

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y
POSGRADO EN ALIMENTOS

**Evaluación de nanopartículas de sílice mesoporosa funcionalizadas como
un sistema de administración oral de la molécula bioactiva quercetina**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Doctor en Ciencias de los Alimentos

Presenta:

M.C. Alexis Matadamas Ortiz

Dirigido por:

Dr. Carlos Regalado González

Co-director:

Dr. Prospero Di Pierro

Querétaro, Qro.

2026

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



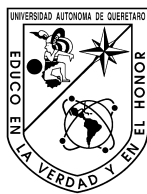
SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Doctorado en Ciencias de los Alimentos

“Evaluación de nanopartículas de sílice mesoporosa funcionalizadas como un sistema de administración oral de la molécula bioactiva quercetina”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Doctor en Ciencias de los Alimentos

Presenta:

M.C. Alexis Matadamas Ortiz

Dirigido por:

Dr. Carlos Regalado González

Dr. Carlos Regalado González
Presidente

Dr. Prospero Di Pierro
Co-Director

Dra. Rosalía Reynoso Camacho
Vocal

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano
Suplente

Dr. Juan Francisco Pérez Robles
Suplente

Dr. José Santos Cruz
Director de la Facultad de Química

Dr. Manuel Toledano Ayala
Secretario de Investigación, Innovación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
2026

Agradecimientos

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación, por la beca otorgada para mis estudios de posgrado.

A la Universidad Autónoma de Querétaro, por poner a mi disposición sus instalaciones y por las facilidades otorgadas para la realización de este proyecto.

Al Laboratorio de Biotecnología en Alimentos por permitirme el uso de equipo y materiales durante toda mi estancia.

A mi director de tesis, el Dr. Carlos Regalado González, por recibirme como su alumno durante mis estudios de posgrado y mantenerse presente en todas las etapas del proyecto, confiando en mis decisiones y corrigiendo cuando fue necesario. A mi co-director, el Dr. Prospero Di Pierro por permitirme realizar una estancia de investigación de las instalaciones del CAISIAL, Nápoles, Italia. A mis sinodales, la Dra. Silvia Lorena Amaya Llano, la Dra. Rosalía Reynoso Camacho y el Dr. Juan Francisco Pérez Robles, por el tiempo dedicado a la revisión, evaluación y enriquecimiento del presente proyecto.

A mi familia, por su incansable e incondicional apoyo durante estos años de preparación y por brindarme la base de valores que guían mi vida, siendo mi ejemplo a seguir en todo momento.

A Abi por brindarme motivación, comprensión, guía y cariño durante estos años y a mis amigos Lulú, Andrés, Monse y Ángel, por sus consejos y su gran apoyo durante mis estudios de doctorado y Pao, Julio, Rebe, Diego y César por su invaluable amistad y compañía.

CONTENIDO

Índice de Tablas	7
Índice de Figuras	8
Resumen	9
Abstract	10
1. Introducción.....	12
2. Antecedentes	13
2.1. Síntesis y carga de nanopartículas de sílice mesoporosa.....	13
2.1.1. Modificación de la estructura de las NSM	14
2.1.2. Funcionalización de las NSM.....	15
2.1.3. Absorción celular de NSM	16
2.1.4. Bioseguridad de las NSM.....	18
2.2. Sistemas de administración oral de quercetina.....	18
2.2.1. Actividad biológica de la quercetina	18
2.2.2. Sistemas de administración oral de quercetina basados en NSM.....	20
2.2.3. Regulaciones sobre los sistemas de administración oral basados en NSM.....	22
2.3. Efectos de la quercetina a nivel celular	22
2.3.1. Efecto citoprotector de la quercetina.	23
2.3.2. Modelo intestinal de células Caco-2.....	24
2.3.3. Hemocompatibilidad	25
3. Justificación	26
4. Hipótesis	28
5. Objetivos	29
5.1. Objetivo general	29

5.2.	Objetivos específicos	29
6.	Materiales y métodos	30
6.1.	Material químico	30
6.2.	Material biológico	30
6.3.	Cultivos celulares	31
6.4.	Síntesis y funcionalización de las NSM	32
6.5.	Caracterización fisicoquímica de las NSM	32
6.5.1.	Espectroscopía FTIR	32
6.5.2.	Determinación de la capacidad de carga	32
6.5.3.	Tamaño de partícula, índice de polidispersión y potencial Z	33
6.5.4.	Análisis de fisisorción de gases	33
6.6.	Liberación de quercetina <i>in vitro</i>	34
6.7.	Digestión gastrointestinal simulada de F-NSM cargadas con Q	34
6.8.	Análisis termogravimétrico	36
6.9.	Análisis de citotoxicidad	36
6.10.	Efecto sobre el estrés oxidativo inducido por H ₂ O ₂	37
6.11.	Cinética de liberación de quercetina	38
6.12.	Estudio de absorción celular	39
6.13.	Ensayo de hemólisis	40
6.14.	Análisis estadístico	40
7.	Resultados	41
7.1.	Caracterización fisicoquímica de las F-NSM	41
7.1.1.	Espectroscopia FTIR	41
7.1.3.	Capacidad de carga	43
7.1.4.	Tamaño de partícula, índice de polidispersión y potencial ζ	45

7.1.5.	Análisis de fisisorción de gases	47
7.2.	Liberación de quercetina <i>in vitro</i> a partir de las F-NSMs	49
7.3.	Digestión gastrointestinal simulada de las F-NSM cargadas con Q.....	51
7.4.	Efecto de las F-NSM/Q sobre células Caco-2	54
7.4.1.	Potencial ζ en medio de cultivo celular	54
7.4.2.	Citotoxicidad de las nanopartículas de sílice mesoporosa.....	55
7.4.3.	Cinética de liberación de quercetina.....	56
7.4.4.	Estudio de absorción celular.....	57
7.4.5.	Efecto citoprotector	59
7.5.	Evaluación de las nanopartículas funcionalizadas usando un modelo animal	65
7.5.1.	Ensayo de hemólisis	65
8.	Conclusiones	67
9.	Referencias	69

Índice de Tablas

Tabla No.	Página No.
Tabla 1. Capacidad de carga de las NSM y F-NSM.....	43
Tabla 2. Tamaño de partícula (TP), índice de polidispersión (IP) y potencial ζ	46
Tabla 3. Área superficial (A_{BET}), volumen de poro (V_p) y diámetro de poro (D_p)	48
Tabla 4. Potencial ζ de las NSM, A-NSM, C-NSM y T-NSM suspendidas en MEM.	55

Índice de Figuras

Figura No.	Página No.
Figura 1. Estrategia general para la síntesis de sílice mesoporosa	14
Figura 2. Estructuras químicas de nanopartículas de sílice mesoporosa funcionalizadas....	15
Figura 3. Representación esquemática de las rutas de endocitosis.....	17
Figura 4. Estructura molecular de la quercetina	19
Figura 5. Espectros FTIR de NSM y F-NSM.....	41
Figura 6. Curvas TGA de las NSM, F-NSM y de la quercetina.....	43
Figura 7. Curvas TGA de NSM y F-NSM vacías o cargadas con Q.....	44
Figura 8. Isotermas de adsorción/desorción de nitrógeno y curvas de distribución de tamaño de poro	48
Figura 9. Cinética de liberación de Q a partir de NSM y F-NSM.....	50
Figura 10. Solubilidad relativa de Q liberada de F-NSM Pre-DS y concentración de Q liberada en medio digestivo simulado añadido con F-NSM	52
Figura 11. Capacidad antioxidante por el método ABTS de Q liberada en agua desionizada pre-DS, post-DGS y post-DIS.	53
Figura 12. Viabilidad de células Caco-2 tras exposición a las NSM y F-NSM	55
Figura 13. Absorción de quercetina de células Caco-2.	58
Figura 14. Viabilidad relativa de células Caco-2 tras exposición a la quercetina.....	60
Figura 15. Viabilidad relativa de células Caco-2 tras exposición a F-NSM/Q y a H ₂ O ₂	62
Figura 16. Viabilidad relativa de células Caco-2 tras exposición al medio de liberación de F-NSM/Q.....	64
Figura 17. Recuperación de la viabilidad relativa de células Caco-2 expuestas a H ₂ O ₂ tras una preincubación con Q libre o F-NSM/Q.....	64
Figura 18. Tasa de hemólisis de las NSM y F-NSM	65

Resumen

Los suplementos alimenticios de quercetina (Q) presentan una baja biodisponibilidad oral debido a su degradación en el tracto gastrointestinal, una limitación que puede superarse utilizando nanopartículas de sílice mesoporosa (NSM). El objetivo de este estudio fue dilucidar el efecto de la funcionalización de las NSM con grupos amino (A-NSM), carboxilo (C-NSM) o tiol (T-NSM) sobre su eficiencia como sistema de administración oral de quercetina. Las partículas se caracterizaron mediante FT-IR, tamaño, índice de polidispersión, potencial ζ y análisis de fisisorción de gases. Su capacidad de carga se determinó usando el método termogravimétrico, mientras que su capacidad para proteger a la Q y preservar su capacidad antioxidante se evaluó en condiciones gastrointestinales simuladas. Posteriormente, se determinó su citotoxicidad, su efecto citoprotector frente al daño celular inducido por H_2O_2 en células Caco-2 como modelo de células intestinales y finalmente se evaluó su hemocompatibilidad con glóbulos rojos de rata. La amino-funcionalización de NSM aumentó su capacidad de carga de Q (5.26 %), mientras que la carboxilo-funcionalización (1.85 %) y tiol-funcionalización (1.26 %) la disminuyeron, en comparación con las NSM (2.79 %). Todos los sistemas mejoraron la solubilidad de la Q, reteniéndola a pH gástrico y liberándola de manera controlada a pH intestinal; no obstante, solo las A-NSM preservaron la capacidad antioxidante en medio gástrico. En el fluido intestinal simulado, aunque la Q liberada perdió su capacidad antioxidante, las nanopartículas conservaron su efecto antioxidante remanente al conservar el compuesto adsorbido. En células Caco-2, las partículas no mostraron citotoxicidad hasta 500 $\mu\text{g/mL}$ y mantuvieron el efecto citoprotector de la Q, demostrando que la protección celular depende de la presencia de las partículas debido a la baja estabilidad de la Q liberada. Finalmente, las partículas cargadas con 100 μM de Q, las partículas cargadas mostraron mayor eficacia en la recuperación celular que el compuesto libre. Finalmente, las C-NSM exhibieron una excelente hemocompatibilidad al no inducir hemólisis a la concentración máxima probada (500 $\mu\text{g/mL}$). Aunque todas las funcionalizaciones mejoraron algunas características de eficiencia de las NSM como vehículo para la administración oral de Q, las C-NSM destacaron como la alternativa mas prometedora debido a su biocompatibilidad.

Palabras clave: nanopartículas de sílice mesoporosa, funcionalización de nanopartículas, quercetina, células Caco-2.

Abstract

Quercetin (Q) dietary supplements exhibit low oral bioavailability due to degradation during gastrointestinal digestion, which can be counteracted using mesoporous silica nanoparticles (MSN). The objective of this study was to elucidate the effect of MSN functionalization with amino (A-MSN), carboxyl (C-MSN), or thiol (T-MSN) groups on their efficiency as an oral delivery system for quercetin. After characterizing the particles (FT-IR, size, polydispersity index, ζ -potential, and gas physisorption analysis) and determining their loading capacity using thermogravimetric analysis, their ability to protect Q and their antioxidant capacity were evaluated under simulated gastrointestinal conditions. Subsequently, their cytotoxicity and cytoprotective effect against H₂O₂-induced cell damage were investigated using the Caco-2 cell line as an intestinal cell model, and finally, their biocompatibility with rat red blood cells was tested. Amino-functionalization of MSN increased Q loading capacity (5.26%), while carboxyl-functionalization (1.85%) and thiol-functionalization (1.26%) decreased it compared to unmodified MSN (2.79%). The systems improved Q solubility, allowing for retention at gastric pH and controlled release at intestinal pH; however, only A-MSN protected the antioxidant capacity in simulated gastric medium. Although the antioxidant capacity in simulated intestinal medium was not preserved for the released Q, the nanoparticles retained residual potential by housing adsorbed compound. In Caco-2 cell assays, the particles showed no cytotoxicity up to 500 μ g/mL and maintained the cytoprotective effect of Q against H₂O₂, demonstrating that cellular protection depends on the presence of the particles due to the low stability of released Q. Finally, particles loaded with 100 μ M Q surpassed the efficacy of the free compound in cell recovery. The hemolysis test showed excellent hemocompatibility for C-MSN, which exhibited no hemolytic effect at the maximum concentration tested (500 μ g/mL). All functionalizations showed specific improvements in the efficiency of MSN as a vehicle for oral Q administration, with C-MSN being superior due to its biocompatibility.

Key words: mesoporous silica nanoparticles, nanoparticle functionalization, quercetin, Caco-2 cells.

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DEL ESTUDIANTE:

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados de forma ética durante el desarrollo de mi trabajo de tesis y que reporto los detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras. Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.



Alexis Matadamas Ortiz

1. Introducción

Las nanopartículas de sílice mesoporosa (NSM) son materiales novedosos, con propiedades modificables como tamaño de partícula y tamaño de poro, presentan alta estabilidad, elevada área superficial y volumen de poro, fácil funcionalización y fabricación simple (Mohamed et al., 2021), estas características le permiten su uso como reservorio de diferentes compuestos. Según Vallet-Regí et al. (2017), se ha reportado un creciente interés en la investigación de las nanopartículas de sílice mesoporosa como sistemas de administración de fármacos.

Durante la síntesis de NSM es posible realizar la modificación de su estructura física, generando diferentes morfologías (Siddiqui et al., 2021), y de su carácter químico, mediante su funcionalización superficial atribuible a sus grupos silanol (Zaharudin et al., 2020). Se ha reportado que estas modificaciones pueden incrementar la capacidad de carga de las NSM y mejorar la funcionalidad de las moléculas cargadas al administrarse de forma dirigida (Shah et al., 2021). En alimentos, se ha estudiado el desempeño de las NSM para la liberación controlada de fármacos, vitaminas, aceites esenciales, nutraceuticos y moléculas bioactivas en general debido a su estabilidad y buena biocompatibilidad y se sugiere que el desarrollo de materiales mesoporosos aplicados en alimentos puede resultar en la protección de moléculas bioactivas a través de su paso por el sistema digestivo (Bernardos et al., 2013).

La quercetina es una molécula proveniente de alimentos que ha mostrado actividad antioxidante y antiinflamatoria (Liang et al., 2021), sin embargo, su aplicación terapéutica se ve limitada por su baja absorción, relacionada principalmente a su inestabilidad fisicoquímica y su alta hidrofobicidad (Li et al., 2016), por lo que es necesario buscar alternativas que mejoren la funcionalidad de esta molécula en el organismo. Por otro lado, existe escasa investigación sobre la administración no dirigida de compuestos bioactivos con fines terapéuticos mediante nanopartículas de sílice mesoporosa.

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar el uso de nanopartículas de sílice mesoporosa, modificadas estructural y químicamente, como vehículo para la administración de quercetina.

2. Antecedentes

Las nanopartículas de sílice mesoporosa (NSM) son estructuras de dióxido de silicio (SiO_2) que pueden clasificarse según su tamaño de poro en tres grupos: microporosa, mesoporosa y macroporosa, con tamaños de poro menores a 2 nm, entre 2 y 50 nm y superiores a 50 nm, respectivamente (Jafari et al., 2019). Las NSM tienen un gran número de aplicaciones en diferentes campos, como la catálisis (Pal et al., 2014), detección (Yin et al., 2021), bioimagenología (Bolívar et al. 2015), almacenamiento de energía (Zhang et al., 2018) y recientemente en algunas áreas de alimentos como el empaque y la conservación. Las NSM exhiben una gran área superficial y una porosidad bien estructurada, características que es de utilidad para la carga de diferentes moléculas como nucleótidos, moléculas solubles o insolubles y fármacos (Zivojevic et al., 2021).

2.1. Síntesis y carga de nanopartículas de sílice mesoporosa

El procedimiento más común para la síntesis de sílice mesoporosa se reporta por Pal et al., (2020). Se utiliza un surfactante de alquilamonio cuaternario (por ejemplo, bromuro de cetiltrimetilamonio, CTAB) como plantilla, bajo condiciones altamente básicas. En la fase de solución, tiene lugar un autoensamblaje cooperativo de las moléculas del surfactante orgánico a concentraciones mayores a la concentración micelar crítica (CMC) y, en condiciones alcalinas o ácidas, precursores síliceos inorgánicos hidrolizados (por ejemplo, tetraetilortosilicato, TEOS) se organizan a sí mismos alrededor de las micelas, formando un composito orgánico-inorgánico plantilla-sílice. El metal y la plantilla se condensan tras un tiempo definido; finalmente, el composito adopta un arreglo ordenado con mesoporos formados tras la remoción del surfactante mediante calcinación (Figura 1).

La adsorción de moléculas bioactivas en la sílice mesoporosa está controlada por el tamaño y la selectividad de la carga. Sólo las moléculas con un tamaño menor que el del poro del soporte de sílice pueden ser atrapadas en la estructura porosa. Otros factores que determinan la adsorción y la cinética de liberación de los compuestos bioactivos en un medio específico son la longitud y el ordenamiento de los poros, la morfología de la partícula, el área superficial, la forma macroscópica y la modificación o funcionalización de la superficie de sílice con grupos funcionales (Arcos et al., 2013).

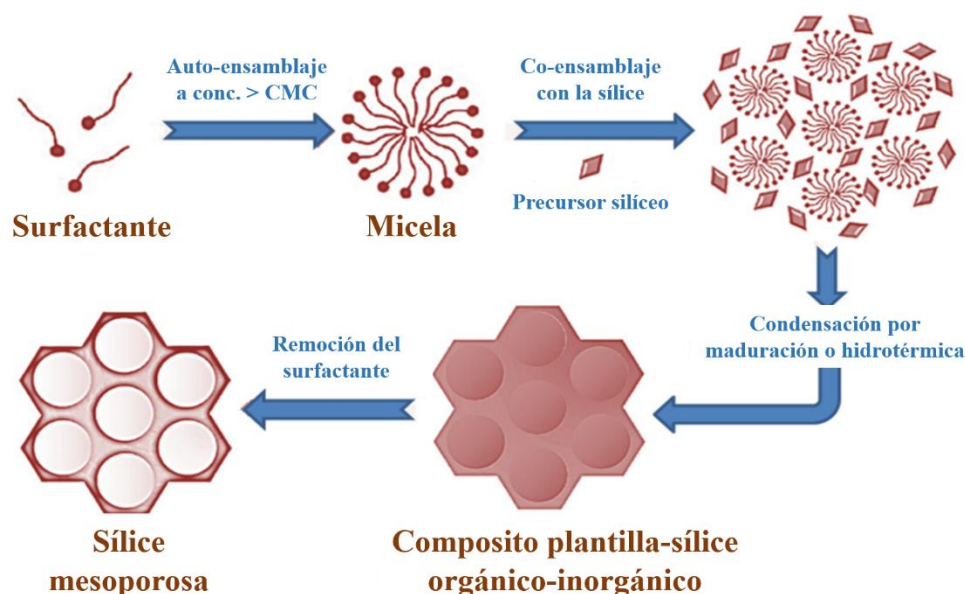


Figura 1. Estrategia general para la síntesis de sílice mesoporosa usando como ruta una plantilla de surfactante (Adaptado de Pal et al., 2020).

2.1.1. Modificación de la estructura de las NSM

Se ha reportado que las características físicas de las NSM, como forma, tamaño de partícula y volumen de poro, se pueden modificar durante su proceso de síntesis mediante la modificación de condiciones como el pH, la temperatura, longitud de la cadena del surfactante y la incorporación de co-surfactantes en la solución. Además, influyen la presencia de agentes solubilizadores y electrolitos, la concentración del precursor, el tipo de solventes y co-solventes empleados, así como la temperatura de calcinación de las NSM (Taleghani et al., 2021).

Por lo anterior, las nanopartículas porosas pueden poseer diferentes morfologías: nanoesféricas, esféricas ahuecadas, formas de bastón (Jeelani et al., 2019), entre otras.

Los atributos fisicoquímicos anteriores tienen un gran impacto en la capacidad de carga de compuestos activos. Se pueden obtener partículas más pequeñas mediante el uso de algunas sales inorgánicas, bases inorgánicas, aminas y alcoholes, que tienen influencia en las reacciones de hidrólisis y condensación de la fuente de sílice (Bouchoucha et al, 2016). Cuando se utilizan surfactantes con cadenas más largas, se obtienen poros más grandes (Ganguly et al., 2010). Por otro lado, el volumen del poro depende de la cantidad del

surfactante y del precursor. Por ejemplo, debido a la aplicación de altas cantidades de TEOS durante la síntesis, se ha observado estructuras más desordenadas, de forma similar que con altas concentraciones del surfactante (CTAB) (Beck et al., 1992).

La morfología de las nanopartículas tiene un efecto importante sobre su desempeño en el acarreo y liberación de compuestos activos. Zhang et al., (2021) sintetizaron NSM con diferentes tamaños de poro mediante la adición de diferentes cantidades de n-hexano durante la adición del precursor silíceo; los autores observaron que, a mayor tamaño de poro, las NSM tuvieron mayor capacidad de carga de eugenol.

2.1.2. Funcionalización de las NSM

La funcionalización de NSM puede realizarse mediante dos métodos: co-condensación y modificación post-síntesis. La modificación post-síntesis implica la adición de varios agentes modificantes con grupos funcionales a la superficie externa, a la superficie del poro y/o a la entrada del poro de la nanopartícula (Rastegari et al., 2021).

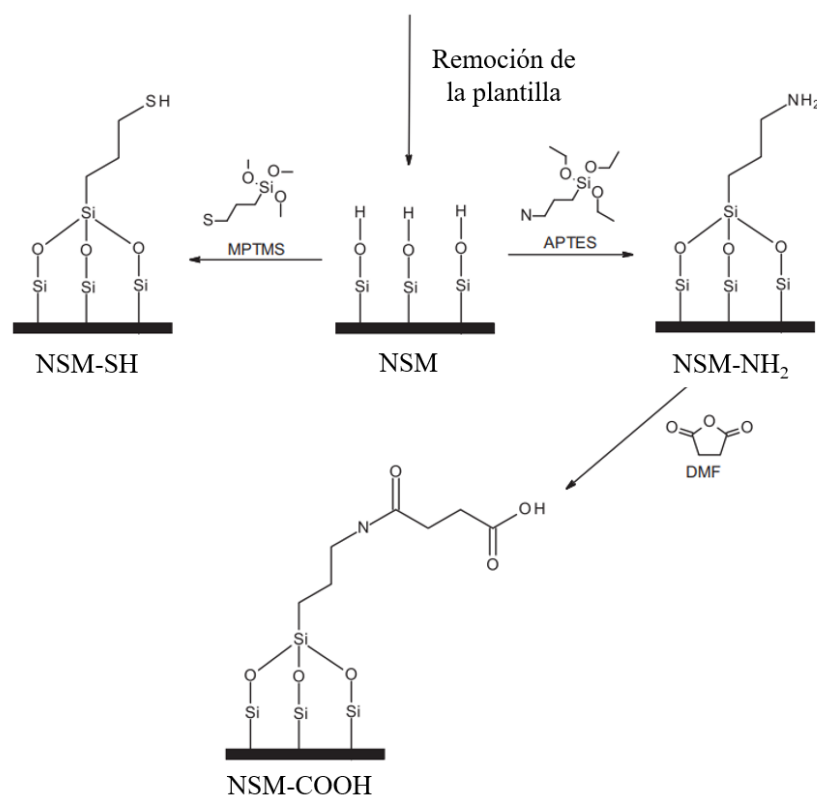


Figura 2. Estructuras químicas de nanopartículas de sílice mesoporosa funcionalizadas (Adaptado de Zaharudin et al., 2020).

La biocompatibilidad inherente de las NSM y su facilidad para ser modificadas post-síntesis para aceptar tanto ligandos iónicos como covalentes, ha conducido al desarrollo de una amplia variedad de conjugaciones resto/NSM orgánico/inorgánico. Debido a lo anterior, las NSM son adecuadas para uso en aplicaciones teranósticas; con dominios separados disponibles para agentes de contraste, para la imagenología de trazabilidad de objetivo diagnóstico, cargas útiles de fármacos para intervenciones terapéuticas y ligandos biomoleculares, para la administración altamente dirigida de cargas (Chen et al., 2013). Por ejemplo, la superficie de las NSM se une a ligandos que las unan específicamente a células cancerosas blanco con una expresión aumentada de los receptores asociados (Rastegari et al., 2021).

El proceso de funcionalización requiere la interacción de los grupos silanol con diferentes radicales que posean grupos funcionales capaces de sustituir a los grupos OH localizados en la superficie de la nanopartícula (Figura 2).

Diversos estudios han reportado que los materiales de sílice no funcionalizados, con grupos silanol (Si-OH) libres en las paredes de los nanoporos, proveen interacciones de puentes de hidrógeno muy débiles con la matriz polimérica y con los compuestos encapsulados, resultando a su vez, en una baja capacidad de carga y una liberación inicial muy acelerada (Wang et al., 2020), por lo que se prevé que la modificación superficial de grupos funcionales pueda incrementar las interacciones electrostáticas o hidrofóbicas entre NSM y las moléculas cargadas y, por tanto, mejorar la capacidad de carga de las nanopartículas.

2.1.3. Absorción celular de NSM

Muchos factores influyen en la absorción celular de NSM incluyendo el tamaño de partícula, el tamaño de poro, la forma, la carga y la modificación superficial. Con el objetivo de obtener NSM que puedan fungir como vehículos ideales para la administración de fármacos, las partículas deben poseer una estructura uniforme y volúmenes de poro elevados para maximizar la capacidad de carga de fármacos (Siddiqui et al., 2022).

El tamaño de partícula es determinante en las rutas de absorción. Existe una absorción celular dependiente del tamaño de las nanopartículas en muchos tipos de células; sin embargo, cabe recalcar que la mayoría de las nanopartículas tienden a agregarse o aglomerarse en soluciones

biológicas, incrementando su tamaño, lo cual puede influenciar este efecto (Oh & Park, 2014).

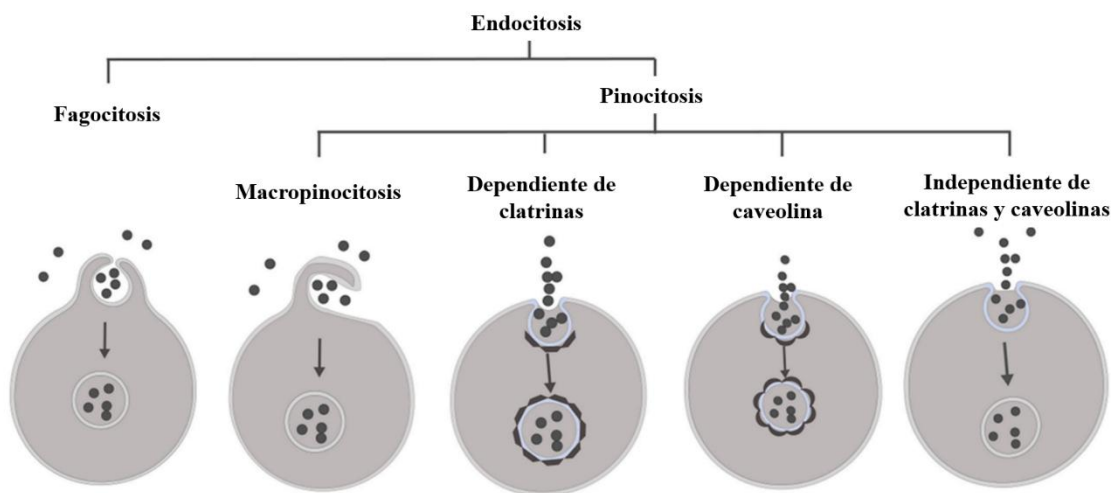


Figura 3. Representación esquemática de las rutas de endocitosis (adaptado de Garrido-Cano et al., 2021).

La endocitosis de nanopartículas es un proceso dependiente de energía que puede presentarse por diferentes mecanismos (Figura 3); los macrófagos, neutrófilos y células dendríticas pueden internalizar partículas por fagocitosis, por su parte, la pinocitosis se presenta en todos los tipos de células (Garrido-Cano et al., 2021). Se ha reportado que los mecanismos de endocitosis son dependientes del tamaño de partícula; partículas entre 200-500 nm son internalizadas vía procesos dependientes de energía (fagocitosis y macropinocitosis), mientras que partículas <200 nm se internalizan principalmente vía endocitosis mediada por clatrina (Rejman et al., 2004).

Dogra et al. (2018) investigaron el efecto del tamaño, de la química superficial y de las rutas de administración en la biodistribución y purificación de NSM radiomarcadas en ratas saludables. Los autores observaron que el incremento del tamaño de partícula de ≈ 32 a ≈ 142 nm se asoció con un descenso de la biodisponibilidad sistémica, independiente de la ruta de administración, con una acumulación correspondiente en el hígado y el bazo. Más aún, NSM superficialmente positivas y moléculas cargadas expuestas en la superficie (aminas) presentaron una circulación reducida, en comparación con NSM de tamaño idéntico, debido al secuestro rápido en el hígado y el bazo (Mazzotta et al., 2022).

2.1.4. Bioseguridad de las NSM

Los vehículos de administración de moléculas deben ser susceptibles a su degradación tras la liberación del fármaco en el sitio blanco. Las NSM están compuestas por una matriz de SiO₂, la cual es susceptible a ataques nucleofílicos por grupos OH⁻ de las moléculas del agua de medios fisiológicos, lo que lleva a la producción de ácido ortosílico que puede excretarse a través de la orina (Siddiqui et al., 2022).

Algunos reportes han sugerido que las NSM pueden ser tóxicas para las células humanas debido a la generación de ROS, lo cual puede producir daño al DNA y oxidación de lípidos y proteínas, llevando a la apoptosis (Garrido-Cano et al., 2021). Diversos estudios han indicado que esta posible citotoxicidad depende de varios factores como el tamaño de partícula, la forma y la concentración de NSM (Rastegari et al., 2021).

Como se mencionó anteriormente, el tamaño de las NSM tiene una influencia importante sobre su internalización; Win & Feng (2004), compararon la internalización de nanopartículas con diferentes tamaños, y observaron que aquellas con 100 nm de diámetro entraron a las células de forma más eficiente que nanopartículas más grandes. En un estudio realizado por Garrido-Cano et al. (2021), se reportó la ausencia de citotoxicidad de NSM con un diámetro de 170 nm en las líneas celulares MDA-MB-231 y MCF10A. Por su parte, Lehman et al. (2016) reportan que NSM funcionalizadas con grupos aminopropil no mostraron citotoxicidad para la línea celular RAW 264.7 a una concentración de 100 µg/mL. Por otro lado, Heikkila et al. (2010), reportan que NSM con diámetro menor a 125 nm y a una concentración de 14 mg/mL indujeron citotoxicidad en células Caco-2. Las evidencias anteriores indican que la citotoxicidad de NSM depende fuertemente del tamaño de partícula y de la dosis.

2.2. Sistemas de administración oral de quercetina

2.2.1. Actividad biológica de la quercetina

La quercetina (Q) (3, 5, 7, 3, 4-pentahidroxi-flavona) es un flavonol (una de las 5 subclases de los compuestos flavonoides) natural encontrado en diversas semillas, frutas y verduras como la manzana, la cebolla, diferentes legumbres y pimientos picantes (D'Andrea, 2015).

La quercetina ha recibido considerable atención por sus beneficios fisiológicos, como su actividad antioxidante, antidiabética y antiinflamatoria (Batiha et al., 2020). El estrés oxidativo es uno de los procesos bioquímicos más estudiados y se debe a un desequilibrio entre las especies pro y antioxidantes (Berlier et al., 2013). Las sustancias prooxidantes suelen ser especies reactivas de oxígeno o de nitrógeno (ERO o ERN) que pueden provocar la oxidación de lípidos, proteínas o ácidos nucleicos, lo que contribuye a disfunciones celulares (Sies, 1986).

Para prevenir el estrés oxidativo, las células cuentan con dos principales defensas antioxidantes. La primera se relaciona con la producción de enzimas que catalizan la degradación de ERO o las ERN, mientras que la segunda involucra antioxidantes como las vitaminas A, C, E y el glutatión que pueden actuar mediante reacciones redox (Sies, 1991; 1993). La quercetina (como algunos otros flavonoides) es un excepcional secuestrador de radicales como el peroxinitrito y el hidroxilo (D'Andrea, 2015). La capacidad antioxidante de la quercetina se atribuye a la presencia de dos farmacóforos antioxidantes en la molécula, con la configuración óptima para el secuestro de radicales libres: el grupo catecol en el anillo B y el grupo OH en la posición 3 del anillo A (Figura 1) (Heijnen et al., 2002).

Mediante el secuestro de radicales libres, la quercetina también puede reducir la inflamación (Shoskes et al., 1999) y su actividad antioxidante se asocia con una reducción del riesgo a enfermedades crónicas relacionadas con el estrés oxidativo como la diabetes, la enfermedad coronaria del corazón o los infartos (Hollman & Katan, 1999). Por otro lado, la quercetina ha mostrado propiedades anticancerígenas, que se relacionan con su efecto antioxidativo, la inhibición de cinasas y del ciclo celular, así como la inducción de la apoptosis (D'Andrea, 2015).

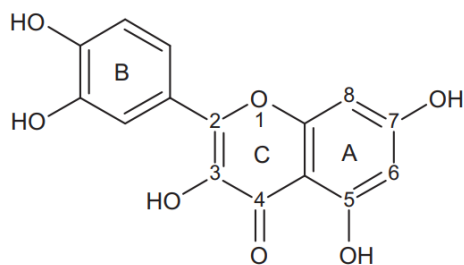


Figura 4. Estructura molecular de la quercetina (adaptado de Berlier et al., 2013).

La quercetina también ha mostrado una potente actividad bacteriostática frente a diferentes cepas de bacterias, como *Salmonella Typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens*, *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Micrococcus luteus*, *Campylobacter jejuni* y *Escherichia coli* (Wang et al., 2018).

A pesar de los beneficios antes mencionados, la aplicación terapéutica de la quercetina se encuentra limitada debido a su inestabilidad fisicoquímica, su alta hidrofobicidad y su baja biodisponibilidad. La biodisponibilidad se define como la razón entre la cantidad de una sustancia administrada por vía oral y la cantidad absorbida y, por lo tanto, disponible para la actividad fisiológica o su almacenamiento (Jackson, 1997). Además, la biodisponibilidad de sustancias administradas por la vía oral es menor que la de otras vías debido a factores como las condiciones gastrointestinales hostiles, la presencia de enzimas digestivas y lumenales y de transportadores de eflujo, y la solubilidad restringida, entre otros. Como resultado, la quercetina es eliminada de la circulación antes de alcanzar los órganos blancos (Moghadam et al., 2022). Por estas razones, los suplementos alimenticios de quercetina usualmente requieren de altas dosis diarias, de entre 500 a 1000 mg (Andres et al., 2017).

2.2.2. Sistemas de administración oral de quercetina basados en NSM

Recientemente, los investigadores han desarrollado nuevos sistemas de administración que presentan ventajas frente a las formas de dosificación convencionales. Estos desarrollos incluyen la administración dirigida al sitio de acción, el incremento de la biodisponibilidad sistémica, el incremento del tiempo de acción y el incremento de la especificidad para el sitio blanco (Stephen et al., 2021). Estos sistemas pueden contrarrestar las limitaciones de la administración oral de biomoléculas. Por lo tanto, un sistema de administración oral de moléculas bioactivas efectivo debe promover la solubilidad en el tracto gastrointestinal, proteger la molécula frente a las barreras gastrointestinales e incrementar su penetración a través de la mucosa intestinal (Srerharsha et al., 2022).

Las partículas de sílice mesoporosa han revolucionado la investigación sobre los sistemas de administración controlada de fármacos. Estos materiales poseen características como alta estabilidad química y mecánica, tamaño variable (50-200 nm), elevada área superficial (700-1000 m²/g) y una estructura bien ordenada de poros internos (diámetro: 2-6 nm, volumen:

0.6-1 cm³/g) (Jafari et al., 2019; Vallet-Regí et al., 2017). La estructura porosa de las NSM puede utilizarse para cargar moléculas terapéuticas bioactivas (Thi et al., 2019) y así protegerlas de la degradación.

Los materiales mesoporosos, cuando no están modificados, carecen de algunas propiedades de liberación controlada y tienen una capacidad limitada para acarrear moléculas hacia sus células blanco (Wibowo et al., 2020); sin embargo, la facilidad para realizar su modificación post-síntesis, añadiendo ligandos de forma covalente o iónica, les permite ser diseñados como sistemas altamente dirigidos para intervenciones terapéuticas (Chen et al., 2013). Lo anterior permite la liberación específica de la molécula bioactiva en un área de interés, evitando su liberación prematura en sitios ajenos al blanco (Siddiqui et al., 2022). Adicionalmente, las modificaciones a las NSM pueden realizarse mediante la adición de restos orgánicos que actúan como bloqueadores, controlando la liberación de la molécula mediante estímulos como la luz, el pH, el ultrasonido, la temperatura y las condiciones redox, entre otros (Saputra et al., 2022).

Las NSM pueden usarse también como matrices para incrementar la tasa de disolución y la solubilidad de moléculas poco solubles en agua (Maleki et al., 2017)). La carga de materiales mesoporosos con moléculas bioactivas como α -tocoferol, curcumina, oligofenol y trans- β -caroteno, entre otros (Bernados & Kourimska, 2013), sugiere su posible uso para transportar otros compuestos similares, como la quercetina. En contraste con otros tipos de partículas usadas para la encapsulación de quercetina (proteínas, liposomas, ciclodextrinas, quitosano), las partículas de sílice poseen ventajas como la estabilidad mecánica y física, excelente biocompatibilidad y biodegradabilidad y baja toxicidad (Morante-Zarcero et al., 2021).

La administración de quercetina usando NSM ha ofrecido resultados prometedores en formulaciones dérmicas (Popova et al., 2016; Berlier et al., 2013), en la prevención de infecciones bacterianas en peces (Shabana et al., 2021), y en tratamientos dirigidos contra diferentes tipos de cáncer (Zaharudin et al., 2020; Trendafilova et al., 2017; Sarkar et al., 2016), entre otros. Cabe señalar que la mayoría de estos estudios no contempla la administración oral de las moléculas, a pesar de que resulta prometedora, dado que los flavonoides de tipo aglicona se pueden adsorber directamente dentro del intestino delgado (D'Arrigo et al., 2024).

2.2.3. Regulaciones sobre los sistemas de administración oral basados en NSM

Se ha reportado que la sílice mesoporosa es segura para su administración por vía oral, sin efectos adversos significativos, y se elimina del cuerpo principalmente sin transformaciones (Petrisor et al., 2022). Como se mencionó anteriormente, la toxicidad de las NSM depende del tamaño, la dosis y el tipo de célula a la que se expone; adicionalmente, son menos tóxicas que las nanopartículas de sílice no porosa, y su funcionalización superficial reduce su toxicidad principalmente debido a la reducción de la densidad superficial de los grupos silanol (Garrido-Cano et al., 2021).

En su forma macro, la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) considera a la sílice como sustancia GRAS (generalmente reconocida como segura, por sus siglas en inglés), mientras que las nanopartículas, sin importar su tamaño, no han recibido aprobación regulatoria. Sin embargo, una gran cantidad de pruebas clínicas usando sílice administrada a través de varias rutas, reportan la ausencia de reacciones adversas severas (Tng & Low, 2023). Para su aplicación en alimentos, los materiales basados en sílice producidos y empleados usando los estándares de higiene actuales y siguiendo las recomendaciones para su uso no exhiben riesgos ambientales ni para la salud (Ros-Lis et al., 2018). Por su parte, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria considera que no se requieren pruebas nanospecíficas extensivas para materiales con tamaño de partícula < 500 nm que posean < 10 % de partículas menores a 250 nm (Schooijans et al., 2023).

2.3. Efectos de la quercetina a nivel celular

El estrés oxidativo en las células se refiere a la alteración del equilibrio entre la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) y la capacidad de las células para neutralizarlas y eliminarlas. Este proceso contribuye al desarrollo de daño epitelial y enfermedades gastrointestinales, como la disfunción de la barrera intestinal (Kumar et al., 2023; Liu et al., 2021). El H_2O_2 es una de las principales ERO en las células y es clave para numerosos procesos fisiológicos. El H_2O_2 es poco reactivo; sin embargo, puede generar radicales

hidroxilos reactivos al exponerse a la luz UV o a iones de metales de transición (por ejemplo, hierro), generando así estrés oxidativo (Halliwell, Clement & Long, 2000).

2.3.1. Efecto citoprotector de la quercetina.

Se ha reportado que la quercetina puede inhibir el estrés inducido en diferentes líneas celulares por el H_2O_2 a través de la traslocación del factor nuclear Nrf2 y la sub-regulación de Keap1 (Kondo-Kawai et al., 2020), modificando el transcriptoma (Zhang et al., 2020) o mediante la inhibición de factores de transcripción como NF- κ B y COX-2 (Silva-Pinto et al., 2025).

El epitelio del intestino delgado es una barrera física contra la entrada de toxinas, bacterias y otras sustancias nocivas en la sangre (Serek & Oleksy-Wawrzyniak, 2021). Se ha indicado que proteger la barrera intestinal del daño inducido por el H_2O_2 y la interleucina-6 puede ser un enfoque práctico para prevenir la inflamación intestinal (Chaithanya, Saravan & Sebastin, 2024). La quercetina ha mostrado efectos anti-inflamatorios y tejido-protectores en los tres segmentos intestinales (duodeno, íleo y colon) previamente expuestos a un estrés inducido por nanopartículas de plata (Sousa et al., 2025). Si bien la quercetina puede tener efectos antioxidantes contra el daño oxidativo inducido por H_2O_2 ; la información sobre la bioactividad de los polifenoles (incluyendo los flavonoides) se ha obtenido de experimentos de cultivo celular *in vitro*, condiciones en las que se ha informado que estos compuestos son altamente inestables (Wu et al., 2019). En este sentido, existe una falta de ensayos clínicos que validen la eficacia de la quercetina debido a su alta inestabilidad en sistemas fisiológicos, que provocan su degradación en un tiempo de 2 horas (Xiao, 2018).

La baja estabilidad de la quercetina en medio de cultivo celular puede contrarrestarse mediante su carga en materiales mesoporosos, los cuales pueden potenciar sus efectos al protegerla de la degradación bajo condiciones de cultivo celular, promoviendo una liberación controlada y aumentando la solubilidad y la captación celular. Estas propiedades están directamente vinculadas a la química de superficie de las nanopartículas, que regula su comportamiento en soluciones fisiológicas. La eficiencia de carga y la cinética de liberación en diferentes medios están determinadas por la fuerza de interacción entre la superficie mesoporosa y la Q. Además, la química superficial del material promueve interacciones entre los materiales y la membrana celular. Según Siddiqui et al. (2022), los factores que afectan

la captación celular incluyen la carga superficial y el tamaño de partícula (también influenciado por la carga superficial). Por lo tanto, se puede asumir que la química superficial de la sílice mesoporosa utilizado como vehículo también afecta la eficiencia del efecto citoprotector de la Q en el medio de cultivo celular. En este sentido, Schmid et al., (2023) demostraron la posibilidad de modular la acumulación y la retención de NSM en el tracto gastrointestinal de ratones, con inflamación inducida, a través de la funcionalización superficial, y resaltaron las implicaciones de este efecto en la formulación de sistemas de administración oral basada en nanopartículas.

2.3.2. Modelo intestinal de células Caco-2

La línea celular Caco-2 se deriva de adenocarcinoma de colon humano. Tras su diferenciación morfológica y bioquímica, las células Caco-2 se vuelven similares a las células intestinales y adquieren características como la estructura de microvellosidades, borde en cepillo en la superficie celular, uniones estrechas intercelulares, secreción de hidrolasas y la síntesis de sistemas de transporte de portadores para azúcares, aminoácidos y fármacos (Ding et al., 2021).

Debido a su homología con las células epiteliales intestinales, las células Caco-2 han sido avaladas por la FDA como un modelo *in vitro* para la absorción y el metabolismo intestinal humano (Yan et al., 2019). Por lo anterior, se utilizan frecuentemente para evaluar la biodisponibilidad de sustancias bioactivas debido a su habilidad para diferenciarse en monocapas polarizadas similares a las de enterocitos y a su similitud en cuanto enzimas, transportadores y morfología presentadas por las células epiteliales del intestino humano (Yokomizo & Moriwaki, 2006).

Las células Caco-2 se han utilizado en otros estudios para investigar el efecto antioxidante de la quercetina en escenarios de estrés inducido. Speisky, Arias-Santé & Fuentes (2023), investigaron el efecto de la quercetina y su análogo el kaempferol, además del de sus derivados oxidados, contra el daño oxidativo, mitocondrial y citolítico inducido por indometacina como generador de ERO. Por otro lado, la línea Caco-2 también se ha utilizado para evaluar la permeabilidad intestinal *in vitro* de fármacos administrados mediante nanopartículas de sílice mesoporosa funcionalizadas (Saroj & Rajput, 2020). En numerosos estudios, esta línea celular se ha usado como un modelo bien establecido de la barrera

intestinal, la absorción, el tráfico y la traslocación de nanopartículas de sílice (Ye et al., 2017).

2.3.3. Hemocompatibilidad

La hemocompatibilidad es un parámetro crítico para evaluar a la mayoría de los materiales que participan en aplicaciones médicas (Qiao et al., 2024). La sangre es el acceso para los nanomateriales administrados por cualquier ruta de administración (no sólo la intravenosa). En el caso de la vía oral, las nanopartículas se absorben en el intestino delgado por los enterocitos, posteriormente, a través de la vena porta llegan al hígado, y finalmente se trasladan al plasma (Muñoz-Reyes, Morales & Prieto, 2021).

Las pruebas de hemocompatibilidad se refieren a la evaluación de las interacciones críticas entre materiales exógenos y los diferentes componentes de la sangre (eritrocitos, leucocitos y trombocitos) para determinar si podría presentarse algún efecto adverso, como hemólisis, coagulación, trombosis, entre otros (De la Harpe et al., 2019). Uno de los métodos estándar para determinar la hemocompatibilidad de los nanomateriales es la evaluación del porcentaje de hemoglobina liberada cuando los nanovehículos entran en contacto directo con las superficies de las células rojas. Esta interacción puede provocar la deformación de la membrana de las células rojas, cambios morfológicos y reducir su deformabilidad, resultando en la lisis eritrocítica (Fortis et al., 2024).

Se ha reportado que las nanopartículas de sílice mesoporosa exhiben propiedades hemolíticas y citotóxicas, las cuales se ven influenciadas por el tamaño de partícula, la forma y los grupos funcionales presentes en su superficie. Sin embargo, la modificación superficial (sustitución de los grupos silanol) puede enmascarar la superficie de las NSM para reducir sus interacciones con los grupos trimetil amonio presentes en las membranas de los eritrocitos (Mukhopadhyay et al., 2019).

3. Justificación

La quercetina es un flavonoide con probadas propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y citoprotectoras, con potencial efecto terapéutico contra enfermedades asociadas al estrés oxidativo. No obstante, el uso terapéutico de esta molécula se ve limitado debido a su baja biodisponibilidad, derivada de su inestabilidad fisicoquímica ante factores como la luz, el pH y la temperatura, de su pobre solubilidad acuosa que provoca baja permeabilidad intestinal y de su rápido metabolismo. Es por lo anterior que surge la necesidad de desarrollar sistemas de administración que protejan la molécula, mejoren su solubilidad e incrementen su absorción intestinal.

Las NSM han generado interés para su uso como sistemas de administración oral debido a sus características como elevada área superficial, elevado volumen de poro, biocompatibilidad y estructura ordenada que permite la carga de diferentes moléculas. La carga de la quercetina en las NSM puede actuar como una barrera física que evite la degradación del compuesto en el ambiente del tracto gastrointestinal, mejorando su bioaccesibilidad. Sin embargo, las NSM presentan desventajas en cuanto al control de la liberación de la quercetina y a su interacción con las membranas biológicas que se relaciona con un posible efecto citotóxico. En este sentido, la funcionalización superficial de las NSM modifica su química superficial, la cual gobierna sus características como vehículo. La funcionalización con grupos amino, carboxilo o tiol, modificará la carga superficial de las NSM, teniendo un efecto sobre su solubilidad y su capacidad de carga con quercetina. Específicamente, la adición de grupos amino generará una carga superficial positiva que favorecerá la interacción del vehículo con las membranas celulares; los grupos carboxilo mejorará la dispersión de las nanopartículas a pH intestinal y los grupos tiol exhibirán capacidad antioxidante intrínseca.

A pesar de que se ha reportado el uso de las NSM como vehículos para la quercetina, no se ha realizado una comparación sistemática sobre cómo su química superficial afecta su absorción al administrarse por la vía oral. Los estudios existentes se limitan a evaluar una funcionalización y suelen enfocarse en su caracterización fisicoquímica, sin considerar la correlación entre la química superficial con el comportamiento del vehículo expuesto a las diferentes condiciones propias de la vía oral de administración. Este trabajo expone una

perspectiva amplia que incluye la capacidad protectora y el perfil de liberación conferidos por los nanovehículos a la quercetina durante una digestión gastrointestinal simulada, la determinación de la eficiencia de absorción y la citotoxicidad en un modelo celular de la barrera intestinal, además de su capacidad citoprotectora ante estrés oxidativo, además de su biocompatibilidad sistémica, mediante un ensayo de hemocompatibilidad.

Esta investigación provee información relevante para elucidar los mecanismos por los cuales la química superficial de las nanopartículas de sílice mesoporosa determina la protección, liberación, bioactividad y seguridad de la quercetina, representando un avance en su uso como sistema de administración oral que permita un uso más eficiente del compuesto.

4. Hipótesis

Las nanopartículas de sílice mesoporosa protegen a la quercetina durante su paso por el tracto gastrointestinal, aislándola de factores como el pH y la presencia de sales y enzimas. La adición de grupos amino, carboxilo o tiol determina de manera diferenciada la liberación de quercetina, lo cual es dependiente de las condiciones de pH, además, mejora la interacción con células intestinales, la capacidad citoprotectora frente al estrés oxidativo y su hemocompatibilidad.

5. Objetivos

5.1. Objetivo general

Evaluar el potencial de las nanopartículas de sílice mesoporosa químicamente modificadas como sistemas de administración oral de quercetina.

5.2. Objetivos específicos

- Sintetizar y caracterizar fisicoquímicamente las nanopartículas de sílice mesoporosa funcionalizadas con grupos amino, carboxilo o tiol determinando su capacidad de carga y eficiencia de encapsulación de quercetina.
- Evaluar la estabilidad y capacidad de protección de la quercetina cargada en las nanopartículas de sílice mesoporosa sometidas a condiciones gastrointestinales simuladas.
- Determinar el efecto de la química superficial de las nanopartículas sobre la absorción celular de quercetina en un modelo intestinal *in vitro*, utilizando células Caco-2 y determinar su actividad hemolítica.

6. Materiales y métodos

6.1. Material químico

El bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB), tetraetilortosilicato (TEOS), 3-aminopropiltriethoxisilano (APTES), anhídrido succínico (AS), 3-mercaptopropiltrimetoxisilano (MPTMS), etanol (>99 % v/v), NaOH, CaCl₂, hidrato de quercetina (≥95 %), dimetilsulfóxido (DMSO), pepsina, sales biliares de cerdo, tris y pancreatina se adquirieron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). El bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio (MTT), el medio esencial mínimo (MEM, por sus siglas en inglés), el suero fetal bovino (FBS, por sus siglas en inglés), la penicilina, la estreptomycin y la solución amortiguadora HBSS (Hanks' Balanced Salt Solution, por sus siglas en inglés) se obtuvieron de Gibco (Gaithersburg, MD, EUA).

6.2. Material biológico

Ratas hembra Wistar fueron proporcionadas por el Bioterio del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México, campus Juriquilla, donde se realizaron los experimentos. Todos los procedimientos se llevaron a cabo de acuerdo con las Regulaciones Federales para la Experimentación y Cuidado de Animales (SAGARPA, NOM-062-ZOO-1999, México). Se seleccionaron ratas con un peso corporal de 270-290 g que fueron alojadas en jaulas de policarbonato con rejillas de acero inoxidable, área de 258 cm², cierre a prueba de escape y que permiten la entrada de aire y luz. Se alojaron un máximo de 3 ratas por jaula. Las jaulas contenían una cama sanitaria compuesta por viruta de madera y olote de maíz. Para su limpieza, las cajas se cambiaron dos veces por semana y se lavaron en una lavadora automática con agentes surfactantes. Las ratas se mantuvieron bajo condiciones controladas de luz (fotoperiodo de 12 h), humedad (40±10 %) y temperatura (20±2 °C). La alimentación de las ratas consistió en una dieta estándar (Rodent Diet 5001 Purina®) y agua potable *ad libitum*.

Para todos los procedimientos, se utilizó un equipo de bioseguridad para el manejo de los animales el cual consta de guantes, cubrebocas, bata y cofia. Para los diferentes experimentos, las ratas se identificaron en la cola con un rotulador de tinta permanente que no daña la piel (Medline Quirúrgico). Según la clasificación por grado de invasión, molestia

o daño producido en los animales de laboratorio, descrita en la NOM-062-ZOO-1999, los animales fueron sometidos a actividades experimentales de categoría C. Esta categoría agrupa experimentos que causan estrés menor o dolor de corta duración, tales como: canulación o cateterización de cavidades corporales o vasos sanguíneos bajo anestesia; restricción física con objetivos más allá de la simple observación clínica, pero sin llegar a producir estrés importante y periodos cortos de abstinencia de agua o alimento que excedan lo observable en la naturaleza.

Terminados los experimentos, se aplicó la eutanasia a los animales mediante la inhalación de CO₂. Para esto, los animales se colocaron en una cámara cerrada y se liberó CO₂ a un flujo que reemplazó por lo menos el 20 % del volumen total de aire por minuto durante aproximadamente 6 min, confirmando la muerte mediante la verificación de las constantes fisiológicas (ausencia de latidos y de respiración, iris blanco). Los cadáveres se desecharon en bolsas amarillas destinadas a residuos peligrosos biológico-infecciosos (RPBI). Los RPBI se almacenaron durante un máximo de 15 días previos a su recolección por la empresa Servicios Especializados en Residuos S.A. de C.V., la cual está regulada por la NOM-087-ECOL-SSA1-2002.

Durante todos los procedimientos, todos los animales se mantuvieron bajo la vigilancia del asistente veterinario del bioterio, quien aseguró el cumplimiento de las regulaciones descritas en la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio del NIH (National Institutes of Health), el reglamento y el acta para el bienestar animal de la USDA (United States Department of Agriculture), así como la NOM-062-ZOO-1999.

6.3. Cultivos celulares

Se obtuvieron líneas celulares de adenocarcinoma colorrectal humano (caco-2), las cuales son un modelo de células intestinales. Las células se obtuvieron de la Colección de Líneas Celulares Interlab (Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova, Italia) y se cultivaron en MEM, suplementado con 10 % (v/v) de FBS, 0.2 mM de L-glutamina, 100 unidades/mL de penicilina y 0.1 mg/mL de estreptomycin. Las células se mantuvieron a 37 °C en una incubadora humidificada y enriquecida con 5% de CO₂ en vasos de cultivo de 75 cm². Las monocapas confluentes (50-70 %) de células fueron sometidas a diferentes tratamientos usados en los estudios subsecuentes (Paoletta et al., 2024)

OBJETIVO 1

6.4. Síntesis y funcionalización de las NSM

La síntesis y funcionalización de las NSM se realizaron siguiendo la metodología descrita por Fernandes-Bats y col. (2018) con modificaciones. Se disolvieron 0.5 g de CTAB en 240 mL de agua destilada; se adicionaron 1.75 mL de NaOH 2 N a la mezcla y se llevó a 80 °C. Posteriormente, bajo agitación constante, se añadieron 2.5 mL de TEOS gota a gota. Una vez completada la adición de TEOS, se mantuvo la temperatura de reacción durante 2 h. El producto resultante se recuperó por filtración, se lavó dos veces con agua destilada y una con etanol absoluto y se secó a temperatura ambiente durante una noche. Finalmente, el producto se calcinó a 500 °C durante 5 h.

Para obtener las NSM funcionalizadas (F-NSM) con grupos amino, carboxilo o tiol (A-NSM, C-NSM y T-NSM, respectivamente), se utilizaron diferentes funcionalizantes (F) siguiendo la metodología de Zaharudin y col., (2020) con algunas modificaciones.

Para la obtención de A-NSM, se disolvió 1 mL de APTES (aminopropiltriétoxissilano) en 20 mL de etanol absoluto y se agregaron 100 mg de NSM; posteriormente, las partículas se incubaron a temperatura ambiente durante 24 h. Las NSM funcionalizadas se recuperaron por filtración y se lavaron 2 veces con etanol. El polvo resultante se secó a 40 °C por una noche. Para la obtención de T-NSM, se utilizó el método anterior, sustituyendo el APTES por MPTMS (3-mercaptopropiltrimetoxissilano). Para la obtención de C-NSM, se suspendieron 100 mg de A-NSM en una solución de anhídrido succínico en cloroformo (2 % p/v); las partículas funcionalizadas se recuperaron por filtración y se lavaron de forma consecutiva con cloroformo, agua desionizada y etanol.

6.5. Caracterización fisicoquímica de las NSM

6.5.1. Espectroscopía FTIR

Los espectros FTIR de las F-NSM con o sin carga con Q se obtuvieron en un equipo Horiba Jobin Yvon LabRAM IR2 (Kioto, Japón) en la región de 4000–600 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} .

6.5.2. Determinación de la capacidad de carga

Para la carga de la quercetina, se suspendieron 100 mg de partículas en 50 mL de una solución de quercetina en etanol (2 mg/mL) y se mantuvieron en agitación a temperatura ambiente hasta la completa volatilización del solvente. Posteriormente, las NSMs cargadas con Q (NSM/Q) se resuspendieron en etanol (50 mL) para remover la Q residual y finalmente se recuperaron mediante centrifugación a $2,200 \times g$ por 20 min (Eppendorf 5804 R, Hamburgo, Alemania). La capacidad de carga se determinó mediante la medición de la concentración de Q residual en el etanol de lavado usando la ecuación (1):

$$\text{Capacidad de carga (\%)} = \frac{Q_I - Q_R}{M} \times 100 \quad (1)$$

Donde Q_I es la cantidad de Q en la solución inicial, Q_R es la cantidad de Q residual en el etanol de lavado y M es la cantidad de F-NSMs.

6.5.3. Tamaño de partícula, índice de polidispersión y potencial Z

Se utilizaron el método de dispersión dinámica de luz para la determinación del tamaño de partícula e índice de polidispersión, y el método electroforético para la determinación del potencial ζ , usando un equipo ZetaSizer Nano (Malvern, Worcestershire, Reino Unido). Se realizó la caracterización tanto de las F-NSMs vacías como de las cargadas con Q. Para los análisis, se suspendieron las partículas (1 mg/mL) en PBS (solución amortiguadora de fosfatos, por sus siglas en inglés) ajustada a un pH de 1.5 o de 7.4 (usando HCl 1 N o NaOH 1 N) con la ayuda de un homogenizador ultrasónico de 650 W (Cole-Palmer, Vernon Hills, EUA) configurado con una micropunta de 3 mm y 25 % de amplitud, por 10 s.

6.5.4. Análisis de fisisorción de gases

El tamaño y volumen de poro y el área superficial se determinaron en las F-NSMs cargadas con Q mediante un análisis de fisisorción de gases, utilizando las isothermas de adsorción/desorción obtenidas con un analizador automático de sorción de gases (Autosorb iQ3, Quantachrome, Boynton Beach, EUA) a 77 K. Todas las F-NSMs se desgasificaron a 180 °C durante 2 horas bajo condiciones de alto vacío. El área superficial se obtuvo mediante el método de Brunauer-Emmett-Teller, mientras que el tamaño y el volumen de poro se obtuvieron mediante el método de Barrett-Joyner-Halenda (Li et al., 2018).

OBJETIVO 2

6.6. Liberación de quercetina *in vitro*

La cinética de liberación de quercetina a partir de las F-NSMs se determinó de acuerdo con la metodología descrita por Shao et al. (2019), con modificaciones. Se suspendieron 50 mg de F-NSM cargadas con Q en 10 mL de PBS dentro de una bolsa de diálisis (corte de peso molecular: 12 kDa). Posteriormente, la bolsa de diálisis se suspendió en 90 mL de PBS y se sometió a agitación (250 rpm) a 37 °C, en la oscuridad. Se recolectó 1 mL de muestra a intervalos de tiempo definidos y se reemplazó con 1 mL de PBS para mantener un volumen constante. El medio de liberación se ajustó previamente a pH 1.5 o 7.4 para simular las condiciones de pH del estómago y del intestino, respectivamente. La liberación de quercetina se midió con un espectrofotómetro UV-Vis Genesys 10 (Thermo Scientific, Waltham, EUA) a 375 nm. La cantidad de quercetina liberada se calculó usando la ecuación (2) (Trendafilova et al., 2017):

$$\text{Liberación acumulada (\%)} = \frac{Q_t}{Q_0} \times 100 \quad (2)$$

Donde Q_t es la cantidad de quercetina presente en el medio de liberación en el tiempo t y Q_0 es la cantidad de quercetina cargada en las F-NSMs. Para facilitar el análisis de la cinética de liberación de quercetina, los datos se ajustaron a un modelo de primer orden, siguiendo la ecuación (3):

$$\log Q_t = \log Q_0 - \frac{k_1 t}{2.303} \quad (3)$$

Donde k_1 es la constante de primer orden de la tasa de liberación de quercetina y Q_t es la cantidad de quercetina liberada al tiempo t .

6.7. Digestión gastrointestinal simulada de F-NSM cargadas con Q

La simulación *in vitro* de la digestión gastrointestinal se llevó a cabo siguiendo la metodología INFOGEST (Brodkorb et al., 2019), con algunas modificaciones. Las muestras se prepararon mediante la dispersión de 50 mg de partículas en 11 mL de agua desionizada en un baño ultrasónico (Branson, Mod. 5510, Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA), mientras que el control consistió en una suspensión de Q (1 mg/mL).

Previo a la digestión simulada, se tomaron alícuotas de 1 mL de las suspensiones y se centrifugaron a $2,200 \times g$ por 20 min. El efecto de la carga de quercetina en las F-NSMs sobre su solubilidad en agua se determinó mediante la medición de la absorbancia de los sobrenadantes a 375 nm y su comparación con la absorbancia de una suspensión de quercetina libre, utilizada como control. La solubilidad de la Q liberada a partir de las F-NSMs relativa a la solubilidad de la Q libre se determinó usando la ecuación (4):

$$\text{Solubilidad relativa (\%)} = \frac{A_{F-NSM}}{A_{FQ}} \times 100 \quad (4)$$

Donde A_{F-NSM} es la absorbancia de la muestra y A_{FQ} es la absorbancia del control.

Para iniciar la digestión gástrica simulada (DGS), se mezclaron volúmenes iguales de fluido gástrico simulado y de las suspensiones, y la mezcla se ajustó a un pH de 3.0 con HCl 1 N. De acuerdo con la metodología INFOGEST, la composición del fluido gástrico simulado consistió en una solución de electrolitos y pepsina porcina diluida en agua. La mezcla se incubó a 37 °C, a 200 rpm y en la oscuridad durante 2 h desde la adición de la pepsina. En seguida, la digestión intestinal simulada (DIS) se llevó a cabo mediante la adición de 20 mL de fluido intestinal simulado (solución de electrolitos, pancreatina y sales biliares). La mezcla se ajustó a un pH de 7.0 con NaOH 1 N y se incubó durante 2.5 h tras la adición de la pancreatina, bajo las mismas condiciones que para la DGS. Tras cada una de las fases de la digestión gastrointestinal, se determinaron la capacidad antioxidante y la concentración de Q liberada en el medio digestivo. Se obtuvo una solución de radicales ABTS al mezclar 5 mL de ABTS (7.0 mM) con 88 µL de persulfato de potasio (140 mM). Tras 16 h de contacto en oscuridad y a temperatura controlada, la solución se ajustó a una $A_{734 \text{ nm}}$ de 0.6-0.8 mediante la adición de etanol absoluto. Posteriormente, se añadieron 80 µL de los medios digestivos a 920 µL de la solución ajustada de radicales ABTS. Tras un tiempo de reacción de 6 min, se midió la $A_{734 \text{ nm}}$, los fluidos usados para la DGS y la DIS, sin F-NSMs, se usaron como control. La tasa de secuestro de radicales ABTS se calculó usando la ecuación (5) (Liang et al., 2021):

$$\text{Tasa de secuestro de radicales ABTS (\%)} = \left(1 - \frac{A_1}{A_0}\right) \times 100 \quad (5)$$

Donde A_0 es la absorbancia del blanco (agua) y A_1 , la de la muestra.

La concentración de Q se determinó según la metodología de Chen et al. (2016). Se tomaron alícuotas (1 mL) de los medios digestivos, se centrifugaron a $2,200 \times g$ durante 20 min y, posteriormente, se añadieron 400 μL de los sobrenadantes a 3 mL de solución de extracción (acetato de etilo y etanol; 10:1 v/v). Las muestras se agitaron vigorosamente durante 10 s y, enseguida, se colocaron en reposo durante 20 min para permitir la laminación (separación de fases). El contenido de Q se midió en un espectrofotómetro mediante una curva estándar ($R^2 > 0.999$).

OBJETIVO 3

6.8. Análisis termogravimétrico

Las mediciones de análisis termogravimétrico se llevaron a cabo con un instrumento de análisis térmico diferencial (TGA 7/DZ, Perkin Elmer, Japón), utilizando nitrógeno como gas de acarreo. Entre 3 y 6 mg de nanopartículas se trataron hasta 600 °C, a una tasa de calentamiento de 10 °C/min. Para determinar la capacidad de carga de los tratamientos, se analizó el porcentaje de pérdida de peso de las muestras cargadas con quercetina y se comparó con el de las partículas sin cargar.

6.9. Análisis de citotoxicidad

Para determinar el efecto de las diferentes nanopartículas de sílice sobre la viabilidad de las células Caco-2, se utilizó el método MTT, según lo reportado por Paoletta et al. (2024). En placas de 96 pozos, se sembraron las células a una densidad de 7×10^3 células por pozo y se incubaron con 5 % de CO_2 a 37 °C. Las NSM, A-NSM, C-NSM y T-NSM se adicionaron a concentraciones de 10, 100 y 500 $\mu\text{g/mL}$ y se incubaron con las células durante 24 h. Por su parte, se añadieron suspensiones de quercetina en DMSO (0.1 % v/v) con concentraciones de 25, 100 y 200 μM . Se utilizó como control blanco una solución de MEM sin partículas ni quercetina. Posteriormente, las células se incubaron con una solución de sales de MTT durante 1 h y, tras la remoción del medio, los cristales de formazán resultantes se disolvieron en 100 μL de DMSO mediante oscilación durante 10 min. Usando un espectrofotómetro lector de microplacas (SpectraMax MiniMax, Molecular Devices, Silicon Valley, CA, EUA), se determinó la absorbancia de las muestras a 595 nm, y la absorbancia del fondo a 655 nm. La viabilidad celular relativa (V %) se calculó usando la ecuación (6):

$$V\% = \frac{\text{muestra-fondo}}{\text{blanco-fondo}} \times 100 \quad (6)$$

6.10. Efecto sobre el estrés oxidativo inducido por H₂O₂

Se determinó el efecto de las NSM/Q y las F-NSM/Q sobre el estrés oxidativo inducido por H₂O₂ en células Caco-2. Las células se incubaron en placas de 96 pozos por 24 h en medio con NSM/Q, A-NSM/Q, C-NSM/Q y T-NSM/Q a concentraciones equivalentes a 100, 50, 25 y 12.5 µM de quercetina. Las mismas concentraciones de quercetina libre se utilizaron como control. Posteriormente, se añadió H₂O₂ diluido en PBS hasta alcanzar una concentración de 400 µM en cada pozo. Las células se incubaron durante 1 h más y, enseguida, se realizó el ensayo MTT, como se describió previamente. Considerando lo anterior, el tiempo de exposición total al H₂O₂ fue de 2 h (Zhang et al., 2020).

Antes de evaluar los efectos de los tratamientos sobre el daño celular inducido por H₂O₂, se estableció un nivel adecuado de estrés oxidativo celular, ya que una tasa de supervivencia elevada da lugar a inducciones mínimas. Al mismo tiempo, un exceso de H₂O₂ puede causar daños celulares irreversibles (Chen et al., 2024). A pesar de que la concentración de H₂O₂ fue la misma en todos los experimentos independientes, el daño celular mostró ligeras diferencias. Por lo tanto, para obtener valores comparables entre experimentos independientes, se aplicó la ecuación (2) para calcular la recuperación de la viabilidad celular (RVC), definida como el porcentaje de viabilidad celular (VC) perdido debido al efecto del H₂O₂ que se recuperó con el tratamiento con Q:

$$RVR (\%) = (VC_{\text{Tratadas}} - VC_{\text{Estresadas}}) / (100 - VC_{\text{Estresadas}})$$

Donde, VC_{Tratadas}: VC de las células expuestas a la Q (cargada en partículas o libre) y al estrés inducido por el H₂O₂.

VC_{Estresadas}: VC de las células expuestas al estrés inducido por H₂O₂.

Se investigó el efecto de las partículas cargadas con Q sobre las células Caco-2 sometidas a estrés por H₂O₂. Las células se incubaron en placas de 96 pozos durante 18 h en MEM suplementado que contenía diferentes partículas cargadas con Q a concentraciones de 12,5,

25, 50 o 100 μM . Se probaron las mismas concentraciones de Q libre en dos tiempos de incubación: 2 y 18 h. A continuación, se añadió H_2O_2 diluido en PBS hasta una concentración final de 400 μM en cada pozo. Las células se incubaron durante 1 h y, a continuación, se realizó el ensayo MTT como se ha descrito anteriormente, ampliando el tiempo de exposición a 1 h. Teniendo esto en cuenta, el tiempo de exposición al H_2O_2 fue de 2 h (Zhang et al., 2020).

Para abordar el efecto de la Q liberada en el medio con la presencia previa de partículas cargadas, se formaron suspensiones de cada tipo de partícula en MEM suplementado, hasta alcanzar concentraciones de 25, 50 y 100 μM de Q. Tras 24 h de liberación a 37 °C, los medios se centrifugaron a 780 x g durante 5 min para eliminar las partículas, y el medio de liberación (sobrenadante) se utilizó para sembrar células Caco-2, tal y como se describe en la sección 2.6.1.

6.11. Cinética de liberación de quercetina

Se dispersó una cantidad precisa de cada tipo de NSM en un volumen calculado de MEM para obtener concentraciones de 3 mg/mL. Posteriormente, utilizando microplacas de 96 pozos, las suspensiones se diluyeron en MEM para obtener concentraciones de 25, 50 y 100 μM en un volumen total de 300 μL . Se utilizó una solución de quercetina libre a 100 μM como control. Para determinar la cinética de liberación de quercetina, se emplearon diferentes pozos en cada intervalo de tiempo (1, 2, 3, 4, 8, 24 y 48 h). Las microplacas se colocaron en oscuridad a 37 °C $\pm$ 2 °C, sin agitación. En cada intervalo de tiempo, el volumen total de cada pozo se recuperó, y la mezcla se centrifugó a 16 000 $\times$ g por 10 min. Posteriormente, el sobrenadante se recuperó y se mezcló con una solución de extracción (1:7, v/v) compuesta por acetato de etilo y etanol (9:1, v/v). La mezcla se mezcló usando un vortex por 10 s, se centrifugó a 16,000 $\times$ g por 10 min, y el sobrenadante se secó en una campana de extracción de gases a temperatura ambiente. Finalmente, el residuo se disolvió en la fase móvil (100 μL) de la cromatografía subsecuente aplicada para medir la concentración de quercetina. Se utilizó un sistema RHPLC Jasco PU-4180 equipado con un fotodetector de arreglo de diodos MD-4010 (Jasco International, 11-10, Myojincho 1-chome, Hachioji, Tokio, Japón) y una columna SunFire C18 (4.6 $\times$ 150 mm, 5.0 μm , Waters, Milford, MA, EUA). La fase móvil consistió en una solución acuosa al 45 % de 0.1 % (v/v) de ácido acético (WAc), 40 % (v/v)

de metanol (Met) y 15 % (v/v) de acetonitrilo (ACN) con una tasa de flujo de 0.5 mL/min y una temperatura de 30 °C. La detección de la quercetina se llevó a cabo a 370 nm.

6.12. Estudio de absorción celular

Las células Caco-2 se sembraron a una densidad de 2×10^4 células por pozo en placas de 6 pozos y se cultivaron durante 15 días. El medio de cultivo se cambió cada 2 días durante la primera semana y cada día durante la segunda. Antes de los experimentos, las células se lavaron dos veces con HBSS y se pre-incubaron durante 30-60 minutos a 37 °C. La monocapa celular Caco-2 se incubó con NSM/Q, A-NSM/Q, C-NSM/Q y T-NSM/Q a una concentración equivalente a 50 µM de Q durante 60 minutos. A continuación, se recogieron el medio y dos lavados realizados con 500 µL de un amortiguador adecuado. Los amortiguadores utilizados se seleccionaron para proporcionar una carga neutra a MSN, A-MSN y C-MSN, respectivamente (HBSS, tampón de pH 8.0 y tampón de pH 5.3). Para el T-MSN, se utilizó un HBSS suplementado con L-cisteína (para promover la ruptura de los enlaces disulfuro). A continuación, se añadieron 500 µL de tripsina 20 µM a las placas, antes de la incubación durante 5 minutos a 37 °C y 5 % de CO₂. A continuación, se añadió un volumen equivalente de medio suplementado para neutralizar la tripsina y se centrifugaron las células a $780 \times g$ durante 5 minutos. Se retiraron los sobrenadantes y se lavó cada pastilla con 500 µL del amortiguador correspondiente para eliminar el medio residual y la tripsina. Las muestras se almacenaron a -20 °C hasta su posterior procesamiento. Para las mediciones de concentración de Q, las células se resuspendieron en 0.15 mL de amortiguador de fosfatos 0,1 M que contenía un 1 % (v/v) de Triton X-100 para obtener una solución de células lisadas. Las muestras se agitaron en vórtex durante 30 segundos y luego se incubaron durante 15 minutos en un baño de sonicación (300 W, 0.5 ciclos). Se utilizó el ensayo de Bradford para determinar el contenido total de proteínas. A continuación, el lisado se mezcló con 1.2 ml de acetato de etilo:etanol (proporción 9:1 v/v), se agitó en vórtex durante 30 segundos para extraer la Q y se centrifugó a $16\,000 \times g$ durante 10 minutos. El sobrenadante se transfirió a un tubo nuevo y se evaporó hasta secarse a 30 °C y 300 rpm en una campana de extracción de gases. El residuo final se disolvió en 100 µl de WAc:Met:ACN (45:40:15, en volumen) y se agitó en vórtex durante 30 s. Se examinó una alícuota de 20 µl mediante HPLC, tal y como se ha descrito, para evaluar la concentración de Q.

6.13. Ensayo de hemólisis

Para evaluar la compatibilidad de los diferentes tipos de NSM con la sangre, se realizó una prueba de hemólisis (Zhang y col., 2024). En primer lugar, células sanguíneas de ratas ($n=3$), no administradas con quercetina, fueron obtenidas mediante la toma de una muestra de sangre de la arteria dorsal de la cola que se almacenó en tubos con anticoagulante K₂-EDTA, siguiendo el procedimiento descrito en la sección 6.12. Posteriormente, la sangre se centrifugó para obtener una pastilla, que se lavó con solución salina estéril hasta que el sobrenadante se aclaró. Finalmente, las células rojas sanguíneas se diluyeron en solución salina estéril para obtener una suspensión con una fracción volumétrica del 2%. Para el ensayo, se mezcló una concentración conocida de NSM, A-NSM, C-NSM o T-NSM, suspendidas en solución salina, con una suspensión de células rojas sanguíneas en volúmenes iguales. Se prepararon suspensiones con concentraciones de 100 µg/mL, 200 µg/mL y 400 µg/mL, respectivamente. Una suspensión al 2% de células rojas sanguíneas se mezcló con volúmenes iguales de solución salina estéril y de agua destilada para fungir como control negativo y control positivo, respectivamente. Finalmente, la suspensión preparada fue levemente agitada a 37 °C por 4 h y se centrifugó a 1,000 rpm por 10 min. Se tomó el sobrenadante para determinar la absorbancia a 541 nm con un espectrofotómetro UV-Vis. Cada grupo se trabajó en paralelo en 3 ocasiones y la tasa de hemólisis fue calculada de acuerdo con la ecuación (7):

$$Tasa\ de\ hemólisis\ (\%) = \frac{A_{muestra} - A_{negativo}}{A_{positivo} - A_{negativo}} \times 100 \quad (7)$$

6.14. Análisis estadístico

Todas las determinaciones se realizaron usando tres réplicas independientes, excepto para el experimento de cinética de liberación de Q, y se reporta la media $\pm$ desviación estándar. Todas las comparaciones se llevaron a cabo usando la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Para el diseño experimental descrito, se realizó un análisis de varianza. Las comparaciones en los experimentos con células Caco-2 se realizaron mediante la prueba t de Student ($p < 0.05$).

7. Resultados

7.1. Caracterización fisicoquímica de las F-NSM

7.1.1. Espectroscopia FTIR

Los resultados de la espectroscopía FT-IR se muestran en la Figura 1. El espectro FT-IR de la quercetina se encuentra bien descrito en la literatura: las bandas presentes debido a la vibración de los enlaces en la molécula se observan a 1668 cm^{-1} (estiramiento del C=O cetónico arílico), 1616 cm^{-1} (estiramiento del C=O del anillo aromático), 1521 cm^{-1} y 1457 cm^{-1} (estiramiento del C=C del anillo aromático), 1379 cm^{-1} (flexión del O-H del fenol), 1321 cm^{-1} (flexión del C-H aromático en el plano), 1254 cm^{-1} (estiramiento del C-O en el anillo éter arílico), y 1169 cm^{-1} (flexión del O-H del hidroxilo o estiramiento del C-O del metoxilo). [24, 25, 26].

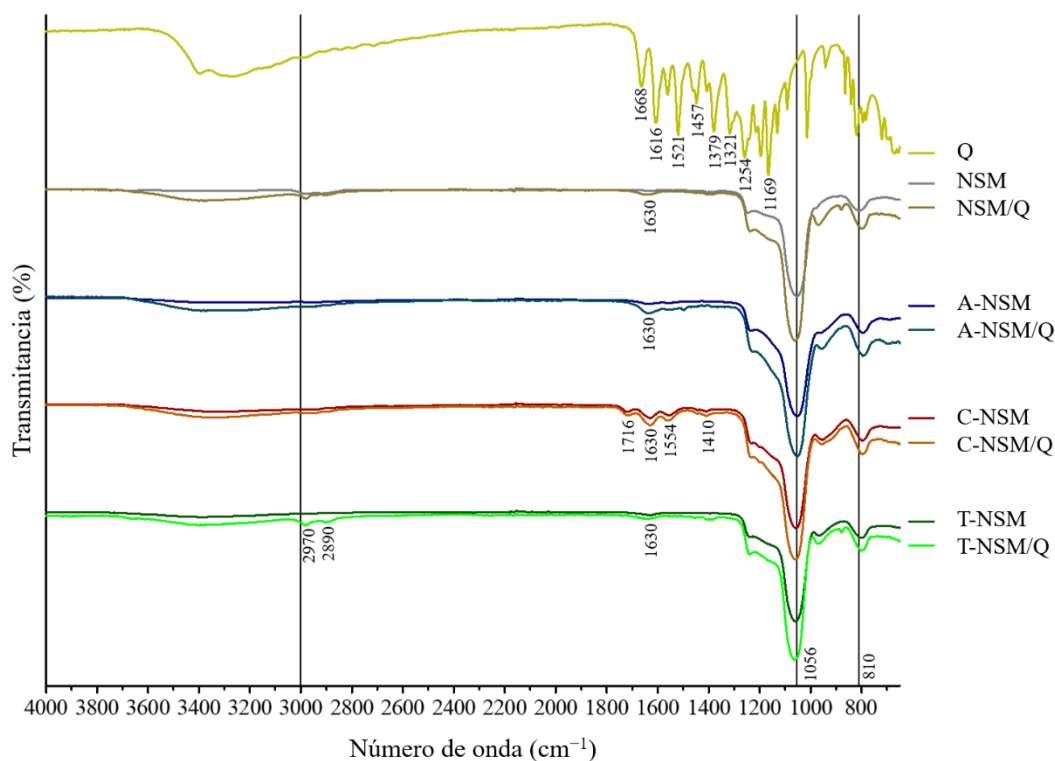


Figura 5. Espectros FTIR de NSM y F-NSM

Para las NSM y sus derivados funcionalizados, se observan las bandas características de los materiales de sílice, correspondientes al estiramiento asimétrico y simétrico del enlace Si-O

(1056 cm^{-1} y 810 cm^{-1} , respectivamente) [27]. Los grupos funcionales de las A-NSM fueron confirmados por la observación de bandas tenues a 1630 cm^{-1} y 1560 cm^{-1} , correspondientes al estiramiento y la flexión del enlace N-H [28,29]. La banda en 1630 cm^{-1} también ha sido observada en otros materiales mesoporosos funcionalizados y se ha atribuido a la vibración de los grupos -OH del agua adsorbida en sus nanocanales. De manera similar, la presencia de los grupos carboxílicos de las C-NSM fue confirmada por las bandas correspondientes al estiramiento C=O del grupo carboxílico (1716 cm^{-1}) [30], y los estiramientos simétrico y asimétrico del anión carboxilato (1554 cm^{-1} y 1410 cm^{-1} , respectivamente) [29]. Cabe señalar que no se detectó una banda tenue en el rango de $2600\text{-}2540\text{ cm}^{-1}$, típicamente atribuida al estiramiento del enlace -SH. No obstante, la presencia del grupo -SH se confirmó mediante análisis termogravimétrico (sección 7.1.2).

Con respecto a los materiales mesoporosos cargados con quercetina, se observó una disminución significativa de la transmitancia entre 1700 y 650 cm^{-1} , que corresponde a las bandas dominantes del espectro de la quercetina pura. Este solapamiento espectral confirma la incorporación de la quercetina en la estructura mesoporosa. Adicionalmente, los cambios observados en la intensidad se correlacionaron de forma inversa con el contenido de quercetina, consistente con los datos de termogravimetría. De manera notable, el decremento más pronunciado en los valores de transmitancia se observó en la muestra de A-NSM, que presentó la mayor capacidad de carga. Por otro lado, la anchura e intensidad de la banda entre 3700 y 3000 cm^{-1} (relacionada con la vibración del -OH) en todos los materiales se incrementaron al cargarlos con quercetina, lo cual sugiere la asociación de esta última con la matriz de sílice mediante puentes de H.

7.1.2. Análisis termogravimétrico

La curva de TGA de las NSM muestra un ligero descenso de peso (Figura 10a). De acuerdo con Candela-Noguera et al., (2024), la pérdida de peso a partir de los $360\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta los $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ puede deberse parcialmente a la condensación de una porción de grupos silanol adyacentes, mientras que, a partir de los $550\text{ }^{\circ}\text{C}$, la pérdida de peso puede atribuirse exclusivamente a la condensación de los grupos Si-OH remanentes.

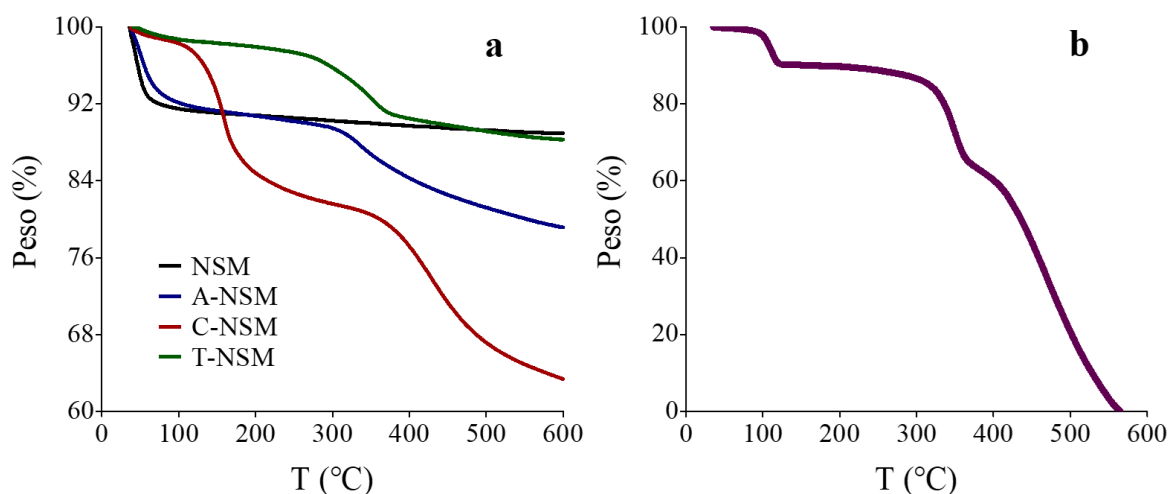


Figura 6. Curvas TGA de las NSM, A-NSM, C-NSM, T-NSM (a) y de la quercetina (b).

Las pérdidas de peso entre 250 °C y 600 °C para las A-NSM, C-NSM y T-NSM se asocian a las pérdidas de los grupos 3-aminopropil (Abu Rumman et al., 2021), carboxilo (Gou et al., 2021) y 3-mercaptopropil (Kalantari et al., 2020), lo cual confirma la funcionalización del material. Por otro lado, la curva de TGA para la quercetina (Figura 10b) muestra su completa degradación a temperaturas inferiores a 600 °C, con 2 fases de degradación entre 260 °C y 380 °C y entre 380 °C y 580 °C. La primera pérdida de peso de la quercetina (fenómeno endotérmico) se relaciona con la descomposición del anillo C central o con la pérdida de uno de los dos anillos dihidroxilados A o B (Berlier et al., 2013).

7.1.3. Capacidad de carga

En la Tabla 1 se reporta la capacidad de carga de los diferentes materiales, determinada mediante el método espectrofotométrico y el análisis termogravimétrico.

Tabla 1. Capacidad de carga de las NSM y F-NSM

	Método	
	Espectrofotométrico	TGA
NSM	0.99 ± 0.13^{bc}	2.79 ± 0.20^b
A-NSM	1.98 ± 0.24^a	5.26 ± 0.06^a
C-NSM	1.09 ± 0.18^b	1.85 ± 0.23^c
T-NSM	0.81 ± 0.004^c	1.26 ± 0.34^c

Los datos se presentan como las medias ($n=3$) $\pm$ desviación estándar. Medias con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ($p<0.05$).

El método espectrofotométrico ofrece magnitudes menores que las del análisis por TGA. De acuerdo con lo señalado previamente, el método espectrofotométrico cuantifica la quercetina residual tras el proceso de carga de quercetina en las NSM, por lo que puede subestimar la cantidad de quercetina cargada debido a la degradación del compuesto durante este procedimiento o a pérdidas durante el trasvase. Por otro lado, el análisis TGA determina las diferencias en pérdida de peso entre las muestras cargadas y sin cargar, a partir de los 250 °C, tras la eliminación de la humedad y residuos de la funcionalización y previo a la degradación de la quercetina (Figura 11). Esto arroja una estimación directa de la cantidad de compuesto presente en el material, lo que proporciona un resultado más preciso.

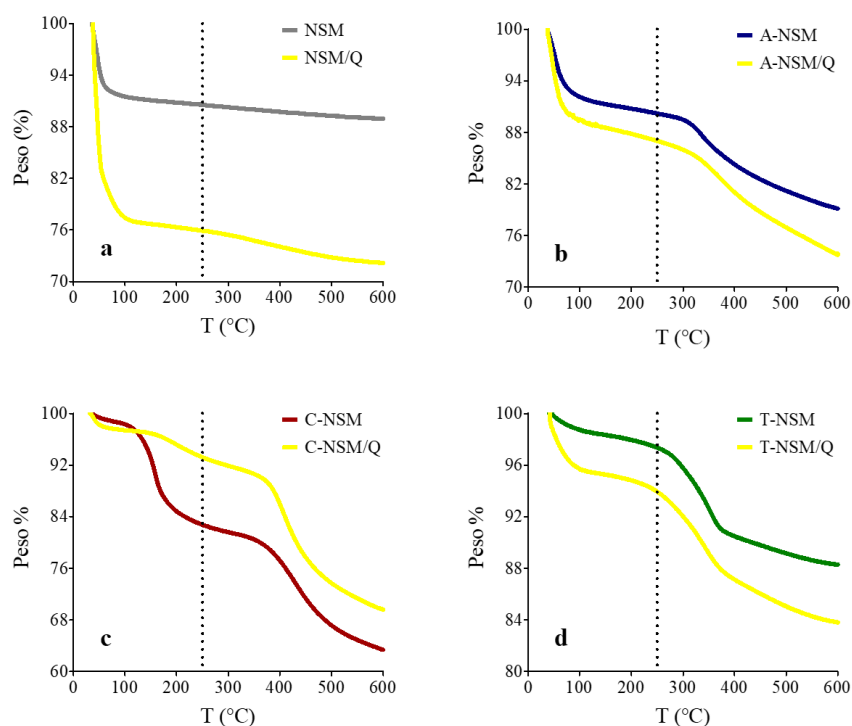


Figura 7. Curvas TGA de (a) NSM; (b) A-NSM; (c) C-NSM y (t) T-NSM, vacías o cargadas con Q (/Q). Para determinar la capacidad de carga de cada material, los pesos de las muestras se normalizaron al 100% a 250 °C (línea vertical discontinua). Esto se realizó con fines de cálculo y no se muestra en la gráfica. El procedimiento se utilizó para excluir la pérdida inicial de masa debida a la deshidratación y a la remoción de solventes residuales.

De acuerdo con los resultados TGA, la amino-funcionalización incrementó significativamente ($p < 0.05$) la capacidad de carga de las partículas, posiblemente mediante el incremento en el número de puentes de hidrógeno formados entre la Q y las NSM debido a la presencia de los grupos amino. Por su parte, las C-NSM y las T-NSM mostraron una menor capacidad para alojar la molécula ($p < 0.05$), lo cual se relaciona con la disminución del volumen y del tamaño de poro debido a la adición de los grupos funcionales en la superficie del material, como se mencionó anteriormente. En el caso de las T-NSM, la menor capacidad de carga también puede atribuirse a la sustitución de los $-OH$ de los grupos silano por grupos $-SH$, que, debido a la baja diferencia de electronegatividad entre el S y el H, forman puentes de hidrógeno más débiles con la Q.

7.1.4. Tamaño de partícula, índice de polidispersión y potencial ζ

La biodistribución y la depuración in vivo de las NSM se ven afectadas de manera significativa por propiedades como el tamaño de partícula y la química superficial (Dogra et al., 2018). El tamaño de partícula (TP), el índice de polidispersión (IP) y el potencial ζ de las F-NSM suspendidas en PBS ajustado a pH 1.5 o 7.4 se muestran en la Tabla 2.

A pH 1.5, las NSM y las F-NSMs vacías mostraron $TP > 1.5 \mu m$, excepto las A-NSMs. Lo anterior puede explicarse por la carga positiva de las A-NSMs, aportada por los grupos amino protonados, lo que promueve la repulsión entre partículas y genera valores elevados de potencial ζ (> 30 mV). Cuando las A-NSMs están cargadas con quercetina, su potencial zeta disminuye (< 16 mV), lo que promueve la formación de aglomeraciones y el incremento de su tamaño de partícula ($> 1.8 \mu m$).

Esta observación puede relacionarse con el descenso de los grupos NH_3^+ disponibles, lo que sugiere una fuerte interacción entre la Q y las A-NSMs mediante puentes de hidrógeno. Finalmente, todas las partículas cargadas con Q exhibieron un $TP > 1.5 \mu m$. Lo anterior puede asociarse a la interacción hidrofóbica entre partículas cargadas con Q.

Por otro lado, a pH 7.4, las C-NSM, mostraron el menor TP, cercano a 200 nm. Esto puede deberse a la desprotonación parcial de los grupos carboxílicos, lo que genera cargas negativas y la repulsión interpartícula correspondiente (potencial $\zeta > 38$ mV). El tamaño de partículas de las C-NSMs puede ser adecuado en términos de internalización celular, de acuerdo con

Mazzota et al., (2022), quienes demostraron que partículas con diámetro promedio de 179 nm pueden incrementar la absorción celular en las líneas celulares MDA-MB-231 y MCF10A, comparadas con partículas con diámetros promedio de 367 nm y de 255 nm.

Tabla 2. Tamaño de partícula (TP), índice de polidispersión (IP) y potencial ζ (ζ) de NSM y NSM funcionalizadas, sin carga y cargadas con Q, suspendidas en PBS a pH 1.5 y 7.4.

pH		TP (μm)	IP	ζ (mV)	
Sin carga	1.5	NSM	1.79±0.22 ^{CDb}	0.83±0.16 ^{ABa}	1.57±1.75 ^{Eb}
		A-NSM	0.87±0.07 ^{Ec}	0.6±0.04 ^{BCab}	32.93±2.50 ^{Aa}
		C-NSM	2.05±0.15 ^{BCb}	0.64±0.09 ^{BCab}	6.19±0.997 ^{CDb}
		T-NSM	2.21±0.14 ^{Bb}	0.64±0.1 ^{BCab}	1.62±0.76 ^{Eb}
	7.4	NSM	1.03±0.15 ^{BCc}	0.63±0.14 ^{CDab}	-15.83±1.10 ^{Bd}
		A-NSM	3.33±0.28 ^{Aa}	0.86±0.22 ^{ABCa}	-6.71±2.23 ^{Ac}
		C-NSM	0.21±0.01 ^{Cd}	0.3±0.01 ^{EFb}	-44.1±2.17 ^{Ce}
		T-NSM	1.92±0.37 ^{Bb}	0.92±0.12 ^{ABa}	-16.1±0.57 ^{Bd}
Con carga	1.5	NSM	1.62±0.07 ^{Dbc}	0.64±0.06 ^{BCbc}	4.13±2.01 ^{DEc}
		A-NSM	2.72±0.12 ^{Ab}	0.92±0.05 ^{Aa}	15.33±0.31 ^{Ba}
		C-NSM	1.70±0.03 ^{CDbc}	0.42±0.03 ^{Cd}	8.65±1.39 ^{Cb}
		T-NSM	1.73±0.12 ^{CDbc}	0.73±0.12 ^{ABb}	1.66±1.13 ^{Ec}
	7.4	NSM	0.86±0.03 ^{BCcd}	0.66±0.05 ^{BCDbc}	-13.9±0.85 ^{Bd}
		A-NSM	3.96±1.02 ^{Aa}	0.997±0.01 ^{Aa}	-11.43±1.02 ^{ABd}
		C-NSM	0.21±0.004 ^{Cd}	0.22±0.01 ^{Fe}	-41.83±3.09 ^{Ce}
		T-NSM	0.73±0.03 ^{Ccd}	0.57±0.04 ^{DEcd}	-14.57±0.67 ^{Bd}

Para un mismo estado de carga con Q (con o sin), letras minúsculas iguales indican que no existe diferencia entre tratamientos ($p < 0.05$). Para un mismo pH, letras mayúsculas iguales indican que no hay diferencias entre tratamientos ($p < 0.05$).

El tamaño de partícula también afecta la biodistribución: las partículas con diámetros mayores a 200 nm activan el sistema complemento y son rápidamente removidos de la circulación sanguínea, acumulándose en el hígado y el riñón (Saputra et al., 2022a). Por el contrario, las partículas con carga negativa interactúan desfavorablemente con los lípidos de membrana y las proteínas del plasma (Saputra et al., 2022b). No se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el diámetro ni en el potencial ζ de las C-NSMs cuando estas se

encontraban vacías o cargadas con quercetina, sugiriendo que los grupos carboxílicos no interactúan con la quercetina.

Las T-NSMs mostraron $TP > 0.5 \mu\text{m}$, independientemente del pH y del estado de carga (vacías o cargadas con Q). Esto puede relacionarse con la formación de puentes disulfuro entre las partículas, que podrían evitar la formación de otras interacciones químicas. Esto también puede explicar la ausencia de la banda característica de los grupos $-\text{SH}$ en el espectro FTIR. Se sabe que las partículas con tamaños superiores a $0.5 \mu\text{m}$ ingresan a las células fagocíticas a través de las rutas de fagocitosis (Oh & Park, 2014). En general, las T-NSM demostraron propiedades físicas similares a las NSM no funcionalizadas.

7.1.5. Análisis de fisisorción de gases

Como puede observarse en la Figura 8, las NSM, NSM/Q y T-NSM/Q mostraron una isoterma tipo IV, típica de los materiales mesoporosos con poros cilíndricos de tamaño homogéneo (Garrido-Cano et al., 2021), lo que indica que el proceso de adsorción se lleva a cabo mediante adsorción multicapa seguida de condensación capilar (Kruk & Jaroniec, 2001).

Estos materiales exhiben la fase de condensación capilar a presiones relativas bajas (< 0.3). Por otro lado, las A-NSM/Q y las C-NSM/Q presentan isothermas de tipo III, correspondientes a sólidos macroporosos con adsorción multicapa. Esta cualidad macroporosa posiblemente es resultado de los interespacios entre partículas pequeñas, lo cual también se evidencia por la histéresis a altas presiones reativas (Chiang et al., 2011).

En todas las muestras cargadas con Q, se observó una disminución significativa de la absorción de N_2 , lo que indica que la carga de quercetina en los poros de los materiales fue exitosa (Kamarudin et al., 2013). El ciclo de histéresis tipo H1 a altas P/P_0 , característico de poros cilíndricos abiertos por ambos extremos o de aglomerados de partículas aproximadamente esféricas organizadas de forma regular, se relaciona con la macroporosidad interpartícula (Berlier et al., 2013).

Todas las partículas analizadas mostraron una distribución estrecha de tamaño de poro (inset de la figura 8a). Sin embargo, para las muestras cargadas con Q (recuadros de la Figura 8b-e), se pueden observar dos reducciones aparentes en el volumen adsorbido por poros en el

rango de 3-5 nm y de 6-9 nm, los cuales pueden relacionarse con el diámetro de los poros ocupados por la queratina.

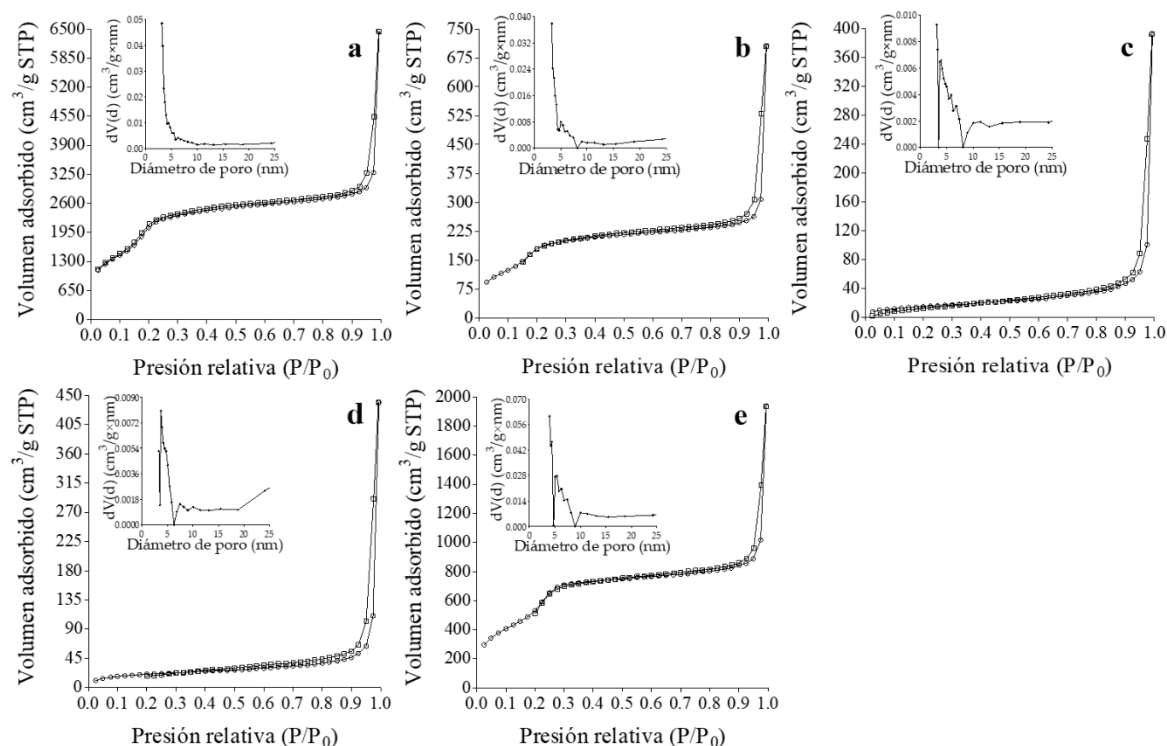


Figura 8. Isothermas de adsorción/desorción de nitrógeno y curvas de distribución de tamaño de poro (insets) de **(a)** NSM, **(b)** NSM/Q, **(c)** A-NSM/Q, **(d)** C-NSM/Q y **(e)** T-NSM/Q.

Los parámetros texturales, como el área superficial, el volumen de poro y el diámetro de poro, de diferentes NSM se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3. Área superficial (A_{BET}), volumen de poro (V_P) y diámetro de poro (D_P) de F-NSM/Q.

	A_{BET} (m²/g)	V_P (cm³/g)	D_P (nm)
NSM	871.508	0.659	3.136
NSM/Q	767.986	0.808	3.315
A-NSM/Q	56.480	0.606	3.136
C-NSM/Q	76.961	0.669	3.714
T-NSM/Q	2 022.822	1.946	3.933

El A_{BET} de las NSM se compara con lo reportado previamente (Gou et al., 2021). Las NSM/Q muestran un ligero descenso en el valor de A_{BET} , mientras que las A-NSM/Q y las C-NSM/Q presentan los valores más bajos. Las reducciones significativas en los parámetros texturales, como el área superficial y el volumen total de poros, de las muestras cargadas son indicativas del llenado de los poros por la quercetina (Trendafilova et al., 2017).

Un buen sistema de administración debe tener un tamaño de poro lo suficientemente grande para facilitar la unión y la difusión de las moléculas dentro de los poros (Saputra et al., 2022b). Se ha reportado que la funcionalización de las NSM con grupos amino, carboxilo o tiol, disminuye el volumen y el tamaño de los poros debido a la presencia de los grupos añadidos a su superficie externa e interna (Velusamy et al., 2018; Kamarudin et al., 2013; Tran & Lee, 2018; Popova et al., 2018; Cheah et al., 2016). La carga con otras moléculas también disminuye el diámetro y el volumen de poro (Patiño-Herrera et al., 2019; Szweczyk et al., 2020). No obstante, las NSM/Q mostraron un incremento en su diámetro y en el volumen de poro. Esto se relaciona con el llenado completo de los poros más pequeños y la persistencia de un pequeño volumen libre de mesoporos más grandes (Bahrami, Badiei & Atyabi, 2014).

7.2. Liberación de quercetina *in vitro* a partir de las F-NSMs

La liberación de compuestos bioactivos a partir de las NSM depende del grado de interacción entre ellos (Kamarudin et al., 2013). A pH 7.4, las NSM cargadas con Q (Figura 9a) mostraron una liberación máxima del 35 % tras 8 h, mientras que a pH 1.5 la liberación fue menor, alcanzando un máximo del 7.0 % tras 8 h. La constante de disociación ácida (pK_a) de la quercetina es de aproximadamente 6.3 (Pool, Mendoza & Xiao, 2013), mientras que el punto isoelectrico (pI) de las NSM es de 2.0 (Lázaro et al., 2018).

Para simular las condiciones de pH a las que son sometidas las F-NSMs cargadas con quercetina a lo largo del tracto gastrointestinal y presentes en el espacio intracelular, las partículas fueron suspendidas en PBS ajustada a pH 1.5 y 7.4, respectivamente. En este sentido, la liberación acelerada de quercetina a pH 7.4 puede deberse a las fuerzas de repulsión entre los grupos hidroxilo de la estructura de la quercetina y los grupos silanol de las NSM, que bajo estas condiciones se encuentran parcialmente desprotonados, confiriendo carga negativa a las partículas (potencial $\zeta = -13.9 \pm 0.85$ mV).

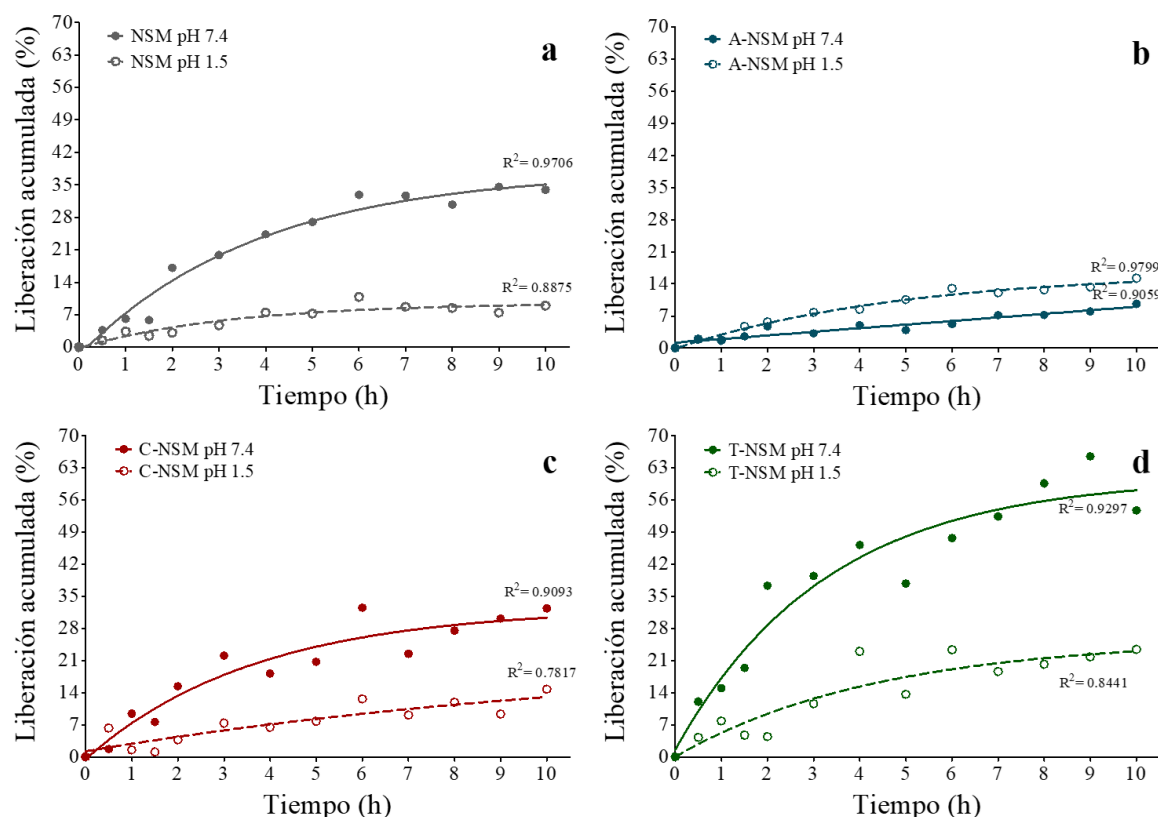


Figura 9. Cinética de liberación de Q a partir de: **(a)** NSM; **(b)** NSM amino-funcionalizadas; **(c)** NSM carboxilo-funcionalizadas y **(d)** NSM tiol-funcionalizadas, suspendidas a pH 1.5 (círculos) o pH 7.4 (cuadrados). Los tratamientos con baja y alta proporción F:NSM se representan mediante líneas discontinuas y continuas, respectivamente. Las líneas corresponden al modelo de primer orden aplicado a los datos experimentales (símbolos).

Según Szewczyk et al. (2020), una etapa inicial de liberación rápida se asocia con el transporte veloz de las moléculas precipitadas en la superficie, de las presentes en la apertura de los poros y de aquellas débilmente aglomeradas en su interior. A pH 1.5, las NSM exhiben un comportamiento cercano a la neutralidad (potencial $\zeta = 4.13 \pm 2.01$ mV), lo que permite retener el compuesto bioactivo mediante la formación de puentes de hidrógeno. Tras 10 h, se observó un descenso en la concentración de quercetina en el medio, atribuible a la baja estabilidad de la Q en el medio PBS, donde atraviesa un proceso de rápida autooxidación que reduce su vida media a aproximadamente 10 h (Kim et al., 2010).

Las A-NSM (Figura 9b) aceleran la liberación de la Q cuando se encuentran suspendidas a pH 1.5, lo que indica que la presencia de grupos amino cargados eléctricamente favorece su liberación. Esto puede resultar poco conveniente, ya que se espera que un buen sistema de liberación pH-dependiente limite la liberación en medio ácido (como el gástrico) y promueva la liberación continua en condiciones fisiológicas intestinales (pH 7.4) (Florek et al., 2017).

Por su parte, las C-NSM mostraron un comportamiento similar al de las NSM (Figura 9c), reteniendo la quercetina en mayor medida a pH 1.5 que a pH 7.4. Finalmente, las T-NSM presentaron una mayor liberación a pH 7.4, alcanzando una liberación acumulada del 56 % tras 10 h, frente al 21 % a pH 1.5 (Figura 9d). Esto sugiere que las NSM funcionalizadas con grupos tiol pueden favorecer la liberación de Q tanto en el intestino como dentro de las células. La liberación mejorada de Q se asocia con la elevada área superficial observada en las T-NSM, lo cual concuerda con lo reportado por Hartono et al. (2016), quienes observaron que una mayor liberación de moléculas bioactivas a partir de materiales mesoporosos se observó en partículas con mayor área superficial.

7.3. Digestión gastrointestinal simulada de las F-NSM cargadas con Q

La carga de quercetina en las F-NSM modificó su solubilidad en agua desionizada. Esto puede observarse en la Figura 10a, donde las T-NSM/Q presentaron la mayor solubilidad relativa, más del doble ($271.01 \% \pm 2.45 \%$) que la de la quercetina libre. Las NSM/Q y A-NSM/Q también incrementaron la solubilidad de la quercetina aproximadamente al doble ($187.86 \% \pm 20.44 \%$ y $201.73 \% \pm 23.71 \%$, respectivamente).

De acuerdo con AbouAitah et al. (2016), cuando la Q se encuentra cargada en las NSM, se transforma en un estado no cristalino, lo que modifica su solubilidad. En contraste, la Q cargada en las C-NSM no mostró diferencias en su solubilidad.

La concentración de quercetina en el medio digestivo simulado se determinó tras las fases de digestión gástrica e intestinal (Figura 10b). Tras la fase gástrica, no se observaron diferencias significativas entre la concentración del medio con Q libre y la de los medios con NSM/Q y A-NSM/Q.

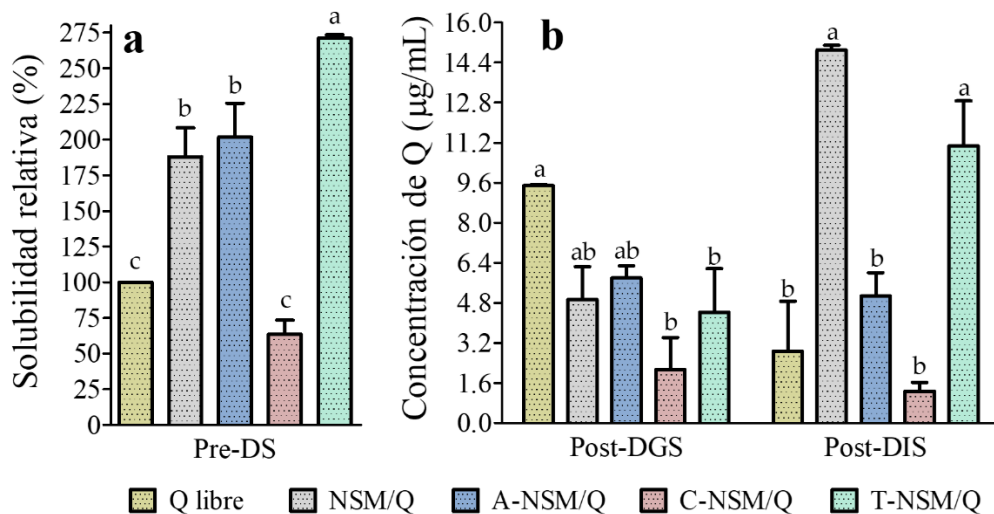


Figura 10. Solubilidad relativa de Q liberada de F-NSM suspendidas en agua desionizada antes de la digestión simulada (Pre-DS) (a) y concentración de Q liberada en medio digestivo simulado añadido con F-NSM tras la digestión gástrica simulada (Post-DGS) y tras la digestión intestinal simulada (Post-DIS) (b). Los datos se presenta como las medias ($n=3$) $\pm$ desviación estándar. Columnas con letras diferentes son significativamente diferentes ($p<0.05$).

Por el contrario, las C-NSM/Q y las T-NSM/Q parecen retrasar la liberación de la molécula. Tras la fase intestinal, la concentración en los medios NSM/Q y T-NSM/Q fue significativamente superior ($p < 0.05$) a la determinada en los medios Q libre, A-NSM/Q y C-NSM/Q, lo cual se debe a la liberación acelerada de la molécula a partir de los materiales mencionados en primer lugar bajo las condiciones intestinales de pH. Estos resultados concuerdan con la liberación pH-dependiente de las F-NSM discutida en la sección 7.2.

Mediante la determinación de la capacidad antioxidante (Figura 11), se observa que, previo a la digestión simulada, la quercetina libre puede inhibir los radicales ABTS prácticamente por completo ($99.71 \% \pm 0.20 \%$).

Esta capacidad se ve reducida drásticamente tras la fase gástrica ($28.80 \% \pm 3.44 \%$). De igual forma, la capacidad antioxidante se redujo en las NSM/Q (de $73.58 \% \pm 4.15 \%$ a $9.17 \% \pm 2.23 \%$) y en las T-NSM/Q (de $83.67 \% \pm 2.84 \%$ a $16.48 \% \pm 3.24 \%$). Sólo las A-NSM y las C-NSM parecen preservar la capacidad antioxidante de la quercetina en medio gástrico, sin embargo, debido a su contenido inicial de la molécula, sólo las A-NSM muestran valores significativos antes ($55.88 \% \pm 5.27 \%$) y después ($58.95 \% \pm 3.34 \%$) de esta fase.

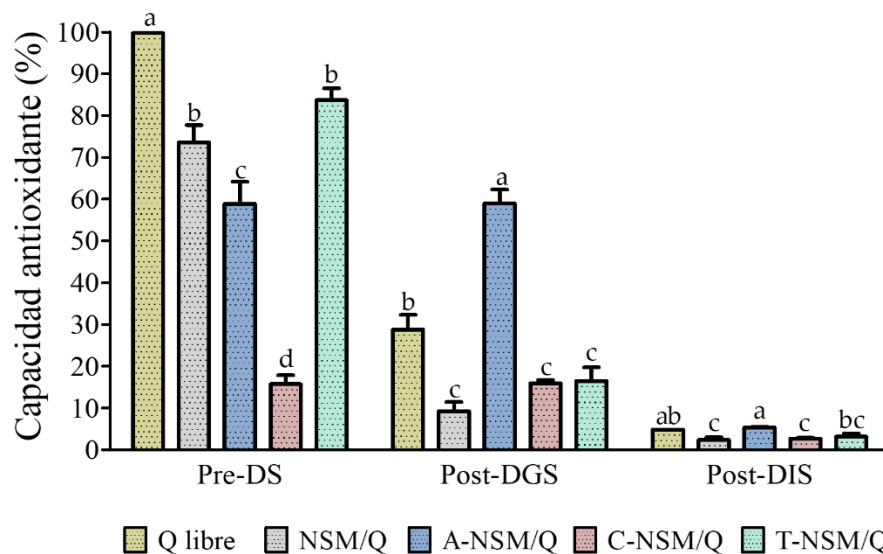


Figura 11. Capacidad antioxidante por el método ABTS de Q liberada en agua desionizada pre-DS y en medio digestivo simulado añadido con F-NSM tras la digestión gástrica simulada (Post-DGS) y tras la digestión intestinal simulada (Post-DIS). Los datos se presenta como las medias ($n=3$) $\pm$ desviación estándar. Medias con letras diferentes son significativamente diferentes ($p<0.05$).

Esto indica que la quercetina liberada por estos acarreadores mantiene mejor su actividad antioxidante que la quercetina libre, probablemente debido a la liberación controlada del compuesto al pH del medio. Finalmente, tras la fase intestinal, todos los tratamientos exhibieron una capacidad antioxidante deficiente, con valores entre $5.38 \% \pm 0.10 \%$ (A-NSM/Q) y $2.36 \% \pm 0.63 \%$ (NSM/Q). Estos resultados sugieren que, a pesar de las buenas propiedades de liberación de las NSM y las T-NSM en medio intestinal simulado, ningún material mesoporoso logró preservar las propiedades antioxidantes de la quercetina liberada.

En medio acuoso con $pH > 5.0$, se ha reportado que la forma ionizada de la quercetina es susceptible a la degradación (Zheng et al., 2005); además, las moléculas de quercetina son químicamente inestables en el medio alcalino acuoso del tracto gastrointestinal debido a una posible reacción con los iones hidróxido (Dey, Ghosh & Giri, 2020). La liberación continua de quercetina a partir de las NSM y las T-NSM se tradujo en una mayor concentración de la molécula.

Sin embargo, es probable que la quercetina liberada a partir de los materiales mesoporosos, expuesta a las condiciones del medio, genere productos con actividad antioxidante deficiente, como se ha reportado previamente (Zheng et al., 2005; Zvezdanovic et al., 2011, Jurasekova et al., 2014). No obstante, la posible degradación de la quercetina liberada y la pérdida de la capacidad antioxidante, el efecto antioxidante de las partículas aún puede subsistir mediante otros mecanismos.

Los radicales libres derivados de la quercetina pueden inducir estrés oxidativo, incrementando la producción celular de anión superóxido y como consecuencia, una inducción de una respuesta celular antioxidante que puede llevar a la reducción de las sustancias reactivas de oxígeno totales (Carrillo-Garmendia et al., 2023). Por otro lado, es relevante señalar que la capacidad antioxidante reportada se relaciona directamente con la quercetina liberada en el medio tras la digestión gastrointestinal simulada, y no con la cantidad total de quercetina cargada en las diferentes partículas. Tomando en consideración que los nanomateriales mostraron una liberación controlada de quercetina por hasta 10 h, aún puede subsistir dentro de las partículas una cantidad significativa de quercetina que puede liberarse tras su absorción celular.

Adicionalmente, la principal absorción de las nanopartículas toma lugar en el intestino delgado (Hai et al., 2020) a través de sus varios segmentos (Li et al., 2009), mientras que la evaluación de la capacidad antioxidante en este trabajo se realizó tras la fase intestinal completa, por lo tanto, la quercetina liberada a partir de las A-NSM (que mantuvo capacidad antioxidante tras la fase gástrica) podría exhibir propiedades antioxidantes en etapas tempranas de la digestión intestinal.

7.4. Efecto de las F-NSM/Q sobre células Caco-2

7.4.1. Potencial ζ en medio de cultivo celular

A pesar de la adición de diferentes grupos funcionales, todas las partículas mostraron un potencial ζ altamente negativo, con sólo pequeñas diferencias (Tabla 4). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Todo-Oikawa et al. (2020), quienes señalan que la biorreactividad de las nanopartículas está influida por la adsorción de moléculas biológicas en su superficie, lo que forma una corona de proteínas que depende de la química superficial de las nanopartículas.

Tabla 4. Potencial ζ de las NSM, A-NSM, C-NSM y T-NSM suspendidas en MEM.

	Potencial ζ (mV)
NSM	$-36.89^{ab} \pm 1.35$
A-NSM	$-42.61^{ab} \pm 1.48$
C-NSM	$-44.67^b \pm 1.51$
T-NSM	$-36.72^a \pm 2.89$

Los datos se presentan como las medias ($n=3$) $\pm$ desviación estándar. Medias con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ($p<0.05$).

7.4.2. Citotoxicidad de las nanopartículas de sílice mesoporosa

La citotoxicidad de las partículas de sílice mesoporosa es un proceso complejo que involucra la generación de ERO y cambios en la integridad de la membrana inducidos por la absorción celular, los cuales, a su vez, son fuertemente dependientes del tamaño de partícula, la dosis administrada y el tipo de célula (Kim et al., 2015). Los resultados del ensayo MTT (Figura 12) muestran que no hubo un decremento de la viabilidad de las células Caco-2 expuestas a las diferentes F-NSM tras 24 h de exposición, a una concentración de hasta 500 $\mu\text{g/mL}$ ($p<0.05$).

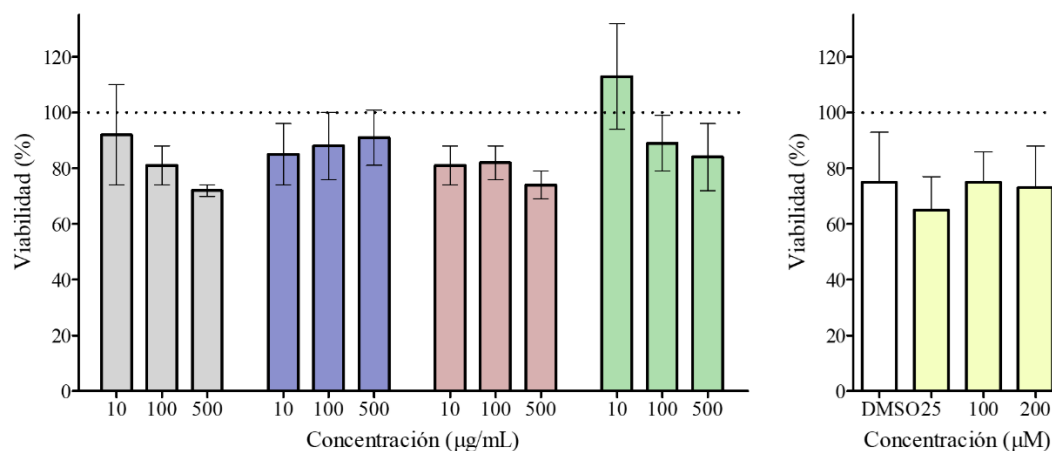


Figura 12. Viabilidad de células Caco-2 tras 24 h de exposición a las NSM (gris), A-NSM (azul), C-NSM (rojo), T-NSM (verde) y a la quercetina (amarillo). Los datos mostrados representan la media $\pm$ desviación estándar ($n=3$).

Estudios anteriores han reportado resultados similares usando esta línea celular: Rashidi et al. (2014), reportaron que concentraciones de NSM amino-funcionalizadas desde 10 hasta 500 $\mu\text{g/mL}$ no mostraron efecto citotóxico tras 24 h de exposición. No obstante, tras 72 h se observó un efecto citotóxico de las partículas a una concentración de 500 $\mu\text{g/mL}$ (60,6 % de viabilidad); sin embargo, los autores indican que este efecto puede deberse a la reducción de los nutrientes en el medio, lo que detuvo la proliferación celular.

Por su parte, Ndayishimiye et al. (2021), probaron NSM funcionalizadas con grupos que confieren carácter eléctrico positivo, negativo o neutro ($-\text{NH}_2$, $-\text{PO}_3$ y $-\text{CH}_3$) y evaluaron su efecto citotóxico en un rango de concentraciones de 25 a 500 $\mu\text{g/mL}$, observando que ninguno de los tratamientos disminuyó la viabilidad celular en un 80%, indicando la ausencia de citotoxicidad en esta línea celular.

Por otro lado, se ha reportado que la adsorción de moléculas del plasma (corona de proteínas) tiene lugar independientemente de la carga superficial de las nanopartículas, actuando como un recubrimiento que aísla las funcionalidades químicas de la superficie y, por lo tanto, previene su efecto citotóxico (Paula et al., 2012). La presencia de la corona de proteínas en todos los tipos de nanopartículas se demostró mediante la medición del potencial ζ .

Por su parte, la quercetina, hasta una concentración de 200 μM , tampoco mostró un efecto tóxico tras 24 h ($p < 0.05$). Esto difiere de lo reportado por Han et al. (2016), quienes observaron una clara inhibición de la viabilidad de células Caco-2 expuestas a concentraciones superiores a 20 μM de quercetina, lo cual se asocia con un incremento de sustancias reactivas de oxígeno intracelulares. En contraparte, los efectos benéficos asociados a los flavonoides se atribuyen a su efecto antioxidante directo, que les permite secuestrar ERO y ERN gracias a la configuración de los grupos hidroxilo de su anillo B que poseen la capacidad de donar hidrógeno y electrones (Kicinska & Jarmuszkiewicz, 2020).

7.4.3. Cinética de liberación de quercetina

En todas las muestras y tiempos de incubación, la cantidad de Q liberada fue inferior al límite de detección (15 μM); por lo tanto, no fue posible estimar con precisión el valor inicial teórico. Sin embargo, este resultado indica una concentración muy baja de Q en el medio de

cultivo. La composición del medio mínimo esencial (MEM) incluye sales, aminoácidos, vitaminas, glucosa, piruvato de sodio y rojo de fenol. No hay suficiente información sobre la estabilidad de los flavonoides en el MEM; sin embargo, se han realizado varios estudios sobre su estabilidad en el medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM), que tiene una composición similar, con una concentración de aminoácidos más alta (el doble) y una dosis de vitaminas más alta (cuatro veces mayor) (Kicinska et al., 2020).

Se ha demostrado que la Q no es estable en condiciones de cultivo celular, como las proporcionadas por el DMEM. Hu (2012) observó que la Q en DMEM a pH 7 y 8 disminuyó significativamente (casi un 50 %) en una hora y luego disminuyó gradualmente durante las siguientes cinco horas. Este autor también evaluó los efectos individuales de los suplementos del medio (HEPES, bicarbonato sódico, glucosa, piruvato sódico, penicilina, estreptomicina y FBS), y solo el NaHCO_3 afectó significativamente la estabilidad de este compuesto.

Xiao & Högger (2015) reportaron que la Q incubada en DMEM (10 μM) en ausencia de células presentaba un tiempo de degradación media de 17.96 minutos; sin embargo, cabe señalar que el polifenol degradado o metabolizado puede presentar una bioactividad diferente a la del compuesto original.

Cao et al. (2022) realizaron un análisis *in situ* mediante UPLC-MS-MS para evaluar la estabilidad de la Q en DMEM a 37 °C. Tras 180 min de incubación a 50 μM , la Q era prácticamente indetectable. La degradación de Q en el medio se atribuyó a la formación de un sistema redox por los componentes del DMEM o a la formación de complejos de Q con cationes divalentes mediante quelación.

Por otra parte, los flavonoides, incluida la Q, pueden formar complejos con proteínas plasmáticas como la albúmina sérica bovina (BSA) (Geng et al., 2018; Poor et al., 2017; Cao et al., 2012), lo que sugiere que los complejos Q-proteína pudieron eliminarse por centrifugación durante el procesamiento de la muestra. En este sentido, y con base en estos reportes, se asume que la quercetina es altamente inestable en el medio de cultivo celular MEM.

7.4.4. Estudio de absorción celular

La sílice mesoporosa funcionalizada mejora la penetración de fármacos mediante mecanismos como la selección de canales de transporte específicos, el aumento de la solubilidad del fármaco o la mejora de la internalización celular (Budiman et al., 2024).

La Figura 13 muestra la absorción de Q por las células Caco-2. Como se muestra claramente, las C-NSM exhibieron la mayor tasa de absorción (80.48 ± 0.37 % del contenido inicial de Q de las partículas). Por el contrario, las células internalizaron aproximadamente solo el 10 % de la Q cargada en las A-NSM y las T-NSM, lo que es inferior al 36.03 ± 1.28 % internalizado por las NSM.

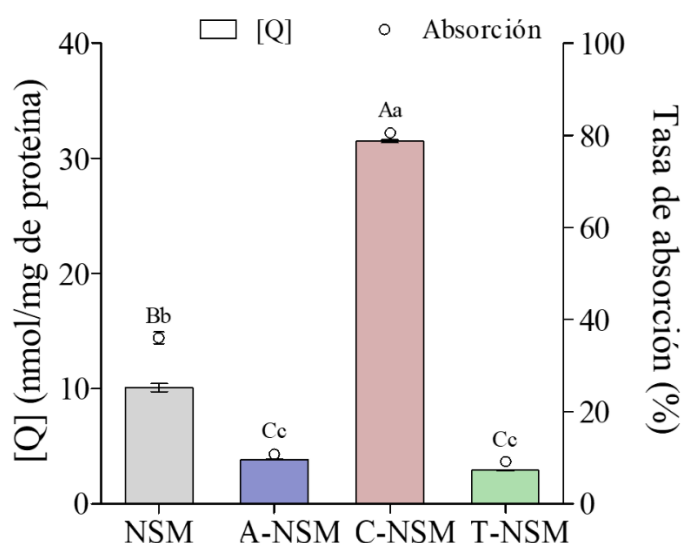


Figura 13. Absorción de quercetina de células Caco-2. Los datos mostrados representan media $\pm$ desviación estándar ($n = 3$). Las columnas que indican la concentración de quercetina que no están conectadas por la misma letra mayúscula son diferentes ($p < 0.05$). Los puntos que indican la tasa de absorción de quercetina no conectados por la misma letra minúscula son diferentes ($p < 0.05$).

El tamaño de las partículas es uno de los factores más importantes que afectan la administración del agente encapsulado en NSM al sitio blanco y se ve influido por el pH, entre otros. En este sentido, normalmente se prefieren las partículas más pequeñas por su mayor absorción celular (Siddiqui et al., 2022).

Las vías de endocitosis de las nanopartículas están estrechamente relacionadas con su tamaño. La vía de fagocitosis se utiliza para internalizar partículas de más de $0.5 \mu\text{m}$ y se

limita a los fagocitos profesionales, como los macrófagos, las células dendríticas y los neutrófilos (Oh & Park, 2014). Las nanopartículas con un diámetro >200 nm activan el sistema del complemento y son eliminadas rápidamente del torrente sanguíneo por los fagocitos mononucleares y el sistema reticuloendotelial (Mazzota et al., 2022).

Por otro lado, la pinocitosis se produce en todos los tipos de células y puede clasificarse en endocitosis dependiente de clatrina y caveolina, endocitosis independiente de clatrina y caveolina, y micropinocitosis (Garrido-Cano et al., 2021). Se ha descrito que las partículas con un tamaño inferior a 200 nm se internalizan a través de las vías mediadas por clatrina y caveolas (Mazzota et al., 2022; Garrido-Cano et al., 2021; Sreeharsha et al., 2022). La endocitosis mediada por clatrina y caveolinas es la vía más importante para la internalización de nanopartículas, ya que estas se recubren directamente con proteínas plasmáticas al exponerse a soluciones fisiológicas (Budiman et al., 2024).

Como se discutió en resultados anteriores, las NSM/Q, A-NSM/Q y T-NSM/Q forman agregados con tamaños de partícula en la escala de micras cuando se suspenden en PBS a pH 7.4 (similar al medio de cultivo celular). Por el contrario, las C-NSM/Q mostraron un tamaño de partícula de 210 nm debido a la fuerte repulsión entre ellas. Por lo tanto, la mejora en la administración de Q por parte de las C-NSM podría atribuirse a una distribución más uniforme en el medio de cultivo celular, lo que da como resultado partículas de tamaño adecuado que permiten su internalización a través de las vías de pinocitosis.

7.4.5. Efecto citoprotector

La quercetina, libre o cargada en F-NSM, mostró un efecto protector frente al daño inducido por H₂O₂ (Figura 14). Como puede observarse, este efecto protector es dependiente del tiempo, pues con 2 h de incubación, la quercetina no mostró protección bajo ninguna de las concentraciones probadas. Por el contrario, tras 18 h de incubación, la quercetina inhibió por completo la reducción de la viabilidad celular a una concentración de 100 µM.

Esto fue similar para todos los tratamientos con Q cargada en F-NSM, que también inhibieron la disminución de la viabilidad celular a esta concentración. No obstante, en el caso de las NSM y las A-NSM, la concentración requerida de Q para alcanzar este mismo efecto fue de 50 µM.

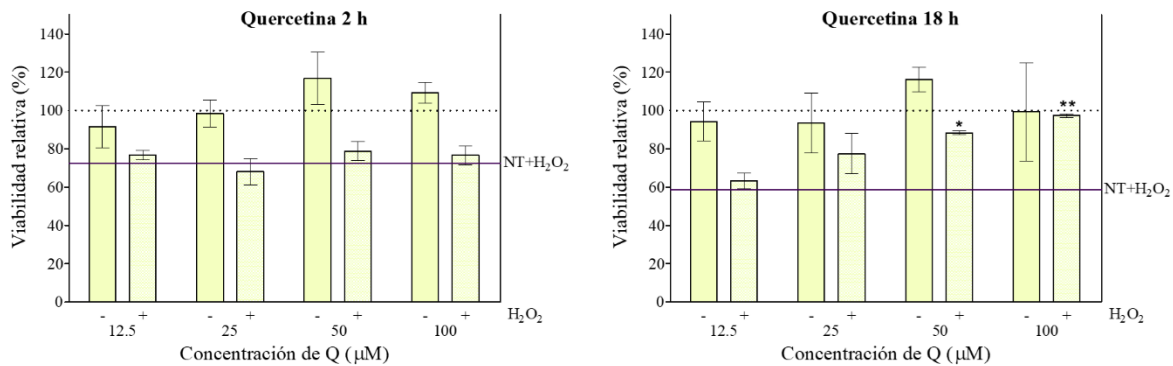


Figura 14. Viabilidad relativa de células Caco-2 tras 2 h o 18 h de exposición a la quercetina, con (+) o sin (-) 2 h adicionales de exposición al H₂O₂. Los datos mostrados representan la media $\pm$ desviación estándar ($n = 3$). Los tratamientos diferentes al control (NT+H₂O₂) están marcados con *($p < 0.05$) o **($p < 0.01$).

Los resultados coinciden con lo reportado por Zhang et al. (2020), quienes evaluaron el efecto protector de la quercetina sobre la viabilidad de las células PC-12 expuestas a este tipo de estrés. Los investigadores asociaron esta actividad con la reducción de la expresión inducida por H₂O₂ del malondialdehído (MDA) y con el incremento de la expresión de la superóxido dismutasa (SOD) y del glutatión (GSH).

Por su parte, otros reportes confirman el efecto protector de la quercetina frente al daño oxidativo inducido por H₂O₂ en el modelo de células Caco-2. Dong et al. (2020), observaron la reversión del daño celular inducido por H₂O₂ y el decremento de las ERO; los autores indican que la quercetina puede incrementar la proliferación celular y la concentración de GSH intracelular mediante la sobreexpresión de la transcripción de la subunidad catalítica de la ligasa glutamato-cisteína (GCLC), eliminando las ERO en exceso.

Por otro lado, en un estudio con una línea celular de epitelio gástrico, Yao et al. (2021) demostraron que la quercetina inhibe el daño por estrés oxidativo mediante el mejoramiento de la función mitocondrial y de la barrera mucosa, y mediante la supresión de la inflamación a través de la regulación de la ruta de señalización PI3K/AKT. Esto había sido previamente reportado por Carrasco-Pozo et al. (2012), quienes señalaron la protección ofrecida por la quercetina contra la disfunción mitocondrial en células Caco-2 y la asociaron a su habilidad para entrar a las células y acumularse en la mitocondria.

De la misma forma, Vissenaekens et al. (2021) propusieron una respuesta al estrés en células intestinales (Caco-2) con disfunción mitocondrial, basada en el incremento de la quercetina intracelular, parcialmente localizada en las mitocondrias estresadas.

Como se puede observar, el efecto protector de la quercetina depende del tiempo, toda vez que a 2 h de incubación no mostró efecto en ninguna de las concentraciones probadas. Las propiedades antioxidantes de la quercetina se encuentran relacionadas con dos mecanismos (1) su capacidad directa para secuestrar ERO y (2) la sobreexpresión indirecta de la expresión de genes relacionados con la síntesis de sustancias antioxidantes (Fuentes et al., 2017).

Karancsi et al. (2022), demostraron que la quercetina posee un efecto prooxidante así como antioxidante en células de yeyuno (IPEC-J2) estresadas por LPS (lipopolisacárido). El tratamiento con quercetina incrementó la concentración de H_2O_2 extracelular, sin embargo, en general, disminuyó la producción de ERO. Aunado a lo anterior, muchos estudios han mostrado que la oxidación de la quercetina produce metabolitos con capacidad antioxidante similar o incluso superior a la del flavonoide no oxidado, manteniendo su capacidad de secuestro de ERO (Fuentes et al., 2017; Atala et al., 2017).

Al mismo tiempo, la quercetina oxidada contiene metabolitos que no son prooxidantes por sí mismos, pero que, cuando se añaden en altas concentraciones a células expuestas a un estrés oxidativo severo, pueden sufrir cambios químicos que generan especies prooxidantes. No obstante, bajas concentraciones de estos metabolitos pueden inducir, a través de diferentes rutas de señalización, una respuesta celular antioxidante temprana, eficaz y plenamente compensatoria.

En este sentido, es conocida la capacidad de la quercetina para sobreexpresar la capacidad antioxidante de las células mediante la activación de Nrf2, un factor de transcripción que se une a Keap1 en el citoplasma (Cuadrado et al., 2019). El estrés oxidativo puede provocar cambios conformacionales en Keap1, lo que conduce a la disociación y activación de Nrf2. Posteriormente, Nrf2 entra al núcleo y se une a elementos de respuesta antioxidante, activándolos (Liu et al., 2024).

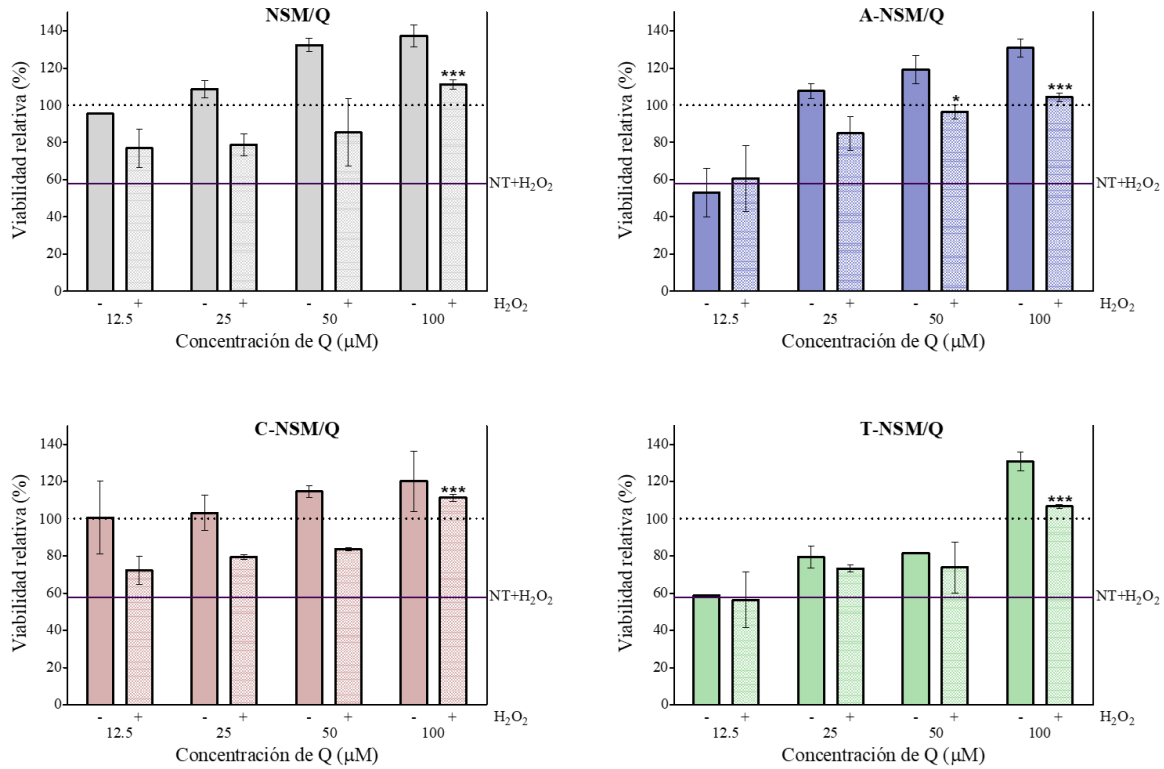


Figura 15. Viabilidad relativa de células Caco-2 tras 18 h de exposición a F-NSM/Q y con (+) o sin (-) 2 h de exposición a H₂O₂. Los tratamientos con H₂O₂ que difieren del control (NT + H₂O₂) están marcados con * ($p < 0.05$) o *** ($p < 0.001$). Los datos mostrados son las medias $\pm$ D.E. ($n=3$).

La quercetina (Q) a 100 μ M, cargada en NSM (nanopartículas de sílice mesoporosa), mantuvo su efecto protector (Figura 15). Para las A-NSM, la concentración de Q necesaria para inhibir por completo la viabilidad celular fue de 50 μ M.

Interesantemente, las NSM/Q, A-NSM/Q y T-NSM/Q mostraron un aumento de la viabilidad celular en células no estresadas a una concentración de 100 μ M de Q ($p < 0.05$). Esto podría estar relacionado con la naturaleza celular proliferativa de las NSM, que poseen potencial para la ingeniería de tejidos debido a sus propiedades intrínsecas osteogénicas y proangiogénicas (Rasool et al., 2023; Kanniyappan et al, 2020).

Además, este efecto podría deberse a la actividad beneficiosa de la quercetina en diversas líneas celulares, incluidas las células Caco-2 (Suzuki et al., 2009), combinada con la capacidad de las partículas mesoporosas para preservar y, potencialmente, potenciar su actividad biológica en comparación con las células no tratadas.

Por el contrario, cuando las partículas fueron removidas del medio antes de la incubación de las células Caco-2 (Figura 16), no sólo se eliminó el incremento en la viabilidad de las células no tratadas, sino también el efecto protector de las células estresadas.

Esta observación coincide con los resultados de la Sección 7.3, que mostraron que la Q es inestable en los medios de cultivo celulares. Esto implica que el efecto citoprotector de las partículas cargadas no se debe a la liberación de Q (quercetina), y se especula que dicho efecto depende de: (a) la cantidad de Q adsorbida en su superficie, (b) la cantidad de Q entregada al interior de la célula, o (c) el efecto de las propias NSM.

En este último caso, es esencial destacar las T-NSM, que contienen un grupo tiol nucleofílico (R-SH) capaz de interactuar directamente con los centros electrofílicos de los radicales oxidantes (Ferreira et al., 2019). En este sentido, las T-NSM se utilizaron para promover la regeneración de tejido óseo, demostrando actividad antioxidante al neutralizar las ERO (especies reactivas de oxígeno) generadas en células precursoras de osteoblastos murinos (MC3T3) y al proteger contra el daño celular inducido por las ERO (Rasool et al., 2023). Sin embargo, el mecanismo que explica el efecto citoprotector de las T-NSM en los resultados presentados aún no está claro.

La Figura 17A compara los efectos de la Q libre o cargada sobre la recuperación de la viabilidad relativa de las células Caco-2. A diferencia de la Q libre, todos los tratamientos con MSN cargadas con 100 μ M de Q mostraron una recuperación de la viabilidad relativa superior al 100% (Figura 17B).

Cabe señalar que, en comparación con la Q libre, este efecto se obtuvo sin emplear DMSO como vehículo. Se requieren más investigaciones para esclarecer el mecanismo subyacente a esta observación; no obstante, los hallazgos aquí presentados sugieren que las NSM pueden proteger a la Q de la degradación en los medios de cultivo celular y evitar que esta forme complejos con los componentes del medio. Además, esto conduce a una mejor entrega de la Q al interior de la célula. Todas las partículas cargadas mostraron efectos citoprotectores más potentes que los de la Q libre; sin embargo, los mecanismos parecen diferir entre sí.

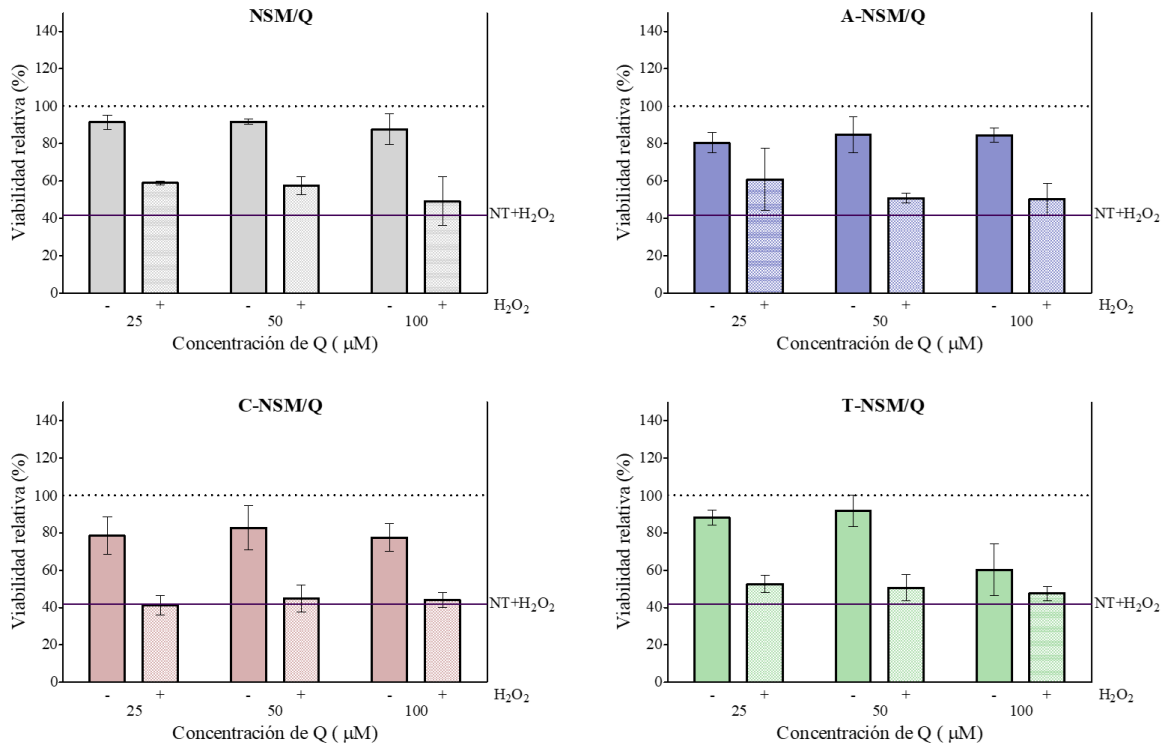


Figura 16. Viabilidad relativa de células Caco-2 tras 18 h de exposición al medio de liberación de F-NSM/Q con (+) o sin (-) 2 h de exposición a H₂O₂. Los datos mostrados son las medias $\pm$ D.E. ($n = 3$).

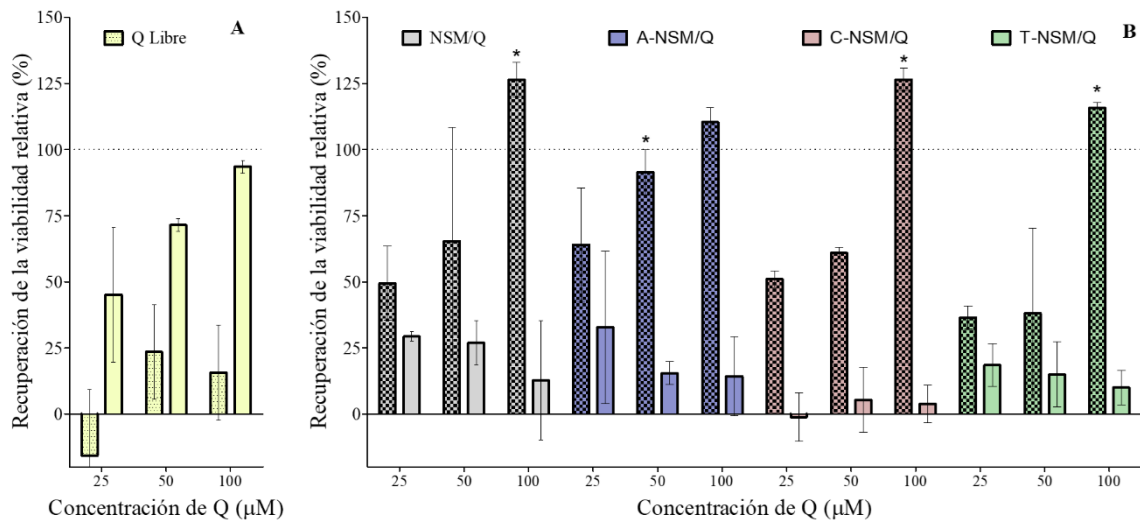


Figura 17. Recuperación de la viabilidad relativa de células Caco-2 expuestas a H₂O₂ tras una preincubación con (A) Q libre durante 2 h (patrón) o 18 h (claro) o (B) F-NSM/Q (patrón) o su medio de liberación (claro) durante 18 h. Los datos mostrados son las medias $\pm$ DE ($n = 3$). Los tratamientos con partículas que difieren de sus respectivas concentraciones de Q libre (18 h) están marcados con * ($p < 0.05$).

7.5. Evaluación de las nanopartículas funcionalizadas usando un modelo animal

7.5.1. Ensayo de hemólisis

La Figura 18 muestra la tasa de hemólisis de los vehículos de sílice. Con la menor concentración probada de 50 $\mu\text{g/mL}$ las NSM y las T-NSM mostraron una tasa de hemólisis superior al 20 %. Se ha determinado que un nanomaterial con una tasa de hemólisis superior al 5 % presenta efectos hemolíticos (ASTM International, 2008).

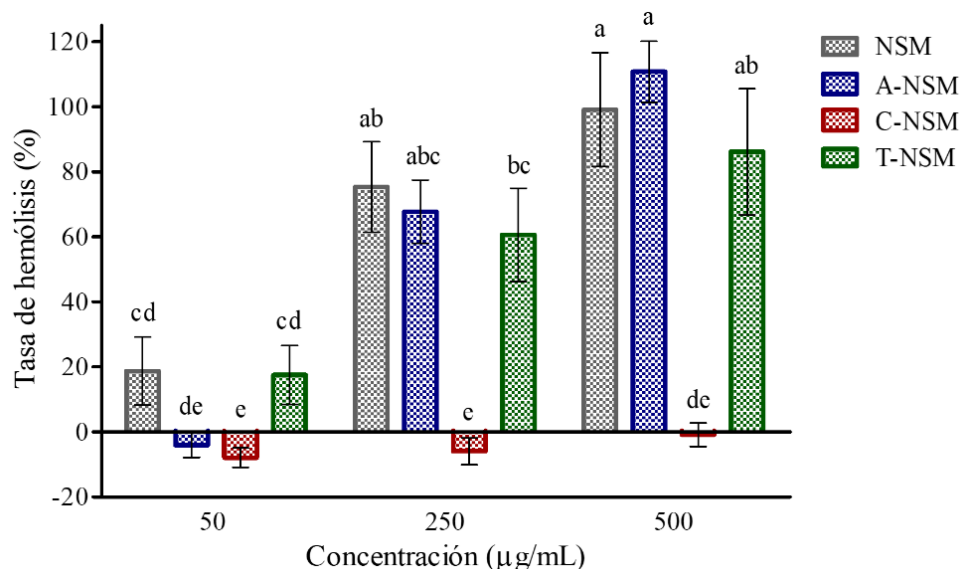


Figura 18. Tasa de hemólisis de las NSM y F-NSM

El efecto hemolítico de las NSM se debe a los grupos silanol, que pueden ionizarse e interactuar con los grupos fosfatidilcolina de las membranas de los glóbulos rojos, lo que causa su disrupción (Paula et al., 2012). Se mencionó previamente que los grupos $-\text{SH}$ actúan de manera similar a los grupos $-\text{OH}$ de las NSM al disociarse, lo cual explica el efecto hemolítico observado en las T-NSM (Fig. 18).

Por otro lado, las A-NSM y las C-NSM no mostraron efectos de hemólisis. En estudios previos se ha descrito que la inhibición de la interacción de las nanopartículas de sílice con los grupos trimetilamonio presentes en las membranas de los glóbulos rojos resulta en una reducción significativa de la actividad hemolítica (Farjadian et al., 2018).

En este sentido, los grupos $-\text{NH}_3^+$ en la superficie de las A-NSM mostraron una reducción significativa de su carácter eléctrico negativo, lo que disminuyó su interacción con los grupos

trimetilamonio cargados positivamente. A partir de 250 $\mu\text{g/mL}$ todas las nanopartículas mostraron tasa de hemólisis $>60\%$, a excepción de las C-NSM. Las C-NSM mostraron una excelente biocompatibilidad, ya que no presentaron efecto hemolítico hasta una concentración de 500 $\mu\text{g/mL}$. La excelente biocompatibilidad de las C-NSM se ha reportado previamente (Majidi et al., 2024; Gou et al., 2021) y se atribuye a su potencial ζ altamente negativo (menor a -40 mV), el cual previene su interacción con la membrana celular del eritrocito con carga neta negativa.

8. Conclusiones

El empleo de las NSM como sistema de administración de quercetina mitigó las limitaciones críticas de su administración oral, incrementando su solubilidad acuosa y permitiendo una liberación controlada en condiciones gástricas. La modificación de la química superficial de las NSM modificó sus características: la funcionalización con grupos amino maximizó la capacidad de carga y preservó las propiedades antioxidantes de la Q tras la digestión gástrica. Por su parte, la carboxilo-funcionalización previno la aglomeración de las partículas, mientras que la tiol-funcionalización optimizó la solubilidad del flavonoide y su perfil de liberación a pH fisiológico. Aunque la capacidad antioxidante en medio intestinal simulado no se preservó para la Q liberada, es necesario hacer hincapié en el potencial remanente de las nanopartículas que albergan el compuesto adsorbido y que mantienen su liberación sostenida.

Al interactuar con medios biológicos (MEM), todas las NSM exhibieron un potencial ζ similar, lo que indica la formación de una corona de proteínas independiente de la funcionalización. Respecto a la seguridad biológica, los materiales no mostraron citotoxicidad en células Caco-2 a concentraciones de hasta 500 $\mu\text{g/mL}$. Se observó una marcada inestabilidad de la Q en el medio de cultivo celular, lo que sugiere que sus efectos se relacionan con sus productos de degradación y con la respuesta celular intrínseca. En cuanto a la absorción celular, las C-NSM destacaron al incrementarla en un 300%. En ensayos de estrés oxidativo, tanto la Q libre como la cargada ejercieron un efecto protector contra el daño inducido por H_2O_2 ; sin embargo, la quercetina cargada en nanopartículas demostró una recuperación de la viabilidad celular superior, lo que evidencia que la protección está mediada por la presencia de las partículas y no exclusivamente por la fracción liberada.

En síntesis, las C-NSM se perfilan como el vehículo más prometedor. A pesar de no maximizar la carga inicial, su capacidad para potenciar la absorción intestinal, mantener la biocompatibilidad y presentar hemólisis nula (a diferencia de las otras variantes) las posiciona como una alternativa superior para la administración de fármacos. Las futuras investigaciones deben dirigirse a los sistemas de administración basados en nanopartículas de sílice mesoporosa para evaluar *in vivo* la farmacocinética y la biodisponibilidad oral. Esto

permitirá integrar la información obtenida *in vitro* sobre la liberación de quercetina, su estabilidad gastrointestinal y su absorción celular. Asimismo, resulta de gran interés profundizar en la caracterización proteómica de la corona de proteínas formada en distintos fluidos biológicos, con el fin de comprender cómo esta capa biológica modula las propiedades químicas de las nanopartículas.

9. Referencias

- ASTM International. (2008). Standard test method for analysis of effects of nanomaterials on human whole blood complement activation (). <https://www.astm.org/e2524-08.html>
- AbouAitah, K., & Farghali, A. A. (2016). Mesoporous silica materials in drug delivery system: ph/glutathione- responsive release of poorly water-soluble pro-drug quercetin from two and three-dimensional pore-structure nanoparticles. *Journal of Nanomedicine and Nanotechnology*, 07(02). <https://doi.org/10.4172/2157-7439.1000360>.
- Andres, S., Pevny, S., Ziegenhagen, R., Bakhiya, N., Schäfer, B., Hirsch-Ernst, K. I., & Lampen, A. (2017). Safety aspects of the use of quercetin as a dietary supplement. *Molecular Nutrition and Food Research*, 62(1). <https://doi.org/10.1002/mnfr.201700447>
- Arcos, D., & Vallet-Regí, M. (2013). *Acta Materialia*, 61(3), 890–911. <https://doi.org/10.1016/j.actamat.2012.10.039>
- Atala, E., Fuentes, J., Wehrhahn, M. J., & Speisky, H. (2017). Quercetin and related flavonoids conserve their antioxidant properties despite undergoing chemical or enzymatic oxidation. *Food Chemistry*, 234, 479-485. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.023>
- Bahrami, Z., Badiei, A., & Atyabi, F. (2014). Surface functionalization of SBA-15 nanorods for anticancer drug delivery. *Chemical Engineering Research and Design*, 92(7), 1296-1303. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2013.11.007>
- Batiha, G. E., Beshbishy, A. M., Ikram, M., Mulla, Z. S., El-Hack, M. E. A., Taha, A. E., Algammal, A. M., & Elewa, Y. H. A. (2020). The Pharmacological Activity, Biochemical Properties, and Pharmacokinetics of the Major Natural Polyphenolic Flavonoid: Quercetin. *Foods*, 9(3), 374. <https://doi.org/10.3390/foods9030374>
- Beck, J. S., Vartuli, J. C., Roth, W. J., Leonowicz, M. E., Kresge, C. T., Schmitt, K. D., Chu, C. T. W., Olson, D. H., Sheppard, E. W., McCullen, S. B., Higgins, J. B., & Schlenker, J. L. (1992). A new family of mesoporous molecular sieves prepared with liquid crystal templates. *Journal of the American Chemical Society*, 114(27), 10834-10843. <https://doi.org/10.1021/ja00053a020>

- Berlier, G., Gastaldi, L., Ugazio, E., Miletto, I., Iliade, P., & Sapino, S. (2013). Stabilization of quercetin flavonoid in MCM-41 mesoporous silica: positive effect of surface functionalization. *Journal of Colloid and Interface Science*, 393, 109-118. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.10.073>
- Bernardos, A., & Kouřimská, L. (2013). Applications of mesoporous silica materials in food - a review. *Czech Journal of Food Sciences*, 31(2), 99-107. <https://doi.org/10.17221/240/2012-cjfs>
- Bolivar, J. M., Schelch, S., Mayr, T., & Nidetzky, B. (2015). Mesoporous silica materials labeled for optical oxygen sensing and their application to development of a silica-supported oxidoreductase biocatalyst. *ACS Catalysis*, 5(10), 5984-5993. <https://doi.org/10.1021/acscatal.5b01601>
- Bouchoucha, M., Côté, M. F., C.-Gaudreault, R., Fortin, M. A., & Kleitz, F. (2016). Size-controlled functionalized mesoporous silica nanoparticles for tunable drug release and enhanced anti-tumoral activity. *Chemistry of Materials*, 28(12), 4243-4258. <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.6b00877>
- Brodkorb, A., Egger, L., Alming, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Feunteun, S. L., Recio, I. (2019) INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, 14(4), 991-1014. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>
- Budiman, A., Rusdin, A., Wardhana, Y. W., Puluhalawa, L. E., Mo'o, F. R. C., Thomas, N., Gazzali, A. M., & Aulifa, D. L. (2024). Exploring the Transformative Potential of Functionalized Mesoporous Silica in Enhancing Antioxidant Activity: A Comprehensive Review. *Antioxidants*, 13(8), 936. <https://doi.org/10.3390/antiox13080936>
- Candela-Noguera, V., Amorós, P., Aznar, E., Marcos, M. D., & Martínez-Máñez, R. (2024). Systematic study of the implications of calcination and solvent extraction of the surfactant in MCM-41-type mesoporous silica nanoparticles. *Microporous And Mesoporous Materials*, 373, 113119. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2024.113119>

- Cao, H., Chen, X., & Yamamoto, K. (2012). Bovine Serum Albumin Significantly Improves the DPPH Free Radical Scavenging Potential of Dietary Polyphenols and Gallic Acids. *Anti-Cancer Agents In Medicinal Chemistry*, 12(8), 940-948. <https://doi.org/10.2174/187152012802650101>
- Cao, H., Högger, P., Prieto, M., Simal-Gandara, J., & Xiao, J. (2022). Stability of quercetin in DMEM and cell culture with A549 cells. *eFood*, 3(3). <https://doi.org/10.1002/efd2.13>
- Carrasco-Pozo, C., Mizgier, M. L., Speisky, H., & Gotteland, M. (2011). Differential protective effects of quercetin, resveratrol, rutin and epigallocatechin gallate against mitochondrial dysfunction induced by indomethacin in Caco-2 cells. *Chemico-Biological Interactions*, 195(3), 199-205. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2011.12.007>
- Carrillo-Garmendia, A., Madrigal-Pérez, L. A., & Regalado-González, C. (2023). The multifaceted role of quercetin derived from its mitochondrial mechanism. *Molecular and Cellular Biochemistry*. <https://doi.org/10.1007/s11010-023-04833-w>
- Catauro, M., Papale, F., Bollino, F., Piccolella, S., Marciano, S., Nocera, P., & Pacifico, S. (2015). Silica/quercetin sol–gel hybrids as antioxidant dental implant materials. *Science And Technology Of Advanced Materials*, 16(3), 035001. <https://doi.org/10.1088/1468-6996/16/3/035001>
- Chaithanya, A., Saravanan, R., y Sebastin, V. (2024). Approaches and advancements in the improvement of quercetin bioavailability. *YUGATO*, 76(1).
- Cheah, W., Sim, Y., & Yeoh, F. (2016). Amine-functionalized mesoporous silica for urea adsorption. *Materials Chemistry and Physics*, 175, 151-157. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2016.03.007>
- Chen, H., Dong, M., He, H., Piao, X., Han, X., Li, R., Jiang, H., Li, X., Li, B., & Cui, R. (2024). Ginsenoside Re Prevents Depression-like Behaviors via Inhibition of Inflammation, Oxidative Stress, and Activating BDNF/TrkB/ERK/CREB Signaling: An In Vivo and In Vitro Study. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 72(36), 19838-19851. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c04394>
- Chen, F., Ou, S., & Tang, C. Core–shell soy protein–soy polysaccharide complex (nano)particles as carriers for improved stability and sustained release of curcumin.

- (2016). *Journal of Agricultural and Food Research*, 64(24), 5053-5059. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b01176>
- Chen, N., Cheng, S., Souris, J. S., Chen, C., Mou, C., & Lo, L. (2013). Theranostic applications of mesoporous silica nanoparticles and their organic/inorganic hybrids. *Journal of Materials Chemistry B*, 1(25), 3128. <https://doi.org/10.1039/c3tb20249f>
- Chiang, Y., Lian, H., Leo, S., Wang, S., Yamauchi, Y., & Wu, K. C. (2011). Controlling particle size and structural properties of mesoporous silica nanoparticles using the Taguchi method. *Journal of Physical Chemistry C*, 115(27), 13158-13165. <https://doi.org/10.1021/jp201017e>
- Cuadrado, A., Rojo, A. I., Wells, G., Hayes, J. D., Cousin, S. P., Rumsey, W. L., Attucks, O. C., Franklin, S., Levonen, A., Kensler, T. W., & Dinkova-Kostova, A. T. (2019). Therapeutic targeting of the NRF2 and KEAP1 partnership in chronic diseases. *Nature Reviews Drug Discovery*, 18(4), 295-317. <https://doi.org/10.1038/s41573-018-0008-x>
- D'Andrea, G. (2015). Quercetin: A flavonol with multifaceted therapeutic applications? *Fitoterapia*, 106, 256-271. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2015.09.018>
- D'Arrigo, M., Muscarà, C., Molonia, M. S., Cimino, F., & Gervasi, T. (2024). Synbiotic effect of quercetin and probiotic *Lactobacillus* SP. protects intestinal barrier from *E. coli*-induced challenge in Caco-2 cells. *Journal Of Functional Foods*, 114, 106062. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2024.106062>
- De la Harpe, K., Kondiah, P., Choonara, Y., Marimuthu, T., Du Toit, L., & Pillay, V. (2019). The Hemocompatibility of Nanoparticles: A Review of Cell–Nanoparticle Interactions and Hemostasis. *Cells*, 8(10), 1209. <https://doi.org/10.3390/cells8101209>
- Dey, M., Ghosh, B., & Giri, T. K. (2020). Enhanced intestinal stability and pH sensitive release of quercetin in GIT through gellan gum hydrogels. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 196, 111341. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111341>
- Ding, X., Hu, X., Chen, Y., Xie, J., Ying, M., Wang, Y., & Yu, Q. (2020). Differentiated Caco-2 cell models in food-intestine interaction study: Current applications and future trends. *Trends In Food Science & Technology*, 107, 455-465. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.11.015>

- Dogra, P., Adolphi, N. L., Wang, Z., Lin, Y., Butler, K. S., Durfee, P. N., Croissant, J. G., Nouredine, A., Coker, E. N., Bearer, E. L., Cristini, V., & Brinker, C. J. (2019). Establishing the effects of mesoporous silica nanoparticle properties on in vivo disposition using imaging-based pharmacokinetics. *Nature Communications*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06730-z>
- Dogra, P., Adolphi, N. L., Wang, Z., Lin, Y., Butler, K. S., Durfee, P. N., Croissant, J. G., Nouredine, A., Coker, E. N., Bearer, E. L., Cristini, V., & Brinker, C. J. (2018). Establishing the effects of mesoporous silica nanoparticle properties on in vivo disposition using imaging-based pharmacokinetics. *Nature Communications*, 9(1), 4551. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06730-z>
- Dong, Y., Hou, Q., Lei, J., Wolf, P. G., Ayansola, H., & Zhang, B. (2020). Quercetin alleviates intestinal oxidative damage induced by H₂O₂ via modulation of GSH: in vitro screening and in vivo evaluation in a colitis model of mice. *ACS Omega*, 5(14), 8334-8346. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00804>
- Farjadian, F., Roointan, A., Mohammadi-Samani, S., & Hosseini, M. (2018). Mesoporous silica nanoparticles: Synthesis, pharmaceutical applications, biodistribution, and biosafety assessment. *Chemical Engineering Journal*, 359, 684-705. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.11.156>
- Fernandez-Bats, I., Di Pierro, P., Villalonga-Santana, R., García-Almendárez, B. E., & Porta, R. (2018). Bioactive mesoporous silica nanocomposite films obtained from native and transglutaminase-crosslinked bitter vetch proteins. *Food Hydrocolloids*, 82, 106-115. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.041>
- Ferreira, L. A., Reis, S. B. D., Da Silva, E. D. N., Cadore, S., Da Silva Bernardes, J., Durán, N., & De Jesus, M. B. (2019). Thiol-antioxidants interfere with assessing silver nanoparticle cytotoxicity. *Nanomedicine Nanotechnology Biology And Medicine*, 24, 102130. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2019.102130>
- Florek, J., Caillard, R., & Kleitz, F. (2017). Evaluation of mesoporous silica nanoparticles for oral drug delivery – current status and perspective of MSNs drug carriers. *Nanoscale*, 9(40), 15252-15277. <https://doi.org/10.1039/c7nr05762h>
- Fortis, S. P., Batrinou, A., Georgatzakou, H. T., Tsamesidis, I., Alvanidis, G., Papageorgiou, E. G., Stamoulis, K., Gkiliopoulos, D., Pouroutzidou, G. K., Theocharidou, A.,

- Kontonasaki, E., & Kriebardis, A. G. (2023). Effect of silica-based mesoporous nanomaterials on human blood cells. *Chemico-Biological Interactions*, 387, 110784. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2023.110784>
- Fuentes, J., Atala, E., Pastene, E., Carrasco-Pozo, C., & Speisky, H. (2017). Quercetin Oxidation Paradoxically Enhances its Antioxidant and Cytoprotective Properties. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 65(50), 11002-11010. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05214>
- Ganguly, A., Ahmad, T., & Ganguli, A. K. (2010). Silica mesostructures: control of pore size and surface area using a surfactant-templated hydrothermal process. *Langmuir*, 26(18), 14901-14908. <https://doi.org/10.1021/la102510c>
- Garrido-Cano, I., Candela-Noguera, V., Herrera, G., Cejalvo, J. M., Lluch, A., Marcos, M. D., Sancenón, F., Eroles, P., & Martínez-Mañez, R. (2021). Biocompatibility and internalization assessment of bare and functionalised mesoporous silica nanoparticles. *Microporous and Mesoporous Materials*, 310, 110593. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2020.110593>
- Geng, R., Ma, L., Liu, L., & Xie, Y. (2018). Influence of Bovine Serum Albumin-Flavonoid Interaction on the Antioxidant Activity of Dietary Flavonoids: New Evidence from Electrochemical Quantification. *Molecules*, 24(1), 70. <https://doi.org/10.3390/molecules24010070>
- Gou, K., Wang, Y., Guo, X., Wang, Y., Bian, Y., Zhao, H., Guo, Y., Pang, Y., Xie, L., Li, S., & Li, H. (2021). Carboxyl-functionalized mesoporous silica nanoparticles for the controlled delivery of poorly water-soluble non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Acta Biomaterialia*, 134, 576-592. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2021.07.023>
- Hai, Y., Zhang, Y., Liang, Y., Ma, X., Qi, X., Xiao, J., Xue, W., Luo, Y., & Yue, T. (2020). Advance on the absorption, metabolism, and efficacy exertion of quercetin and its important derivatives. *Food Frontiers*, 1(4), 420-434. <https://doi.org/10.1002/fft2.50>
- Halliwell, B., Clement, M. V., & Long, L. H. (2000). Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS Letters*, 486(1), 10-13. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(00\)02197-9](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(00)02197-9)
- Han, M., Song, Y., & Zhang, X. (2016). Quercetin suppresses the migration and invasion in human colon cancer Caco-2 cells through regulating toll-like receptor 4/Nuclear

- Factor-kappa B pathway. *Pharmacognosy Magazine*, 12(46), 237.
<https://doi.org/10.4103/0973-1296.182154>
- Hartono, S. B., Hadisoewignyo, L., Yang, Y., Meka, A. K., Antaresti, & Yu, C. (2016). Amine functionalized cubic mesoporous silica nanoparticles as an oral delivery system for curcumin bioavailability enhancement. *Nanotechnology (Bristol. Print)*, 27(50), 505605. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/27/50/505605>
- Heijnen, C. G., Haenen, G. R., Minou Oostveen, R., Stalpers, E. M., & Bast, A. (2002). Protection of flavonoids against lipid peroxidation: the structure activity relationship Revisited. *Free Radical Research*, 36(5), 575-581.
<https://doi.org/10.1080/10715760290025951>
- Heikkilä, T., Santos, H. A., Kumar, N., Murzin, D. Y., Salonen, J., Laaksonen, T., Peltonen, L., Hirvonen, J., & Lehto, V. (2009). Cytotoxicity study of ordered mesoporous silica MCM-41 and SBA-15 microparticles on Caco-2 cells. *European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics*, 74(3), 483-494.
<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2009.12.006>
- Hollman, P.C.H. and Katan, M.B. (1999) dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. *Food and Chemical Toxicology*, 37, 937-942.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0278-6915\(99\)00079-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0278-6915(99)00079-4)
- Hu, J. (2012). Investigation of quercetin stability in cell culture medium: Role in in vitro experiment. *African Journal Of Pharmacy And Pharmacology*, 6(14).
<https://doi.org/10.5897/ajpp11.721>
- Jackson, M. J. (1997). The assessment of bioavailability of micronutrients: Introduction. *European Journal of Clinical Nutrition*, 51(Suppl 1), S1-S2.
- Jafari, S., Derakhshankhah, H., Alaei, L., Fattahi, A., Varnamkhasti, B. S., & Saboury, A. A. (2019). Mesoporous silica nanoparticles for therapeutic/diagnostic applications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109, 1100-1111.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.167>
- Jeelani, P. G., Mulay, P., Venkat, R., I., & Ramalingam, C. (2020). multifaceted application of silica nanoparticles. A Review. *Silicon*, 12(6), 1337-1354.
<https://doi.org/10.1007/s12633-019-00229-y>

- Jurasekova, Z., Domingo, C., Garcia-Ramos, J. V., & Sanchez-Cortes, S. (2014). Effect of pH on the chemical modification of quercetin and structurally related flavonoids characterized by optical (UV-visible and Raman) spectroscopy. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 16(25), 12802-12811. <https://doi.org/10.1039/c4cp00864b>
- Kalantari, M., Gu, Z., Cao, Y., Lei, C., & Zhang, J. (2020). Thiolated silica nanoadsorbents enable ultrahigh and fast decontamination of mercury(ii): understanding the contribution of thiol moieties' density and accessibility on adsorption performance. *Environmental Science Nano*, 7(3), 851-860. <https://doi.org/10.1039/c9en01123d>
- Kamarudin, N. H. N., Jalil, A. A., Triwahyono, S., Salleh, N. F. M., Karim, A. H., Mukti, R. R., Hameed, B., & Ahmad, A. (2013). Role of 3-aminopropyltriethoxysilane in the preparation of mesoporous silica nanoparticles for ibuprofen delivery: Effect on physicochemical properties. *Microporous and Mesoporous Materials*, 180, 235-241. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2013.06.041>
- Kanniyappan, H., Venkatesan, M., Panji, J., Ramasamy, M., & Muthuvijayan, V. (2020). Evaluating the inherent osteogenic and angiogenic potential of mesoporous silica nanoparticles to augment vascularized bone tissue formation. *Microporous And Mesoporous Materials*, 311, 110687. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2020.110687>
- Karancsi, Z., Kovács, D., Pézsa, N. P., Gálfi, P., Jerzsele, Á., & Farkas, O. (2022). The Impact of Quercetin and Its Methylated Derivatives 3-o-Methylquercetin and Rhamnazin in Lipopolysaccharide-Induced Inflammation in Porcine Intestinal Cells. *Antioxidants*, 11(7), 1265. <https://doi.org/10.3390/antiox11071265>
- Kicinska, A., & Jarmuszkiewicz, W. (2020). Flavonoids and mitochondria: activation of cytoprotective pathways? *Molecules*, 25(13), 3060. <https://doi.org/10.3390/molecules25133060>
- Kim, I., Joachim, E., Choi, H., & Kim, K. (2015). Toxicity of silica nanoparticles depends on size, dose, and cell type. *Nanomedicine Nanotechnology Biology and Medicine*, 11(6), 1407-1416. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.03.004>
- Kim, M. K., Park, K., Lee, C., Park, H., Choo, H., & Chong, Y. (2010). Enhanced stability and intracellular accumulation of quercetin by protection of the chemically or metabolically susceptible hydroxyl groups with a pivaloxymethyl (POM) promoiety.

- Journal of Medicinal Chemistry, 53(24), 8597-8607.
<https://doi.org/10.1021/jm101252m>
- Kondo-Kawai, A., Sakai, T., Terao, J., & Mukai, R. (2021). Suppressive effects of quercetin on hydrogen peroxide-induced caveolin-1 phosphorylation in endothelial cells. *Journal Of Clinical Biochemistry And Nutrition*, 69(1), 28-36.
<https://doi.org/10.3164/jcbtn.20-190>
- Kruk, M., & Jaroniec, M. (2001). Gas adsorption characterization of ordered organic–inorganic nanocomposite materials. *Chemistry of Materials*, 13(10), 3169-3183. <https://doi.org/10.1021/cm0101069>
- Kumar, H., Dhalaria, R., Guleria, S., Cimler, R., Sharma, R., Siddiqui, S. A., Valko, M., Nepovimova, E., Dhanjal, D. S., Singh, R., Kumar, V., Pathera, A. K., Verma, N., Kaur, T., Manickam, S., Alomar, S. Y., & Kuča, K. (2023). Anti-oxidant potential of plants and probiotic spp. in alleviating oxidative stress induced by H₂O₂. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 165, 115022.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115022>
- Lázaro, A., Sato, K., Brouwers, H. J., & Geus, J. (2018). Pore structure development of silica particles below the isoelectric point. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2018, 267, 257-264. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2018.03.031>
- Li, H., Zhao, X., Ma, Y., Zhai, G., Li, L., & Lou, H. (2009). Enhancement of gastrointestinal absorption of quercetin by solid lipid nanoparticles. *Journal of Controlled Release*, 133(3), 238-244. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.10.002>
- Li, J., Du, X., Zheng, N., Xu, L., Xu, J., & Li, S. (2016). Contribution of carboxyl modified chiral mesoporous silica nanoparticles in delivering doxorubicin hydrochloride in vitro: pH-response controlled release, enhanced drug cellular uptake and cytotoxicity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 141, 374-381.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.02.009>
- Li, J., Shen, S., Kong, F., Jiang, T., Tang, C., & Chen, Y. (2018). Effects of pore size on in vitro and in vivo anticancer efficacies of mesoporous silica nanoparticles. *RSC Advances*, 8(43), 24633-24640. <https://doi.org/10.1039/c8ra03914c>
- Liang, Q., Sun, X., Raza, H., Khan, M. S., Ma, H., & Ren, X. (2021). Fabrication and characterization of quercetin loaded casein phosphopeptides-chitosan composite

- nanoparticles by ultrasound treatment: Factor optimization, formation mechanism, physicochemical stability and antioxidant activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 80, 105830. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105830>
- Liu, X., Zhou, Z., Lu, X., Zhong, H., He, R., Feng, Z., & Guan, R. (2024). Protective mechanism of quercetin nanoliposomes on hydrogen peroxide-induced oxidative damage in 3D Caco-2 cell model. *Journal Of Functional Foods*, 124, 106650. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2024.106650>
- Liu, P., Wang, Y., Yang, G., Zhang, Q., Meng, L., Xin, Y., & Jiang, X. (2021). The role of short-chain fatty acids in intestinal barrier function, inflammation, oxidative stress, and colonic carcinogenesis. *Pharmacological Research*, 165, 105420. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105420>
- Majidi, R. F., Mesgar, A. S., & Milan, P. B. (2024). Surface-modified, zinc-incorporated mesoporous silica nanoparticles with improved antibacterial and rapid hemostatic properties. *Colloids And Surfaces B Biointerfaces*, 243, 114132. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2024.114132>
- Maleki, A., Kettiger, H., Schoubben, A. M. M., Rosenholm, J. M., Ambrogi, V., & Hamidi, M. (2017). Mesoporous silica materials: from physico-chemical properties to enhanced dissolution of poorly water-soluble drugs. *Journal of Controlled Release*, 262, 329-347. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.07.047>
- Mazzotta, E., De Santo, M., Lombardo, D., Leggio, A., & Pasqua, L. (2022). Mesoporous silicas in materials engineering: nanodevices for bionanotechnologies. *Materials Today Bio*, 17, 100472. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2022.100472>
- Moghadam, M. K., Dorraji, M. S. S., Dodangeh, F., Ashjari, H. R., Mousavi, S. N., & Rasoulifard, M. H. (2022). Design of a new light curable starch-based hydrogel drug delivery system to improve the release rate of quercetin as a poorly water-soluble drug. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 174, 106191. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2022.106191>
- Mohamed, A. N., El-Naggar, M. E., Thabet, H. A., & Al-Amir, S. S. (2021). Development of mesoporous silica nanoparticles as a modern technique for various applications: A review. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 98(3), 471-491. <https://doi.org/10.1007/s10971-021-05514-z>

- Morante-Zarcero, S., Endrino, A., Casado, N., Pérez-Quintanilla, D., & Sierra, I. (2021). Evaluation of mesostructured silica materials with different structures and morphologies as carriers for quercetin and naringin encapsulation. *Journal of Porous Materials*, 29(1), 33-48. <https://doi.org/10.1007/s10934-021-01144-7>
- Mukhopadhyay, S., Veroniaina, H., Chimombe, T., Han, L., Zhenghong, W., & Xiaole, Q. (2019). Synthesis and compatibility evaluation of versatile mesoporous silica nanoparticles with red blood cells: an overview. *RSC Advances*, 9(61), 35566-35578. <https://doi.org/10.1039/c9ra06127d>
- Muñoz-Reyes, D., Morales, A. I., & Prieto, M. (2021). Transit and Metabolic Pathways of Quercetin in Tubular Cells: Involvement of Its Antioxidant Properties in the Kidney. *Antioxidants*, 10(6), 909. <https://doi.org/10.3390/antiox10060909>
- Ndayishimiye, J., Cao, Y., Kumeria, T., Blaskovich, M. A. T., Falconer, J. R., & Popat, A. (2021). Engineering mesoporous silica nanoparticles towards oral delivery of vancomycin. *Journal Of Materials Chemistry B*, 9(35), 7145-7166. <https://doi.org/10.1039/d1tb01430g>
- Oh, N., & Park, J. (2014). Endocytosis and exocytosis of nanoparticles in mammalian cells. *International Journal of Nanomedicine*, 51. <https://doi.org/10.2147/ijn.s26592>
- Pal, N., Cho, E. B., & Kim, D. (2014). Synthesis of ordered mesoporous silica/ceria–silica composites and their high catalytic performance for solvent-free oxidation of benzyl alcohol at room temperature. *RSC Adv.*, 4(18), 9213-9222. <https://doi.org/10.1039/c3ra47464j>
- Pal, N., Lee, J. H., & Cho, E. B. (2020). Recent trends in morphology-controlled synthesis and application of mesoporous silica nanoparticles. *Nanomaterials*, 10(11), 2122. <https://doi.org/10.3390/nano10112122>
- Paolella, G., Montefusco, A., Caputo, I., Gorrasi, G., & Viscusi, G. (2024). Quercetin encapsulated polycaprolactone-polyvinylpyrrolidone electrospun membranes as a delivery system for wound healing applications. *European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics*, 200, 114314. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2024.114314>
- Paula, A. J., Martinez, D. S. T., Júnior, R. T. A., Filho, A. G. S., & Alves, O. L. (2012). Suppression of the hemolytic effect of mesoporous silica nanoparticles after protein corona interaction: independence of the surface microchemical environment. *Journal*

- Of The Brazilian Chemical Society, 23(10), 1807-1814.
<https://doi.org/10.1590/s0103-50532012005000048>
- Patiño-Herrera, R., Louvier-Hernández, J. F., Escamilla-Silva, E. M., Chaumel, J., Palestino, G., & Pérez, E. (2019). Prolonged release of metformin by SiO₂ nanoparticles pellets for type II diabetes control. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 131, 1-8.
<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.02.003>
- Petrișor, G., Motelică, L., Fikai, D., Trușcă, R., Surdu, V., Voicu, G., Oprea, O., Fikai, A., & Andronescu, E. (2022). New mesoporous silica materials loaded with polyphenols: caffeic acid, ferulic acid and p-coumaric acid as dietary supplements for oral administration. *Materials (Basel)*, 15(22), 7982.
<https://doi.org/10.3390/ma15227982>
- Pool, H., Mendoza, S., & Xiao, H. (2013). Encapsulation and release of hydrophobic bioactive components in nanoemulsion-based delivery systems: impact of physical form on quercetin bioaccessibility. *Food and Function*, 4(1), 162-174.
<https://doi.org/10.1039/c2fo30042g>
- Popova, M. D., Szegedi, Á., Kolev, I. N., Mihály, J., Tzankov, B. S., Momekov, G. T., Lambov, N. G., & Yoncheva, K. P. (2012). Carboxylic modified spherical mesoporous silicas as drug delivery carriers. *International Journal Of Pharmaceutics*, 436(1-2), 778-785. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.07.061>
- Popova, M., Trendafilova, I., Szegedi, Á., Mihály, J., Németh, P., Marinova, S. G., Aleksandrov, H. A., & Vayssilov, G. N. (2016). Experimental and theoretical study of quercetin complexes formed on pure silica and Zn-modified mesoporous MCM-41 and SBA-16 materials. *Microporous and Mesoporous Materials*, 228, 256-265.
<https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2016.04.001>
- Popova, M., Trendafilova, I., Tsacheva, I., Mitova, V., Kyulavska, M., Koseva, N., Mihály, J., Momekova, D., Momekov, G., Aleksandrov, H. A., Marinova, S. G., St Petkov, P., Vayssilov, G. N., & Szegedi, Á. (2018). Amino-modified KIT-6 mesoporous silica/polymer composites for quercetin delivery: Experimental and theoretical approaches. *Microporous and Mesoporous Materials*, 270, 40-47.
<https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2018.05.002>

- Poór, M., Boda, G., Kunsági-Máté, S., Needs, P. W., Kroon, P. A., & Lemli, B. (2017). Fluorescence spectroscopic evaluation of the interactions of quercetin, isorhamnetin, and quercetin-3'-sulfate with different albumins. *Journal Of Luminescence*, 194, 156-163. <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2017.10.024>
- Qiao, Y., Tang, X., Qiuju, X., & Zhang, G. (2024). Enzyme-loaded manganese–porphyrin metal–organic nanoframeworks for oxygen-evolving photodynamic therapy of hypoxic cells. *Heliyon*, 10(13), e33902. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e33902>
- Rashidi, L., Vasheghani-Farahani, E., Soleimani, M., Atashi, A., Rostami, K., Gangi, F., Fallahpour, M., & Tahouri, M. T. (2014). A cellular uptake and cytotoxicity properties study of gallic acid-loaded mesoporous silica nanoparticles on Caco-2 cells. *Journal Of Nanoparticle Research*, 16(3). <https://doi.org/10.1007/s11051-014-2285-6>
- Rasool, N., Negi, D., & Singh, Y. (2023). Thiol-Functionalized, Antioxidant, and Osteogenic Mesoporous Silica Nanoparticles for Osteoporosis. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 9(6), 3535-3545. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.3c00479>
- Rastegari, E., Hsiao, Y., Lai, W., Lai, Y., Yang, T. C., Chen, S., Huang, P. I., Chiou, S. H., Mou, C., & Chien, Y. (2021). An update on mesoporous silica nanoparticle applications in nanomedicine. *Pharmaceutics*, 13(7), 1067. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13071067>
- Rejman, J., Oberle, V., Zuhorn, I. S., & Hoekstra, D. (2004). Size-dependent internalization of particles via the pathways of clathrin- and caveolae-mediated endocytosis. *Biochemical Journal*, 377(1), 159-169. <https://doi.org/10.1042/bj20031253>
- Rosiak, N., Cielecka-Piontek, J., Skibiński, R., Lewandowska, K., Bednarski, W., & Zalewski, P. (2023). Do Rutin and Quercetin Retain Their Structure and Radical Scavenging Activity after Exposure to Radiation? *Molecules*, 28(6), 2713. <https://doi.org/10.3390/molecules28062713>
- Ros-Lis, J. V., Bernardos, A., Pérez, É., Barat, J. M., & Martínez-Máñez, R. (2018). Functionalized Silica Nanomaterials as a New Tool for New Industrial Applications. *En Elsevier eBooks* (pp. 165-196). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811441-4.00007-8>

- Rumman, G. A., Al-Musawi, T. J., Sillanpaa, M., & Balarak, D. (2021). Adsorption performance of an amine-functionalized MCM-41 mesoporous silica nanoparticle system for ciprofloxacin removal. *Environmental Nanotechnology Monitoring & Management*, 16, 100536. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2021.100536>
- Saputra, O. A., Lestari, W. A., Kurniansyah, V., Lestari, W. W., Sugiura, T., Mukti, R. R., Martien, R., & Wibowo, F. R. (2022a). Organically surface engineered mesoporous silica nanoparticles control the release of quercetin by pH stimuli. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-25095-4>
- Saputra, O. A., Wibowo, F. R., & Lestari, W. W. (2022b). High storage capacity of curcumin loaded onto hollow mesoporous silica nanoparticles prepared via improved hard-templating method optimized by Taguchi DoE. *Engineering Science and Technology, and International Journal*, 33, 101070. <https://doi.org/10.1016/j.jestch.2021.10.002>
- Sarkar, A., Ghosh, S., Chowdhury, S., Pandey, B., & Sil, P. C. (2016). Targeted delivery of quercetin loaded mesoporous silica nanoparticles to the breast cancer cells. *Biochimica Et Biophysica Acta - General Subjects*, 1860(10), 2065-2075. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2016.07.001>
- Saroj, S., & Rajput, S. (2020). Bioavailability and Dissolution Rate Enhancement of an Anticancer Drug Bicalutamide by Encapsulation into Mesoporous Silica Nanoparticles: Effects of Amine Functionalization and Caco-2 Cell Permeability Study. *Indian Journal Of Pharmaceutical Education And Research*, 54(3), 590-601. <https://doi.org/10.5530/ijper.54.3.108>
- Schmid, R., Volcic, M., Fischer, S., Qu, Z., Barth, H., Popat, A., Kirchhoff, F., & Lindén, M. (2023). Surface functionalization affects the retention and bio-distribution of orally administered mesoporous silica nanoparticles in a colitis mouse model. *Scientific Reports*, 13(1), 20175. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-47445-6>
- Schoonjans, R., Castenmiller, J., Chaudhry, Q., Cubadda, F., Daskaleros, T., Franz, R., Gott, D., Mast, J., Mortensen, A., Oomen, A. G., Rauscher, H., Weigel, S., Astuto, M. C., Cattaneo, I., Barthelemy, E., Rincon, A., & Tarazona, J. (2023). Regulatory safety assessment of nanoparticles for the food chain in Europe. *Trends In Food Science & Technology*, 134, 98-111. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.01.017>

- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (2001). Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Diario Oficial de la Federación.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2003). Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo. Diario Oficial de la Federación.
- Serek, P., & Oleksy-Wawrzyniak, M. (2021). The Effect of Bacterial Infections, Probiotics and Zonulin on Intestinal Barrier Integrity. *International Journal Of Molecular Sciences*, 22(21), 11359. <https://doi.org/10.3390/ijms222111359>
- Shabana, M.S., Taj, G., Abdul Majeed, S., Nafeez Ahmed, A., Karthika, M., Ramasubramanian, V., Sahul Hameed, A. S. (2021). Preparation and evaluation of mesoporous silica nanoparticles loaded quercetin against bacterial infections in *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture Reports*, 21, 100808. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100808>
- Shah, K. K., Patel, V. V., & Thakkar, V. T. (2021). Mesoporous silica nanoparticles: A promising platform for targeted delivery of bioactive molecules. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 64, 102592. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102592>
- Shao, M., Chang, C., Liu, Z., Chen, K., Zhou, Y., Zheng, G., Huang, Z., Xu, H., Xu, P., & Lü, B. (2019) Polydopamine coated hollow mesoporous silica nanoparticles as pH-sensitive nanocarriers for overcoming multidrug resistance. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 183, 110427. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110427>
- Shoskes, D. A., Zeitlin, S., Shahed, A., & Rajfer, J. (1999). Quercetin in men with category III chronic prostatitis: a preliminary prospective, double-blind, placebo-controlled trial. *Urology*, 54(6), 960-963. [https://doi.org/10.1016/s0090-4295\(99\)00358-1](https://doi.org/10.1016/s0090-4295(99)00358-1)
- Siddiqui, B., Rehman, A. U., Haq, I., Al-Dossary, A. A., Elaissari, A., & Ahmed, N. (2022). Exploiting recent trends for the synthesis and surface functionalization of mesoporous silica nanoparticles towards biomedical applications. *International Journal Of Pharmaceutics*: X, 4, 100116. <https://doi.org/10.1016/j.ijpx.2022.100116>

- Sies, H. (1986). Biochemistry of Oxidative Stress. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 25(12), 1058-1071. <https://doi.org/10.1002/anie.198610581>
- Sies, H. (1991). Role of reactive oxygen species in biological processes. *Klinische Wochenschrift*, 69(21-23), 965-968. <https://doi.org/10.1007/bf01645140>
- Sies, H. (1993). Strategies of antioxidant defense. *European Journal of Biochemistry*, 215(2), 213-219. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1993.tb18025.x>
- Silva-Pinto, P. A., De Pontes, J. T. C., Aguilar-Morón, B., Canales, C. S. C., Pavan, F. R., & Roque-Borda, C. A. (2025). Phytochemical insights into flavonoids in cancer: Mechanisms, therapeutic potential, and the case of quercetin. *Heliyon*, 11(4), e42682. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2025.e42682>
- Speisky, H., Arias-Santé, M. F., & Fuentes, J. (2023). Oxidation of Quercetin and Kaempferol Markedly Amplifies Their Antioxidant, Cytoprotective, and Anti-Inflammatory Properties. *Antioxidants*, 12(1), 155. <https://doi.org/10.3390/antiox12010155>
- Soltani, M., Ahmadzadeh, N., Haghighi, H. N., Khatamian, N., & Tabrizi, M. H. (2025). Targeted cancer therapy potential of quercetin-conjugated with folic acid-modified nanocrystalline cellulose nanoparticles: a study on AGS and A2780 cell lines. *BMC Biotechnology*, 25(1), 29. <https://doi.org/10.1186/s12896-025-00962-w>
- Sousa, A., Amaro, A., Costa, V. M., Azevedo, R., Oliveira, S., Viana, S., Reis, F., Almeida, A., Matafome, P., Dias-Pereira, P., Carvalho, F., Fernandes, E., & Freitas, M. (2024). Exploring quercetin's protective potential against the pro-inflammatory effects of silver nanoparticles in C57BL/6J mice. *Food And Chemical Toxicology*, 195, 115081. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2024.115081>
- Sreeharsha, N., Philip, M., Krishna, S. S., Viswanad, V., Sahu, R. K., Shiroorkar, P. N., Aasif, A. H., Fattepur, S., Asdaq, S. M. B., Nair, A. B., Attimarad, M., & Venugopala, K. N. (2022). Multifunctional mesoporous silica nanoparticles for oral drug delivery. *Coatings*, 12(3), 358. <https://doi.org/10.3390/coatings12030358>
- Stephen, S., Gorain, B., Choudhury, H., & Chatterjee, B. (2021). Exploring the role of mesoporous silica nanoparticle in the development of novel drug delivery systems. *Drug Delivery and Translational Research*, 12(1), 105-123. <https://doi.org/10.1007/s13346-021-00935-4>

- Suzuki, T., & Hara, H. (2009). Quercetin Enhances Intestinal Barrier Function through the Assembly of Zonula Occludens-2, Occludin, and Claudin-1 and the Expression of Claudin-4 in Caco-2 Cells. *Journal Of Nutrition*, 139(5), 965-974. <https://doi.org/10.3945/jn.108.100867>
- Szewczyk, A., & Prokopowicz, M. (2020). Mesoporous silica pellets – A promising oral drug delivery system? *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 56, 101491. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101491>
- Tada-Oikawa, S., Eguchi, M., Yasuda, M., Izuoka, K., Ikegami, A., Vranic, S., Boland, S., Tran, L., Ichihara, G., & Ichihara, S. (2020). Functionalized Surface-Charged SiO₂ Nanoparticles Induce Pro-Inflammatory Responses, but Are Not Lethal to Caco-2 Cells. *Chemical Research In Toxicology*, 33(5), 1226-1236. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.9b00478>
- Taleghani, A. S., Nakhjiri, A. T., Khakzad, M. J., Rezayat, S. M., Ebrahimnejad, P., Heydarinasab, A., Akbarzadeh, A., & Marjani, A. (2021). Mesoporous silica nanoparticles as a versatile nanocarrier for cancer treatment: A review. *Journal of Molecular Liquids*, 328, 115417. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.115417>
- Thi, T. T. H., Du Cao, V., Nguyen, T. N. Q., Hoang, D. T., Ngo, V. C., & Nguyen, D. H. (2019). Functionalized mesoporous silica nanoparticles and biomedical applications. *Materials Science and Engineering: C* 99, 631-656. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.01.129>
- Tng, D. J. H., & Low, J. G. H. (2023) Current status of silica-based nanoparticles as therapeutics and its potential as therapies against viruses. *Antiviral Research*, 210, 105488. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2022.105488>
- Tran, V. A., & Lee, S. (2018). A prominent anchoring effect on the kinetic control of drug release from mesoporous silica nanoparticles (MSNs). *Journal of Colloid and Interface Science*, 510, 345-356. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.09.072>
- Trendafilova, I., Szegedi, Á., Mihály, J., Momekov, G., Lihareva, N., & Popova, M. (2017). Preparation of efficient quercetin delivery system on Zn-modified mesoporous SBA-15 silica carrier. *Materials Science and Engineering: C*, 73, 285-292. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.12.063>

- Vallet-Regí, M., Colilla, M., Izquierdo-Barba, I., & Manzano, M. (2017). Mesoporous silica nanoparticles for drug delivery: current insights. *Molecules*, 23(1), 47. <https://doi.org/10.3390/molecules23010047>
- Velusamy, P., Srinivasa, C. M., Kumar, G. V., Qurishi, Y., Su, C., & Gopinath, S. C. B. (2018). A pH stimuli thiol modified mesoporous silica nanoparticles: Doxorubicin carrier for cancer therapy. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 87, 264-271. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2018.03.048>
- Vissenaekens, H., Smagghe, G., Criel, H., Grootaert, C., Raes, K., Rajkovic, A., Goeminne, G., Boon, N., De Schutter, K., & Van Camp, J. (2021). Intracellular quercetin accumulation and its impact on mitochondrial dysfunction in intestinal Caco-2 cells. *Food Research International*, 145, 110430. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110430>
- Wang, X., Li, C., Fan, N., Li, J., Zhang, H., & Sun, J. (2017). Multimodal nanoporous silica nanoparticles functionalized with aminopropyl groups for improving loading and controlled release of doxorubicin hydrochloride. *Materials Science and Engineering: C*, 78, 370-375. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.04.060>
- Wang, Y., Ke, J., Gou, K., Guo, Y., Xu, X., Li, S., & Li, H. (2020). Amino functionalized mesoporous silica with twisted rod-like shapes: Synthetic design, in vitro and in vivo evaluation for ibuprofen delivery. *Microporous and Mesoporous Materials*, 294, 109896. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2019.109896>
- Wibowo, F. R., Saputra, O. A., Lestari, W. W., Koketsu, M., Mukti, R. R., & Martien, R. (2020). pH-triggered drug release controlled by poly(styrene sulfonate) growth hollow mesoporous silica nanoparticles. *ACS Omega*, 5(8), 4261-4269. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b04167>
- Wu, C., Zhu, Y., Wu, T., Wang, L., Yuan, Y., Chen, J., Hu, Y., & Pang, J. (2019). Enhanced functional properties of biopolymer film incorporated with curcumin-loaded mesoporous silica nanoparticles for food packaging. *Food Chemistry*, 288, 139-145. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.010>
- Win, K. Y., & Feng, S. (2004). Effects of particle size and surface coating on cellular uptake of polymeric nanoparticles for oral delivery of anticancer drugs. *Biomaterials*, 26(15), 2713-2722. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.07.050>
- Xiao, J. (2018).

- Stability of dietary polyphenols: It's never too late to mend? *Food And Chemical Toxicology*, 119, 3-5. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.03.051>
- Xiao, J., & Högger, P. (2015). Stability of Dietary Polyphenols under the Cell Culture Conditions: Avoiding Erroneous Conclusions. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 63(5), 1547-1557. <https://doi.org/10.1021/jf505514d>
- Xiao, J. (2018). Stability of dietary polyphenols: It's never too late to mend? *Food And Chemical Toxicology*, 119, 3-5. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.03.051>
- Yan, X., Cao, S., Li, Y., Xiao, P., Huang, Z., Li, H., & Ma, Y. (2019). Internalization and subcellular transport mechanisms of different curcumin loaded nanocarriers across Caco-2 cell model. *Journal Of Drug Delivery Science And Technology*, 52, 660-669. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.05.040>
- Yao, X., Mei, Y., & Mao, W. (2021). Quercetin improves mitochondrial function and inflammation in h₂O₂-induced oxidative stress damage in the gastric mucosal epithelial cell by regulating the pi3k/akt signaling pathway. *Evidence-based Complementary And Alternative Medicine*, 2021, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2021/1386078>
- Ye, D., Bramini, M., Hristov, D. R., Wan, S., Salvati, A., Åberg, C., & Dawson, K. A. (2017). Low uptake of silica nanoparticles in Caco-2 intestinal epithelial barriers. *Beilstein Journal Of Nanotechnology*, 8, 1396-1406. <https://doi.org/10.3762/bjnano.8.141>
- Yin, F., Xu, F., Zhang, K., Yuan, M., Cao, H., Ye, T., Wu, X., & Xu, F. (2021). Synthesis and evaluation of mesoporous silica/mesoporous molecularly imprinted nanoparticles as adsorbents for detection and selective removal of imidacloprid in food samples. *Food Chemistry*, 364, 130216. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130216>
- Yokomizo, A., & Moriwaki, M. (2006). Effects of Uptake of Flavonoids on Oxidative Stress Induced by Hydrogen Peroxide in Human Intestinal Caco-2 Cells. *Bioscience Biotechnology And Biochemistry*, 70(6), 1317-1324. <https://doi.org/10.1271/bbb.50604>
- Zaharudin, N. I., Isa, E. D. M., Ahmad, H., Rahman, M. N. A., & Jumbri, K. (2020). Functionalized mesoporous silica nanoparticles templated by pyridinium ionic liquid for hydrophilic and hydrophobic drug release application. *Journal of Saudi Chemical Society*, 24(3), 289-302. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2020.01.003>

- Zhang, Y., Wang, H., Yang, R., Zhang, Y., Chen, Y., Jiang, C., & Li, X. (2024). Synergistic Therapeutic Effects of D-Mannitol–Cerium–Quercetin (Rutin) Coordination Polymer Nanoparticles on Acute Lung Injury. *Molecules*, 29(12), 2819. <https://doi.org/10.3390/molecules29122819>
- Zhang, T., Lu, Z., Wang, J., Shen, J., Hao, Q., Li, Y., Yang, J., Niu, Y., Xiao, Z., Chen, L., & Zhang, X. (2021a). Preparation of mesoporous silica nanoparticle with tunable pore diameters for encapsulating and slowly releasing eugenol. *Chinese Chemical Letters*, 32(5), 1755-1758. <https://doi.org/10.1016/j.cclet.2020.12.033>
- Zhang, Z., Yi, P., Yi, M., Tong, X., Cheng, X., Yang, J., Hu, Y., & Peng, W. (2020). Protective Effect of Quercetin against H₂O₂-Induced Oxidative Damage in PC-12 Cells: Comprehensive Analysis of a lncRNA-Associated ceRNA Network. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*, 2020, 1-22. <https://doi.org/10.1155/2020/6038919>
- Zhang, Y., Zheng, S., Zhu, S., Ma, J., Sun, Z., & Farid, M. (2018). Evaluation of paraffin infiltrated in various porous silica matrices as shape-stabilized phase change materials for thermal energy storage. *Energy Conversion and Management*, 171, 361-370. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2018.06.002>
- Zhang, Z., Yi, P., Yi, M., Tong, X., Cheng, X., Yang, J., Hu, Y., & Peng, W. (2020). Protective effect of quercetin against h₂o₂-induced oxidative damage in pc-12 cells: comprehensive analysis of a lncrna-associated cerna network. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 1-22. <https://doi.org/10.1155/2020/6038919>
- Zheng, Y., Haworth, I. S., Zuo, Z., Chow, M. S., & Chow, A. H. (2005). Physicochemical and structural characterization of quercetin- β -cyclodextrin complexes. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 94(5), 1079-1089. <https://doi.org/10.1002/jps.20325>
- Živojević, K., Mladenović, M., Djisalov, M., Mundzic, M., Ruiz-Hernandez, E., Gadjanski, I., & Knežević, N. (2021). Advanced mesoporous silica nanocarriers in cancer theranostics and gene editing applications. *Journal of Controlled Release*, 337, 193-211. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2021.07.029>
- Zvezdanovic, J., Stanojevic, J., Markovic, D., & Cvetkovic, D. (2011). Irreversible UV-induced quercetin and rutin degradation in solution, studied by UV-spectrophotometry and HPLC chromatography. *Journal Of The Serbian Chemical Society*, 77(3), 297-312. <https://doi.org/10.2298/jsc110618180z>