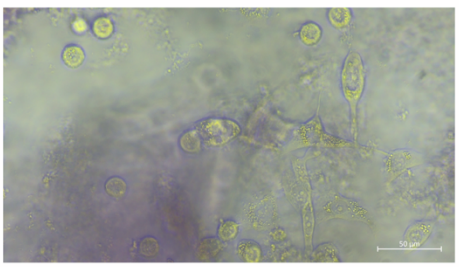
Tratamientos	24 horas	48 horas
Control		
0,5 mg/mL de CFX		
1 mg/mL de CFX		
2 mg/mL de CFX		
4 mg/mL de CFX		
8 mg/mL de CFX		

En la **Tabla 7** se detallan las micrografías de los tratamientos de células de cáncer de próstata con nanopartículas de quitosano, que actúan como portadoras para mejorar la entrega de la cefalexina al interior celular. Las imágenes exhiben usa severa alteración morfológica de las células, entre lo que destaca: gran agrupamiento de células reducidas en tamaño, múltiples protuberancias y vesículas en la membrana, y abundantes cuerpos celulares muertos. En las fotos se puede observar que muchas de las células han perdido su capacidad de adherirse a la microplaca, sus núcleos comienzan a condensarse e incluso algunas presentan fragmentaciones. Este daño más significativo en las células se atribuye tanto a la cefalexina como al quitosano, puesto que según la bibliografía, este polímero suele potenciar la generación de ROS intracelular, activar cascadas apoptóticas al aumentar la señalización del gen P53 y Bax/BDL2 que conduce a la muerte y desintegración celular (Abdulnabi et al., 2024; Larypoor et al., 2025).

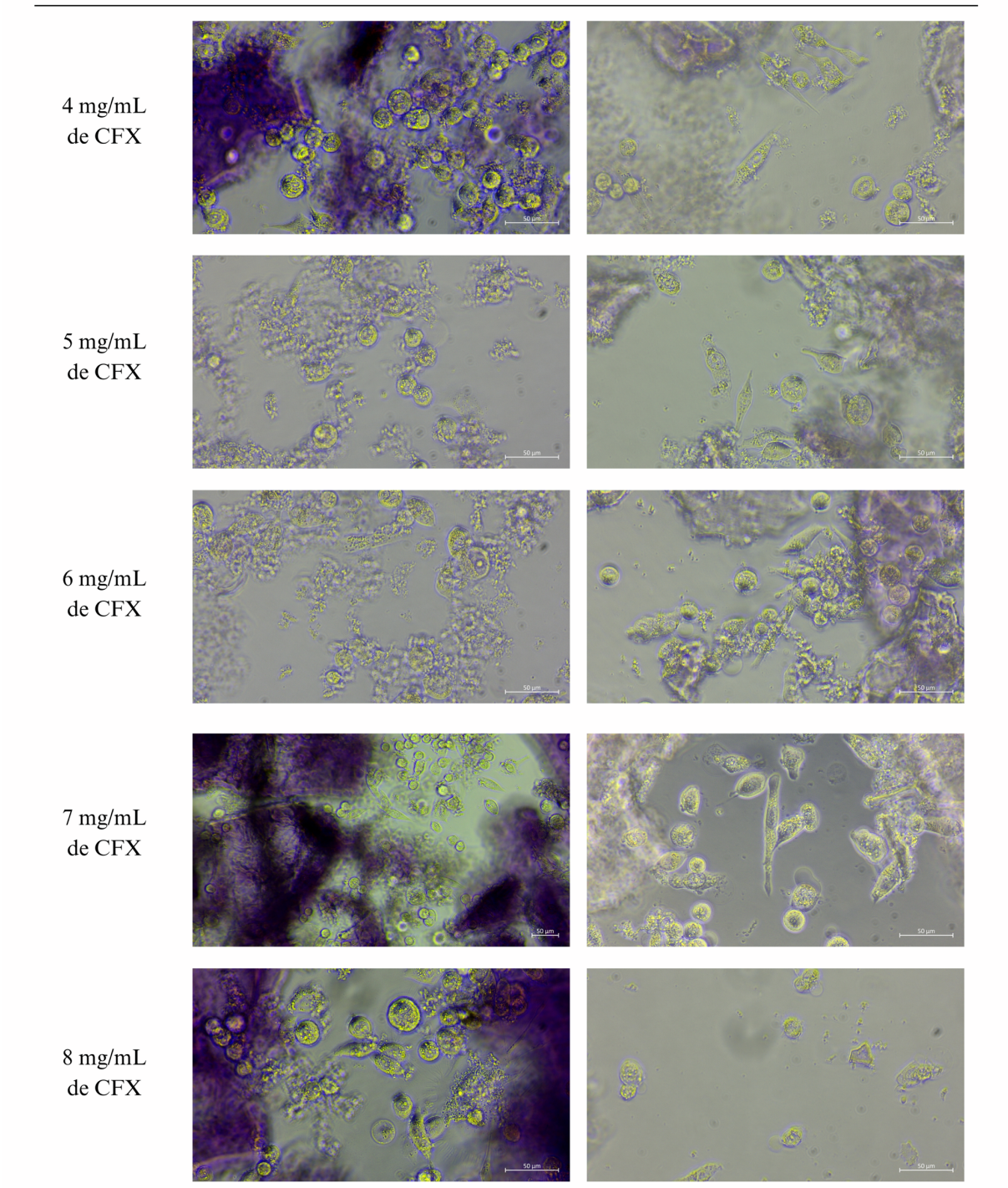
Estos factores justifican la reducción de la densidad celular y formación de múltiples cuerpos celulares muertos. En las imágenes correspondientes a los últimos tratamientos de nanopartículas se observan cambios morfológicos interesantes, diferentes de los ya mencionados como la presencia de citoplasmas con vacuolización y, sobre todo, signos claros de necrosis que son las células hinchadas con pérdida de la membrana y restos celulares lisados hacia el medio. Este efecto se observó principalmente en las microscopías de los tratamientos aplicados con cefalexina libre a dosis altas de 4 y 8 mg/mL. Por lo que, este patrón morfológico repetido sugiere que la actividad citotóxica observada en las NP es atribuible a la cefalexina. Estudios experimentales y revisiones recientes muestran de forma consistente que los sistemas de nanoquitosano aumentan la internalización y la citotoxicidad de fármacos encapsulados y produce efectos citotóxicos superiores a los del polímero vacío o del fármaco libre en algunos contextos debido a una liberación sostenida o a mayor entrega intracelular (Pandya et al., 2020; Sultan et al., 2022). De esta manera, se puede corroborar la eficiencia del diseño y desarrollo de las nanopartículas NP-2, y asegurar que contienen fármaco activo dentro de su nanoestructura.

Tabla 7

Microscopías de las células tratadas con nanopartículas (NP-2) cargadas de cefalexina (CFX)

Tratamientos	24 horas	48 horas
Control		
0,5 mg/mL de CFX		
1 mg/mL de CFX		
2 mg/mL de CFX		
3 mg/mL de CFX		

Continuación



Nota. Las concentraciones representadas son de cefalexina (CFX) equilavente en cantidades (masa) de nanopartículas NP-2 de acuerdo con su porcentaje de carga del fármaco en la nanoestructura.

CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

Se elaboró nanopartículas de quitosano mediante gelación iónica con TPP, obteniendo un sistema nanoestructurado estable en la segunda formulación NP-2 que permitió incorporar exitosamente la cefalexina sin afectar sus propiedades, cumpliendo con los requisitos para su posterior caracterización y uso biológico.

Los análisis de FT-IR demostraron interacciones químicas entre el quitosano y la cefalexina, confirmando la encapsulación del fármaco a través de cambios en bandas funcionales características y evidenciando una unión eficiente dentro de la matriz polimérica. Además, el ensayo microbiológico demostró la integridad del fármaco dentro de las nanopartículas como prueba esencial para la evaluación posterior en línea celular.

Las nanopartículas presentaron una morfología homogénea con tamaños de 100 a 300 nm, adecuados para aplicaciones biomédicas, junto con eficiencias de encapsulación del 65,94% y contenido de carga favorable del 81,13%, demostrando que el sistema nanoformulado 2 es apto para proteger al fármaco y mejorar su estabilidad frente al entorno biológico.

Los ensayos de viabilidad demostraron que tanto la cefalexina libre como las nanopartículas cargadas ejercen un efecto antiproliferativo dependiente de la concentración y del tiempo de exposición, siendo las nanopartículas el tratamiento más efectivo en comparación con la cefalexina libre capaz de inducir una disminución significativa de la viabilidad celular después de 48 horas.

Las nanopartículas de quitosano con cefalexina mostraron un efecto citotóxico superior al del fármaco libre, evidenciado por daño morfológico marcado, signos de necrosis en las dosis más altas, lo que confirma una liberación activa del fármaco y una mejora del efecto anticancerígeno por acción del nanotransportador.

4.2 Recomendaciones

Optimizar el proceso de síntesis de las nanopartículas para obtener una distribución de tamaño aún más uniforme, lo que permitiría mejorar la estabilidad del sistema y su comportamiento en aplicaciones biológicas futuras.

Incorporar técnicas adicionales de caracterización, como análisis de liberación cinética del fármaco y mediciones de potencial Z, para comprender de manera más completa el desempeño del nanotransportador y su interacción con el entorno celular.

Realizar más ensayos complementarios a las pruebas biológicas para obtener una comprensión más detallada de los mecanismos mediante los cuales la cefalexina nanoencapsulada ejerce su efecto antiproliferativo.

Realizar estudios comparativos en otras líneas celulares de cáncer tumorales, con el fin de determinar si el efecto antiproliferativo observado en las células PC-3 se reproduce en otros contextos biológicos y evaluar el potencial terapéutico de las nanopartículas de quitosano cargadas con cefalexina.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbas, A. H., & Al-Baiati, M. N. (2023). Using of Nano-poly Chitosan Cephalexin Drug to Inhibit Spread Cancer Cells. *International Journal of Drug Delivery Technology*, *13*(1), 29–32. https://doi.org/10.25258/IJDDT.13.1.05

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

Abdullah, K. M., Sharma, G., Singh, A. P., & Siddiqui, J. A. (2025). Nanomedicine in Cancer Therapeutics: Current Perspectives from Bench to Bedside. *Molecular Cancer 2025 24:1*, *24*(1), 169-. https://doi.org/10.1186/S12943-025-02368-W

Abdulnabi, O. W., Alsalame, H. A. A. A., & AL-Baiati, M. N. (2024). Studying of Using Chitosan-Cephalexin Nano composed to Induce ROS and Apoptosis in Colon Cancer Cell Line HCT-29. *Moroccan Journal of Chemistry*, *12*(3), 1270–1280. https://doi.org/10.48317/IMIST.PRSM/MORJCHEM-V12I3.48702

Ahmad, N., Khan, M. R., Palanisamy, S., & Mohandoss, S. (2023). Anticancer Drug-Loaded Chitosan Nanoparticles for In Vitro Release, Promoting Antibacterial and Anticancer Activities. *Polymers 2023, Vol. 15, Page 3925*, *15*(19), 3925. https://doi.org/10.3390/POLYM15193925

Ahmed, M. E. S., Mohamed, M. I., Ahmed, H. Y., Elaasser, M. M., & Kandile, N. G. (2024). Fabrication and characterization of unique sustain modified chitosan nanoparticles for biomedical applications. *Scientific Reports 2024 14:1*, *14*(1), 13869-. https://doi.org/10.1038/s41598-024-64017-4

Akdaşçi, E., Duman, H., Eker, F., Bechelany, M., & Karav, S. (2025). Chitosan and Its Nanoparticles: A Multifaceted Approach to Antibacterial Applications. *Nanomaterials 2025, Vol. 15, Page 126*, *15*(2), 126. https://doi.org/10.3390/NANO15020126

Al Khzem, A. H., Gomaa, M. S., Alturki, M. S., Tawfeeq, N., Sarafroz, M., Alonaizi, S. M., Al Faran, A., Alrumaihi, L. A., Alansari, F. A., & Alghamdi, A. A. (2024). Drug Repurposing for Cancer Treatment: A Comprehensive Review. *International Journal of Molecular Sciences 2024, Vol. 25, Page 12441*, *25*(22), 12441. https://doi.org/10.3390/IJMS252212441

Ali, Z. A., & Jawad, Z. N. (2024). Anti-Cancer Effect of Cephalexin Loaded on Nano chitosan Against Humane Liver Cancer. *Journal of Pioneering Medical Sciences*, *13*(2), 15–17. https://doi.org/10.61091/JPMS202413203

Almukainzi, M., El-Masry, T. A., El Zahaby, E. I., & El-Nagar, M. M. F. (2024). Chitosan/Hesperidin Nanoparticles for Sufficient, Compatible, Antioxidant, and Antitumor Drug Delivery Systems. *Pharmaceuticals 2024, Vol. 17, Page 999*, *17*(8), 999. https://doi.org/10.3390/PH17080999

Amini, M. S., Baseri Salehi, M., & Bahador, N. (2024). Evaluating the antibacterial effect of meropenem-loaded chitosan/sodium tripolyphosphate (TPP) nanoparticles on Acinetobacter baumannii isolated from hospitalized patients. *BMC infectious diseases*, *24*(1). https://doi.org/10.1186/S12879-024-09522-7

Anju, A. B., Gopal, K. S., Panchami, P. S., & Vijayaraghavan, R. (2025). A simple and user-friendly protocol for chitosan nanoparticle synthesis. *Discover nano*, *20*(1). https://doi.org/10.1186/S11671-025-04391-8

Balde, A., Hasan, A., Joshi, I., & Nazeer, R. A. (2020). Preparation and optimization of chitosan nanoparticles from discarded squilla (Carinosquilla multicarinata) shells for the delivery of anti-inflammatory drug: Diclofenac. *Journal of the Air and Waste Management Association*, *70*(12), 1227–1235. https://doi.org/10.1080/10962247.2020.1727588

Bangun, H., Tandiono, S., & Arianto, A. (2018). Preparation and evaluation of chitosan-tripolyphosphate nanoparticles suspension as an antibacterial agent. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *8,*(12), 147–156. https://doi.org/10.7324/JAPS.2018.81217

Bano, N., Parveen, S., Saeed, M., Siddiqui, S., Abohassan, M., & Mir, S. S. (2024). Drug Repurposing of Selected Antibiotics: An Emerging Approach in Cancer Drug Discovery. *ACS Omega*, *9*(25), 26762–26779. https://doi.org/10.1021/ACSOMEGA.4C00617/ASSET/IMAGES/LARGE/AO4C00617_0005.JPEG

Belkahla, S., Nahvi, I., Biswas, S., Nahvi, I., & Ben Amor, N. (2022). Advances and development of prostate cancer, treatment, and strategies: A systemic review. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *10*, 991330. https://doi.org/10.3389/FCELL.2022.991330

Berenguer, C. V. ;, Pereira, F. ;, Câmara, J. S. ;, Pereira, J. A. M., Berenguer, C. V, Pereira, F., Câmara, J. S., & Pereira, J. A. M. (2023). Underlying Features of Prostate Cancer—Statistics, Risk Factors, and Emerging Methods for Its Diagnosis. *Current Oncology*, *30*(2), 2300–2321. https://doi.org/10.3390/CURRONCOL30020178

Bidooki, S. H., Spitzer, L., Petitpas, A., Sánchez-Marco, J., Martínez-Beamonte, R., Lasheras, R., Pellerin, V., Rodríguez-Yoldi, M. J., Navarro, M. A., Osada, J., & Fernandes, S. C. M. (2024). Chitosan Nanoparticles, a Novel Drug Delivery System to Transfer Squalene for Hepatocyte Stress Protection. *ACS omega*, *9*(52), 51379–51393. https://doi.org/10.1021/ACSOMEGA.4C08258

Bondy, S. C. (2023). The Hormesis Concept: Strengths and Shortcomings. *Biomolecules*, *13*(10). https://doi.org/10.3390/BIOM13101512

Büyük, N. İ., Pelit, P., Derman, S., Mustafaeva, Z., & Yücel, S. (2020). An Optimization Study for Chitosan Nanoparticles: Synthesis and Characterization. *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, *16*(2), 119–127. https://doi.org/10.18466/CBAYARFBE.658921

Calvo, P., Remuñán-López, C., Vila-Jato, J. L., & Alonso, M. J. (1997). Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. *Journal of Applied Polymer Science*, *63*(1),

125–132. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4628(19970103)63:1<125::AID-APP13>3.0.CO;2-4

Des Bouillons-Gamboa, R. E., Montes de Oca, G., Baudrit, J. R. V., Ríos Duarte, L. C., Lopretti, M., Rentería Urquiza, M., Zúñiga-Umaña, J. M., Barreiro, F., & Vázquez, P. (2024). Synthesis of chitosan nanoparticles (CSNP): effect of CH-CH-TPP ratio on size and stability of NPs. *Frontiers in Chemistry*, *12*, 1469271. https://doi.org/10.3389/FCHEM.2024.1469271/BIBTEX

Di Carlo, E., & Sorrentino, C. (2024). The multifaceted role of the stroma in the healthy prostate and prostate cancer. En *Journal of Translational Medicine* (Vol. 22, Número 1). BioMed Central Ltd. https://doi.org/10.1186/s12967-024-05564-2

Ding, J., & Guo, Y. (2022). Recent Advances in Chitosan and its Derivatives in Cancer Treatment. *Frontiers in Pharmacology*, *13*, 888740. https://doi.org/10.3389/FPHAR.2022.888740/XML

Drabczyk, A., Kudłacik-Kramarczyk, S., Głab, M., Kedzierska, M., Jaromin, A., Mierzwiński, D., & Tyliszczak, B. (2020). Physicochemical investigations of chitosan-based hydrogels containing Aloe vera designed for biomedical use. *Materials*, *13*(14). https://doi.org/10.3390/MA13143073

Dutta, P., Kumari, A., Mahanta, M., Dutta, P., Kumari, A., & Mahanta, M. (2022). *Chitosan Nanoparticle: Synthesis, Characterization, and Use as Plant Health Materials*. https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.106502

Elassal, M., & El-Manofy, N. (2019). CHITOSAN NANOPARTICLES AS DRUG DELIVERY SYSTEM FOR CEPHALEXIN AND ITS ANTIMICROBIAL ACTIVITY AGAINST MULTIIDRUG RESISTENT BACTERIA. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 14–27. https://doi.org/10.22159/IJPPS.2019V11I7.33375

El-Saadony, M. T., Saad, A. M., Sitohy, M., Alkafaas, S. S., Dladla, M., Ghosh, S., Mohammed, D. M., Soliman, T. N., Ibrahim, E. H., Fahmy, M. A., Abu Qamar, J. S., & El- Tarabily, K. A. (2025). Chitosan nanoparticles: Green synthesis, biological activities, and sustainable frontiers in targeted drug delivery and cancer nanomedicine – A comprehensive review. *Materials Today Bio*, *35*, 102358. https://doi.org/10.1016/J.MTBIO.2025.102358

Fan, D., Cao, Y., Cao, M., Wang, Y., Cao, Y., & Gong, T. (2023). Nanomedicine in cancer therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy 2023 8:1*, *8*(1), 293-. https://doi.org/10.1038/s41392-023-01536-y

Fenor de la Maza, M. D., Pérez Gracia, J. L., Miñana, B., & Castro, E. (2024). PARP inhibitors alone or in combination for prostate cancer. *Therapeutic Advances in Urology*, *16*, 17562872241272928. https://doi.org/10.1177/17562872241272929

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

Ganesan, S., Alagarasan, J. K., Sonaimuthu, M., Aruchamy, K., Alkallas, F. H., Ben Gouider Trabelsi, A., Kusmartsev, F. V., Polisetti, V., Lee, M., & Lo, H. M. (2022). Preparation and Characterization

of Salsalate-Loaded Chitosan Nanoparticles: In Vitro Release and Antibacterial and Antibiofilm Activity. *Marine drugs*, *20*(12). https://doi.org/10.3390/MD20120733

Gao, Y., Shang, Q., Li, W., Guo, W., Stojadinovic, A., Mannion, C., Man, Y. G., & Chen, T. (2020). Antibiotics for cancer treatment: A double-edged sword. *Journal of Cancer*, *11*(17), 5135. https://doi.org/10.7150/JCA.47470

Guarnieri, A., Triunfo, M., Scieuzo, C., Ianniciello, D., Tafi, E., Hahn, T., Zibek, S., Salvia, R., De Bonis, A., & Falabella, P. (2022). Antimicrobial properties of chitosan from different developmental stages of the bioconverter insect Hermetia illucens. *Scientific Reports 2022 12:1*, *12*(1), 8084-. https://doi.org/10.1038/s41598-022-12150-3

Gutiérrez-Ruíz, S. C., Cortes, H., González-Torres, M., Almarhoon, Z. M., Gürer, E. S., Sharifi-Rad, J., & Leyva-Gómez, G. (2024). Optimize the parameters for the synthesis by the ionic gelation technique, purification, and freeze-drying of chitosan-sodium tripolyphosphate nanoparticles for biomedical purposes. *Journal of Biological Engineering*, *18*(1), 1–16. https://doi.org/10.1186/S13036-024-00403-W/FIGURES/7

Hall, R., Bancroft, E., Pashayan, N., Kote-Jarai, Z., & Eeles, R. A. (2024). Genetics of prostate cancer: a review of latest evidence. *Journal of Medical Genetics*, *61*(10), 915–926. https://doi.org/10.1136/JMG-2024-109845

Hamrayev, H., & Kamyar, S. (2023). Synthesis and Characterization of Ionically Cross-Linked Chitosan Nanoparticles. *Journal of Research in Nanoscience and Nanotechnology*, *7*(1), 7–13. https://doi.org/10.37934/JRNN.7.1.713

Haynes, A. S., Prinzi, A., Silveira, L. J., Parker, S. K., Lampe, J. N., Kavanaugh, J. S., Horswill, A. R., & Fish, D. (2022). Cefadroxil Comparable to Cephalexin: Minimum Inhibitory Concentrations among Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus Isolates from Pediatric Musculoskeletal Infections. *Microbiology Spectrum*, *10*(4), e01039-22. https://doi.org/10.1128/SPECTRUM.01039-22

Herman, T. F., & Hashmi, M. F. (2023, agosto 17). *Cephalexin*. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL); StatPearls Publishing. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549780/

Hoang, N. H., Thanh, T. Le, Sangpueak, R., Treekoon, J., Saengchan, C., Thepbandit, W., Papathoti, N. K., Kamkaew, A., & Buensanteai, N. (2022). Chitosan Nanoparticles-Based Ionic Gelation Method: A Promising Candidate for Plant Disease Management. *Polymers*, *14*(4), 662. https://doi.org/10.3390/POLYM14040662

Huang, C. Y., Huang, C. P., Huang, Y. Y., Huang, S. K. H., Lu, K., Huang, W. J. S., Meng, E., Huang, S. P., Lee, M. Y., Chen, F., & Pang, S. T. (2024). Real-world safety and effectiveness of radium-223 in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer: Interim analyses of the prospective, observational RAPIT study. *International Journal of Cancer*, *155*(7), 1268–1277. https://doi.org/10.1002/IJC.35040

Jafernik, K., Ładniak, A., Blicharska, E., Czarnek, K., Ekiert, H., Wiącek, A. E., & Szopa, A. (2023). Chitosan-Based Nanoparticles as Effective Drug Delivery Systems—A review. *Molecules 2023, Vol. 28, Page 1963*, *28*(4), 1963. https://doi.org/10.3390/MOLECULES28041963

Jha, R., & Mayanovic, R. A. (2023). A Review of the Preparation, Characterization, and Applications of Chitosan Nanoparticles in Nanomedicine. *Nanomaterials 2023, Vol. 13, Page 1302*, *13*(8), 1302. https://doi.org/10.3390/NANO13081302

Jiang, T., Wang, Y., Yu, Z., & Du, L. (2024). Synthesis, characterization of chitosan/tripolyphosphate nanoparticles loaded with 4-chloro-2-methylphenoxyacetate sodium salt and its herbicidal activity against Bidens pilosa L. *Scientific Reports 2024 14:1*, *14*(1), 1–12. https://doi.org/10.1038/s41598-024-69438-9

Jiang, Y., Wang, C., Zu, C., Rong, X., Yu, Q., & Jiang, J. (2024). Synergistic Potential of Nanomedicine in Prostate Cancer Immunotherapy: Breakthroughs and Prospects. *International Journal of Nanomedicine*, *19*, 9459–9486. https://doi.org/10.2147/IJN.S466396

Jourdan, J. P., Bureau, R., Rochais, C., & Dallemagne, P. (2020). Drug repositioning: a brief overview. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *72*(9), 1145. https://doi.org/10.1111/JPHP.13273

Kanan, M., Atif, S., Mohammed, F., Balahmar, Y., Adawi, Y., AlSaleem, R., Farhan, A., Alghoribi, M., Mohammed, S., Alshanbari, R., Fahad, M., Kallab, R., Mohammed, R., Alassaf, D., & Hazza, A. (2023). A Systematic Review on the Clinical Pharmacokinetics of Cephalexin in Healthy and Diseased Populations. *Antibiotics*, *12*(9), 1402. https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS12091402/S1

Karamanolis, N. N., Kounatidis, D., Vallianou, N. G., Dimitriou, K., Tsaroucha, E., Tsioulos, G., Anastasiou, I. A., Mavrothalassitis, E., Karampela, I., & Dalamaga, M. (2024). Unraveling the Anti-Cancer Mechanisms of Antibiotics: Current Insights, Controversies, and Future Perspectives. *Antibiotics 2025, Vol. 14, Page 9*, *14*(1), 9. https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS14010009

Kesharwani, P., Halwai, K., Jha, S. K., Al Mughram, M. H., Almujri, S. S., Almalki, W. H., & Sahebkar, A. (2024). Folate-engineered chitosan nanoparticles: next-generation anticancer nanocarriers. *Molecular Cancer*, *23*(1), 1–51. https://doi.org/10.1186/S12943-024-02163-Z

Knox, C., Wilson, M., Klinger, C. M., Franklin, M., Oler, E., Wilson, A., Pon, A., Cox, J., Chin, N. E. L., Strawbridge, S. A., Garcia-Patino, M., Kruger, R., Sivakumaran, A., Sanford, S., Doshi, R., Khetarpal, N., Fatokun, O., Doucet, D., Zubkowski, A., … Wishart, D. S. (2024). DrugBank 6.0: the DrugBank Knowledgebase for 2024. *Nucleic acids research*, *52*(D1), D1265–D1275. https://doi.org/10.1093/NAR/GKAD976

Labay, E., Mauceri, H. J., Efimova, E. V., Flor, A. C., Sutton, H. G., Kron, S. J., & Weichselbaum, R. R. (2016). Repurposing cephalosporin antibiotics as pro-senescent radiosensitizers. *Oncotarget*, *7*(23), 33919–33933. https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.8984

Larypoor, M., Joodi, M., Shiran, G., Dadgostar, H., Torbati, M. B., Amjad, S. S., & Ir, L. (2025). The effect of chitosan nanoparticles loaded with Ganoderma lucidum polysaccharide content on the

expression of Bax and Bcl-2 genes and induction of apoptosis in the PC3 cell line. *International Journal of Nano Dimension*. https://doi.org/10.57647/IJND-2026-1702-06

Latif, A. D., Jawad, A., Al-Isawi, M. H. H., Abbood, H. K., Al-Karagoly, H., Gharbavi, M., Latif, A. D., Jawad, A., Al-Isawi, M. H. H., Abbood, H. K., Al-Karagoly, H., Gharbavi, M., Latif, A. D., Jawad, A., Al-Isawi, M. H. H., Abbood, H. K., Al-Karagoly, H., Gharbavi, M., Latif, A. D., … Gharbavi, M. (2025). Preparation and Characterization of a Chitosan-Based Nanoformulation Containing Prangos acaulis Extract and Evaluation of Its Effect on the Viability of HT-29 and MCF-7 Cancer Cells. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products 2025 20:3*, *20*(3), e161899. https://doi.org/10.5812/JJNPP-161899

Legnoverde, M. S., Simonetti, S., & Basaldella, E. I. (2014). Influence of pH on cephalexin adsorption onto SBA-15 mesoporous silica: Theoretical and experimental study. *Applied Surface Science*, *300*, 37–42. https://doi.org/10.1016/J.APSUSC.2014.01.198

Liu, N., Cao, W., Tang, J., Dong, R., Guo, J., Luo, Z., Yao, Q., Teng, S., Liang, Z., Yang, Y., Gu, M., Zhou, J., Chen, W., Liang, H., & He, X. (2025). Repurposing cephalosporins as excellent anticancer agents and chemosensitizers for inflammation-driven cancer therapy. *Scientific Reports*, *15*(1), 41380. https://doi.org/10.1038/S41598-025-25287-8

Lopez-Flores, A. I., Velazquez-Enriquez, U., Scougall-Vilchis, R. J., Acosta-Torres, L. S., Rodriguez-Vilchis, L. E., Contreras-Bulnes, R., Serrano-Diaz, P. N., & Garcia-Contreras, R. (2025). A New Disinfection Approach Using a Chitosan-Based Endodontic Irrigant. *Materials 2025, Vol. 18, Page 5552*, *18*(24), 5552. https://doi.org/10.3390/MA18245552

Ma, Q., Gao, Y., Sun, W., Cao, J., Liang, Y., Han, S., Wang, X., & Sun, Y. (2020). Self-Assembled chitosan/phospholipid nanoparticles: from fundamentals to preparation for advanced drug delivery. *Drug Delivery*, *27*(1), 200. https://doi.org/10.1080/10717544.2020.1716878

Mallah, H., Diabasana, Z., Soultani, S., Idoux-Gillet, Y., & Massfelder, T. (2025). Prostate Cancer: A Journey Through Its History and Recent Developments. *Cancers*, *17*(2), 194. https://doi.org/10.3390/CANCERS17020194/S1

Mu, J., Li, R., Zheng, Y., Lu, Y., Ma, L., Yin, L., Zhang, M., Ma, W., Chang, M., Liu, A., Li, J., Zhu, H., & Wang, D. (2024). Human intermediate prostate cancer stem cells contribute to the initiation and development of prostate adenocarcinoma. *Stem Cell Research and Therapy* , *15*(1). https://doi.org/10.1186/s13287-024-03917-8

Nardo, G., Pantziarka, P., & Conti, M. (2024). Synergistic Potential of Antibiotics with Cancer Treatments. *Cancers 2025, Vol. 17, Page 59*, *17*(1), 59. https://doi.org/10.3390/CANCERS17010059

National Center for Biotechnology Information. (2025). *PubChem Compound Summary for CID 2666, 7-(2-Amino(phenyl)acetamido)-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo(4.2.0)oct-2-ene-2-carboxylic acid*. PubChem. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2666

Ng, S. W., Selvarajah, G. T., Hussein, M. Z., Yeap, S. K., & Omar, A. R. (2020). In Vitro Evaluation of Curcumin-Encapsulated Chitosan Nanoparticles against Feline Infectious Peritonitis Virus and Pharmacokinetics Study in Cats. *BioMed research international*, *2020*. https://doi.org/10.1155/2020/3012198

Olvera Bernal, R. A., Olekhnovich, R. O., & Uspenskaya, M. V. (2023). Chitosan/PVA Nanofibers as Potential Material for the Development of Soft Actuators. *Polymers*, *15*(9). https://doi.org/10.3390/POLYM15092037

Owczarek, M., Herczyńska, L., Sitarek, P., Kowalczyk, T., Synowiec, E., Śliwiński, T., & Krucińska, I. (2023). Chitosan Nanoparticles-Preparation, Characterization and Their Combination with Ginkgo biloba Extract in Preliminary In Vitro Studies. *Molecules*, *28*(13), 4950. https://doi.org/10.3390/MOLECULES28134950/S1

Ozturk, K., Arslan, F. B., Tavukcuoglu, E., Esendagli, G., & Calis, S. (2020). Aggregation of chitosan nanoparticles in cell culture: Reasons and resolutions. *International journal of pharmaceutics*, *578*. https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2020.119119

Panda, S. S., Ravi Kumar, B. V. V., Dash, R., & Mohanta, G. (2013). Determination of Cephalexin Monohydrate in Pharmaceutical Dosage Form by Stability-Indicating RP-UFLC and UV Spectroscopic Methods. *Scientia pharmaceutica*, *81*(4), 1029–1041. https://doi.org/10.3797/SCIPHARM.1306-07

Pandya, A. D., Øverbye, A., Sahariah, P., Gaware, V. S., Høgset, H., Masson, M., Høgset, A., Mælandsmo, G. M., Skotland, T., Sandvig, K., & Iversen, T. G. (2020). Drug-Loaded Photosensitizer-Chitosan Nanoparticles for Combinatorial Chemo- and Photodynamic-Therapy of Cancer. *Biomacromolecules*, *21*(4), 1489–1498. https://doi.org/10.1021/ACS.BIOMAC.0C00061

Pathak, N., Singh, P., Singh, P. K., Sharma, S., Singh, R. P., Gupta, A., Mishra, R., Mishra, V. K., & Tripathi, M. (2022). Biopolymeric nanoparticles based effective delivery of bioactive compounds toward the sustainable development of anticancerous therapeutics. *Frontiers in Nutrition*, *9*, 963413. https://doi.org/10.3389/FNUT.2022.963413

Pérez-Pacheco, Y., Tylkowski, B., & García-Valls, R. (2025). Chitosan Micro/Nanocapsules in Action: Linking Design, Production, and Therapeutic Application. *Molecules 2025, Vol. 30, Page 252*, *30*(2), 252. https://doi.org/10.3390/MOLECULES30020252

Pfab, C., Schnobrich, L., Eldnasoury, S., Gessner, A., & El-Najjar, N. (2021). Repurposing of antimicrobial agents for cancer therapy: What do we know? *Cancers*, *13*(13), 3193. https://doi.org/10.3390/CANCERS13133193/S1

Pitzen, S. P., & Dehm, S. M. (2023). Basal epithelial cells in prostate development, tumorigenesis, and cancer progression. *Cell Cycle*, *22*(11), 1303–1318. https://doi.org/10.1080/15384101.2023.2206502

Rebello, R. J., Oing, C., Knudsen, K. E., Loeb, S., Johnson, D. C., Reiter, R. E., Gillessen, S., Van der Kwast, T., & Bristow, R. G. (2021). Prostate cancer. *Nature Reviews Disease Primers 2021 7:1*, *7*(1), 1–27. https://doi.org/10.1038/s41572-020-00243-0

Román-Doval, R., Torres-Arellanes, S. P., Tenorio-Barajas, A. Y., Gómez-Sánchez, A., & Valencia-Lazcano, A. A. (2023). Chitosan: Properties and Its Application in Agriculture in Context of Molecular Weight. *Polymers 2023, Vol. 15, Page 2867*, *15*(13), 2867. https://doi.org/10.3390/POLYM15132867

Rusu, L., Grigoraș, C. G., Simion, A. I., Suceveanu, E. M., Șuteu, D., & Harja, M. (2021). Application of saccharomyces cerevisiae/calcium alginate composite beads for cephalexin antibiotic biosorption from aqueous solutions. *Materials*, *14*(16). https://doi.org/10.3390/MA14164728

Saranyutanon, S., Deshmukh, S. K., Dasgupta, S., Pai, S., Singh, S., & Singh, A. P. (2020). *Cellular and Molecular Progression of Prostate Cancer: Models for Basic and Preclinical Research*. *12*. https://doi.org/10.3390/cancers12092651

Sekhoacha, M., Riet, K., Motloung, P., Gumenku, L., Adegoke, A., & Mashele, S. (2022). Prostate Cancer Review: Genetics, Diagnosis, Treatment Options, and Alternative Approaches. *Molecules 2022, Vol. 27, Page 5730*, *27*(17), 5730. https://doi.org/10.3390/MOLECULES27175730

Sell, M., Lopes, A. R., Escudeiro, M., Esteves, B., Monteiro, A. R., Trindade, T., & Cruz-Lopes, L. (2023). Application of Nanoparticles in Cancer Treatment: A Concise Review. *Nanomaterials*, *13*(21), 2887. https://doi.org/10.3390/NANO13212887

Sethi, A., Ahmad, M., Huma, T., Khalid, I., & Ahmad, I. (2021). Evaluation of Low Molecular Weight Cross Linked Chitosan Nanoparticles, to Enhance the Bioavailability of 5-Flourouracil. *Dose-Response*, *19*(2), 15593258211025352. https://doi.org/10.1177/15593258211025353

Silva, N. C. da, Assis, O. B. G., Sartori, A. G. de O., Alencar, S. M. de, & Martelli-Tosi, M. (2022). Chitosan suspension as extractor and encapsulating agent of phenolics from acerola by-product. *Food Research International*, *161*, 111855. https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2022.111855

Silva, N. C., Chevigny, C., Domenek, S., Almeida, G., Assis, O. B. G., & Martelli-Tosi, M. (2025). Nanoencapsulation of active compounds in chitosan by ionic gelation: Physicochemical, active properties and application in packaging. *Food Chemistry*, *463*, 141129. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2024.141129

Simbaña-Rivera, K., Torres-Roman, J. S., Challapa-Mamani, M. R., Guerrero, J., De la Cruz-Ku, G., Ybaseta-Medina, J., & Martinez-Herrera, J. F. (2023). Regional disparities of prostate cancer mortality in Ecuador: an examination of trends and correlates from 2004 to 2019. *BMC Public Health*, *23*(1). https://doi.org/10.1186/s12889-023-15941-z

Stefanache, A., Lungu, I. I., Anton, N., Damir, D., Gutu, C., Olaru, I., Plesea Condratovici, A., Duceac, M., Constantin, M., Calin, G., Duceac, L. D., & Boev, M. (2025). Chitosan Nanoparticle-Based Drug Delivery Systems: Advances, Challenges, and Future Perspectives. *Polymers 2025, Vol. 17, Page 1453*, *17*(11), 1453. https://doi.org/10.3390/POLYM17111453

Sultan, M. H., Moni, S. S., Madkhali, O. A., Bakkari, M. A., Alshahrani, S., Alqahtani, S. S., Alhakamy, N. A., Mohan, S., Ghazwani, M., Bukhary, H. A., Almoshari, Y., Salawi, A., & Alshamrani, M. (2022). Characterization of cisplatin-loaded chitosan nanoparticles and rituximab-linked surfaces as target-specific injectable nano-formulations for combating cancer. *Scientific reports*, *12*(1). https://doi.org/10.1038/S41598-021-04427-W

Sunarni, T., Kuncahyo, I., & Herowati, R. (2024). Optimization of nanoparticles ionic gelation method with crosslink agent on fraction of Stelechocarpus burahol leaves. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*, *15*(4), 270–275. https://doi.org/10.4103/JAPTR.JAPTR_503_23

Tarighi, P., Mousavi Esfahani, S. M., Emamjomeh, A., Mirjalili, S. Z., & Mirzabeigi, P. (2025). Optimizing Cancer Treatment: A Comprehensive Review of Active and Passive Drug Delivery Strategies. *Iranian biomedical journal*, *29*(4), 173–188. https://doi.org/10.61186/ibj.4960

Tawfik, A., & Farid, A. (2025). Chitosan-encapsulated Aloe vera nanoparticles outperform carrier-free forms in enhancing MSCs therapy for amikacin nephrotoxicity. *Scientific Reports 2025 15:1*, *15*(1), 34292-. https://doi.org/10.1038/s41598-025-20918-6

Vanti, G., Poondla, N., Manogaran, P., Teradal, N., S, V., Kaulgud, R., & Kurjogi, M. (2024). Synthesis and Characterization of Multifunctional Chitosan–Silver Nanoparticles: An In-Vitro Approach for Biomedical Applications. *Pharmaceuticals 2024, Vol. 17, Page 1229*, *17*(9), 1229. https://doi.org/10.3390/PH17091229

Varaprasad, G. L., Gupta, V. K., Prasad, K., Kim, E., Tej, M. B., Mohanty, P., Verma, H. K., Raju, G. S. R., Bhaskar, L., & Huh, Y. S. (2023). Recent advances and future perspectives in the therapeutics of prostate cancer. *Experimental Hematology and Oncology*, *12*(80), 1–24. https://doi.org/10.1186/S40164-023-00444-9/TABLES/3

Vijay, J., Sahadevan, J., Prabhakaran, R., & Gilhotra, R. (2012). Formulation and evaluation of cephalexin extended-release matrix tablets using hydroxy propyl methyl cellulose as rate-controlling polymer. *Journal of Young Pharmacists*, *4*(1), 3–12. https://doi.org/10.4103/0975-1483.93570

Villarta, J. D. A., Paylago, J. C., Poldo, C. H., Santos, S. R., Escordial, M. M., & Montealegre, C. M. (2025). Green Synthesis, Characterization, and Optimization of Chitosan Nanoparticles Using Blumea balsamifera Extract. *Processes 2025, Vol. 13, Page 804*, *13*(3), 804. https://doi.org/10.3390/PR13030804

Wang, J., Zhang, X., Xing, J., Gao, L., & Lu, H. (2024). Nanomedicines in diagnosis and treatment of prostate cancers: an updated review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *12*, 1444201. https://doi.org/10.3389/FBIOE.2024.1444201/XML

Wasim, S., Lee, S. Y., & Kim, J. (2022). Complexities of Prostate Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(22), 14257. https://doi.org/10.3390/IJMS232214257

Weng, J., Durand, A., & Desobry, S. (2023). Chitosan-Based Particulate Carriers: Structure, Production and Corresponding Controlled Release. *Pharmaceutics 2023, Vol. 15, Page 1455*, *15*(5), 1455. https://doi.org/10.3390/PHARMACEUTICS15051455

Wilson, T. K., & Zishiri, O. T. (2024). Prostate Cancer: A Review of Genetics, Current Biomarkers and Personalised Treatments. *Cancer Reports*, *7*(10), e70016. https://doi.org/10.1002/CNR2.70016

Wu, X., Xin, Y., Zhang, H., Quan, L., & Ao, Q. (2024). Biopolymer-Based Nanomedicine for Cancer Therapy: Opportunities and Challenges. *International Journal of Nanomedicine*, *19*, 7415. https://doi.org/10.2147/IJN.S460047

Xia, X. F., Wang, Y. Q., Shao, S. Y., Zhao, X. Y., Zhang, S. G., Li, Z. Y., Yuan, Y. C., & Zhang, N. (2022). The relationship between urologic cancer outcomes and national Human Development Index: trend in recent years. *BMC Urology*, *22*(1), 1–13. https://doi.org/10.1186/S12894-022-00953-5/TABLES/2

Xia, Y., Sun, M., Huang, H., & Jin, W. L. (2024). Drug repurposing for cancer therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy 2024 9:1*, *9*(1), 92-. https://doi.org/10.1038/s41392-024-01808-1

Xiao, J., Zhang, M., & Wu, D. (2024). Side effects of prostate cancer therapies and potential management. *Journal of Biological Methods*, *11*(3), e99010018. https://doi.org/10.14440/JBM.2024.0019

Yan, G., Elbadawi, M., & Efferth, T. (2020). Multiple cell death modalities and their key features (Review). *World Academy of Sciences Journal*, *2*(2), 39–48. https://doi.org/10.3892/WASJ.2020.40/HTML

Yan, S., Na, J., Liu, X., & Wu, P. (2024). Different Targeting Ligands-Mediated Drug Delivery Systems for Tumor Therapy. *Pharmaceutics*, *16*(2), 248. https://doi.org/10.3390/PHARMACEUTICS16020248

Yang, B., Dong, J., Bian, H., Lu, H., Bin, D., Tang, S., Song, Y., & Lu, H. (2022). Expired Cefalexin Loaded into Mesoporous Nanosilica for Self-Healing Epoxy Coating on 304 Stainless Steel. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*, *12*(14). https://doi.org/10.3390/NANO12142406

Zafar, R., Safdar, I., Munir, A., Zahid, M. R., Serfraz, S., Zafar, R., Safdar, I., Munir, A., Zahid, M. R., & Serfraz, S. (2025). *Advantages, Challenges, and Impact of Drug Repurposing for Cancer Treatment*. https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.1008768

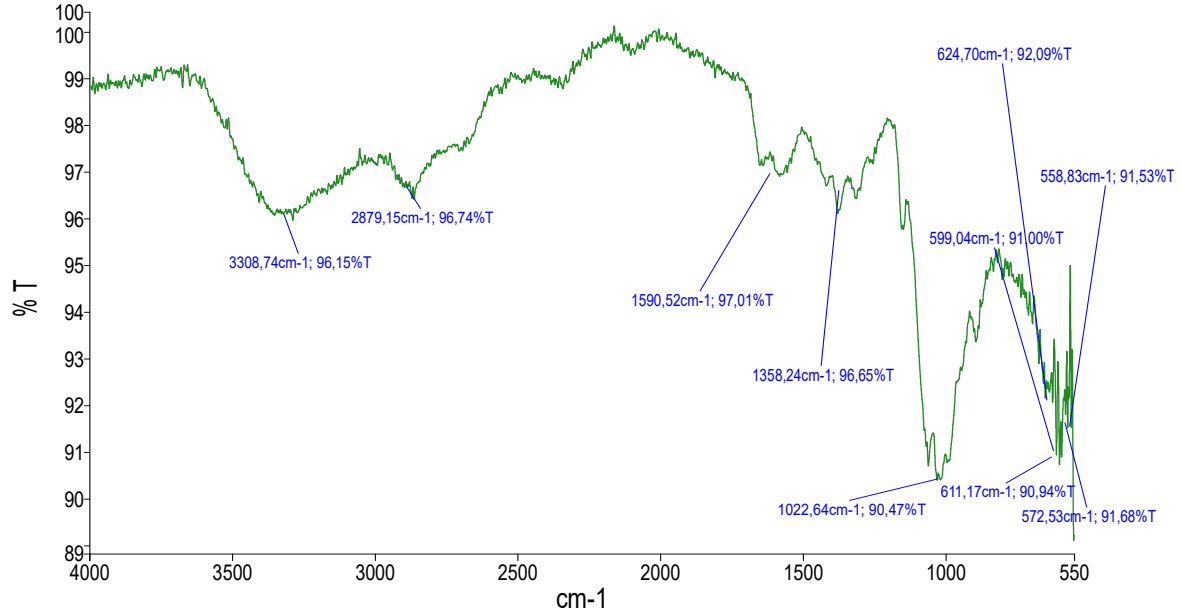
Zaman, M., Butt, M. H., Siddique, W., Iqbal, M. O., Nisar, N., Mumtaz, A., Nazeer, H. Y., Alshammari, A., & Riaz, M. S. (2022). Fabrication of PEGylated Chitosan Nanoparticles Containing Tenofovir Alafenamide: Synthesis and Characterization. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *27*(23). https://doi.org/10.3390/MOLECULES27238401

Zhang, S., Ji, Y., He, Y., Dong, J., Li, H., & Yu, S. (2024). Effect of Environmental pH on the Mechanics of Chitin and Chitosan: A Single-Molecule Study. *Polymers*, *16*(7), 995. https://doi.org/10.3390/POLYM16070995/S1

ANEXOS

Anexo 1

Espectro infrarrojo del quitosano



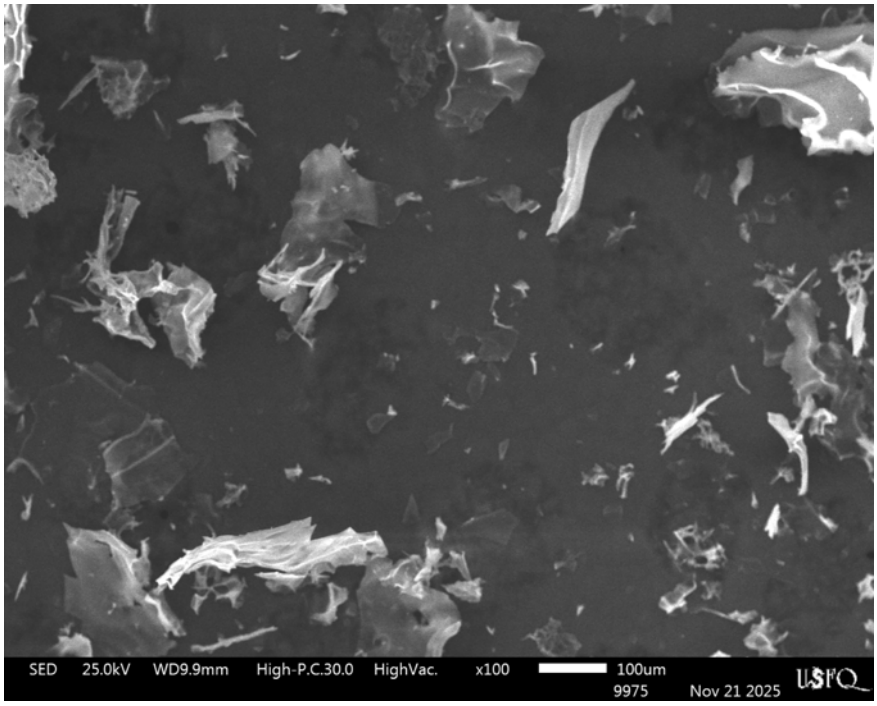
Anexo 2

Datos de absorbancia obtenidos del espectrofotómetro UV de la cefalexina (CFX) para la curva de calibración

Concentración de CFX (mg/mL)	**Abs λ= 261 nm**
2	2,495
1,75	2,483
1,5	2,4694
1,25	2,4499
1	2,4367
0,75	2,4155
0,5	2,3993
0,25	2,3794

Anexo 3

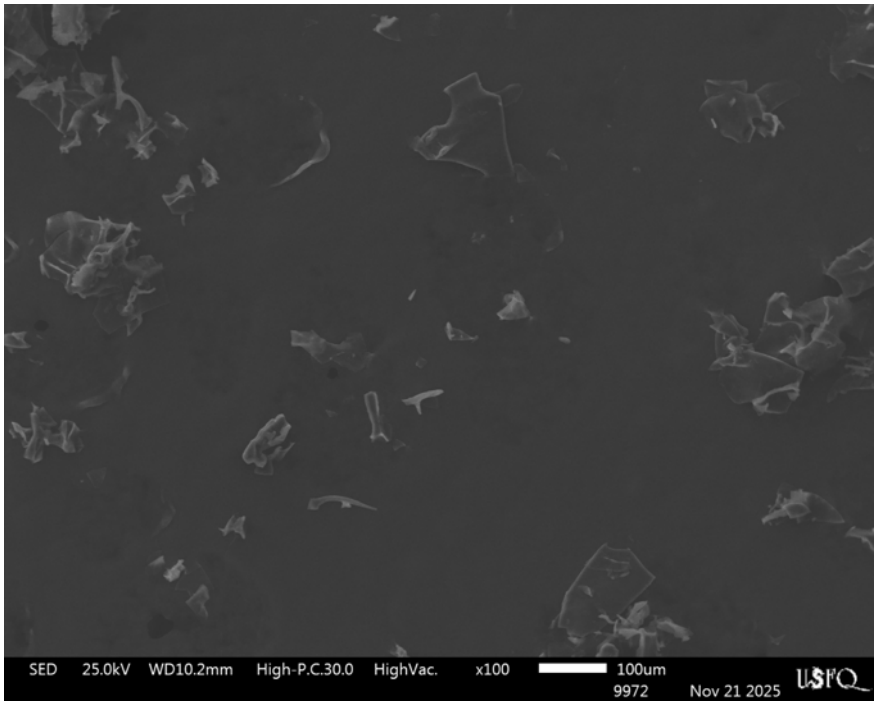
Microscopía electrónica del liofilizado de las nanopartículas de la formulación 1 (NP-1)



Nota. Las micrografías de las nanopartículas se obtuvieron del microscopio electrónico de barrido marca JEOL (SEM) propiedad de la Universidad San Francisco de Quito (USFQ).

Anexo 4

Microscopía electrónica del liofilizado de las nanopartículas de la formulación 2 (NP-2)



Nota. Las micrografías de las nanopartículas se obtuvieron del microscopio electrónico de barrido marca JEOL (SEM) propiedad de la Universidad San Francisco de Quito (USFQ).

Anexo 5

Ensayos en microplaca de las células PC-3 tratadas con cefalexina (CFX) y nanopartículas (NP-2) a las 24 horas



Anexo 6

Ensayos en microplaca de las células PC-3 tratadas con cefalexina (CFX) y nanopartículas (NP-2) a las 48 horas

