

NANOFORMULACIONES AVANZADAS CONTRA LA INFECCIÓN BACTERIANA

ADVANCED NANOFORMULATIONS AGAINST BACTERIAL INFECTION

Montserrat Colilla Nieto

Académica correspondiente de la Real Academia Nacional de Farmacia

Dpto. Química en Ciencias Farmacéuticas, Unidad de Química Inorgánica (Bioinorgánica y Biomateriales). Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Instituto de Investigación Sanitaria Hospital 12 de Octubre i+12. Plaza Ramón y Cajal s/n, 28040 Madrid, España. CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, CIBER-BBN, Madrid, España.

corresponding author: mcolilla@ucm.es

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Discurso de ingreso como Académica Correspondiente de la RANF

RESUMEN

En la actualidad, los antibióticos constituyen la piedra angular en el tratamiento de las infecciones bacterianas. Sin embargo, en las últimas décadas, las bacterias han desarrollado mecanismos de defensa que las hace altamente resistentes a los antibióticos existentes, lo que nos deja vulnerables frente a las infecciones. La Organización Mundial de la Salud alerta de que las resistencias bacterianas constituyen una grave amenaza para la toda la humanidad y que necesitamos urgentemente el desarrollo de nuevos antibacterianos. La nanotecnología ha irrumpido en este escenario proporcionando herramientas novedosas para el diagnóstico, prevención y tratamiento de numerosas patologías, principalmente el cáncer. De este modo, la *nanomedicina* permite abordar diferentes enfermedades utilizando nanotransportadores de fármacos capaces de dirigirse de forma selectiva a la diana terapéutica, aumentando así la eficacia del tratamiento y disminuyendo los efectos secundarios. Este discurso se centra en las nanopartículas mesoporosas de sílice (MSNs), cuyas propiedades únicas y enorme versatilidad permiten diseñar múltiples nanosistemas para tratar infecciones bacterianas. Su capacidad para dirigirse específicamente a las bacterias y/o al *biofilm*, liberar distintos fármacos de manera controlada y/o inteligente en respuesta a determinados estímulos, e incorporar cationes terapéuticos en terapias combinadas, auguran el desarrollo de nanoformulaciones avanzadas que podrían revolucionar la lucha contra la infección bacteriana.

ABSTRACT

Nowadays, antibiotics remain the cornerstone in the treatment of bacterial infections. However, in recent decades, bacteria have developed defense mechanisms that make them highly resistant to the existing antibiotics, leaving us vulnerable to infection. The World Health Organization warns that bacterial resistance constitutes a serious threat to humanity at global level and that there is an urgent need of developing new antibacterial agents. Nanotechnology has entered into this scenario by providing novel tools for the treatment of numerous pathologies, highlighting cancer. Nanomedicine brings up the opportunity to address different diseases using drug nanocarriers that can be specifically directed to the therapeutic target, increasing the efficacy of the treatment and reducing the side effects. This entrance speech focuses on mesoporous silica nanoparticles, whose unique properties and enormous versatility allow the design of multiple nanosystems to treat bacterial infections. Its ability to specifically target bacteria and/or biofilm, release different drugs in a controlled manner and/or in a smart fashion, i.e. in response to certain stimuli, and incorporate therapeutic cations for combined therapies, envision the development of advanced nanoformulations that could revolutionize the fight against bacterial infection.

Palabras Clave:

Nanomedicina
infección bacteriana
terapia focalizada
terapia combinada
nanopartículas mesoporosas de sílice
liberación controlada de fármacos
antibióticos
iones metálicos

Keywords:

Nanomedicine
bacterial infection
targeted therapy
combined therapy
mesoporous silica nanoparticles
controlled drug delivery
antibiotics
metal ions



1. PROBLEMÁTICA DE LAS INFECCIONES BACTERIANAS

A lo largo de la historia, la humanidad se ha enfrentado a múltiples epidemias y pandemias producidas por enfermedades infecciosas asociadas fundamentalmente a la zoonosis, la pobreza, la falta de higiene y la mala alimentación, que han provocado millones de muertes humanas y serios estragos en la sociedad de cada época (1). En la antigüedad predominaban las epidemias y pandemias provocadas por bacterias, destacando por su gravedad la peste, el tifus, el cólera o la tuberculosis, entre otras. Estas enfermedades bacterianas, que siguen siendo endémicas en algunas regiones de Asia y África, se consiguieron controlar desde el siglo XIX gracias al desarrollo de antibióticos y vacunas. Con el paso del tiempo han ido ganando protagonismo las infecciones ocasionadas por virus, como la viruela, la gripe española, el VIH/SIDA, el Ébola, la COVID-19, etc (2). La *globalización*, el *cambio climático* y el *impacto negativo de los seres humanos en el medio ambiente*, entre otros factores, están favoreciendo la aparición y propagación de nuevos virus en el ser humano.

En las últimas décadas se ha dedicado un gran esfuerzo científico en el ámbito sanitario para frenar la propagación de infecciones, y disminuir la morbilidad y las tasas de mortalidad en los seres humanos. Sin embargo, el uso inadecuado fármacos antimicrobianos ha ocasionado el rápido aumento global y la expansión de microorganismos patógenos multirresistentes. La Resistencia Antimicrobiana (RAM) es un proceso por el cual determinados microorganismos (bacterias, virus, hongos o parásitos) evolucionan con el tiempo para defenderse de los fármacos que se utilizan para combatirlos. Como consecuencia, los medicamentos se vuelven ineficaces y las infecciones persisten en el cuerpo, lo que aumenta el riesgo de propagación a otras personas, la aparición de enfermedades graves y de muerte (3-5).

En 2014, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró la RAM como una de las 10 mayores amenazas a las que se enfrenta la humanidad a nivel mundial (6). Ese mismo año, el economista británico Jim O'Neill lideró un estudio para analizar el problema global del aumento de la resistencia a los medicamentos y proponer acciones concretas a nivel internacional. Este estudio, avalado conjuntamente por el gobierno del Reino Unido y la organización de investigación biomédica *Wellcome Trust* originó una primera revisión en 2014 sobre RAM y "cómo abordar una crisis para la salud y el bienestar de las naciones" (7), y una versión final, que vio la luz en 2016, titulada "cómo abordar infecciones farmacorresistentes de forma global: informe final y recomendaciones" (8).

Los datos contemplados en dichos informes estimaron que unas 700.000 personas mueren cada año por infecciones resistentes

a los antimicrobianos, y que esta cifra podría aumentar a 10 millones para 2050. De hecho, se estima que, para esa fecha, morirán más personas por infecciones provocadas por microorganismos multirresistentes que por cáncer. Aparte de elevados índices de mortalidad, la RAM conlleva serias implicaciones económicas ya que, además del exceso de muertes y discapacidad, la prolongación de enfermedades se traduce en estancias hospitalarias de mayor duración así como en la necesidad de cuidados más intensivos y de medicamentos más caros (4,9). En este contexto, el mensaje de la OMS en 2018 fue claro: "El uso indebido de los antimicrobianos es un riesgo para todos".

Muy recientemente, en enero de 2022, la revista médica *Lancet* ha publicado los resultados de una investigación global sobre resistencias bacterianas, dirigido por la Universidad de Oxford (10). Dicho estudio revela que en el año 2019 hubo 1,27 millones de muertes en todo el mundo, 77.600 de ellas en Europa Central, provocadas directamente por bacterias resistentes, y 4,95 millones de fallecimientos asociadas a ellas. Las responsables de este incremento tan brusco respecto a datos anteriores son cepas de bacterias comunes que desarrollan resistencia a múltiples antibióticos y que se conocen popularmente como "superbacterias". En la actualidad se han identificado numerosos patógenos responsables de muertes asociadas a resistencias a antibióticos, siendo los siete principales *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Mycobacterium tuberculosis* (10). El problema es grave en sí mismo, pero genera aún mayor preocupación el hecho de que casi el 40 % de la carga sanitaria de la RAM esté causada por bacterias resistentes a los antibióticos de último recurso (como los carbapenémicos o la colistina).

Esta "pandemia silenciosa", que en 2019 resultó más mortal que la malaria o el VIH, fue la tercera causa de muerte a nivel mundial, si se consideran todos los fallecimientos asociados a ella, sólo por debajo de los infartos cardíacos o cerebrales. El problema de la resistencia a los antibacterianos es complejo y multifactorial, pero una de las causas más determinantes es el uso inadecuado de los antibióticos, los cuales son elementos esenciales en la medicina moderna. Esto ocurre cuando se prescriben antibióticos para tratar enfermedades que no son producidas por bacterias, cuando se pautan antibióticos de amplio espectro para tratar enfermedades bacterianas que podrían tratarse con antibióticos más específicos, cuando los antibióticos se emplean durante tiempos superiores al necesario o cuando se dosifican de forma inadecuada. En este sentido, no podemos obviar el impacto de la COVID-19 sobre la resistencia bacteriana debido principalmente al uso empírico inadecuado de los antibióticos, en un contexto de ausencia de vacunas y de medicamentos eficaces para tratar esta infección vírica. De hecho, un



informe reciente del Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos de América concluye que la amenaza de las infecciones debidas a las resistencias bacterianas se ha agravado debido, en gran parte, a los efectos de la pandemia por COVID-19 (11).

Además de la RAM adquirida, que ya hemos mencionado, las bacterias tienen un mecanismo de defensa natural denominado *biofilm* bacteriano, que consiste en comunidades bacterianas que crecen adheridas a una superficie y que quedan embebidas en una matriz de exopolisacárido (12,13). Estos *biofilms* proporcionan protección a las bacterias frente a ambientes hostiles, incluidos los antibióticos y el sistema inmunitario (14,15). De hecho, las bacterias dentro del *biofilm* han mostrado ser de 10 a 1.000 veces más resistentes a los antibióticos que las bacterias en estado planctónico (16). Aproximadamente un 80% de las infecciones crónicas y recurrentes en el cuerpo humano se deben a *biofilms* bacterianos (17), por lo que la combinación de "superbacterias" y los *biofilms* bacterianos son una de las principales preocupaciones clínicas (18).

Otro problema alarmante es la ausencia de nuevas clases de antibióticos en la fase de desarrollo clínico, de hecho, en los últimos cinco años sólo se han aprobado 12 antibióticos. La falta de tratamientos innovadores nos deja vulnerables frente a las infecciones producidas por las bacterias más peligrosas del mundo. La OMS alerta que se nos acaba el tiempo para reaccionar a las resistencias a antibióticos y que necesitamos urgentemente el desarrollo de nuevos antibacterianos. De lo contrario, procedimientos médicos habituales, como por ejemplo la quimioterapia contra el cáncer, los trasplantes de órganos, el parto por cesárea o el implante y reemplazo de prótesis, se volverán muy arriesgados.

2. NANOMEDICINA Y NANOTRANSPORTADORES DE ANTI-BACTERIANOS

En la actualidad, para lograr una eficacia antimicrobiana adecuada se requieren altas dosis o varias administraciones de uno a varios antibióticos, lo que no sólo aumenta la toxicidad y los efectos secundarios, sino también provoca la aparición de RAM. En este escenario, existe una necesidad urgente de desarrollar nuevas estrategias terapéuticas basadas en sistemas de administración de fármacos que originen tratamientos más eficientes.

La nanotecnología ha irrumpido con mucho éxito en este escenario, proporcionando herramientas novedosas para el diagnóstico, la prevención y el tratamiento de diversas patologías, entre las que cabe destacar el cáncer, y que ha permitido el desarrollo de la una nueva disciplina, la *nanomedicina*. En el contexto del presente discurso, el tratamiento de la infección bacteriana, la *nanomedicina* ha permitido desarrollar nanoformulaciones antibacterianas, mu-

chas de ellas aún en ensayos clínicos y otras ya disponibles en el mercado. Estas últimas, de momento son escasas, pero podemos destacar Arikace® (INSMED), una preparado liposomal de amikacina que se administra por inhalación y está indicada para mejorar la penetración del fármaco en el moco y en los *biofilms* bacterianos en pacientes con bronquiectasia; y VivaGel® (STARPHARMA) un gel vaginal basado en un dendrímero sulfonado de polilisina de cuarta generación para el tratamiento de la vaginosis bacteriana. Una nanoformulación antibacteriana ideal debe satisfacer los siguientes requisitos (19-21): i) proteger el principio activo y transportarlo selectivamente a la zona infectada; ii) liberar de forma controlada el o los antibióticos transportados; iii) capacidad para vehiculizar varios agentes antimicrobianos; iv) mejorar la biodisponibilidad del agente antimicrobiano en la diana terapéutica aumentando así su eficacia; v) reducir la dosis efectiva de fármaco, aumentando la eficacia del tratamiento y disminuyendo los efectos secundarios; y vi) presentar una seguridad y biocompatibilidad elevadas.

Para el diseño de estas nanoformulaciones, una de las estrategias más ampliamente utilizadas consiste en el empleo de nanotransportadores de agentes antimicrobianos. Un nanotransportador es un nanomaterial -un material con alguna de sus dimensiones en la nanoescala, comprendida entre 1 y 100 nm- utilizado como módulo de transporte de sustancias, como son los fármacos y otros agentes terapéuticos. El tamaño más adecuado de los nanotransportadores con aplicación en *nanomedicina* se encuentra comprendido entre 10 y 200 nm (22). Su clasificación puede hacerse en función de su naturaleza: orgánica, como los liposomas, los dendrímeros, las nanopartículas lipídicas, las micelas poliméricas, las nanopartículas poliméricas o las nanopartículas tipo virus; o inorgánica: como las nanojaulas de carbono, los puntos cuánticos, las nanopartículas de oro, los nanotubos de carbono o las nanopartículas mesoporosas de sílice.

3. NANOFORMULACIONES BASADAS EN NANOPARTÍCULAS MESOPOROSAS DE SÍLICE (MSNS)

De entre todos los nanotransportadores, las Nanopartículas Mesoporosas de Sílice (MSNs, de su terminología anglosajona *Mesoporous Silica Nanoparticles*), constituyen uno de los nanomateriales más prometedores por sus interesantes propiedades como nanosistemas inorgánicos avanzados para la liberación controlada de fármacos (23,24). De hecho, existe una extensa literatura científica centrada en MSNs capaces de albergar y liberar agentes antitumorales, antimicrobianos, osteogénicos y angiogénicos, así como material genético, para diversas aplicaciones biomédicas (25,26). La expansión y desarrollo de este tipo de estudios realizado por nu-



merosos equipos de investigación en todo el mundo, se inspiró en el trabajo pionero del grupo de la Prof. María Vallet-Regí en 2001 sobre el material MCM-41 como sistema de liberación controlada con ibuprofeno como fármaco modelo (27). Por lo tanto, la comunidad científica acumula ya dos décadas de experiencia investigadora en MSNs como sistemas de liberación controlada de fármacos. En este discurso abordaré los avances más recientes que hemos desarrollado en el Grupo de Investigación de Biomateriales Inteligentes de la Prof. María Vallet-Regí en la Universidad Complutense de Madrid, en la línea de investigación de MSNs para el tratamiento de la infección bacteriana.

Las principales fortalezas de las MSNs son: su elevada superficie (ca. 1000 m²/g) y volumen de poro (ca. 1 cm³/g), lo que se traduce en una gran capacidad para albergar fármacos en su interior; su biocompatibilidad, robustez y estabilidad, así como la facilidad de ser producidas a gran escala; la presencia de grupos silanol en superficie lo que permite funcionalizar estos nanosistemas utilizando diversas estrategias. Todo ello permite una gran versatilidad en cuanto al diseño de estos nanosistemas. Es por ello que podemos comparar las MSNs con un cubo de Rubick en el que cada cara representa un aspecto a modificar en estos nanosistemas como son, sus características estructurales, la incorporación de agentes de vectorización a la diana terapéutica; la funcionalización con elementos que les doten de estabilidad en el medio biológico y propiedades furtivas frente al sistema fagocítico mononuclear; la carga de péptidos, proteínas y material genético (ARN/ADN); la incorporación de elementos que respondan a estímulos; y la carga de fármacos y/o cationes terapéuticos.

Gracias a su enorme versatilidad y las numerosas posiciones utilizando la analogía con el cubo de Rubick, será posible diseñar múltiples nanosistemas para tratar infecciones bacterianas. Los elementos principales incluyen: agentes de vectorización para el transporte selectivo de agentes antimicrobianos al microentorno bacteriano (bacteria y/o *biofilm*); elementos estímulo-respuesta que permitan la administración controlada de los antimicrobianos sin que haya liberación prematura antes de alcanzar la diana; cationes metálicos terapéuticos para lograr efectos antimicrobianos potenciados y/o sinérgicos; y otros componentes que permitan combinar la administración de fármacos con otras aproximaciones terapéuticas, como la terapia fotodinámica (PDT), la terapia fototérmica, etc (26,28).

Utilizando diversas aproximaciones científicas hemos diseñado y desarrollado nanoformulaciones bacterianas avanzadas basadas en MSNs con varios propósitos: 1) evaluar la capacidad de las MSNs como nanosistemas dosificadores de antibióticos; 2) incorporar elementos estímulo-respuesta que permitan una liberación inteligente de fármacos; 3) incorporar ligandos de vectorización

para desarrollar nanosistemas con capacidad para dirigirse a la bacteria y/o al *biofilm*; 4) desarrollar nanosistemas multiterapia mediante la combinación de diferentes agentes antimicrobianos, como antibióticos y cationes terapéuticos.

3.1. MSNs como nanosistemas dosificadores de antibióticos

La primera aproximación ha consistido en evaluar la capacidad de las MSNs de actuar como nanosistemas dosificadores de antibióticos. Hasta ahora, un gran número de estudios recogidos en la bibliografía se han centrado a evaluar el efecto antibacteriano y/o antibiofilm de nanosistemas multicomponente en su conjunto, es decir, evaluando el efecto combinado de los diferentes elementos en el nanotransportador (19-21, 29-31). Sin embargo, no se había prestado atención a estudiar únicamente el efecto de la carga antibiótica liberada desde las MSNs. En este sentido, en el marco de la Tesis Doctoral de Anna Aguilar Colomer, y en colaboración con el Dr. Jaime Esteban Moreno, del Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jiménez Díaz, de Madrid, hemos publicado una investigación donde se evalúan de forma sistemática y cuantitativa las dosis activas y el efecto en el *biofilm* bacteriano de la carga antibiótica liberada desde MSNs (32). Para ello, se cargaron por impregnación y de forma independiente MSNs con antibióticos de diferentes familias; se realizaron estudios de liberación "in vial" en disoluciones fisiológicas acelulares, recogiendo las dosis de la carga antibiótica liberada a diferentes tiempos; y se determinaron las curvas de actividad biológica junto con el impacto de la carga antibiótica activa sobre *biofilms* de bacterias Gram-positivas (*S. aureus*) y Gram-negativas (*E. coli*). Por último, se evaluó la citotoxicidad de los nanosistemas.

Los resultados obtenidos para el levofloxacino (LEVO), como ejemplo ilustrativo, muestran una liberación muy sostenida en el tiempo, la cual se explica porque este antibiótico presenta una fuerte interacción con la superficie del nanotransportador a pH fisiológico a través de enlaces de hidrógeno con los grupos silanol de la matriz de sílice. Los ensayos microbiológicos realizados para evaluar la capacidad *antibiofilm* en bacterias *S. aureus* indicaron que las dosis de LEVO liberadas a los distintos tiempos ensayados redujeron significativamente el *biofilm* hasta un 99,9% incluso para la dosis liberada a las 72 horas, y sin aparición de resistencia bacteriana. Por último, no se observó citotoxicidad del nanosistema a ninguna de las concentraciones ensayadas (10–75 µg/mL), como demuestran los estudios de viabilidad realizados en células preosteoblásticas MC3T3-E1. Este estudio pone de manifiesto que las MSNs son excelentes nanotransportadores para cargar y liberar antibióticos de diversas familias, conservando su actividad antimicro-



biana. Es por ello que las MSNs constituyen nanoplataformas ideales como punto de partida hacia el diseño de nanoformulaciones avanzadas en el desarrollo de terapias personalizadas para el tratamiento de la infección bacteriana.

3.2. Nanosistemas basados en MSNs para la liberación de antibióticos estímulo-respuesta

La segunda aproximación ha consistido en la incorporación de elementos estímulo-respuesta para desarrollar sistemas de liberación controlada de antibióticos demanda cuando se aplica un estímulo externo. De este modo, en el marco de la Tesis Doctoral de Elena Álvarez Corchado, y en colaboración con el grupo de investigación de la Dra. María del Puerto Morales, del Instituto de Ciencia de Materiales (ICMM) del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) hemos desarrollado un nuevo nanosistema magnético basado en MSNs que permite combinar la liberación de antibióticos activada por un campo magnético alterno (AMF, de la terminología anglosajona *alternating magnetic field*) y la hipertermia magnética contra *biofilms* bacterianos (33).

La síntesis del nanosistema consistió en una serie de etapas mediante las cuales las MSNs se decoraron con polietilenglicol (PEG), principalmente para mejorar la estabilidad coloidal, y con un polímero termosensible a base de poli-N-isopropilacrilamida (PNIPAM), el cual puede experimentar un cambio conformacional de hidrofílico a hidrofóbico (lineal a globular) a una temperatura entre 40-43 °C. Además, la superficie externa del nanosistema recubierto de polímero se decoró con nanopartículas superparamagnéticas (SPIONs, de la terminología anglosajona *superparamagnetic iron oxide nanoparticles*) de magnetita (Fe_3O_4), previamente sintetizadas por el método de descomposición térmica seguido de un intercambio parcial del ligando ácido oleico por ácido cítrico (34). En el nanosistema, las SPIONs actúan como puntos calientes, ya que son capaces de generar calor tras la aplicación de un AMF, alcanzando la temperatura necesaria para inducir un cambio conformacional en el polímero, de lineal a globular, y provocando la apertura del poro y la liberación de la carga antibiótica (35).

La carga de antibiótico, en este caso LEVO, se llevó a cabo por el método de impregnación a 50 °C para provocar que el polímero adoptara una conformación globular y permitir que el antibiótico entrara en el interior de los poros. A continuación, la muestra se enfrió para favorecer que el polímero adoptara una conformación extendida y bloqueara las entradas de los poros, evitando así la liberación prematura del antibiótico.

Los estudios de liberación de antibiótico llevados a cabo a diferentes temperaturas, para evaluar el efecto de hipertermia en el polímero termosensible, revelaron que la cantidad de LEVO liberado aumentó al incrementar la temperatura. Por otro lado, se ob-

servó que la aplicación de un AMF a 37 °C provocó una mayor liberación de antibiótico, debido al efecto de hipertermia en los nanosistemas.

Este diseño innovador del nanosistema, donde SPIONs decoran la superficie exterior, permitiría el contacto estrecho de la nanopartícula magnética con el *biofilm* bacteriano, y el efecto de la hipertermia magnética, así como el ligero efecto antimicrobiano inherente a las SPIONs (36), no se verían apantallados por la estructura de sílice. Los ensayos microbiológicos revelaron que la exposición de *biofilms* de *E. coli* a 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ del nanosistema y la aplicación de un AMF (202 kHz, 30 mT) redujeron el número de bacterias viables en 4 \log_{10} unidades en comparación con el control. Esta prueba de concepto, basada en la combinación de la terapia de hipertermia magnética y la liberación de antibióticos en respuesta a la temperatura desde una única nanoplataforma, constituye una estrategia prometedora para el tratamiento local de las infecciones bacterianas asociadas a *biofilms*.

3.3. Nanosistemas basados en MSNs dirigidos al microentorno bacteriano

La tercera aproximación se ha centrado en la incorporación de ligandos de vectorización que guíen a nuestros sistemas a la diana terapéutica, el microentorno bacteriano. Con una analogía al mítico *Caballo de Troya*, hemos diseñado nanosistemas que son capaces de dirigirse específicamente a la bacteria en estado planctónico y/o al *biofilm*. La administración de agentes antimicrobianos exclusivamente en la diana terapéutica sin afectar las células sanas tiene como objetivo aumentar la selectividad y la eficacia del tratamiento al reducir las dosis de antibióticos, la frecuencia del tratamiento y los efectos secundarios.

Aunque en la infección bacteriana hay atisbos del efecto de Permeabilidad y Retención Mejorada (EPR, de la terminología anglosajona *enhanced permeability and retention*) característico de ciertos tumores sólidos, apenas se ha explotado esta vectorización pasiva en los nanosistemas antimicrobianos (37). En este sentido, las estrategias que están adquiriendo una relevancia creciente consisten en la vectorización activa, basadas en decorar la superficie más externa de los nanosistemas con ligandos de vectorización que originen una acumulación selectiva en la pared bacteriana o en el *biofilm*. El mayor avance de esta aproximación científica es la posibilidad de mejorar la eficacia de los agentes antimicrobianos no sólo por la interacción específica de los nanosistemas con bacterias o *biofilms*, sino también a la combinación con mecanismos de acción adicionales adscritos al propio nanotransportador, como la desestabilización de la pared celular bacteriana o el aumento de la penetrabilidad del *biofilm* (38). Teniendo en cuenta la naturaleza del *biofilm* y la afinidad de ciertas sustancias a ella, hemos diseñado



nanosistemas capaces de penetrar el *biofilm* y aumentar la actividad antimicrobiana de los antibióticos cargados. Por otra parte, considerando que la pared bacteriana está cargada negativamente, hemos diseñado nanosistemas que contienen grupos funcionales con cargas positivas en exterior de forma que exista una atracción electrostática con la bacteria.

En este contexto, a continuación, se describen los avances científicos más recientes desarrollados en nuestro grupo de investigación.

Vectorización al *biofilm*

En primer lugar, abordaremos las estrategias que hemos desarrollado para guiar nuestros nanosistemas al *biofilm* bacteriano. Como se ha comentado anteriormente, un *biofilm* es una comunidad bacteriana en la cual las bacterias están embebidas en una matriz extracelular principalmente compuesta de polisacáridos, incluyendo glicanos. Por otra parte, las lectinas, como la Concanavalina A (ConA) son glicoproteínas que están presentes en una variedad de organismos, la mayoría de ellos de origen vegetales, y que tienen la capacidad intrínseca de reconocer y unirse específicamente a los glicanos formando glicoconjugados. Este hecho inspiró la idea de anclar esta lectina a la superficie de las MSNs como agente de vectorización al *biofilm*, investigación que se llevó a cabo durante la etapa predoctoral de Marina Martínez Carmona (39).

Para llevar a cabo la síntesis del nanosistema, las MSNs de sílice pura se sintetizaron por el bien conocido método de Stöber modificado (40), y se funcionalizaron externamente con un alcoxilano conteniendo grupos ácido carboxílico, lo cuales permitieron el anclaje final de la ConA por reacción con los grupos amino presentes en la proteína. La carga de LEVO se llevó a cabo por el método de impregnación en etanol y siempre antes del anclaje de la ConA, para evitar la desnaturalización de la proteína. Se registraron los perfiles de liberación del antibiótico desde las diferentes matrices, observándose que el porcentaje máximo de LEVO liberado desde MSNs de sílice pura era de alrededor de un 30 %, mientras que la presencia de ConA en la superficie externa de las MSNs facilitó la liberación del 100% del antibiótico cargado. Por otra parte, el efecto de la vectorización se estudió por microscopía confocal utilizando los nanosistemas sin cargar con antibiótico. Los estudios confirmaron la internalización de los nanosistemas cuando están funcionalizados con ConA. De hecho, se observó claramente que, cuando las muestras no estaban funcionalizadas, las nanopartículas eran visibles en la superficie, mientras que, cuando estaban funcionalizadas con ConA, se observó la presencia de nanopartículas en el interior del *biofilm*. Finalmente se evaluó el efecto *antibiofilm* de los nanosistemas determinando la viabilidad celular (bacterias vivas) y el área ocupada por la matriz protectora del *biofilm*. Los resultados indi-

caron que la combinación sinérgica de la ConA (como agente de vectorización al *biofilm*) y el LEVO (antibiótico) en una única nanoplateforma provoca una destrucción completa del *biofilm* bacteriano.

Vectorización a la bacteria

Como se ha comentado anteriormente, otra aproximación posible es dirigir los nanosistemas a la bacteria. El objetivo es aprovechar las interacciones electrostáticas atractivas entre las nanopartículas cargadas positivamente y la pared celular de las bacterias, cargada negativamente, para favorecer la acumulación y adhesión de dichas nanopartículas a la pared bacteriana, pudiendo perturbar así las vías metabólicas o produciendo perforaciones y fisuras la pared celular, provocando su pérdida o su desestructuración (41), e incluso promover la internalización en la bacteria.

A la hora de elegir un ligando de vectorización hay que tener en cuenta una serie de características: i) que no sea un agente tóxico; ii) que contenga cargas positivas; y iii) que tenga muchos puntos de anclaje para favorecer su internalización. En este contexto, en 2018 propusimos una nueva estrategia para anclar ligandos de vectorización a la bacteria para el desarrollo de "nanoantibióticos" para el tratamiento de la infección bacteriana (42,43). Concretamente, diseñamos nanosistemas que consisten en MSNs, cuyos poros se cargan con LEVO y a cuya superficie externa se une covalentemente un dendrímero policatiónico, poli(propilenoimina) de tercera generación (PPI-G3), que confiere al nanosistema de una elevada densidad de carga positiva superficial. El objetivo fue que este nanosistema se internalizara en bacterias Gram-negativas, y liberara la carga antibiótica en su interior, pudiendo destruir así la bacteria de forma más eficiente. Los estudios de internalización utilizando los nanosistemas libres de antibiótico demostraron que el dendrímero policatiónico PPI-G3 anclado a las MSNs favorece la penetrabilidad a través de la pared celular de las bacterias *E. coli*. La flexibilidad y la alta densidad de cargas positivas proporcionadas por el dendrímero G3 en la superficie de las MSNs permiten una estrecha interacción atractiva con la pared bacteriana cargada negativamente, produciendo la permeabilización de la membrana y favoreciendo así la internalización del nanoantibiótico. Finalmente, se evaluó la eficacia antimicrobiana *in vitro* de los nanosistemas completos, es decir, cargados con el antibiótico, frente a biofilms de *E. coli*. Los resultados demostraron que la combinación sinérgica de elementos que favorezcan la internalización bacteriana y agentes antimicrobianos en un único nanosistema provoca un notable efecto antimicrobiano contra el *biofilm* bacteriano. Este novedoso nanoantibiótico se concibe como una alternativa prometedora a los tratamientos disponibles actualmente para el tratamiento de infecciones.



3.4. Incorporación de cationes metálicos en nanosistemas basados en MSNs

La cuarta aproximación se ha basado en la incorporación de cationes metálicos a los nanosistemas basados en MSNs. Los complejos metálicos se encuentran actualmente en desarrollo clínico para el tratamiento del cáncer, la malaria y enfermedades neurodegenerativas. Sin embargo, se ha prestado poca atención a su posible aplicación como compuestos antimicrobianos (44). A menudo se piensa que los metales son tóxicos y peligrosos, pero la vida tal como la conocemos no sería posible sin ellos. Los metales traza son esenciales para que nuestro cuerpo funcione; son un componente de muchas proteínas que nos ayudan a convertir los nutrientes en energía y nos mantienen vivos. De hecho, los metales han desempeñado un papel crucial en la medicina a lo largo de la historia; el arsénico fue el primer tratamiento eficaz de la sífilis (Arsfenamina, 1910) y el oro en el tratamiento de la artritis reumatoide (Auranofina, 1985), mientras que el fármaco a base de platino, el Cisplatino, aprobado en 1978, todavía se usa en la mayoría de los tratamientos contra el cáncer en la actualidad.

Recientemente, los investigadores de la Universidad de Queensland en colaboración con científicos internacionales han descubierto 23 compuestos previamente inexplorados que contienen metales como plata, manganeso, zinc, rutenio e iridio que tienen actividad antibacteriana y antifúngica. Dicho estudio revela que los metales podrían ser el vínculo a nuevos antibióticos para combatir la creciente amenaza mundial de las resistencias bacterianas.

En este sentido, teniendo en cuenta la capacidad del sistema que hemos visto anteriormente, que incorpora el dendrímero policatiónico PPI-G3 y que tiene capacidad para penetrar en la bacteria, hemos partido de este nanosistema y hemos incorporado un catión metálico antimicrobiano en su superficie además de un antibiótico dentro de los poros. Para ello hemos desarrollado un procedimiento sintético sencillo y versátil que permite la complejación de las aminas terciarias del dendrímero con diferentes cationes como plata, zinc o cobre, dependiendo de las necesidades del paciente. Concretamente, mediante esta aproximación, es posible desarrollar nanosistemas multiterapia contra la infección ósea donde: La presencia de ambos agentes antimicrobianos evitaría la aparición de resistencias bacterianas; dependiendo del catión metálico incorporado podría promoverse la regeneración ósea (favoreciendo por ejemplo la osteogénesis en el caso del zinc o la angiogénesis en el caso del cobre).

Recientemente hemos publicado un artículo en el cual se emplea esta estrategia sintética para diseñar un nanosistema de sílice mesoporosa con efecto dual, antimicrobiano y osteogénico, mediante la combinación LEVO y Zn^{2+} (45). Para demostrar la versatilidad del nanosistema se incorporaron iones Ag^+ en un nanosistema de referencia. Para llevar a cabo la síntesis, el derivado

sililado del dendrímero PPI-G3 se unió covalentemente a la superficie externa de las MSNs en una primera etapa. Posteriormente los cationes metálicos (Zn^{2+} o Ag^+) se incorporaron al sistema mediante su complejación con los grupos amina terciarias del dendrímero para dar lugar al material MSNS-G3- M^{n+} . Para llevar a cabo dicha complejación se utilizaron nitratos metálicos en medio acuoso como precursores. La carga del antibiótico en las MSNs se llevó a cabo por el método de impregnación de forma simultánea al anclaje del dendrímero en la superficie externa, de modo que la accesibilidad del LEVO al interior de los poros no se vea dificultado por impedimento estérico de las ramas dendríticas.

La caracterización por microscopía electrónica de transmisión (TEM, de su terminología anglosajona *Transmission Electron Microscopy*) de las MSNs de partida y de las nanopartículas MSNS-G3- M^{n+} revelaron que la funcionalización y la posterior complejación catiónica no alteraron ni la morfología ni el orden mesoporoso de las nanopartículas. Sin embargo, se observó un área más oscura en la parte de la superficie externa de los nanosistemas que incorporan los cationes. Este hecho podría atribuirse a la mayor intensidad de una región rica en electrones debido a la complejación de cationes con el dendrímero de poliamina, que se encuentra en la superficie más externa de los nanosistemas

Asimismo, se llevaron a cabo estudios preliminares mediante microscopía confocal para evaluar el efecto directo de los nanosistemas MSN-G3- M^{n+} (sin cargar con fármaco) frente a *biofilms* de *E. coli*. El *biofilm* control presentó una estructura típica compuesta por una capa de bacterias vivas cubierta con una capa protectora de polisacáridos. Sin embargo, para los *biofilms* incubados durante 2 h con muestras de MSN-G3- Zn^{2+} o MSN-G3- Ag^+ , se observó una notable reducción del área del *biofilm*, junto con la presencia de regiones oscuras y pequeñas colonias bacterianas, además de bacterias aisladas por toda la superficie. Estos resultados indicaron que estos nanosistemas provocan la disrupción del *biofilm*, la cual es más pronunciada en los nanosistemas que contienen Ag^+ , en buen acuerdo con el mayor efecto antimicrobiano del catión Ag^+ comparado con el catión Zn^{2+} (46).

Una vez comprobado el efecto de las muestras que incorporan cationes (MSN-G3- M^{n+}) sobre el *biofilm*, se evaluó el efecto bactericida sobre los *biofilms* de *E. coli* de los nanosistemas cargados tanto con el antibiótico LEVO como con el catión Zn^{2+} (MSN-G3-L- Zn^{2+}). Los resultados obtenidos tras la exposición de *biofilms* preformados de *E. coli* expuestos a diferentes concentraciones (30 y 60 $\mu\text{g/mL}$) de las distintas muestras indicaron que los nanosistemas conteniendo sólo uno de los agentes microbicidas, es decir, el catión (MSN-G3- Zn^{2+}) o el antibiótico (MSN-G3-L), produjeron una notable reducción del *biofilm*. Sin embargo, se alcanzaron valores superiores al 99% de reducción cuando los agentes incorporaron los dos agentes simultáneamente.



Los estudios de internalización de los nanosistemas en células preosteoblásticas MC3T3-E1 indicaron que, en comparación con la MSN de sílice pura, la unión del dendrímero G3, que proporciona al sistema cargas positivas, provoca un aumento de la internalización. La disminución del grado de internalización de las muestras cargadas con LEVO se debió a que la incorporación del antibiótico disminuye ligeramente la carga positiva del nanosistema. Finalmente, la incorporación del catión Zn^{2+} provocó valores de internalización dosis dependientes y similares a los del sistema que sólo incorporaba el dendrímero. Así, dosis de $60 \mu\text{g/mL}$ de nanosistemas con Zn^{2+} originaron valores de internalización celular superiores al 90%.

Los ensayos de viabilidad celular en células MC3T3-E1 indicaron un efecto no citotóxico para el MSN-G3-L- Zn^{2+} hasta $60 \mu\text{g/mL}$, manteniéndose los valores de viabilidad celular en el rango de 80 a 90% tanto a las 24 h como a las 96 h de ensayo.

En función de los resultados obtenidos, seleccionamos dosis de hasta $60 \mu\text{g/mL}$ para evaluar la influencia de los nanosistemas que contienen Zn^{2+} en el efecto sobre la diferenciación osteogénica en células MC3T3-E1. Por una parte, se realizó un estudio de mineralización mediante la tinción de compuestos de calcio depositados en los pocillos con Rojo de Alizarina S y medida de absorbancia a 620 nm. Por otra parte, se midió la actividad enzimática de la fosfatasa alcalina (ALP, de su terminología anglosajona *Alkaline Phosphatase*), enzima que participa en el proceso de formación y mineralización del hueso en la fase inicial de la diferenciación osteogénica. Los resultados de dicho estudio indican que la dosis de $60 \mu\text{g/mL}$ del nanosistema completo (MSN-G3-L- Zn^{2+}) genera diferenciación osteogénica sin comprometer la viabilidad, y reduce eficazmente el *biofilm* bacteriano.

4. CONCLUSIÓN

En conclusión, a lo largo de este discurso hemos expuesto los avances más recientes desarrollados en el grupo de investigación de la Profesora María Vallet-Regí centrados en el desarrollo de diversos nanosistemas antibacterianos basados en Nanopartículas Mesoporosas de Sílice (MSNs). La versatilidad de las MSNs permite la incorporación de diferentes elementos funcionales, tales como antibióticos, elementos estímulo-respuesta, ligandos de vectorización a la bacteria y/o al *biofilm* bacteriano, o cationes antimicrobianos multiterapéuticos. Los nanosistemas desarrollados, se presentan como nanoformulaciones avanzadas muy prometedoras, como alternativa a los tratamientos convencionales con antibióticos, en la lucha contra la infección bacteriana.

Agradecimientos

Mi agradecimiento a los miembros de la Real Academia Nacional de Farmacia por el honor que me hacen con este nombramiento y por su afectuosa acogida.

Permítanme recordar unos versos del poeta sevillano Antonio Machado, "*Caminante, son tus huellas, el camino y nada más; caminante, no hay camino, se hace camino al andar...*", y en eso ha consistido mi carrera científica, un camino que he recorrido y sigo recorriendo, con ilusión, vocación y ganas de seguir aprendiendo.

Asimismo, quiero expresar mi agradecimiento a la Junta de Gobierno de esta Real Academia por haberme elegido como Académica Correspondiente y a la Sección Primera de Química y Física por haberme propuesto. Reconozco que me emocioné cuando me invitaron a presentar mi candidatura y ahora me siento verdaderamente honrada y agradecida.

Por todo ello, será un placer para mí formar parte de esta Real Academia Nacional de Farmacia y espero poder contribuir al trabajo que en ella se realiza. Ante el reto que se me presenta, sólo puedo decir que estoy dispuesta a acometerlo con esfuerzo y dedicación, pues, en palabras de Albert Einstein, "*el genio se hace con un 1% de talento y un 99% de trabajo*".

Quiero agradecer muy especialmente a la Excelentísima Sra. Doña María Vallet-Regí, mi mentora, maestra, referente y amiga desde hace ya 17 años, quien me ha impulsado a entrar en esta Real Academia y ha elaborado con mucho cariño la presentación a mi discurso. Muchas gracias Marita por esas bonitas y sentidas palabras que me has dedicado, con las que has conseguido emocionarme. Has hablado de mis logros y, en este sentido, creo que la frase original de Juan de Salisbury, también empleada por Isaac Newton "*si llegado a ver más lejos es porque me subí a hombros de gigantes*" adquiere su máximo significado. Gracias por las múltiples oportunidades que me has brindado y por todos los valores que me has transmitido. Para mí eres todo un referente científico, y como persona te has ganado mi admiración, mi respeto, mi cariño y mi amistad.

Por supuesto, mi agradecimiento a mis profesores y maestros a lo largo de toda mi vida académica y mi carrera investigadora, que me han introducido en esta área tan multidisciplinar como son los Biomateriales.

Quiero dar las gracias a todos mis compañeros y amigos del Departamento de Química en Ciencias Farmacéuticas, con los que he tenido la oportunidad de trabajar, aprender y compartir el día a día.

Quisiera hacer mención especial a mi familia por su apoyo incondicional que me ha permitido llegar hasta aquí. A mi madre, que por desgracia ya no se encuentra entre nosotros; y a mi padre, que estará siguiendo este acto on-line. A Merche, Juanjo,



Laura, gracias todo.

Por último, no quiero olvidarme de mi amiga Gema; mis compañeras y amigas Isabel, Blanca y Sandra, gracias por vuestra amistad; las personas que tanto me han ayudado a nivel personal, Paula, Águeda, Pilar, Ana y Yolanda, gracias por todo.

Para finalizar, quisiera agradecer a las entidades financiadoras como la European Research Council con el proyecto VERDI, liderado por la Prof. Dra. María Vallet-Regí, al Ministerio de Ciencia e Innovación del Gobierno de España, y a los centros de investigación con los que colaboramos, un gran apoyo para nosotros, y que también han hecho posible esta investigación.

Por supuesto mi más sincero agradecimiento a todo el Grupo de Investigación en Biomateriales Inteligentes, liderado por la Prof. Vallet-Regí, al que tengo el privilegio de pertenecer.

Quisiera reiterar mi agradecimiento a la Real Academia Nacional de Farmacia por este nombramiento como Académica Correspondiente. Es un auténtico honor para mí formar parte de esta ilustre Institución. Gracias, de todo corazón por acogerme en esta casa, en la con devoción daré lo mejor de mí para contribuir a proporcionar soluciones a los retos y demandas de la sociedad actual.

Por último, me gustaría finalizar mi intervención con unas imágenes de la ciudad en que nací, Madrid, y sobre ellas, una frase de la célebre investigadora y Premio Nobel, Marie Curie: *"La vida no es fácil para ninguno de nosotros. Debemos tener perseverancia y, sobre todo, confianza en nosotros mismos. Debemos creer que estamos dotados para algo y que esto debe ser alcanzado."*

Muchas gracias a todos por venir, por vuestro apoyo y por vuestra atención.

He dicho.

5. REFERENCIAS

- Pagani Ballett R. Enfermedades epidémicas y pandémicas: Causas, cronología e implicaciones socioculturales An. Real Acad. Farm. 2020; 86: 189-214.
- Piret J, Boivin G. Pandemics Throughout History. Front Microbiol. 2021; 11: 631736.
- Ogunsona EO, Muthuraj R, Ojogbo E, Valerio O, Mekonnen TH. Engineered nanomaterials for antimicrobial applications: A review. Appl. Mater. Today 2020; 18: 100473.
- W.H.O. Antimicrobial resistance. 2021. Available online: www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance (accessed on 24 October 2022).
- Zaidi S, Misba L, Khan AU. Nano-therapeutics: A revolution in infection control in post antibiotic era. Nanomed. Nanotechnol., Biol. Med. 2017; 13: 2281–301.
- W.H.O. Antimicrobial Resistance, Global Report on Surveillance, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2014.
- O'Neill J. Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. Rev. Antimicrob. Resist. 2014.
- O'Neill, J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendation. Rev. Antimicrob. Resist. 2016.
- W.H.O. New Report Calls for Urgent Action to Avert Antimicrobial Resistance Crisis. 2019. Available online: www.who.int/news/item/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-antimicrobial-resistance-crisis (accessed on 24 October 2022).
- Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. Lancet 2022; 399: 629-55.
- COVID-19: U.S. Impact on Antimicrobial Resistance, Special Report 2022. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC. 2022.
- Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. Nat. Rev. Drug Discovery 2003; 2: 114-22.
- Kumar A, Alam A, Rani M, Ehtesham NZ, Hasnain SE. Biofilms: Survival and defense strategy for pathogens. Int. J. Med. Microbiol. 2017; 307: 481-9.
- Høiby N, Bjarnsholt T, Givskov M, Molin S, Ciofu O. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. Int. J. Antimicrob. Agents 2010; 35: 322-32
- Donlan RM. Role of biofilms in antimicrobial resistance. ASAIO J. 2000; 46: S47-S52.
- Sharma D, Misba L, Khan AU. Antibiotics versus biofilm: an emerging battleground in microbial communities. Antimicrob Resist Infect Control. 2019; 8: 76.
- Mah T-F. Biofilm-specific antibiotic resistance. Future Microbiol. 2012; 7: 1061-72.
- Watnick P, Kolter R, Biofilm, city of microbes. J. Bacteriol. 2000; 182: 2675-9.
- Vallet-Regí M, González B, Izquierdo-Barba I. Nanomaterials as Promising Alternative in the Infection Treatment. Int. J. Mol. Sci. 2019; 20: 3806.
- Colilla M, Vallet-Regí M. Targeted Stimuli-Responsive Mesoporous Silica Nanoparticles for Bacterial Infection Treatment. Int. J. Mol. Sci. 2020; 21: 8605.
- Álvarez E, González B, Lozano D, Doadrio AL, Colilla M, Izquierdo-Barba I. Nanoantibiotics Based in Mesoporous Silica Nanoparticles: New Formulations for Bacterial Infection Treatment. Pharmaceutics. 2021; 13: 2033.
- Mitchell MJ, Billingsley MM, Haley RM, Wechsler ME, Peppas NA, Langer R. Engineering precision nanoparticles for drug delivery. Nat. Rev. Drug Discov. 2021; 20: 101-24.
- Vallet-Regí M, Balas F, Arcos D. Mesoporous Materials for Drug Delivery. Angew. Chem. Int. Ed. 2007; 46: 7548-58.
- Vallet-Regí M. Our contributions to applications of mesoporous silica



- nanoparticles. *Acta Biomater.* 2022; 137: 44-52.
25. Zhou S, Zhong Q, Wang Y, Hu P, Zhong W, Huang C-B, Yu Z-Q, Ding C-D, Liu H, Fu J. Chemically engineered mesoporous silica nanoparticles-based intelligent delivery systems for theranostic applications in multiple cancerous/non-cancerous diseases. *Coord. Chem. Rev.* 2022; 452: 214309.
 26. Vallet-Regí M, Schüth F, Lozano D, Colilla M, Manzano M. Engineering mesoporous silica nanoparticles for drug delivery: where are we after two decades? *Chem. Soc. Rev.* 2022; 51: 5365–451.
 27. Vallet-Regí M, Rámila A, Del Real RP, Pérez-Pariente J. A New Property of MCM-41: Drug Delivery System. *Chem. Mater.* 2001; 13: 308-11.
 28. Castillo RR, Vallet-Regí M. Recent Advances Toward the Use of Mesoporous Silica Nanoparticles for the Treatment of Bacterial Infections. *Int J Nanomedicine.* 2021; 16: 4409-30.
 29. Martínez-Carmona M, Gun'ko YK, Vallet-Regí M. Mesoporous Silica Materials as Drug Delivery: "The Nightmare" of Bacterial Infection. *Pharmaceutics* 2018; 10: 279.
 30. Bernardos A, Piacenza E, Sancenón F, Hamidi M, Maleki A, Turner RJ, Martínez-Máñez R. Mesoporous Silica-Based Materials with Bactericidal Properties. *Small* 2019; 15: 1900669.
 31. Selvarajan V, Obuobi S, Ee PLR. Silica Nanoparticles-A Versatile Tool for the Treatment of Bacterial Infections. *Front. Chem.* 2020; 8: 602.
 32. Aguilar-Colomer A, Colilla M, Izquierdo-Barba I, Jiménez-Jiménez C, Mahillo I, Esteban J, Vallet-Regí M. Impact of the antibiotic-cargo from MSNs on gram-positive and gram-negative bacterial Biofilms. *Micropor. Mesopor. Mat.* 2021; 311: 110681.
 33. Álvarez E, Estévez M, Gallo-Cordova A, González B, Castillo RR, Morales MdP, Colilla M, Izquierdo-Barba I, Vallet-Regí M. Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles Decorated Mesoporous Silica Nanosystem for Combined Antibiofilm Therapy. *Pharmaceutics* 2022; 14: 163.
 34. Salas G, Casado C, Teran FJ, Miranda R, Serna CJ, Morales MP. Controlled synthesis of uniform magnetite nanocrystals with high-quality properties for biomedical applications. *J. Mater. Chem.* 2012; 22: 21065-75.
 35. Guisasola E, Baeza A, Talelli M, Arcos D, Moros M, De La Fuente JM, Vallet-Regí M. Magnetic-Responsive Release Controlled by Hot Spot Effect. *Langmuir* 2015; 31: 12777-82.
 36. M. Arakha, S. Pal, D. Samantarai, T. K. Panigrahi, B. C. Mallick, K. Pramanik, B. Mallick and S. Jha, Antimicrobial activity of iron oxide nanoparticle upon modulation of nanoparticle-bacteria interface. *Sci. Rep.* 2015; 5: 1-12.
 37. Azzopardi EA, Ferguson EL, Thomas DW. The enhanced permeability retention effect: a new paradigm for drug targeting in infection. *J. Antimicrob. Chemother.* 2013; 68: 257–74.
 38. Wang L, Hu C, Shao L. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *Int J Nanomedicine.* 2017; 12: 1227-49.
 39. Martínez-Carmona M, Izquierdo-Barba I, Colilla M, Vallet-Regí M. Concanavalin A-targeted mesoporous silica nanoparticles for infection treatment. *Acta Biomater.* 2019; 96: 547-56.
 40. Grün, M; Lauer I, Unger KK. The synthesis of micrometer- and sub-micrometer-size spheres of ordered mesoporous oxide MCM-41. *Adv. Mater.* 1997; 9: 254-7.
 41. Lam SJ, O'Brien-Simpson NM, Pantarat N, Sulistio A, Wong EH, Chen YY, Lenzo JC, Holden JA, Blencowe A, Reynolds EC, Qiao GG. Combating multidrug-resistant Gram-negative bacteria with structurally nanoengineered antimicrobial peptide polymers. *Nat Microbiol.* 2016; 1: 16162.
 42. Pedraza D, Díez J, Barba I, Colilla M, Vallet-Regí M. Amine-Functionalized Mesoporous Silica Nanoparticles: A New Nanoantibiotic for Bone Infection Treatment. *Biomed. Glasses* 2018; 4: 1-12.
 43. González B, Colilla M, Díez J, Pedraza D, Guembe M, Izquierdo-Barba I, Vallet-Regí M, Mesoporous silica nanoparticles decorated with polycationic dendrimers for infection treatment. *Acta Biomater* 2018; 68: 261-71.
 44. Frei A, Zuegg J, Elliott AG, Baker M, Braese S, Brown C, Chen F, Dowson C, Dujardin G, Jung N, King AP, Mansour AM, Massi M, Moat J, Mohamed HA, Renfrew AK, Rutledge PJ, Sadler PJ, Todd MH, Blaskovich MAT. Metal complexes as a promising source for new antibiotics. *Chem. Sci.* 2020, 11, 2627-39.
 45. Álvarez E, Estévez M, Jiménez-Jiménez C, Colilla M, Izquierdo-Barba I, González B, Vallet-Regí M. A versatile multicomponent mesoporous silica nanosystem with dual antimicrobial and osteogenic effects. *Acta Biomater.* 2021; 136: 570-81.
 46. Fan W, Sun Q, Li Y, Tay FR, Fan B. Synergistic mechanism of Ag + - Zn2 + in anti-bacterial activity against *Enterococcus faecalis* and its application against dentin infection. *J. Nanobiotechnology* 2018; 16: 10.

Si desea citar nuestro artículo:

Nanoformulaciones avanzadas contra la infección bacteriana

Montserrat Colilla Nieto

An Real Acad Farm (Internet).

An. Real Acad. Farm. Vol. 88. nº4 (2022) · pp. 727 - 736

DOI: <http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2022.88.04.04>