



**FACULTAD DE FARMACIA**  
**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**  
**CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE**  
**BIOPOLÍMEROS**

Autora: Rosa María Gaudioso García

Tutora: Florentina Niuris Acosta Contreras

Convocatoria: Febrero 2020

## ÍNDICE

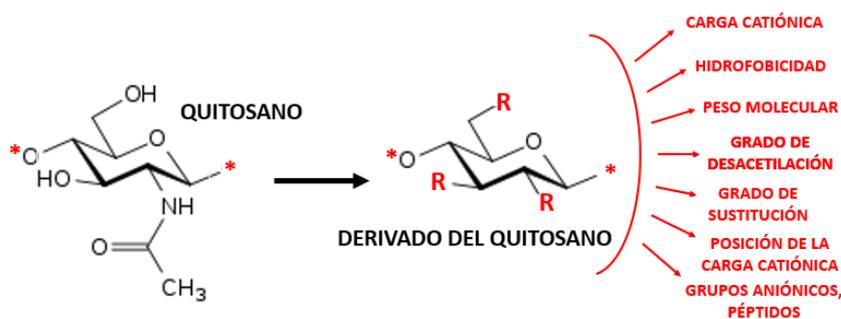
1	Resumen.....	3
2	Palabras clave .....	3
3	Abstract .....	3
4	Introducción.....	3
4.1	Qitosano .....	4
4.1.1	Propiedades físicas y fisicoquímicas:.....	5
4.2	Derivados del qitosano .....	6
4.2.1	Propiedades físicas y fisicoquímicas.....	8
5	Objetivos .....	8
6	Material y métodos .....	8
7	Resultados y discusión.....	9
7.1	Métodos de obtención del qitosano .....	9
7.2	Métodos de síntesis de derivados del qitosano .....	10
7.3	Aplicaciones del qitosano y sus derivados .....	11
7.3.1	Antioxidante.....	13
7.3.2	Antitumoral.....	14
7.3.3	Antimicrobiana.....	14
8	Conclusiones .....	15
9	Bibliografía.....	15

## 1 Resumen

El quitosano es un biopolímero que tiene un amplio rango de aplicaciones desde las áreas ambientales hasta las biomédicas pasando por las alimentarias. El conocimiento de las propiedades y características de este compuesto son fundamentales para asignar aplicaciones al quitosano. Tras los numerosos estudios sobre el quitosano, se ha podido comprobar sus posibles aplicaciones biomédicas. Además, la facilidad en la modificación química del quitosano ha abierto un mundo en la obtención de derivados y en la mejora de las propiedades fisicoquímicas del mismo. El objetivo de este trabajo es hacer una revisión bibliográfica sobre la caracterización fisicoquímica y funcional del quitosano y de algunos de sus derivados y además resumir las propiedades y aplicaciones de todos ellos. Evidenciando las ventajas de las modificaciones químicas a las que se somete al quitosano.

## 2 Palabras clave

*chitosan, chitosan derivatives, chitosan properties, chitosan applications.*



R= amonio cuaternario, guanidina, carboxialquil, hidroxialquil, etc.

Figura 1: Esquema del quitosano y de los derivados

## 3 Abstract

Chitosan is a biopolymer which has a wide range of applications, starting with environmental applications and finishing with the alimentary ones. The knowledge of the properties and characteristics of this molecule are critical to assign its applications. Numerous studies about chitosan made possible to check the various biomedical applications. Due to how easy it is to perform chemical modifications on the chitosan structure, a world of derivatives obtaining has been discovered. The aim of this work is to make a bibliographic revision about the chitosan physicochemical characterisation and about some of its derivatives. Moreover, building a summary of the properties and applications of all of them, evidencing the advantages of the chemical modifications that were made on the chitosan structure.

## 4 Introducción

Los grandes oligosacáridos poliméricos, formados por la unión de muchos monosacáridos mediante enlaces O-glicosídicos, se llaman polisacáridos. Se trata de polímeros orgánicos que

desempeñan funciones vitales de almacenaje de energía y de mantenimiento de la integridad estructural de los organismos. En este grupo incluimos la quitina y el quitosano, entre otros como la celulosa, el glucógeno o el almidón (1).

La quitina y el quitosano forman parte de una familia de polisacáridos unidos por enlaces β (1-4) los residuos de N-acetil-2-amino-2-desoxi-D-glucosa y de 2-amino-2-desoxi-D-glucosa. Esto es importante, pues la cantidad de los mismos determina en parte las propiedades fisicoquímicas de estos compuestos. La cantidad de N-acetil-2-amino-2-desoxi-D-glucosa se define como el grado de acetilación. Parámetro muy útil en la caracterización de estos compuestos.

La caracterización completa tanto de la quitina como del quitosano son fundamentales para poder predecir las propiedades de estos compuestos y por tanto atribuirle sus aplicaciones.

El quitosano se obtiene de forma natural de la membrana de algunos organismos del reino vegetal, hongos (mucoraceae), también se puede obtener mediante la escisión de los grupos acetilados de los residuos de N-acetil-2-amino-2-desoxi-D-glucosa de la quitina (2,3).

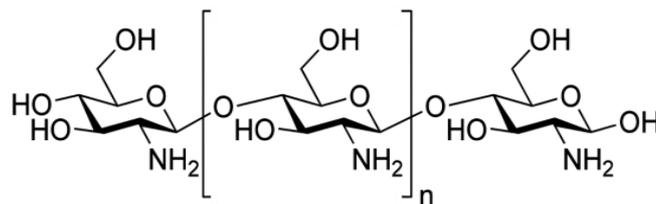


Figura 2: Quitosano

La fuente de obtención de quitosano más común es por la conversión a través de la desacetilación de la quitina en quitosano. Esto es así porque la quitina es uno de los biopolímeros más comunes en la naturaleza después de la celulosa (4). La quitina se puede extraer de numerosos grupos taxonómicos, sobre todo de invertebrados, del exoesqueleto de crustáceos, o de cutículas de insectos, y de las paredes celulares de los fungi, entre otros (5). De esta manera, y dado que la forma más eficiente de obtención de quitosano es la conversión de la quitina por desacetilación.

#### 4.1 Quitosano

Debido a que tiene carácter catiónico (en condiciones ácidas el grupo amino estará protonado) y a sus propiedades gelificantes y filmogénicas, se ha comprobado su utilidad en sistemas de liberación de fármacos (6). En este sentido hay que destacar que el hidrocloreto de quitosano es un derivado del quitosano que fue aprobado e incluido en la farmacopea europea como excipiente en 2011 (7).

Últimamente se ha investigado sobre todo la utilidad del quitosano en la liberación y administración prolongada de fármacos, sobre todo proteicos (8).

Los fármacos peptídicos, tienen grandes ventajas, como pueden ser su alta especificidad y gran actividad. Esto implica que en general tienen poca toxicidad y pocos efectos secundarios. Este tipo de compuestos tienen un problema, y es que tienen muy baja estabilidad metabólica. Se degradan rápidamente por las proteasas del organismo (de 2 a 5 minutos de media). Además, se suelen sintetizar con tamaños muy pequeños, lo que hace que se eliminen también rápido por riñón. A todo esto hay que añadir el alto coste de producción (9).

#### 4.1.1 Propiedades físicas y fisicoquímicas:

Entre otras propiedades físicas, las más importantes podrían ser el contenido de proteínas, el de cenizas o el contenido de humedad. En la bibliografía revisada, los métodos de determinación de estas características fueron los siguientes:

Tabla 1: Métodos de determinación de las características físicas del quitosano.

CARACTERÍSTICA FÍSICA	CONCEPTO	MÉTODOS DE DETERMINACIÓN
Proteínas (10)	Suelen consistir en determinar niveles de nitrógeno. Esto es importante en la determinación de la carga orgánica de la muestra.	Método Bradford Absorción UV- VIS Ácido bicinconínico Lowry
Humedad (11)	Es importante en procesado, control y conservación de muestras. Se trata de un índice de estabilidad	Análisis gravimétrico Secado en estufa Secado por radiación Método de valoración de Karl Fisher Refractometría
Cenizas (12)	La determinación de cenizas es importante para saber la pureza de la muestra, también se pueden hacer análisis de metales pesados y endotoxinas.	Análisis gravimétrico Métodos analíticos

Tabla 2 Métodos de determinación de las propiedades fisicoquímicas del quitosano

PROPIEDAD FISICOQUÍMICA	CONCEPTO	MÉTODOS DE DETERMINACIÓN
Grado de acetilación (13)	Cuantifica la cantidad de grupos amino presentes en la cadena del polímero	FTIR Raman UV-VIS
Peso molecular promedio (13)	Es el cociente entre la masa de una muestra y el número de moles de todas las especies	SEC-HPLC, MALDI-TOF MS, (14)
Viscosidad (13)	Propiedad de los líquidos que describe la resistencia del líquido al flujo y está relacionada con la fricción interna en el líquido.	ESPECTROSCOPIA INFRARROJA Viscosimetría Reología (2)
cristalinidad(13)	Propiedad que hace referencia a la distribución de las cadenas de un polímero y que determina lo duro y quebradizo que va a resultar el material	Rayos X Espectroscopia infrarroja

## 4.2 Derivados del quitosano

Un derivado del quitosano sería cualquier molécula que conllevara un cambio estructural en la cadena de quitosano. Se trata de biopolímeros que llevan en su estructura una modificación química para la mejora de las propiedades del quitosano. Entre las diferencias generales, además de las evidentes diferencias estructurales, podemos encontrar que el quitosano ha sido aprobado por la EMA en su introducción en alimentos, medicamentos, incluso como principio activo y que es soluble en pKa 6,2. Sin embargo, los derivados del quitosano, en concreto los revisados en este trabajo, están aprobados por la EMA como excipientes y son solubles en disoluciones acuosas. Esta última propiedad es una de las más buscadas en la modificación del quitosano, pues el que sea parcialmente soluble hace muy difícil su modificación.

En la categoría de los derivados del quitosano podemos incluir los derivados cuaternizados, los alquilo, aminoalquilo, aromáticos, carboxialquilo, etc. Además, también incluimos los derivados conjugados con moléculas biológicas en general para que se absorban por vías concretas en distintos sitios del tracto digestivo o para eludir proteínas degradativas del organismo y conseguir su acceso al lugar de acción.

En este documento nos centraremos en el TMC, en el SO<sub>4</sub>CHT y en el ClCHT, ya que son los derivados que están en reciente investigación:

- TMCHT trimetilquitosano, se trata de un derivado cuaternizado del quitosano. Cuaternizado en N

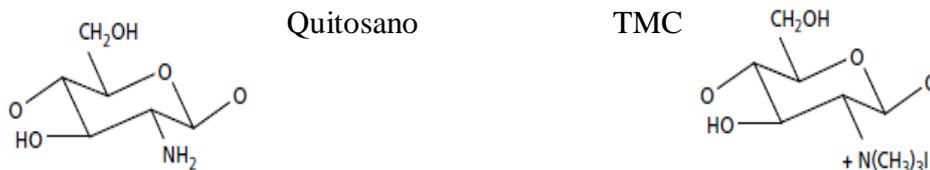


Figura 3: Imagen tomada de DOI 10.1211/jpp.58.8.0002 (15).

Cuando el nitrógeno se cuaterniza, el número de cargas positivas, aumenta, mejorando la solubilidad (es soluble a pH neutro), su capacidad antifúngica, y antioxidante. En definitiva, esta modificación facilita la manipulación del quitosano y además, acentúa las propiedades biológicas de este.

- SO<sub>4</sub>CHT sulfato de quitosano, se trata de un análogo estructural de las heparinas y de los heparanosulfatos, y por ello podrían mimetizar sus funciones biológicas siendo un atajo en la síntesis de los anticoagulantes directos.

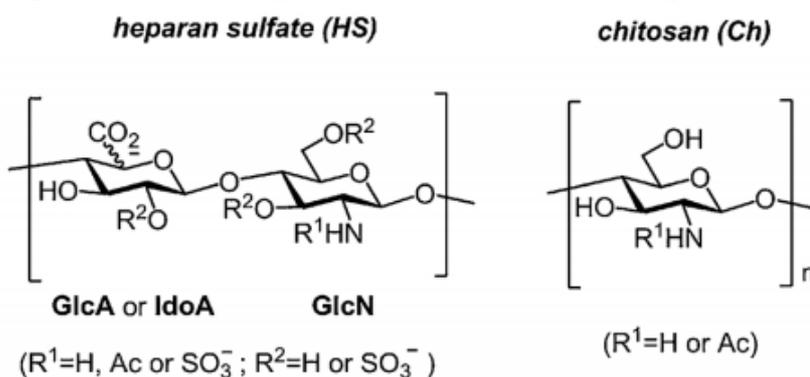


Figura 4: Imagen comparativa del quitosano y su derivado el sulfato de quitosano. obtenida de <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.03.036>

Queda de sobra demostrada en la bibliografía revisada la utilidad del sulfato de quitosano, ya que la previsión de uso de estas moléculas abre un recurso en la síntesis de anticoagulantes que puede ser mas que interesante. Sin embargo, los sulfatos de quitosano interaccionan con factores de crecimiento, lo que supone un problema en el tratamiento *in vivo*. Interacciona, de hecho, más que la heparina por sí misma (16).

- ClCHT hidrocloreto de quitosano. Está incluido en la farmacopea como excipiente. Se obtiene llevando a ebullición el quitosano disuelto en ácido clorhídrico, tras enfriarse el hidrocloreto de quitosano precipita, aunque existen otros métodos de obtención.

#### 4.2.1 Propiedades físicas y fisicoquímicas.

Tabla 3: Derivados y sus métodos de determinación

DERIVADO	METODO DE DETERMINACIÓN
TMC (17)	GRADO DE CUATERNIZACIÓN: <sup>1</sup> H-NMR PESO MOLECULAR: SEC
SO <sub>4</sub> CHI (16)	FT-IR, <sup>1</sup> H y <sup>13</sup> C NMR, GPC, UV-VIS,
CICHT(18)	TEM FT-IR DIFRACCION RAYOS X

## 5 Objetivos

El objetivo de este Trabajo de Fin de Grado es realizar una revisión bibliográfica de los últimos 15 años sobre la caracterización quimicofísica y funcional, así como las posibles aplicaciones del quitosano y de sus derivados, basándose en su estructura química, y centrándose especialmente en las aplicaciones en el ámbito de las ciencias biomédicas.

## 6 Material y métodos

Para la realización de este trabajo se ha llevado a cabo una revisión de artículos científicos y de libros relacionados con el quitosano, sus derivados, propiedades, características y posibles aplicaciones terapéuticas.

A la hora de seleccionar los artículos se ha procurado que fuesen publicados en los últimos 15 años.

Para la búsqueda bibliográfica se realizó una exploración del tema en las principales fuentes de información biomédica durante el periodo comprendido entre octubre de 2019 y enero de 2020. Las principales fuentes utilizadas han sido: pubmed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>), sciencedirect (<https://www.sciencedirect.com/>), Google scholar (<https://scholar.google.com/>), scielo (<https://scielo.org/es/>).

La búsqueda se realizó en inglés utilizando las siguientes palabras clave: *chitosan*, *chitosan derivatives*, *chitosan properties*, *chitosan applications*.

De dicha búsqueda se ha obtenido un total de 35 artículos que eran potencialmente útiles para el trabajo a partir del título y del resumen. De todos ellos se descartaron los artículos en los que, a pesar de tratar el tema con claridad, no habían sido publicados en los últimos años. De esta manera, se han seleccionado un total de 30 artículos que cumplieran con los criterios expuestos anteriormente.

## 7 Resultados y discusión

### 7.1 Métodos de obtención del quitosano

De manera simplificada, la quitina se extrae mediante un tratamiento mixto compuesto por un tratamiento ácido, seguido por un tratamiento alcalino del micelio de los fungi o de la cáscara de los crustáceos, que es donde se encuentra en mayor concentración. Como se ha mencionado anteriormente la fuente más común de quitosano es la conversión de quitina mediante desacetilación alcalina. De manera que este se prepara por hidrólisis alcalina de los grupos acetamida de la quitina (A en Figura 3). Si bien es cierto que el quitosano (B en Figura 3) también puede obtenerse de la naturaleza, pues existen evidencias de organismos que pueden realizar esta desacetilación de manera enzimática (sistema quitina-deacetilasa) no se encuentra en las concentraciones en las que podemos encontrar la quitina (5).

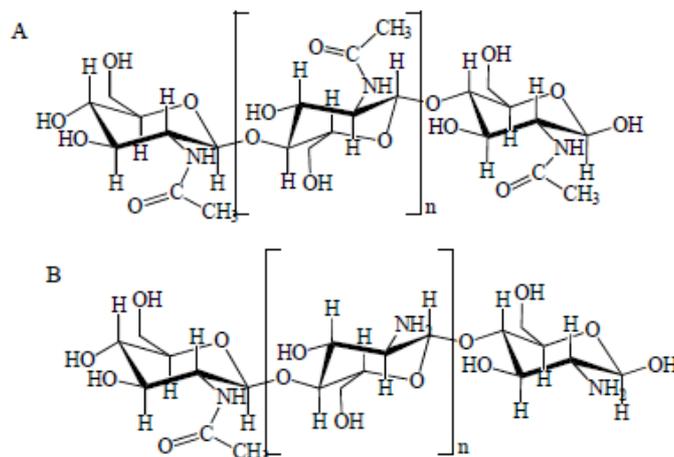


Figura 5: Estructura química de la quitina acetilada al 100% (A) y del quitosano (B).

La fuente y el método de obtención del quitosano determinan la composición del mismo y de su tamaño. Por este motivo, el grado de desacetilación y el peso molecular promedio son dos parámetros de obligado conocimiento para la caracterización de este polímero (19).

Las principales propiedades fisicoquímicas del quitosano que determinan sus propiedades funcionales son su grado de desacetilación y su peso molecular promedio, aunque la cristalinidad, el contenido de agua, cenizas y proteínas también son características fisicoquímicas a considerar para la aplicación de un quitosano específico.

El porcentaje de grupos amino que quedan libres en la molécula de quitosano es lo que se denomina grado de desacetilación y está estrechamente vinculado con su solubilidad. Como consecuencia de la hidrólisis del grupo N-acetilo, aumenta la capacidad hidrofílica del quitosano ya que estará protonado y pasa a ser soluble en soluciones ácidas diluidas (acético, fórmico, clorhídrico, entre otros) ya que el pKa del grupo amino del quitosano es de 6,5.

Algunas de las propiedades funcionales del quitosano son: biodegradabilidad, biocompatibilidad, mucoadhesión, hemostático, mejorador de la absorción, antimicrobiano, anticolesterolémico, antioxidante entre otros (5). Estas propiedades funcionales han resultado en su utilización en distintos campos como pueden ser la agricultura, la industria alimentaria o en medicina. En concreto se ha investigado en profundidad sus propiedades como agente quelante de metales y como filmogénico en cosmética (20) también se ha investigado su uso en industria papelera, textil y en el tratamiento de aguas residuales. En la industria alimentaria se han encontrado numerosas utilidades, pues se puede añadir como ingrediente funcional y como fibra alimentaria. Además se une a las grasas, lo que ha resultado en muchos estudios como hipocolesterolémico y como dietético (5). En medicina se utiliza debido principalmente a su capacidad inmunoestimulante, anticoagulante, antibacteriana y cicatrizante.

## **7.2 Métodos de síntesis de derivados del quitosano**

Los diferentes derivados también se pueden obtener de la desacetilación parcial de la quitina, o mediante la modificación química/enzimática del quitosano (21).

La despolimerización enzimática del quitosano podría ser considerado como un proceso de modificación atractivo para preparar derivados del quitosano. Y se observa en general un cambio en las propiedades del quitosano, especialmente en la capacidad antioxidante y en las propiedades antimicrobianas (14).

De la modificación química se puede obtener derivados que pueden mejorar las propiedades mucoadhesivas, mejorar la solubilidad a pH fisiológico y acción protectora contra la degradación enzimática (15).

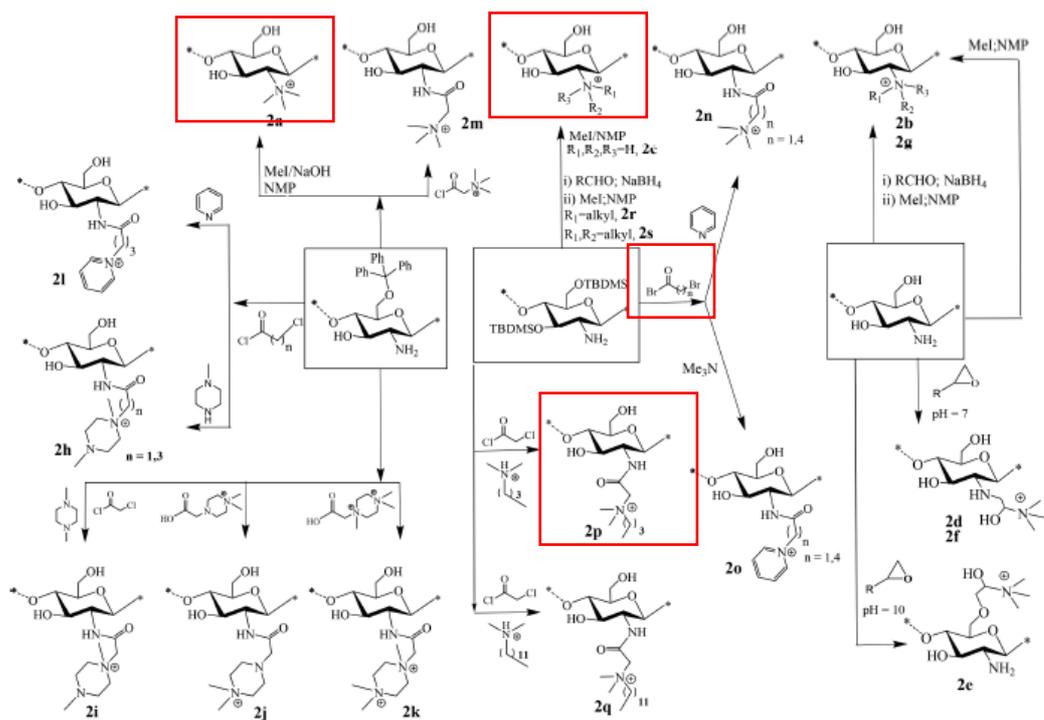


Figura 6: Obtenida de DOI: 10.1021/acs.biomac.7b01058

### 7.3 Aplicaciones del quitosano y sus derivados

El quitosano y sus derivados tienen propiedades especiales para su uso para aplicaciones farmacéuticas y biomédicas.

El quitosano por sí mismo tiene propiedades antimicrobianas, y su efecto depende de la concentración en la que se encuentre en disolución, del peso molecular promedio y del tipo de bacteria. La capacidad antitumoral resulta de un cambio en su estructura química, bajo peso molecular, solubilidad y grado de desacetilación, de la misma manera, estas propiedades también determinan la capacidad antioxidante (6).

En cuanto a las propiedades biológicas del quitosano, están relacionadas con las propiedades fisicoquímicas de la siguiente manera:

PROPIEDAD	CARACTERÍSTICA
Biodegradabilidad	Grado de acetilación, distribución de los grupos acetilo, peso molecular promedio
Biocompatibilidad(22)	Grado de acetilación
Mucoadhesión	Grado de acetilación, peso molecular promedio
Hemostasia	Grado de acetilación, peso molecular promedio
Analgesia	Grado de acetilación
Estimulador de la absorción	Grado de acetilación

Antimicrobiano	Peso molecular promedio
Anticolesterolémico	Grado de acetilación, peso molecular promedio, viscosidad
Antioxidante	Grado de acetilación, peso molecular promedio
Terapia génica	Grado de acetilación, peso molecular promedio

Estas propiedades podrían traducirse en aplicaciones biomédicas de gran utilidad, como podrían ser: curación de heridas, sistemas de liberación de fármacos, transportador de DNA, en ingeniería de tejidos (23).

También puede tener aplicaciones en la industria alimentaria: ingrediente dietético, conservante, emulsificante (2).

- **Carácter filmogénico:** fue una de las primeras aplicaciones investigadas. Se pueden formar películas de este polímero con buenas propiedades físicas a partir de disoluciones acidas. Esto se debe a la formación de enlaces de hidrogeno intermoleculares entre los grupos amino e hidroxilo. En medio ácido estos enlaces se rompen, por la protonación de los grupos amino. Esto ha ganado muchísima importancia en el campo de la farmacia pudiéndose utilizar estas películas como recubrimiento de comprimidos y como sistemas de liberación prolongada (24).

También es interesante el uso de estas películas para el tratamiento de heridas cutáneas, ya que se han descrito casos con mucha mejoría, ya que protegen la herida, absorben exudados, tienen acción antibacteriana y al mismo tiempo son inmunoestimulantes (25,26).

- **Capacidad mucoadhesiva:** es una de las propiedades más interesantes del quitosano, ya que se puede hablar del quitosano como promotor de la absorción de fármacos, ya que puede ser que sea capaz de abrir transitoriamente las uniones intercelulares del epitelio, no muestra toxicidad, ni se absorbe (27).

Esto pasa así gracias a que aumenta el tiempo de permanencia y el contacto del fármaco con la mucosa, lo que permite que el fármaco se libere de forma más o menos sostenida siendo posible la reducción del número de dosis requeridas (28,29).

- **Ingeniería tisular:** se basa en el cultivo de células en una matriz polimérica porosa biodegradable. Un factor primario es el tipo de biopolímero, y el quitosano y sus derivados encajan muy bien con las características requeridas para este cometido, no se han encontrado reacciones inflamatorias o degradación tóxica (30).
- **Transporte genético** es una propiedad interesante en la inserción de material genético en células, como no es tóxico, es biocompatible y biodegradable, se puede usar con este fin tanto el quitosano como sus derivados (21).

- Apoyo para la vascularización y angiogénesis sin la secreción de citoquinas inflamatorias de las células endoteliales (31).

Respecto a las propiedades más importantes de los derivados del quitosano revisados, se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 4: Derivados y sus propiedades biológicas

DERIVADO	PROPIEDADES BIOLÓGICAS:
TMC(17,32)	MUCOADHESIVAS, DE LIBERACION PROLONGADA EN SU USO PARA FARMACOS ANTIOXIDANTE ANTIFUNGICO
SO <sub>4</sub> CHI(33)	PROPIEDADES ANTITUMORALES Y SE PUEDE HACER MIMÉTICO DE LOS HEPARANOSULFATOS (ACTIVIDAD ANTICOAGULANTE)
CICHT	MUCOADHESIVIDAD (17) LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS. ANTIFÚNGICO

### 7.3.1 Antioxidante

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) se generan como productos de oxidación de reacciones biológicas o de factores exógenos. Estas especies son inestables y tienen la capacidad de reaccionar con la mayoría de las biomoléculas, inestabilizándolas también activando un electrón desapareado. Esto puede tener consecuencias en el metabolismo de estas biomoléculas como el de las proteínas, afectando a su función, o a los lípidos, afectando a la permeabilidad de la membrana.

Las moléculas antioxidantes normalmente son estructuras que amortiguan muy bien los electrones activados y que evitan las reacciones en cascada que estos producen. En el caso del quitosano la capacidad antioxidante se debe a que tiene una actividad hidrogeno-dadora, lo cual permite a las especies reactivas de oxígeno reaccionar con el hidrogeno activado de grupos como -OH o -NH<sub>2</sub> del quitosano y de sus derivados formando una especie superestable.

Está demostrado que el peso molecular bajo y la carga catiónica del quitosano mejora la capacidad antioxidante. Esto se hace evidente cuando al modificar el quitosano cuaternizando el nitrógeno, se observa un aumento en la capacidad antioxidante del TMC (6,34–36).

### **7.3.2 Antitumoral**

El quitosano y sus derivados han mostrado tener una acumulación interesante en zonas cercanas a células tumorales. Esta acumulación se puede explicar por la permeabilidad y la retención elevadas resultado de la vascularización desorganizada propia de los tejidos tumorales.

Una aplicación ingeniosa en este aspecto es la liberación de fármacos, en combinación con estas propiedades, los fármacos antitumorales pueden encontrar mayor facilidad a la hora de acceder a los tejidos cancerosos.

Mediante la modificación estructural del quitosano podemos conseguir ciertas ventajas, como un menor peso molecular, mayor solubilidad, disminución de algunos de los efectos adversos derivados de la citotoxicidad de los fármacos anticancerígenos y la capacidad de circulación sanguínea que permite el quitosano y sus derivados.

En concreto, se ha podido demostrar la capacidad de mejora de la liberación de fármacos en el caso de la doxorrubicina en combinación con micelas de oleilquitosano estos derivados tan hidrofóbicos hacen que se pueda añadir mayor concentración de fármaco en el interior de las micelas, que mejore la liberación del fármaco y la actividad antitumoral también se vio beneficiada. El caso de la doxorrubicina es solo un ejemplo, fármacos de la familia de los taxol también se han visto favorecidos por esta modificación del quitosano (6,37,38).

### **7.3.3 Antimicrobiana**

El quitosano por sí mismo tiene propiedades antimicrobianas, se ha demostrado en numerosos estudios sobre diversos grupos de bacterias y se ha puesto en evidencia su efectividad y la diferencia en su actividad en gran positivas y gran negativas. Esta diferencia se puede relacionar directamente con las diferencias entre las paredes celulares, y dado que el mecanismo de acción antimicrobiana parece tener que ver con la interacción entre las cargas positivas del quitosano y las de la superficie de la bacteria, así podemos explicar las diferencias de efectividad entre unas y otras.

Han sido descritos cuatro modelos de interacción, relacionados con las cargas electrostáticas, cambios en la permeabilidad de las membranas de las bacterias, ataques del quitosano relacionados con el medio intracelular y, por último, la quelación del quitosano con los metales iónicos de la superficie celular de las bacterias, lo cual potencia los efectos electrostáticos del medio.

Todo esto se evidencia en los distintos estudios mediante TEM, fluorescencia, cromatografía y métodos de detección de moléculas.

Las aplicaciones de esta propiedad en concreto van desde la fabricación de materiales dentales, hasta el tratamiento de heridas abiertas, pasando por la conserva y la fabricación de productos de consumo dietético (4,6,30).

## 8 Conclusiones

En esta revisión nos hemos centrado en las propiedades del quitosano y de sus derivados y en concreto en las aplicaciones biomédicas más investigadas como son la actividad antioxidante, la antitumoral y la antimicrobiana.

Las conclusiones que podemos sacar de esta revisión podrían ser:

- Las propiedades fisicoquímicas condicionan la posible aplicación de las moléculas en cuestión
- Los derivados del quitosano mejoran las propiedades funcionales de forma muy concreta del quitosano, lo que hace que se puedan utilizar en casos muy específicos, pero de forma más eficiente
- La capacidad antimicrobiana del quitosano es buena lo cual condiciona futuros estudios futuros como posibles moléculas con propiedades antibióticas.

## 9 Bibliografía.

1. Stryer L, Tymoczko JL, Berg JM, Gatto GJ. Bioquímica con aplicaciones clínicas. Barcelona: Reverté; 2013.
2. Aranaz I, Mengibar M, Harris R, Miralles B, Acosta N, Calderon L, et al. Role of Physicochemical Properties of Chitin and Chitosan on their Functionality. CCB. 12 de noviembre de 2014;8(1):27-42.
3. Bellich B, D'Agostino I, Semeraro S, Gamini A, Cesàro A. "The Good, the Bad and the Ugly" of Chitosans. Marine Drugs. 17 de mayo de 2016;14(5):99.
4. Sahariah P, Måsson M. Antimicrobial Chitosan and Chitosan Derivatives: A Review of the Structure–Activity Relationship. Biomacromolecules. 13 de noviembre de 2017;18(11):3846-68.
5. Aranaz I, Mengibar M, Harris R, Panos I, Miralles B, Acosta N, et al. Functional Characterization of Chitin and Chitosan. CCB. 1 de mayo de 2009;3(2):203-30.
6. Vinsova J, Vavrikova E. Chitosan Derivatives with Antimicrobial, Antitumour and Antioxidant Activities - a Review. CPD. 1 de noviembre de 2011;17(32):3596-607.
7. Farmacopea Europea. Consejo de Europa, 4ªEd.2002.
8. S.A. Agnihotri, N.N. Mallikarjuna, T.M. Aminabhavi, Recent advances on chitosanbased micro- and nanoparticles in drug delivery, J. Controlled Release 100 (2004) 5-28.

9. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/818822.pdf>.
10. Johnson M. Protein Quantitation.
11. Tirado DF, Montero PM, Acevedo D. Estudio Comparativo de Métodos Empleados para la Determinación de Humedad de Varias Matrices Alimentarias. *Inf tecnol.* 2015;26(2):03-10.
12. [http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/flip\\_pages/Farmacopea\\_Vol\\_I/files/assets/basic-html/page298.html](http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/flip_pages/Farmacopea_Vol_I/files/assets/basic-html/page298.html).
13. Kumari S, Kumar Annamareddy SH, Abanti S, Kumar Rath P. Physicochemical properties and characterization of chitosan synthesized from fish scales, crab and shrimp shells. *International Journal of Biological Macromolecules.* noviembre de 2017;104:1697-705.
14. Affes S, Maalej H, Aranaz I, Acosta N, Heras Á, Nasri M. Enzymatic production of low-Mw chitosan-derivatives: Characterization and biological activities evaluation. *Int J Biol Macromol.* 9 de diciembre de 2019;144:279-88.
15. Chopra S, Mahdi S, Kaur J, Iqbal Z, Talegaonkar S, Ahmad FJ. Advances and potential applications of chitosan derivatives as mucoadhesive biomaterials in modern drug delivery. *J Pharm Pharmacol.* agosto de 2006;58(8):1021-32.
16. Doncel-Pérez E, Aranaz I, Bastida A, Revuelta J, Camacho C, Acosta N, et al. Synthesis, physicochemical characterization and biological evaluation of chitosan sulfate as heparan sulfate mimics. *Carbohydrate Polymers.* julio de 2018;191:225-33.
17. Snyman D, Hamman JH, Kotze AF. Evaluation of the Mucoadhesive Properties of **N** - Trimethyl Chitosan Chloride. *Drug Development and Industrial Pharmacy.* enero de 2003;29(1):61-9.
18. Seyfarth F, Schliemann S, Elsner P, Hipler U. Antifungal effect of high- and low-molecular-weight chitosan hydrochloride, carboxymethyl chitosan, chitosan oligosaccharide and N-acetyl-d-glucosamine against *Candida albicans*, *Candida krusei* and *Candida glabrata*. *International Journal of Pharmaceutics.* 23 de noviembre de 2007;S037851730700957X.
19. Viarsagh, M. S., Janmaleki, M., Falahatpisheh, H. R., & Masoumi, J. (2010). Chitosan preparation from persian gulf shrimp shells and investigating the effect of time on the degree of deacetylation. *Journal of Paramedical Sciences (JPS)* , 1.
20. Agulló E, Albertengo L, Pastor de Abram A, Rodríguez MS, Valenzuela F. Aplicaciones en alimentación y control ambiental. En: Pastor de Abram A (ed.) *Quitina y quitosano: obtención, caracterización y aplicaciones.* Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú. Agosto, 2004. p. 220-2.

21. Saranya N, Moorthi A, Saravanan S, Devi MP, Selvamurugan N. Chitosan and its derivatives for gene delivery. *Int J Biol Macromol.* 1 de marzo de 2011;48(2):234-8.
22. Anaya, P., Cardenas, G., Lavayen, V., Garcia, A., y O'Dwyer, C. (2013). Chitosan gel film bandages: correlating structure, composition, and antimicrobial properties. *Journal of Applied Polymer Science*, 121: 3939-3948.
23. Zhang, J., Xia, W., Liu, P., Cheng, Q., Tahirou, T., Gu, W. (2010). Chitosan modification and pharmaceutical/biomedical applications. *Marine Drugs* , 8, 1962-1987.
24. C. Remuñán-López, R. Bodmeier, Mechanical, water uptake and permeability properties of crosslinked chitosan glutamate and alginate films, *J. Controlled Release* 44 (1997) 215-225.
25. R.A.A. Muzzarelli, Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone, *Carbohydr. Polym.* 76 (2009) 167-182.
26. M. Burkatovskaya, G.P. Tegos, E. Swietlik, T.N. Demidova, A.P. Castano, M.R. Hamblin, Use of chitosan bandage to prevent fatal infections developing from highly contaminated wounds in mice, *Biomaterials* 27 (2006) 4157-4164.
27. M.M. Issa, M. Köping-Höggård, P. Artursson, Chitosan and the mucosal delivery of biotechnology drugs, *Drug Discov. Today: Technologies*, 2 (2005) 1-6.
28. R.J. Majithiya, R.S. Ramchandra, Chitosan-based mucoadhesive microspheres of clarithromycin as a delivery system for antibiotic to stomach, *Curr. Drug Delivery* 2 (2005) 235-242.
29. Minagawa T, Okamura Y, Shigemasa Y, Minami S, Okamoto Y. Effects of molecular weight and deacetylation degree of chitin/ chitosan on wound healing. *Carbohydr Polym* 2007; 67: 640-4.
30. Alves NM, Mano JF. Chitosan derivatives obtained by chemical modifications for biomedical and environmental applications. *International Journal of Biological Macromolecules.* diciembre de 2008;43(5):401-14.
31. Shi G, Chen Y, Wan C, Yu X, Feng T, Ding Y. Study of the preparation of chitosan-alginate complex membrane and the effects on adhesion and activation of endothelial cells. *Appl Surf Sci* 2008; 255: 422-5.
32. Zhang J, Tan W, Wang G, Yin X, Li Q, Dong F, et al. Synthesis, characterization, and the antioxidant activity of N , N , N -trimethyl chitosan salts. *International Journal of Biological Macromolecules.* octubre de 2018;118:9-14.

33. Doncel-Pérez E, Aranaz I, Bastida A, Revuelta J, Camacho C, Acosta N, et al. Synthesis, physicochemical characterization and biological evaluation of chitosan sulfate as heparan sulfate mimics. *Carbohydrate Polymers*. julio de 2018;191:225-33.
34. Kim KW, Thomas RL. Antioxidative activity of chitosan with varying molecular weights. *Food Chem* 2007; 101: 308-13.
35. Tomida H, Yasufuku T, Fujii T, Kondo Y, Kai T, Anraku M. Polysaccharides as potential antioxidative compounds for extended release matrix tablets. *Carbohydr Polym* 2010; 345: 82-6.
36. Anraku M, Fujii T, Furutani N, et al. Antioxidant effect of dietary supplement: reduction of indices of oxidative stress in normal subjects by water-soluble chitosan. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 104-9.
37. Zhang J, Chen XG, Sun GZ, Huang L, Cheng XJ. Effect of molecular weight on the oleoyl-chitosan nanoparticles as carrier for doxorubicin. *Colloid Surface B* 2010; 77: 125-30.
38. Luo H, Li J, Chen NX. Antitumour effect of N-succinyl-chitosan nanoparticles on K562 cells. *Biomed Pharmacotherapy* 2009; 64: 521-6.