

# **BIOPOLÍMEROS MICROBIANOS: APLICACIONES EN BIOMEDICINA Y FARMACIA**



**UNIVERSIDAD DE SEVILLA**

**FACULTAD DE FARMACIA**



**NELA PATRICIA MANDUJANO TAZZA**



UNIVERSIDAD DE SEVILLA



FACULTAD DE FARMACIA

GRADO EN FARMACIA

TRABAJO FIN DE GRADO

# **BIOPOLÍMEROS MICROBIANOS: APLICACIONES EN BIOMEDICINA Y FARMACIA**

**REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

Autor: Nela Patricia Mandujano Tazza

Tutora: Montserrat Argandoña Bertrán

Departamento de Microbiología y Parasitología (Área Microbiología)

Sevilla, junio de 2020

## **RESUMEN**

Los biopolímeros están ganando interés no solo en la industria alimentaria, textil, agrícola, cosmética o como alternativa a los plásticos, sino también en el ámbito farmacéutico y biomédico. Estos polímeros pueden ser obtenidos a partir de fuentes animales, vegetales o microorganismos. Esta revisión se centrará en los biopolímeros que son obtenidos por fermentación microbiana ya que, a diferencia de las otras alternativas de producción, nos aporta ventajas como mayor rentabilidad del proceso, modificación de los microorganismos para incrementar la producción, uso de inductores específicos y mejora de las rutas de su biosíntesis. Los polihidroxicanoatos y los exopolisacáridos microbianos son biopolímeros con mayor interés farmacéutico y biomédico. Los primeros se acumulan como gránulos insolubles en el interior de diversos microorganismos, los segundos, sin embargo, son producidos y secretados al exterior de la célula. Ambos biopolímeros microbianos se caracterizan por poseer propiedades especiales que otros polímeros sintéticos no tienen, como biocompatibilidad, biodegradabilidad y no toxicidad hacia las células y tejidos humanos o animales. Además, posibilitan la modificación de muchas de sus propiedades como la rigidez, elasticidad, cristalinidad y degradabilidad, de forma sencilla dando lugar a una mejor adaptación del biopolímero a su uso en diversas aplicaciones. Entre sus numerosas aplicaciones farmacéuticas destaca la modificación de la liberación del fármaco, transporte dirigido del fármaco hacia su diana terapéutica, atravesar barreras fisiológicas y la protección de agentes terapéuticos inestables en condiciones fisiológicas. Así mismo, tienen un papel fundamental en aplicaciones biomédicas para la formación de productos sanitarios, como vendas y apósitos, andamios en ingeniería de tejido que son utilizados en la reparación de tejidos óseos, cartílagos, vasculares, piel, médula ósea y conductos nerviosos. También han demostrado ser buenos adyuvantes de vacunas y en sistemas de diagnóstico por imágenes, además, ciertos biopolímeros desempeñan actividades biológicas con potencial terapéutico.

**Palabras clave:** Biopolymers, applications, biomedicine, polyhydroxyalkanoates, exopolysaccharides

## **GLOSARIO DE ABREVIATURAS**

- 3HB:** Ácido 3-hidroxibutírico
- 3HHx:** Ácido 3-hidroxihexanoico
- 3HO:** Ácido 3-hidroxi octanoico
- 3HV:** Ácido 3-hidroxivalérico
- 4HB:** Ácido 4-hidroxitírico
- ACP:** acyl carrier protein
- Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>:** Oxido de aluminio o alúmina
- CB:** Celulosa bacteriana
- EPS:** Exopolisacáridos
- HA:** Ácido hialurónico
- MSC:** Células madres mesenquimales
- NADPH:** Nicotinamida-Adenina-Dinucleótido-Fosfato
- P3HB4HB:** poli(3-hidroxibutirato-co-4-hidroxibutirato)
- P(3HB):** Poli(3-hidroxibutirato)
- P(3HV):** Poli(3-hidroxivalerato)
- P(4HB):** Poli(4-hidroxibutirato)
- P(4HV):** Poli (4-hidroxivalerato)
- PHAs:** Polihidroxicanoatos
- PHB:** Polihidroxibutirato.
- PHBHHX:** poli (3-hidroxibutirato-co-3-hidroxihexanoato)
- PHBHO:** poli (3-hidroxibutirato-co-3-hidroxi octanoato)
- PHBV:** poli (3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato)
- PHHx (P3HHx):** Poli (3-hidroxihexanoato)
- PHMV (P3MHV):** Poli (3-hidroximetil-valerato)
- PHO (P3HO):** Poli (3-hidroxi octanoato)
- PHP:** Poli (3-hidroxipropionato)
- PLA:** Ácido poliláctico
- PVOH:** Alcohol polivinílico
- SEM:** Microscopía electrónica de barrido
- UDP:** Uridina difosfato

# ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>6</b>
<b>1.1 Clasificación de los biopolímeros</b> .....	<b>7</b>
<b>2. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN</b> .....	<b>8</b>
<b>3. METODOLOGÍA</b> .....	<b>8</b>
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>10</b>
<b>4.1 Polihidroxicanoatos (PHAs)</b> .....	<b>10</b>
4.1.1 Clasificación y propiedades de PHAs.....	11
4.1.2 Biosíntesis y producción de PHAs.....	13
4.1.3 Aplicaciones de los PHAs.....	15
4.1.3.1 PHAs en sistemas de vehiculización y administración de fármacos.....	16
4.1.3.2 PHAs en la ingeniería de tejidos .....	17
<b>4.2 Exopolisacáridos (EPS) microbianos</b> .....	<b>19</b>
4.2.1 Clasificación y propiedades de EPS .....	20
4.2.2 Biosíntesis y producción de los EPS.....	25
4.2.3 Aplicaciones de los EPS .....	27
<b>5. CONCLUSIONES</b> .....	<b>30</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>31</b>

# 1. INTRODUCCIÓN

Los biopolímeros se definen como polímeros biológicamente degradables que son producidos por organismos vivos y que no muestran un efecto negativo frente al medio ambiente (Pattanashetti et al., 2017). Son macromoléculas formadas por la unión covalente de pequeñas unidades moleculares llamadas mesómeros, que han sido obtenidos mediante un proceso de polimerización a partir de moléculas más pequeñas denominadas monómeros. Se caracterizan por ser polímeros biodegradables y biocompatibles. El término biocompatibilidad hace referencia a la propiedad de una sustancia o molécula de no inducir efectos tóxicos o dañinos sobre los sistemas biológicos donde actúa. La biodegradación, sin embargo, hace referencia al ataque de organismos vivos, normalmente microorganismos, a estos polímeros, con el fin de descomponerlos en los elementos químicos que los componen. Ésta se origina mediante la ruptura de enlaces presentes en su cadena principal, de forma que son degradados a dióxido de carbono y agua, en condiciones aerobias, o a metano, en condiciones anaerobias (Santo-Rosa, 2013).

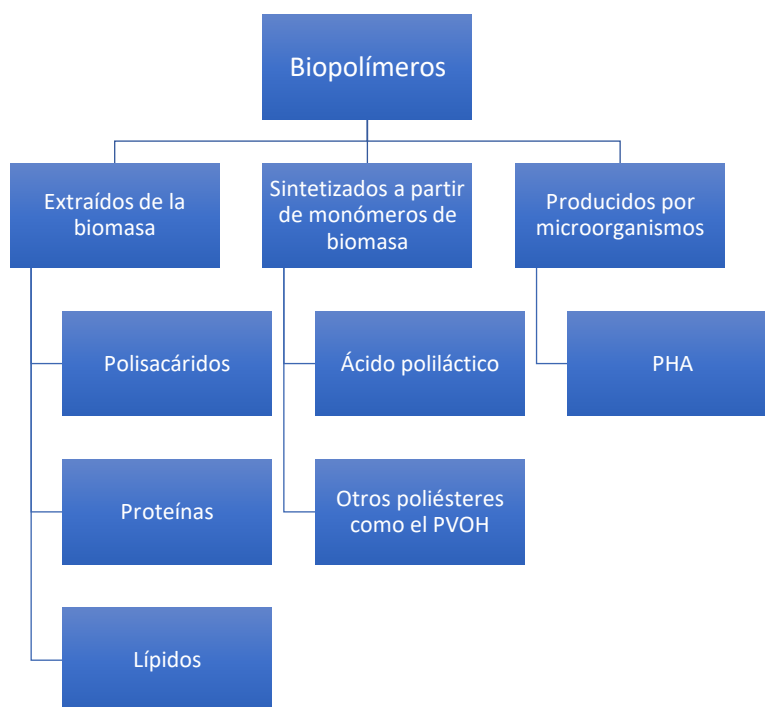
Gracias a su biocompatibilidad y degradabilidad, los biopolímeros están siendo ampliamente estudiados como posibles sustitutos de polímeros sintéticos obtenidos fundamentalmente del petróleo. Aunque estos plásticos han sido muy utilizados desde la antigüedad por sus múltiples aplicaciones, no solo en la industria, sino también en la vida cotidiana. Actualmente su uso se ve frenado por la constante acumulación de residuos plásticos en el medio ambiente, consecuencia principalmente de su capacidad de resistir a la corrosión y a la descomposición bacteriana. En este sentido, los biopolímeros al proceder en su mayor parte de recursos renovables se convierten en una interesante alternativa a los plásticos (Valero-valdivieso, 2013). El motivo principal que frenó el empleo de los biopolímeros en épocas anteriores fue el elevado coste de producción respecto a los plásticos de origen petroquímico. Para darle solución a este problema, actualmente se investiga la posibilidad de obtención de estos biopolímeros a partir de sustratos baratos, como la glucosa, sacarosa, glicerol, lignina, xilosa, o materiales de desecho y fuentes alternativas, como suero de leche, aceite de palma, harina de girasol, entre otras. Otra alternativa para reducir el coste es realizar una producción simultánea y secuencial de biopolímeros de origen microbiano concomitante con diversos productos. Es importante también buscar estrategias de extracción y purificación del producto que permitan la reducción de los costes de su obtención para que se incremente su utilización en el mercado donde todavía predominan los derivados de petróleo (Luef et al., 2015; Zheng et al., 2019).

La importancia que tienen los biopolímeros radica en su uso en una amplia gama de aplicaciones, que va desde la industria alimentaria, textil, agrícola y cosmética hasta su uso en el ámbito farmacéutico y biomédico. Estas aplicaciones son debidas a sus propiedades

biodegradables y biocompatibles, así como a la facilidad de modificar otras características fisicoquímicas del biopolímero con el objetivo de mejorar su adaptación al uso en diferentes ámbitos. Los biopolímeros han sido explotados fundamentalmente para su aplicación en Medicina y Farmacia, así se emplean en sistemas de administración de fármacos, ingeniería de tejidos, formación de productos sanitarios y sistemas de diagnóstico, entre otros. Posibilitan la administración de fármacos que presentan inestabilidad en el organismo o que generan muchos efectos adversos, gracias su potencial para ser usados como vehículos de diferentes fármacos con la posibilidad de dirigir el fármaco a un tejido selectivo. Son también buenos materiales para la formación de andamios, vendas o apósitos no tóxicos para el ser humano, empleados en la curación de heridas o sustitución de tejidos (Rojas Cortés et al., 2010).

### 1.1 Clasificación de los biopolímeros

Los biopolímeros los podemos clasificar en función de su origen en tres grupos: biopolímeros extraídos directamente de la biomasa, biopolímeros sintetizados a partir de monómeros de la biomasa (bio-derivados) y biopolímeros producidos directamente por microorganismos (**Figura 1**) (Armentano et al., 2013; Valero-valdivieso, 2013).



**Figura 1.** Clasificación de los biopolímeros biodegradables.

Los polímeros extraídos directamente de la biomasa como los polisacáridos, proteínas (caseína, suero de leche, gelatina, gluten y soja) y lípidos, son obtenidos generalmente de plantas y animales, la mayoría se suelen caracterizar por su naturaleza hidrofílica y algo cristalina

(Labeaga, 2018). De los polímeros obtenidos a partir de biomonomeros, el más destacable es el ácido poliláctico (PLA) por sus aplicaciones médicas y a nivel industrial. Los polímeros derivados, se suelen obtener por polimerización directa a partir del ácido láctico, monómero que puede sintetizarse por vía química o por vía biotecnológica (fermentación microbiana) (Herryman Munilla y Blanco Carracedo, 2005). Los polímeros del último grupo, producidos por microorganismos, son los polihidroxicanoatos (PHAs) y algunos polisacáridos. Los PHAs son polímeros lineales constituidos por unidades de hidroxialcanoatos mientras que los polisacáridos son polímeros constituidos por monosacáridos unidos por enlaces glucosídicos. Los polisacáridos microbianos pueden situarse en el interior de la célula, actuando generalmente como reserva energética, pueden formar parte de la estructura celular o secretarse al exterior de la célula (Schmid et al., 2015). Los polisacáridos microbianos extracelulares, también denominados exopolisacáridos, son importantes para la formación de biopelículas y la patogenicidad. Esta revisión se centrará en aquellos biopolímeros que son producidos por microorganismos y que tienen potencial de aplicación en Biomedicina y Farmacia, como es el caso de los PHAs y exopolisacáridos (EPS).

## **2. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN**

El objetivo principal de este trabajo es llevar a cabo una revisión bibliográfica de las aplicaciones más actuales y relevantes de los PHAs y EPS microbianos en el ámbito biomédico y farmacéutico. Para ello es importante conocer los diferentes tipos de PHAs y EPS que se utilizan, así como las propiedades que los caracterizan. Además, es fundamental tener conocimiento de las principales rutas biosintéticas y los factores que influyen en su biosíntesis, así como conocer los microorganismos que son capaces de producirlos y saber cómo se lleva a cabo esa producción biotecnológica.

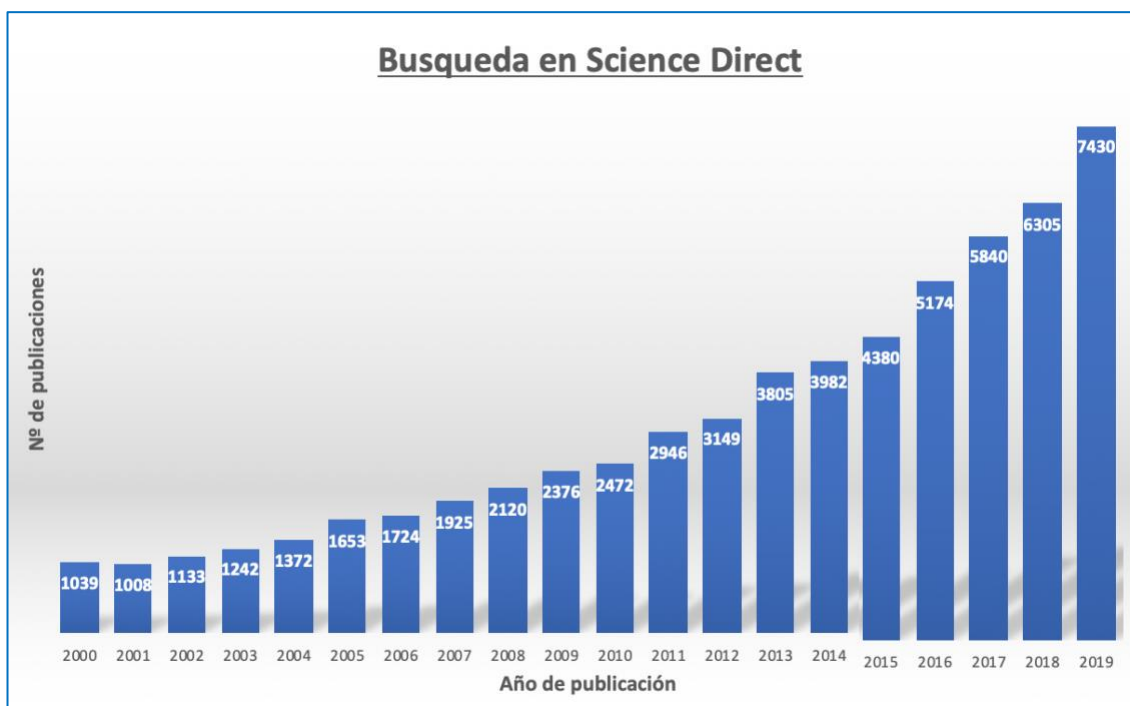
## **3. METODOLOGÍA**

La metodología seguida para la elaboración del presente trabajo de revisión bibliográfica consistió en la recopilación de información encontrada en artículos procedentes de distintas bases de datos tanto multidisciplinarias como especializadas, entre ellas, Scopus, Science Direct, PubMed, Google académico y Dialnetplus. Estas dos últimas se usaron fundamentalmente para conocer aspectos generales de los biopolímeros que nos permitió tener una idea general del tema. La búsqueda de información se fue moldeando en función de la información que se quería obtener para cada parte del trabajo. Se han estudiado aquellos artículos relacionados con la clasificación, biosíntesis y producción tanto de los exopolisacáridos como de los polihidroxicanoatos. Para



esto se utilizaron palabras claves en inglés de “polyhidroxyalkanoates”, “exopolysaccharides” acompañados de “synthesis” o “production”. Según el interés, no se aplicó ninguna limitación del año de publicación. La búsqueda de aplicaciones de los biopolímeros se inició usando palabras clave como “biopolymers”, “applications”, “biomedicine” y “pharmacy”, y se continuó con una búsqueda enfocada hacia aplicaciones más concretas para polihidroxiálcanoatos y los diferentes tipos de exopolisacáridos. En este caso se realizó un refinamiento de limitación de años cercanos al 2020-2021 con objetivo que hallar las últimas aplicaciones al respecto.

Se considera a destacar en este trabajo, el número de los estudios e investigaciones que se han llevado a cabo durante los años 2000-2019 con el objetivo de poner de manifiesto el incremento de importancia que se les está dando a los biopolímeros en los últimos años. La gráfica de la **figura 2** se elaboró utilizando la base de datos Science Direct, usando como palabra clave “biopolymers” sin ninguna limitación de búsqueda. La gráfica representa el número de publicación sobre biopolímeros por año, desde el año 2000 hasta el año 2019. Se observa que el número de publicaciones sobre biopolímeros aumenta conforme pasan los años, alcanzando las 7430 publicaciones en el año 2019.

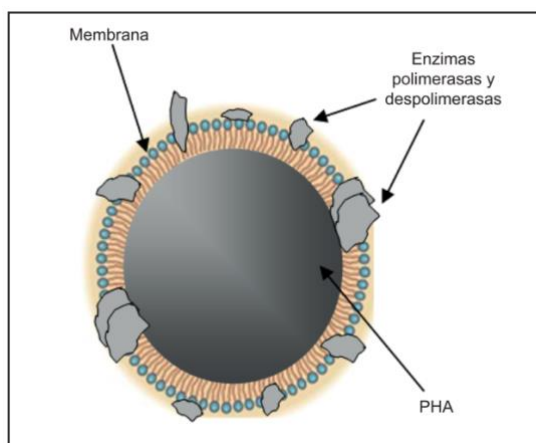


**Figura 2.** Número de publicaciones sobre biopolímeros por año en el recurso electrónico Science Direct.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

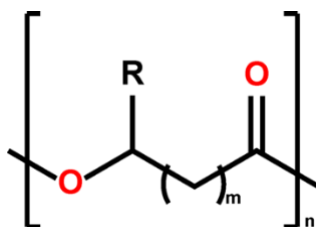
### 4.1 Polihidroxicanoatos (PHAs)

Los PHAs son polímeros de ácidos hidroxicanoicos que están rodeados de una monocapa de fosfolípidos que contienen enzimas polimerasas y despolimerasas. Estos se acumulan como gránulos insolubles dentro del citoplasma de diversos microorganismos (**Figura 3**) (Sudesh et al., 2000).



**Figura 3.** Esquema del gránulo de PHAs acumulado intracelularmente (Sudesh et al., 2000).

Químicamente, los PHAs son polímeros lineales compuestos por unidades de hidroxicanoatos como estructura básica (**Figura 4**) (Luef et al., 2015). La polimerización de los ácidos hidroxicanoicos (monómero) por acción de enzimas intracelulares, tiene lugar mediante la formación de un enlace éster entre el grupo carboxilo de un monómero y el grupo hidroxilo del siguiente monómero. La formación de este enlace hace que los PHAs sean conocidos también como biopoliésteres (Khanna y Srivastava, 2005).



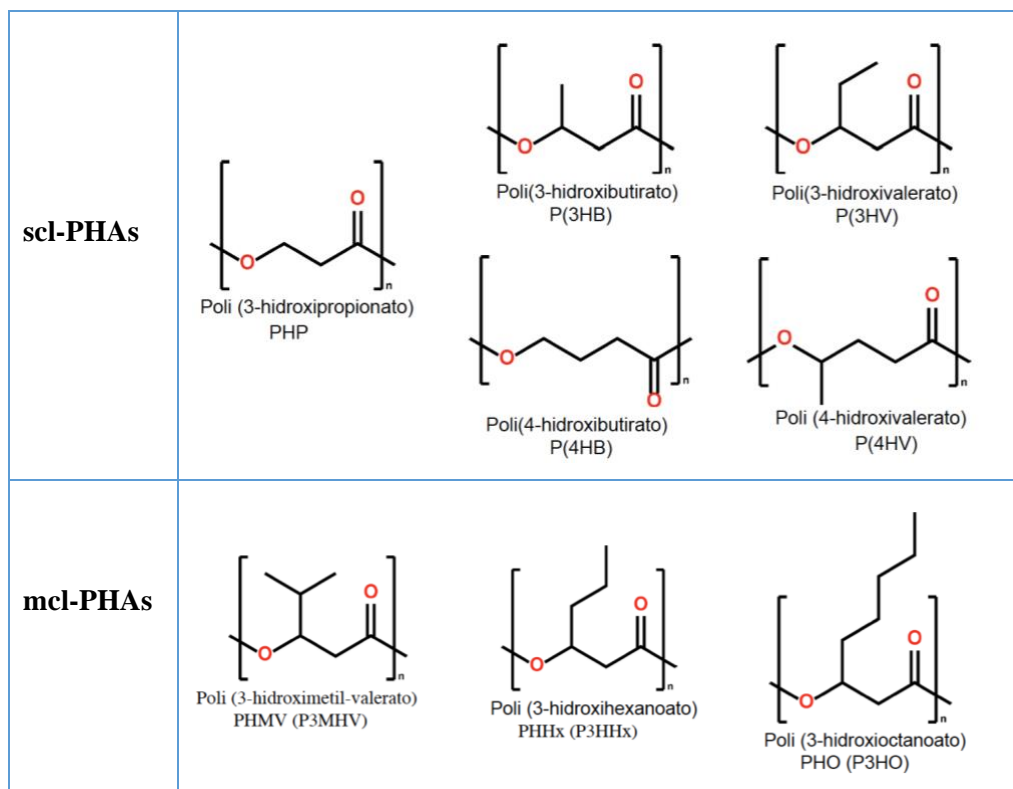
**Figura 4.** Unidad básica repetitiva de los PHAs. La  $m$  típicamente tiene valor de 1 (con la excepción de los 4-hidroxicanoatos) y la  $n$  hace referencia al número de repeticiones de la unidad básica, cuantifica el grado de polimerización (Luef et al., 2015).

La diversidad de los PHAs está influenciada por varios factores que incluyen: tipos de monómeros que constituyen el polímero, longitud de la cadena, relación de monómeros en el copolímero, forma en la que se disponen las microestructuras de polímeros distinguiendo entre homopolímeros, copolímeros aleatorios y copolímeros de bloque, grupos funcionales en las cadenas laterales de los polímeros y los pesos moleculares. La combinación de estos factores permite obtener PHAs con diversas propiedades, incrementando la posibilidad de poder ser aplicados en diversos ámbitos (Zheng et al., 2019).

#### 4.1.1 Clasificación y propiedades de PHAs

En función del número de carbonos que componen la unidad repetitiva, los polihidroxicanoatos se clasifican en PHA de cadena corta o scl-PHA (“short-chain length PHA”), PHA de cadena media o mcl-PHA (“medium-chain length PHA”) y PHA de cadena larga o lcl-PHA (“long-chain length PHA”). Sin embargo, también existen PHAs mixtos que se componen de monómeros tanto de cadena corta como de cadena media (González et al., 2013). El tipo de PHA sintetizado depende del tipo de enzima encargada de su síntesis (PHA-sintasa), del tipo de sustrato utilizado y de la ruta metabólica involucrada (Lemos et al., 1998).

Los scl-PHAs son aquellos polímeros compuestos por unidades monoméricas de 3 a 5 átomos de carbono. Dentro de este grupo podemos destacar algunos homopolímeros como el poli(3-hidroxi butirato) P(3HB) o PHB, poli(3-hidroxi valerato) P(3HV), poli(4-hidroxi butirato) P(4HB) y poli(4-hidroxi valerato) P(4HV), obtenidos por la polimerización de los monómeros 3HP, 3HB, 3HV, 4HB y 4HV, respectivamente. Los mcl-PHAs son aquellos polímeros compuestos por unidades monoméricas de 6 a 14 átomos de carbono. Dentro de este grupo destacan los homopolímeros poli(3-hidroxi hexanoato) PHHx y poli(3-hidroxi octanoato) PHO, obtenidos por la polimerización de los monómeros 3HHx y 4HO, respectivamente. Los lcl-PHAs son aquellos polímeros que presentan más de 14 átomos de carbonos, son poco comunes y menos estudiados que el resto de los PHAs. Estos últimos, al no tener potencial de ser usados en aplicaciones biomédicas y farmacéuticas, no se incluyen en esta revisión. En la **figura 5** se puede observar algunas de las unidades repetitivas que constituyen los PHAs.



**Figura 5.** Representación estructural de algunas unidades monoméricas repetitivas en scl-PHAs y mcl-PHAs (Luef et al., 2015).

Debido a su conformación estructural, los scl-PHAs y los mcl-PHAs difieren en sus características termoplásticas y elastoméricas. Los scl-PHAs se consideran termoplásticos, mientras que los mcl-PHAs, por tener baja cristalinidad y puntos de fusión menores son reconocidos como elastómeros (Poirier et al., 2001). En general los scl-PHAs son altamente cristalinos, rígidos y frágiles, cuya resistencia a la biodegradación es mayor que los mcl-PHAs, que se caracterizan por ser materiales amorfos y más flexibles (Luef et al., 2015; Zheng et al., 2019). Dentro de los scl-PHAs, el PHB es uno de los más estudiados y mejor caracterizados, además de ser el primer PHA en ser descubierto (Khanna y Srivastava, 2005). Posee características muy similares al polipropileno (PP) que es uno de los plásticos convencionales (de la industria petroquímica) de mayor uso, la principal diferencia entre ambas es que el PP tiene una extensión hasta el quiebre de 400% mientras que el del PHB es de 5%, por tanto, el PHB aparece como un material plástico más rígido y quebradizo que el PP (**tabla 1**) (Sudesh et al., 2000).

**Tabla 1.** Comparación de propiedades físicas entre scl-PHAs, representado por PHB, mcl-PHAs y PP.

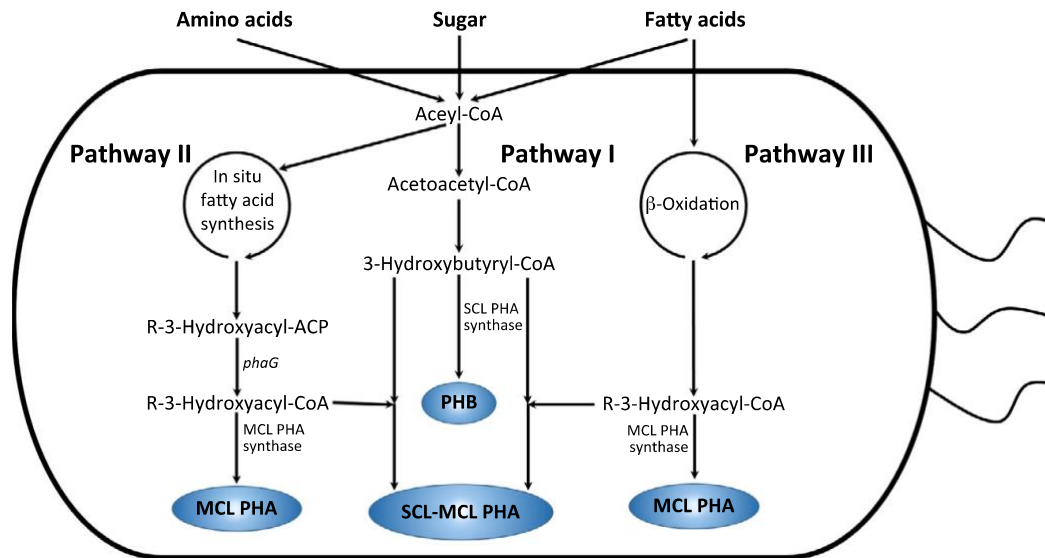
Parámetro	PHB	mcl-PHAs	PP
Temperatura de transición vítrea, Tg (°C)	4	-25 a -40	-10
Temperatura de fusión, Tm (°C)	180	45-50	176
Cristalinidad (%)	60	30	50-70
Extensión hasta rotura (%)	5	300	400
Fuerza de tensión (MPa)	40	10	38

Los PHAs son principalmente utilizados por sus características biocompatibles y biodegradables, no obstante, presentan inconvenientes en sus características materiales como la inestabilidad mecánica y grados de cristalinidad demasiado alto o bajo. Para obtener productos con mejores propiedades se recurre a la combinación de PHAs con otros materiales orgánicos e inorgánicos, así como la utilización de diferentes precursores para la obtención de copolímeros (Koller, 2018). Aunque sean ampliamente utilizados, el elevado coste de producción de una gran mayoría de PHAs lleva a que sólo algunos puedan producirse a gran escala. Este es el caso del homopolímero PHB y de los copolímeros P(3HB-co-4HB), P(3HB-co-3HV) y P(3HB-co-3HHx) obtenidos por copolimerización de los monómeros 3HB y 4HB, 3HB y 3HV, 3HB y 3HHx, respectivamente (Zheng et al., 2019).

#### 4.1.2 Biosíntesis y producción de PHAs

Los microorganismos son capaces de sintetizar PHAs, pero también son capaces de degradarlos para usarlos como fuentes de carbono y energía. Esto se lleva a cabo gracias la enzima PHA polimerasa o sintasa y PHA despolimerasa (Phaz). Existen 4 clases de PHA sintasas que se diferencian por su estructura primaria, composición de las subunidades y especificidad de sustrato. Las de clase I y II son enzimas que están compuestas por sola subunidad (PhaC). La de clase I polimeriza preferentemente monómeros de cadena corta (3 a 5 átomos de carbono), mientras que la de clase II polimeriza monómeros de cadena media (6 y 14 átomos de carbono). Las de clase III están compuestas de dos tipos de subunidades, PhaC y PhaE, las de clase IV contienen la subunidad PhaC y PhaR. Ambas polimerizan, preferentemente, monómeros de cadena corta (Sudesh et al., 2000).

Se pueden distinguir predominantemente 3 rutas biosintéticas de PHAs en función de la fuente de carbono utilizada, éstas son: degradación de carbohidratos, degradación de ácidos grasos o  $\beta$ -oxidación y biosíntesis de ácidos grasos (**figura 6**).



**Figura 6.** Tres de las principales rutas metabólicas que generan precursores para la síntesis de PHA (Chen et al., 2015)

Típicamente, los scl-PHAs, como el PHB, se sintetizan a través de la ruta de acetyl-CoA a 3-hidroxiacetil-CoA (**ruta I, figura 6**) en el que dos acetyl-CoA, generados a partir de azúcar, ácidos grasos, o aminoácidos, se combinan por la  $\beta$ -cetotiolasa (PhaA) para formar acetoacetyl-CoA. El acetoacetyl-CoA se reduce a 3-hidroxiacetil-CoA (3HB) por la acción de la enzima acetoacetyl-CoA reductasa (PhaB) dependiente de NADPH. Los monómeros 3HB son luego polimerizados por la PHA sintasa (PhaC). Esta vía está típicamente representada por *Ralstonia eutropha* (syn. *Cupriavidus necator* o *Alcaligenes eutrophus*) y contiene una scl-PHA sintasa (PhaC) específica para sustratos de 3-5 átomos de carbono. Las rutas II y III se usan comúnmente para la síntesis de mcl-PHAs en *Pseudomonas spp.* En la ruta de degradación de ácidos grasos (**ruta II, figura 6**) se utilizan productos intermedios del ciclo de  $\beta$ -oxidación como el enoil-CoA. Este se transforma mediante R-3-hidroxiacil-CoA hidratasa (PhaJ) en R-3-hidroxiacil-CoA, que es el precursor de la polimerización de mcl-PHA catalizada por la mcl-PHA sintasa (PhaC-mcl). La ruta de biosíntesis de ácidos grasos (**ruta III, figura 6**) proporciona R-3- hidroxiacil-ACP, que es transformado por la enzima 3-hidroxiacil-ACP-CoA transferasa (PhaG) a R-3-hidroxiacil-CoA. Este, a su vez, es utilizado para la síntesis de PHA (Chen et al., 2015; Kniewel et al., 2017).

Se conocen más de 300 microorganismos diferentes capaces de sintetizar PHAs, pero son pocos los microorganismos que se emplean a nivel industrial. De forma general, las bacterias que se utilizan para la producción de PHAs se pueden dividir en dos grupos según las condiciones de cultivo requerido para su síntesis. El primer grupo de bacterias requiere de la limitación de nutrientes esenciales (nitrógeno, fósforo, azufre, magnesio, oxígeno) para sintetizar PHAs a partir de un exceso de fuente de carbono. Este grupo incluye a *Alcaligenes eutrophus*, *Ralstonia eutropha*, *Pseudomonas extorquens* y *Pseudomonas oleovorans*, entre otras. El segundo grupo de

bacterias no requiere de la limitación de nutrientes ya que pueden acumular grandes cantidades de PHAs durante la fase de crecimiento. Este grupo incluye a *Alcaligenes latus*, *Azotobacter vinelandii* recombinante y *Escherichia coli* recombinante, entre otras (Lee, 1996).

La producción biotecnológica del PHA se lleva a cabo por fermentación y se pueden utilizar técnicas de cultivo continuo o discontinuo (por lotes) con alta productividad. Con el primer grupo de microorganismos se emplea con mayor frecuencia un método de cultivo que consta de dos pasos. En el primero se busca el aumento de la biomasa sin limitación de nutrientes mientras que, en el segundo paso, se mantiene limitado un nutriente esencial para permitir la síntesis eficiente del PHA. Con el segundo grupo de microorganismos se emplea mayoritariamente el método de cultivo continuo sin limitación de nutrientes (Khanna y Srivastava, 2005; Lee, 1996). Después del proceso de fermentación, tiene lugar la recuperación de la biomasa, para ello el caldo de cultivo se centrifuga y la biomasa precipitada se filtra. El PHA se debe de extraer de la biomasa microbiana, para esto se utilizan solventes orgánicos como acetona, cloroformo o dicloroetano. La extracción del PHA con estos solventes lleva a la utilización de grandes cantidades del mismo haciendo menos económicos el proceso. Como alternativa, se utilizan métodos enzimáticos, tratamientos con amonio o digestión con surfactantes (Andler y Díaz, 2013). La solución de PHA resultante se filtra para remover restos de células, posteriormente se concentra y el PHA se precipita con metanol o etanol. Finalmente, el polímero precipitado se recupera por evaporación del disolvente (González et al., 2013). En el proceso de recuperación de los PHAs se debe de tener en cuenta los productos y métodos utilizados para su extracción. Esto se debe a que, durante este proceso, pueden liberarse endotoxinas que, si no son correctamente eliminadas, ocasionan reacciones inflamatorias por lo que puede limitar su uso en el ámbito biomédico y farmacéutico. Las endotoxinas constituyen lipopolisacáridos (LPS), componentes resistentes al calor, producidos y ubicados en la membrana celular externa de las bacterias Gram negativas. Sin embargo, las bacterias Gram positivas no producen LPS (Koller, 2018). Se han desarrollado diversos métodos para la cuantificación de la carga de LPS de una muestra de PHAs, como la prueba del Lisado de Amebocitos de *Limulus* (LAL) (Perdomo, 2004).

### 4.1.3 Aplicaciones de los PHAs

Los PHAs han sido evaluados y probados con éxito en numerosas aplicaciones biomédicas y farmacéuticas que incluyen su utilización como andamios biológicos para la regeneración de tejidos, portadores de fármacos o como material para implantes y sistemas de liberación controlada. Los PHAs han demostrado ser útiles en injertos vasculares, hígado, piel, huesos,

cartílagos y tejidos nerviosos. Además, se ha comprobado con éxito que los implantes de PHA son completamente biocompatibles y no inmunogénicos (Michalak et al., 2017).

#### 4.1.3.1 PHAs en sistemas de vehiculización y administración de fármacos

La administración de fármacos de forma tradicional ya sea por vía extravascular o intravenosa, posibilita la aparición de algunos inconvenientes como la distribución inespecífica del fármaco en el organismo, incapacidad de mantener concentraciones de fármacos a lo largo del tiempo, aparición de efectos indeseables o tóxicos y escasa biodisponibilidad oral (Korde y Kandasubramanian, 2020). Estos inconvenientes llevaron al desarrollo de sistemas que proporcionen una cinética de liberación de fármacos predecible, que permita reducir los efectos indeseables y las pérdidas del fármaco por degradación o desactivación, así como disminuir las fluctuaciones de concentración de fármaco en el organismo (Tarrahi et al., 2020). Se trata de formulaciones o dispositivos farmacéuticos que aportan perfiles de administración de fármacos más adecuados que los dispositivos convencionales. Se han estudiado diferentes materiales como portadores de fármacos, entre los que destacan los biopolímeros por ser materiales biocompatibles y biodegradables, cuyos productos finales son menos tóxicos en comparación con otros materiales poliméricos diferentes. Los PHAs son utilizados como portadores micro o nanométricos de fármacos hidrófobos, proteínas, vacunas, ácidos nucleicos y macromoléculas biológicas, generalmente en forma de esferas o cápsulas (Li y Lim, 2018).

Se han realizado numerosos estudios sobre la formación de micropartículas en forma de microesferas o microcápsulas con objetivo de obtener y estudiar los sistemas de liberación controlada de diversos fármacos. Entre ellos se encuentra la tetraciclina que se carga en microesferas y microcápsulas de poli (3-hidroxi butirato-co-3-hidroxi valerato) (PHBV) (Sendil et al., 1999), gentamicina en microesferas de PHBV y wollastonita bioactiva (Li y Chang, 2005), rubomicina depositada en micropartículas poliméricas (Shishatskaya et al., 2008) y paclitaxel en microesferas basadas en PHB (Bonartsev et al., 2012). Sin embargo, actualmente hay un gran auge en cuanto a la investigación de sistemas de administración de fármacos de tamaño nanométrico. Esta se basa en ciertas características que presentan las nanopartículas como una alta capacidad de atravesar pequeños capilares, facilitar la disminución de la dosis de administración y los efectos secundarios indeseables o posibilidad de ser dirigidos e infiltrarse en algunos tejidos o células. Además, no suelen ser detectados por los fagocitos y son capaces de circular en el torrente sanguíneo durante periodos prolongados de tiempo (Tarrahi et al., 2020).



Las nanopartículas mejoran el perfil de administración de ciertos fármacos como la hidrocortisona, que requiere de administraciones continuadas para mantener su actividad antiinflamatoria a nivel ocular. La administración oftálmica tópica de hidrocortisona en nanopartículas de PHBV aumenta el tiempo de residencia del fármaco y la penetración en capas más profundas. Lleva a la reducción de los efectos secundarios indeseables por disminución de la frecuencia de administración (Álvarez et al., 2019). La formación de bionanocompuestos mejora las propiedades estructurales, así como la estabilidad térmica y la actividad de ciertos fármacos. Este es el caso del bionanocompuesto PHB-Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> que presenta una mayor actividad antibacteriana evaluada mediante unidades formadoras de colonias y métodos de difusión en disco (Safaei et al., 2020).

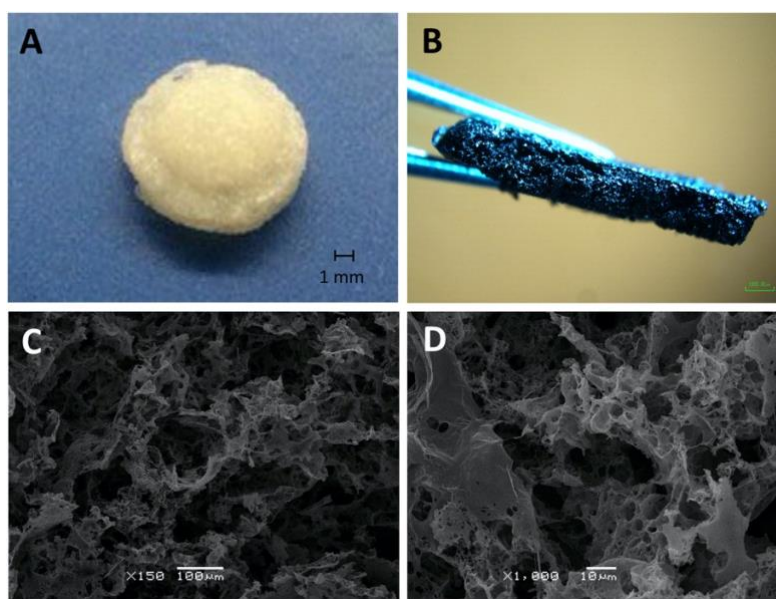
El uso en clínica de numerosos fármacos se ve afectada por sus efectos tóxicos a nivel sistémico, estos efectos indeseables pueden reducirse con la administración de nanopartículas cargadas con el fármaco. Uno de los ejemplos son las nanopartículas de PHBV cargadas con sunitinib, fármaco ampliamente utilizado en cáncer de pulmón (Otroj et al., 2020). Se ha demostrado también que las nanopartículas tienen un gran potencial para ser utilizadas como portadores de genes, este es el caso de nanopartículas de PHB-co-PEI (polietilenimina) (Memari et al., 2020). En numerosas enfermedades, como el cáncer, es de especial interés que el fármaco llegue y actúe en las células o tejidos objetivos alterados o dañados y no en las células o tejidos sanos, en este sentido, las nanopartículas de PHAs permiten la unión de ligandos específicos de células como folatos, péptidos y azúcares que dan lugar a tratamientos mucho más específicos y selectivos, reduciendo los efectos tóxicos e indeseables asociados a la misma. Así, se han diseñado sistemas de administración de fármacos dirigidos a células cancerosas utilizando como ligando el ácido fólico. Como ejemplos se encuentran las nanopartículas a base de poli (3-hidroxi butirato-co-3-hidroxi hexanoato) (PHBHHX) cargadas con etopósido (Kiliay et al., 2011) y las nanopartículas constituidas por poli (3-hidroxi butirato-co-3-hidroxi octanoato) (PHBHO) cargadas con doxorubicina (Zhang et al., 2010). El hecho de que ambos sistemas de administración contengan ácido fólico hace que la terapia contra el cáncer sea dirigida y más selectiva.

#### 4.1.3.2 PHAs en la ingeniería de tejidos

La ingeniería de tejidos se centra en la creación de tejidos vitales mediante la combinación de biomateriales, células y moléculas bioactivas y tiene como objetivo reparar los órganos y tejidos dañados o alterados. La alta biocompatibilidad de los PHAs así como sus propiedades mecánicas y los tiempos de degradación adecuados, los convierten en candidatos ideales para la producción de andamios. Estos pueden ser utilizados en la reparación del daño de varios tejidos

(duros y blandos) como los tejidos óseos, vasculares, cartílagos, piel, medula ósea y conductos nerviosos (Rodríguez-Contreras, 2019).

La ingeniería de tejidos implica el uso de un andamio biocompatible adecuado (**figura 7**). Los PHAs desempeñan un papel importante en este campo ya que poseen la mayoría de las propiedades requeridas como biomaterial para la formación de andamios, como biodegradabilidad, biocompatibilidad, vascularización y suficiente resistencia mecánica (Lim et al., 2017). Estas propiedades pueden ser mejoradas con la combinación del PHA con sustancias inorgánicas, hidroxiapatita (HA), hidrogeles e incluso otros polímeros biocompatibles (Rodríguez-Contreras, 2019).



**Figura 7.** Aspecto y microestructura de andamios porosos de PHB. A: apariencia del andamio de PHB; B: microfotografía del andamio de PHB con prueba de tinta; C y D: estructura porosa del andamio de PHB con SEM  $\times 150$  (C),  $\times 1000$  (D) (Volkov et al., 2020).

Numerosas investigaciones demuestran que los PHAs pueden ser utilizados para la formación de andamios óseos. Uno de los más actuales estudia la regeneración de defectos óseos de tamaño crítico del hueso parietal en ratas, mediante el uso de andamios de PHB/hidroxiapatita rellenos con un hidrogel de alginato sembrados con células madre mesenquimales (MSC). Los resultados obtenidos de este estudio demuestran que el andamio de PHB/HA relleno con hidrogel de alginato que contiene MSC mejora la regeneración ósea, debido a las propiedades osteoinductoras de los andamios y al potencial regenerativo de las MSC (Volkov et al., 2020). Los PHAs también tienen las características adecuadas para ser empleados en la formación de cartílagos, algunas investigaciones demuestran que el uso de PHAs puede ser una alternativa importante a los procedimientos quirúrgicos actuales en la reparación de cartílagos, en los cuales no se pueden restaurar la función normal del mismo (Rodríguez-Contreras, 2019). En un estudio

reciente se evaluó las propiedades mecánicas y la viabilidad celular del andamio compuesto por PHB/quitosano reforzado con  $Al_2O_3$  (alúmina) para la ingeniería de tejidos de cartílago. Los resultados de los estudios celulares mostraron que las células de condrocitos se diseminaron mejor en andamios de PHB/quitosano al 3% de  $Al_2O_3$  que en andamios únicamente compuestos por PHB. Estos resultados indican que el andamio de PHB/ quitosano al 3%  $Al_2O_3$  es un material prometedor para ser aplicado como un andamio de ingeniería de tejidos de cartílago (Toloue et al., 2019).

Los PHAs se han investigado ampliamente en ingeniería cardiovascular para ser utilizados en injertos vasculares, incremento de arterias, válvulas cardíacas, stents cardiológicos y parches pericárdicos (Israni y Shivakumar, 2019). Algunos de los más estudiados, son los mcl-PHAs, que han demostrado tener propiedades excepcionales para ser aplicados en ingeniería del tejido cardíaco. Así, en un estudio reciente, se analizaron andamios formados por una mezcla de mcl-PHA y policaprolactona sembrados con células madre cardíacas marcadas, que se implantaron y estudiaron *in situ* en el corazón murino *post mortem*. El andamio demostró tener un tremendo potencial para el suministro controlado de células progenitoras cardíacas así como la capacidad de maximizar la regeneración de tejidos en el infarto de miocardio (Constantinides et al., 2018). Los PHAs también han ganado importancia en la regeneración nerviosa, dentro de ellos se encuentra el PHB, PHBV, P3HB4HB y PHBHHx, los cuales han demostrado resultados prometedores para la viabilidad, el crecimiento y proliferación de células madre neurales, la mejora de la supervivencia neural y el apoyo a la segregación de dendrita axónica (Israni y Shivakumar, 2019).

## **4.2 Exopolisacáridos (EPS) microbianos**

Los EPS son biopolímeros producidos y secretados por microorganismos que pueden ser encontrados en forma de cápsula, formando capas mucosas que permanecen asociadas con la superficie celular, o en forma de limo, en el que los polisacáridos se unen libremente a la superficie celular (Rehm, 2009). Químicamente, los EPS están compuestos en su mayoría por carbohidratos, pudiendo presentar sustituyentes orgánicos e inorgánicos además de azúcares. Los monosacáridos que con más frecuencia se suelen repetir en los EPS microbianos son la D-glucosa, D-galactosa y D-manosa, aunque también es posible encontrar monómeros de L-ramnosa, L-fucosa, entre otras. Los diferentes sustituyentes que presentan los EPS se unen a ellos por enlace éster o cetil. Se pueden encontrar sustituyentes orgánicos como restos acetato, que no contribuyen a la carga total de la molécula polisacárida, piruvato que junto a los ácidos urónicos (D-glucurónico, D-galacturónico) confieren naturaleza polianiónica a los EPS y algunos aminoácidos. Es posible también encontrar sustituyentes inorgánicos como grupos fosfatos y

sulfatos. La presencia de grupos fosfatos es la que se encuentra con mayor frecuencia respecto a otros sustituyentes inorgánicos, y se caracteriza por presentar semejanza a los ácidos teicoicos presente en la pared de las bacterias Gram positivas. La presencia de grupos sulfato se encuentra limitada en organismos procariotas (Sutherland, 1994).

Los EPS producidos por microorganismos desempeñan múltiples funciones, generalmente beneficiosas para los mismos. Se cree que los EPS en su entorno natural, además de facilitar la adhesión microbiana a superficies sólidas y formación de biopelículas, ofrecen protección frente a la desecación, la fagocitosis y el ataque de fagos, estrés osmótico y reconocimiento celular. También actúan como mecanismo de defensa frente a agentes antimicrobianos o compuestos tóxicos (iones metálicos tóxicos, dióxido de azufre, etanol). No es probable que los exopolisacáridos sirvan como reserva de energía ya que la mayoría de las bacterias que las producen no son capaces de catabolizarlo (Cerning, 1990).

#### 4.2.1 Clasificación y propiedades de EPS

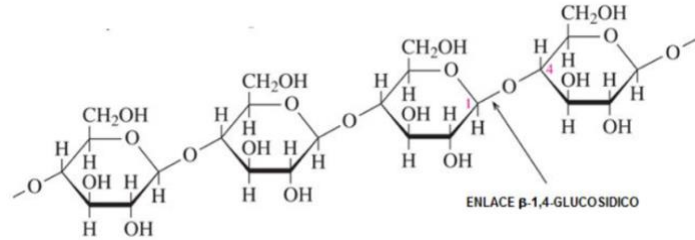
Existe una gran variedad de exopolisacáridos debido a la diversidad de las unidades básicas que los constituyen, la cantidad en que están presentes y los distintos tipos de enlace que determinan la configuración (Cerning, 1990). Los EPS microbianos se pueden clasificar en función de su estructura y su composición en homopolisacáridos y heteropolisacáridos. Los homopolisacáridos son compuestos que están constituidos por un único tipo de unidades glucídicas y suelen ser neutras, mientras que los heteropolisacáridos están constituidos por diferentes tipos de monosacáridos y suelen ser polianiónicos. Los heteropolisacáridos suelen ser mayoritarios dentro de los EPS microbianos (Sutherland, 1994).

A continuación, se va a realizar una breve descripción sobre los exopolisacáridos con mayor repercusión en el ámbito farmacéutico y biomédico obtenido a partir de microorganismos. En la **tabla 2** se puede apreciar las propiedades destacables de algunos EPS y el microorganismo productor a nivel industrial.

Dentro de los homopolisacáridos podemos destacar a:

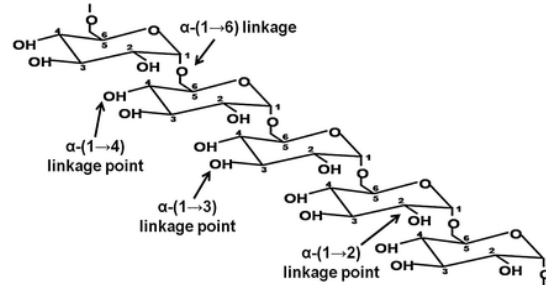
- **Celulosa bacteriana (CB)**: polímero neutro constituido por moléculas D-glucosa unidas por enlaces  $\beta$ -1,4 (**figura 8**), forman una cadena lineal las cuales se asocian principalmente por puentes de hidrógeno para originar una estructura denominada “microfibrillas”. Es sintetizada con alta productividad por algunas bacterias como el *Gluconacetobacter xylinum* (anteriormente *Acetobacter xylinum*). Las CB a diferencia de otras celulosas producidas por plantas, están libres de moléculas contaminantes

como lignina, hemicelulosa y pectina (Ross et al., 1991). Debido a características como su alta cristalinidad, pureza, hidrofilia, resistencia a la tracción, potencial de formación de estructuras, biocompatibilidad y biodegradabilidad, hacen que la CB sea un material prometedor en aplicaciones biomédicas (Huang et al., 2014; Keshk, 2014).



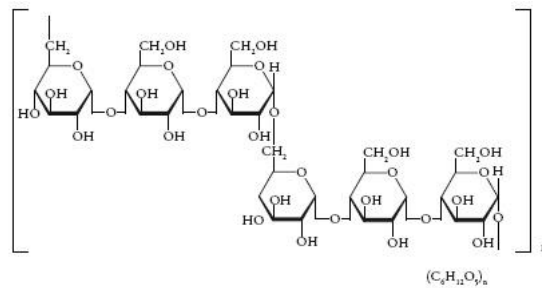
**Figura 8.** Estructura química de la celulosa bacteriana

- **Dextrano:** polímero neutro constituido por residuos D-glucosa unidos por enlaces  $\alpha$ -1,6 en su mayoría, estas representan la cadena principal. Hasta un 50% de los enlaces pueden ser  $\alpha$ -1,2,  $\alpha$ -1,3 y  $\alpha$ -1,4, y son las que constituyen las ramificaciones (Kim y Robyt, 1995) (**figura 9**). Su producción industrial se realiza principalmente a partir de *Leuconostoc mesenteroides* que origina EPS con un 95% de enlaces  $\alpha$ -1,6 y un 5% de unión  $\alpha$ -1,3 (Vettori et al., 2012). Gracias a su buena estabilidad y su comportamiento de fluido Newtoniano, el dextrano es utilizado en la industria farmacéutica como expansor de volumen plasmático y en cromatografía (Nwodo et al., 2012).



**Figura 9.** Estructura química del dextrano

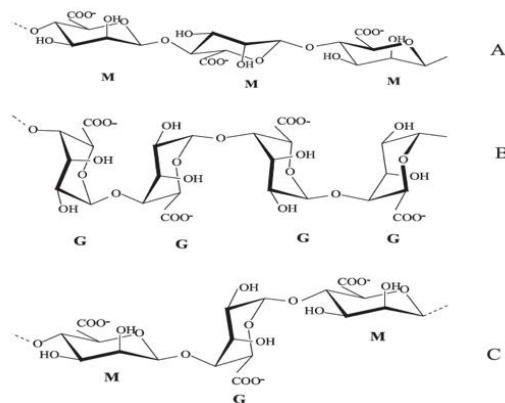
- **Pululano:** polímero neutro constituido por unidades repetidas de maltotriosa (tres unidades de glucosa unidas entre sí por enlaces glicosídicos  $\alpha$ -1,4) que se unen a través de enlaces  $\alpha$ -1,6 (**figura 10**). Es sintetizado por el hongo polimórfico *Aureobasidium pullulans*. Sus aplicaciones en el ámbito farmacéutico se basan en propiedades como su gran solubilidad, no ser tóxico ni mutagénico o su capacidad para formar películas adhesivas e impermeables al oxígeno (Haghighatpanah et al., 2020; Moscovici, 2015).



**Figura 10.** Estructura química del pululano

Dentro de los heteropolisacáridos destaca:

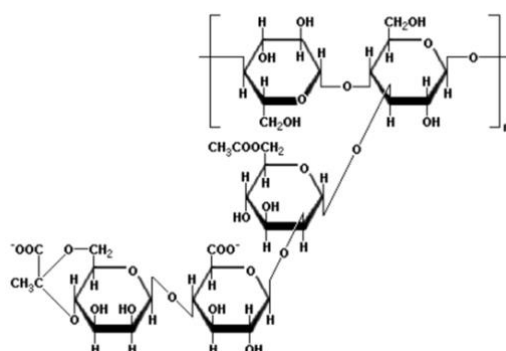
- **Alginato bacteriano:** es un polímero aniónico, cuya estructura está compuesta por monómeros de ácido D-manurónico (M) unidos por enlace  $\beta$ -1,4 y ácido L-gulurónico (G) unidos por enlace  $\alpha$ -1,4. Estos se agrupan o se distribuyen en secciones constituyendo bloques homopoliméricos de tipo G (-GGG-), bloques M (-MMM-) o heteropolímeros en los que los M y G se alternan (-MGMG-) (**figura 11**). El alginato es sintetizado como mucílago extracelular por bacterias como *Pseudomonas spp.* y *Azotobacter vinelandii*. Se diferencia del ácido algínico obtenido por algas por la presencia de un mayor número de grupos O-acetilo, es decir, se encuentra más acetilado (García-Cruz et al., 2008). Las aplicaciones de los alginatos bacterianos se basan en sus propiedades como espesantes, alta capacidad de retener agua, capacidad de formar gel a partir de una serie de reacciones químicas de intercambio iónico (iones sodio por cationes divalentes) y de formar películas (McHugh, 1987).



**Figura 11.** Estructura de los bloques homopoliméricos y heteropoliméricos de los alginatos bacterianos. El A representa bloques tipos M, el B bloques G y el C bloques tipo MG.

- **Xantano:** polímero de naturaleza aniónica sintetizado por *Xanthomonas campestris*. Su estructura primaria (**figura 12**) se basa en una cadena lineal de moléculas de D-glucosa unidas por enlace  $\beta$ -1,4 con una cadena lateral de trisacárido en la posición C3 de los residuos D-glucosídicos alternos. Esta cadena lateral contiene un residuo de ácido glucurónico unido por enlace  $\beta$ -1,4 a una unidad de manosa terminal, y por enlace

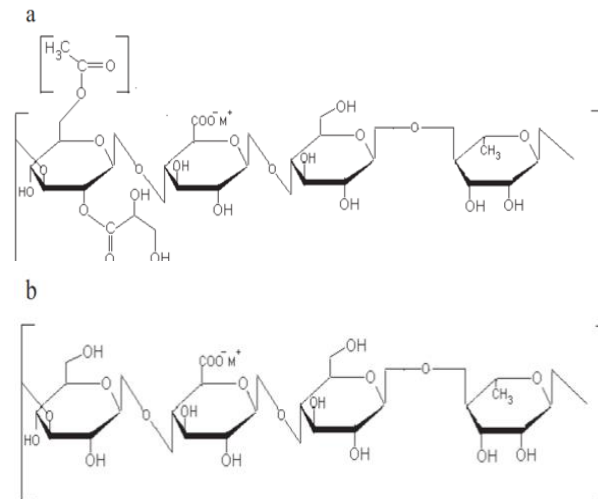
$\beta$ -1,2 a una segunda manosa. Esta última se conecta con la cadena D-glucosa por enlace  $\alpha$ -1,3. La manosa terminal presenta grupos piruvato en las posiciones 4 y 6; y la unidad de manosa interna se encuentra acetilada en la posición 6 (Jasson et al., 1967; Sanderson et al., 1976). Su empleo en la industria farmacéutica se debe a sus propiedades como espesante y estabilizador de suspensiones y emulsiones. Se caracteriza por exhibir propiedades pseudoplásticas en las soluciones, de ser estable a pH tanto ácido como alcalino y a que, concentraciones relativamente bajas de polisacárido, producen soluciones altamente viscosas las cuales se mantienen estables al elevar la temperatura (Patel y Patel, 2011).



**Figura 12.** Estructura química de Xantano

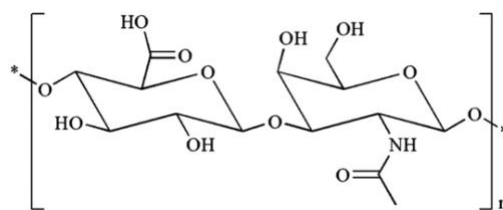
- **Gelano:** heteropolisacárido lineal aniónico producido por la cepa no patógena de *Sphingomonas elodea* ATCC 31461 (originalmente denominado *Pseudomonas elodea*; también denominado *Sphingomonas paucimobilis*). Está constituido por la repetición de un tetrasacárido compuesto por D-glucosa, ácido D-glucurónico y L-ramnosa en proporción 2:1:1. Presenta dos sustituyentes acilos (O-acetilo y O-L-glicerilo) unidos al mismo residuo de glucosa (**figura 13**). La presencia o no de estos restos acetilos determina las propiedades del gel originado por este polímero (Fialho et al., 2008). La forma nativa contiene sustituyentes de acilo, que si no son de interés, se pueden eliminar fácilmente mediante hidrólisis alcalina (Moscovici, 2015). El gelano tiene muchas ventajas respecto a otros polisacáridos como su estabilidad térmica y ácida, alta transparencia, elasticidad y rigidez del gel, que pueden ser variables en función de la presencia y la cantidad de sustituyentes acilos. Posee una amplia gama de aplicaciones como agente estabilizante, espesante, emulsionante y gelificante debido a sus excelentes características reológicas (Fialho et al., 2008).





**Figura 13.** Estructura química de la unidad repetitiva de la goma de gelano nativa (a) y desacetilada (b).

- **Ácido hialurónico (HA):** pertenece al grupo de los glicosaminoglicanos. Se trata de un polisacárido lineal aniónico producido a escala industrial por *Streptococcus zooepidemicus* y *Bacillus subtilis*. Está constituido por unidades disacáridas compuestas por ácido D-glucurónico y N-acetilglucosamina que se encuentran unidas alternativamente por enlaces glucosídicos β-1,4 y β-1,3 (**figura 14**). Están presentes en una amplia gama de aplicaciones como humectantes de la piel, en lágrimas artificiales, tratamiento de osteoartritis, cicatrización de heridas, entre otras. Sus aplicaciones son debidas a su viscoelasticidad, biocompatibilidad, alta hidrofilia y solubilidad (Liu et al., 2011; Mishra y Jha, 2013).



**Figura 14.** Estructura química del ácido hialurónico



**Tabla 2.** Principales propiedades y microorganismos productores de diversos exopolisacáridos.

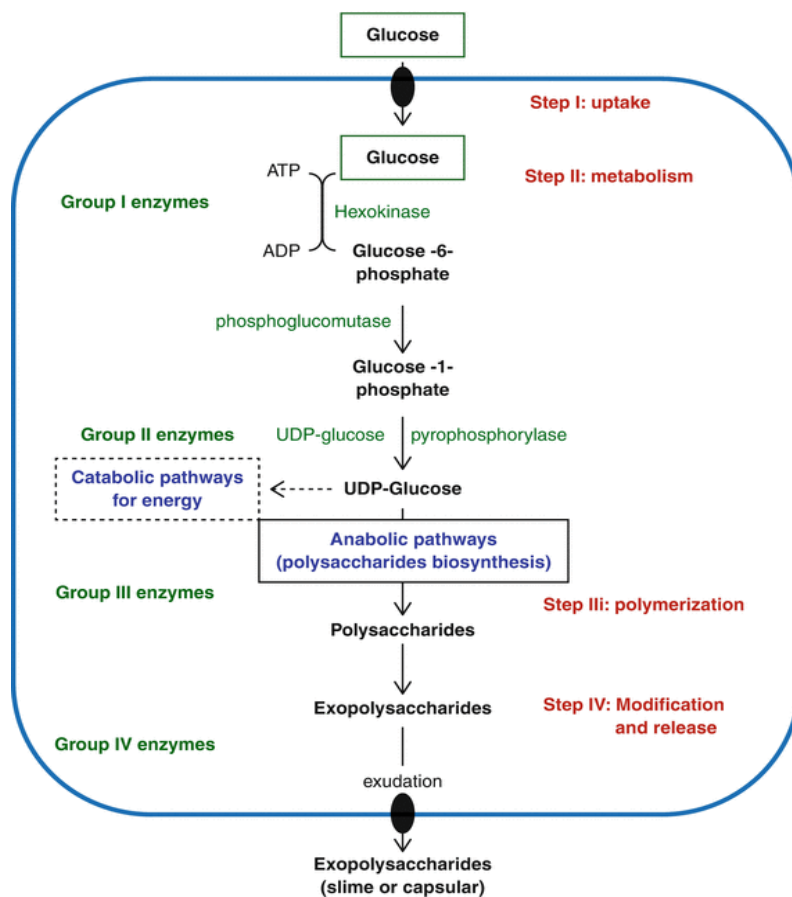
		Principal microorganismo productor	Propiedades
<b>Homopolisacáridos</b>	Celulosa bacteriana	<i>Acetobacter xylinum</i>	- Alta cristalinidad y pureza - Alta resistencia a la tracción - Gran potencial de formación de estructuras
	Dextrano	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	- Buena estabilidad - Comportamiento de fluido Newtoniano
	Pululano	<i>Aureobasidium pullulans</i>	- Capacidad para formar películas adhesivas - Impermeabilidad al oxígeno
<b>Heteropolisacáridos</b>	Alginato bacteriano	<i>Pseudomonas spp.</i> <i>Azotobacter vinelandii</i>	- Espesante - Capacidad gelificante - Formación de películas
	Xantano	<i>Xanthomonas campestris</i>	- Espesante y estabilizador - Propiedades pseudoplásticas en soluciones - Estabilidad en amplios rangos de temperatura y pH
	Gelano	<i>Sphingomonas elodea</i>	- Capacidad de gelificación - Elasticidad y rigidez del gel ajustables - Estabilidad a la temperatura y pH
	Ácido hialurónico	<i>Streptococcus zooepidemicus</i> <i>Bacillus subtilis</i>	- Biocompatibilidad - Alta hidrofilia y solubilidad - Actividad biológica

#### 4.2.2 Biosíntesis y producción de los EPS

La biosíntesis de EPS ocurre en diferentes fases del crecimiento celular y depende tanto de las condiciones ambientales (temperatura, pH y nutrientes) como del organismo utilizado en su producción. De forma general se puede considerar que la biosíntesis de los EPS ocurre en cuatro etapas principales (**figura 15**); ingreso del sustrato al citoplasma, metabolismo intermediario (síntesis de glucosa-1-fosfato), polimerización, modificación y liberación de los EPS (De Vuyst y Degeest, 1999).

La biosíntesis de los EPS se inicia con el ingreso de moléculas de azúcar a la célula por uno o varios de los siguientes mecanismos según el tipo de microorganismo involucrado y del sustrato: transporte activo, difusión simple o traslocación de grupo. El sustrato que ha ingresado a la célula se fosforila y puede seguir una ruta catabólica, hacia la obtención de energía, o una ruta anabólica hacia la formación de polisacáridos. La enzima intracelular hexoquinasa fosforila la glucosa a glucosa-6-fosfato que, posteriormente, se convierte en glucosa-1-fosfato por la acción de la fosfoglucomutasa. La glucosa-1-fosfato es un metabolito central que se utiliza para la formación de derivados de nucleótidos como UDP-glucosa y dTDP-glucosa (se pueden interconvertir en otros azúcares como UDP-galactosa y dTDP-ramnosa) a través de la acción de UDP-glucosa pirofosforilasa y dTDP-glucosa pirofosforilasa, respectivamente. Posteriormente, se produce la transferencia secuencial de los correspondientes precursores activados, a un lípido aceptor intermediario identificado como alcohol isoprenoide. La formación de este glicolípido

intermediario se origina gracias a la acción de glicosiltransferasas específicas, situadas probablemente sobre la cara interna de la membrana citoplasmática donde los precursores se encuentran disponibles. Las glicosiltransferasas son enzimas claves que catalizan la transferencia de restos de azúcar de las moléculas donantes activadas, a las moléculasceptoras específicas, formando un enlace glucosídico. Los polisacáridos pueden modificarse en el cuarto paso mediante diferentes actividades enzimáticas como acilación, acetilación, sulfatación y metilación. Los polisacáridos modificados se transportan a la superficie celular y finalmente se exudan de la célula en forma de limo suelto o cápsula con la ayuda de enzimas hidrofóbicas como flipasas o permeasas o transportadores de tipo ABC (Freitas et al., 2011; Madhuri y Vidya Prabhakar, 2014; Mishra y Jha, 2013).



**Figura 15.** Representación esquemática de la biosíntesis de exopolisacáridos microbianos (Mishra y Jha, 2013).

La producción microbiana presenta varias ventajas sobre los productos derivados de plantas y macroalgas. Entre ellas se encuentra la gran versatilidad de los microorganismos para sintetizar polisacáridos, parámetros de producción definidos y reproducibles que nos permite evitar las influencias ambientales y obtener una alta calidad del producto final. Se pueden obtener a partir de recursos renovables, fácilmente obtenibles, biocompatibles y aparentemente no tóxicos (Moscovici, 2015).

La producción de los EPS se lleva a cabo por procesos de fermentación de tipo discontinuo, alimentado por lotes y de tipo continuo. En general, se ven significativamente afectadas por factores tales como la temperatura, el pH, la concentración de oxígeno, la configuración del biorreactor y el medio de cultivo (ÖZcan y Öner, 2015). La mayoría de los procesos de producción de EPS microbianos se llevan a cabo por cultivos discontinuos y se ve favorecido por la presencia de una fuente de carbono en exceso concomitante con la limitación de otro nutriente (como el nitrógeno y oxígeno). En general la mayoría de los EPS bacterianos se producen en condiciones aeróbicas. Algunos EPS requieren de una aireación máxima (por ejemplo, el xantano) mientras que, para otros, la producción se ve favorecida en condiciones microaerofílicas (por ejemplo, el alginato bacteriano) (Freitas et al., 2011). Aunque la presencia de nitrógeno adicional favorece el crecimiento celular, la producción de EPS en esta situación suele ser baja. Se debe al hecho de que la disminución de la tasa de crecimiento celular puede aumentar la disponibilidad del portador de lípidos isoprenoide y como consecuencia, estimular la producción de polisacáridos (Freitas et al., 2017). La recuperación de los polisacáridos microbianos extracelulares del caldo de cultivo se logra comúnmente mediante procedimientos que implican: eliminación de células, se logra generalmente por centrifugación o filtración; precipitación del polímero del sobrenadante libre de células mediante la adición de un agente precipitante. Se trata de un disolvente miscible con el agua en el que el polímero es insoluble (metanol, etanol, isopropanol o acetona); y secado del polímero precipitado, se realiza por liofilización (escala de laboratorio) o secado en tambor (escala industrial) (Freitas et al., 2011).

El principal inconveniente de la producción de los EPS es su coste elevado, casi el 30% del coste se debe al medio de cultivo utilizado. Antes, los estudios para la mejora del proceso se centraban en la recuperación y caracterización química de los EPS puros. Actualmente, sin embargo, los estudios están centrados en maximizar la rentabilidad del proceso mediante la búsqueda de sustratos más baratos como el uso de productos de desecho y subproductos derivados de las industrias agrícolas o del procesamiento de alimentos como el suero de queso, pasta de tomate residual, pulpa de fruta residual, caña de azúcar, entre otros (Freitas et al., 2017; ÖZcan y Öner, 2015).

### 4.2.3 [Aplicaciones de los EPS](#)

Los EPS microbianos cubren una amplia gama de aplicaciones que va desde la industria alimentaria, agrícola, petrolera y cosmética, hasta aplicaciones biomédicas y farmacéuticas. Con respecto a estas dos últimas, los EPS pueden ser utilizados en sistemas de liberación controlada de fármacos, pueden actuar como portadores para disminuir la inestabilidad de fármacos como proteínas, péptidos, vacunas y hormonas. También pueden ser utilizados en curación de heridas

e ingeniería de tejidos, en diagnóstico (imágenes médicas) y en terapéutico (diagnóstico y terapia), ya que algunos EPS desempeñan actividades biológicas que los promueven como potenciales terapéuticos (Moscovici, 2015).

La celulosa bacteriana debido a su alta pureza, biocompatibilidad y versatilidad ofrece una amplia gama de aplicaciones, individualmente o en combinación con diferentes componentes, para proporcionar una organización estructural y matrices flexibles para distintas finalidades. Destaca su uso en tratamientos de reparación de la piel en casos de quemaduras, heridas y úlceras. Se debe a que los compuestos de CB están involucrados en la hemostasia/inflamación, proliferación y remodelación de la cicatrización de la piel, al promover la adhesión, migración, proliferación, diferenciación celular y evitar la infección microbiana, mejora la velocidad y la eficacia de la cicatrización. Además, los compuestos CB pueden inducir la generación de células óseas para reparar defectos del tejido óseo, por lo que tiene potencial tanto en cirugía plástica como en odontología (Pang et al., 2020). La CB puede ser utilizada también en el desarrollo de sistemas de diagnóstico. Como ejemplo, se ha desarrollado un biosensor electroquímico a base de CB para la detección de lactato en sudor artificial (Gomes et al., 2020). Otra de sus aplicaciones es actuar como vehículo adecuado para la inmovilización de enzimas, como las lipasas. En este caso, se demostró que la lipasa inmovilizada tenía una mayor estabilidad y actividad que la lipasa libre, lo que podría ser aplicable a escala industrial (Dikshit y Kim, 2020). En otro estudio, se observó que los andamios compuestos por policaprolactona/gelatina, que contienen nanocristales de celulosa bacteriana, no eran tóxicos y promovían el crecimiento exitoso del axón y el alargamiento de las células de glioblastoma (U251 MG), convirtiéndolos en una plataforma 3D potencial para soportar la proliferación y la adhesión celular (Unal et al., 2020).

El dextrano ha sido utilizado como expansor del volumen plasmático para controlar el shock de las heridas desde 1953 (Amspacher y Curreri, 1953). Actualmente también tienen una aplicación útil en el sistema de administración de fármacos. Como ejemplo, se destaca la formación de hidrogeles conductores biocompatibles basados en dextrano y trómero de anilina electroactivo. Estos forman un sistema inteligente de administración de fármacos con propiedades para responder a un campo eléctrico y obtener una liberación sostenida localizada del fármaco (Qu et al., 2019). El dextrano al tener buena biocompatibilidad y degradabilidad, tienen la capacidad de ser utilizados en ingeniería de tejidos y medicina regenerativa. Un ejemplo de esto es el desarrollo de membranas implantables basadas en dextrano. Se caracterizan por ser transparentes con propiedades fisicoquímicas ajustables y no generar una respuesta adversa del tejido del huésped. Los resultados de la investigación sugieren que el desarrollo de este tipo de formulaciones tiene un gran potencial para ser utilizados como dispositivos implantables en ingeniería de tejidos y medicina regenerativa (Pinho et al., 2020).

El pululano y sus derivados son ampliamente utilizados y están presentes en numerosas aplicaciones biomédicas y farmacéuticas. Entre ellas se encuentra la entrega dirigida de fármacos, puede ser usado como portador potencial de genes y proteínas, actuar como agente formador de películas para el recubrimiento de diversos fármacos, expansor de plasma, estabilizador de proteínas por actuar como chaperones moleculares, mejorar la actividad insulínica y formador de andamios para ingeniería de tejidos. Desempeñan también un papel importante en la vacunación e imágenes médicas (Singh et al., 2017). Algunas investigaciones recientes respecto a estas aplicaciones son la síntesis de derivados catiónicos de pululano, con capacidad de formar complejos con microARN (miARN) impulsados por la interacción electrostática, tiene como fin proporcionar nuevos sistemas seguros de entrega de genes basados en pululano (Moraes et al., 2020). En otro estudio se evaluó la capacidad del gel de pululano para regenerar tejido de la piel en ratas, se vio que la administración tópica del gel de pululano mejoraba significativamente el contenido de colágeno, hexosamina, proteínas y ADN en la herida, por lo que, como consecuencia producía la aceleración de los procesos regenerativos de los tejidos de la piel (Thangavel et al., 2020).

Los heteropolisacáridos de alginato bacteriano, xantano y gelano, tienen su principal aplicación en sistemas de administración de fármacos. Aunque también, pueden ser utilizados en ingeniería de tejidos y la formación de materiales sanitarios como vendas y apósitos para heridas con posibilidad de incorporar diversos fármacos para mejorar el tratamiento. El alginato bacteriano y el xantano tienen capacidad para actuar como agentes espesantes y estabilizadores de suspensiones y emulsiones farmacéuticas. El gelano, sin embargo, a concentraciones bajas de acilo es utilizado en formulaciones de dosificación sólida como agente disgregante para una liberación inmediata del fármaco, mientras que, a alta concentración de acilo, se utiliza como excipiente formador de la matriz en sistemas de liberación sostenida (Moscovici, 2015; Rana y Upadhyay, 2020).

El ácido hialurónico es otro compuesto ampliamente utilizado en el campo de la medicina, farmacia y cosmética. Sus propiedades de retención de agua, lubricante y antiinflamatorias lo hacen un compuesto ideal para ser utilizados en oftalmología, reumatología y dermatología. El HA ha demostrado ser un colirio eficaz por lo que es utilizado en el tratamiento del ojo seco, así como su administración por vía intraarticular. Además, demuestra tener potencial para ser utilizado como una opción en el tratamiento de la osteoporosis. Ha sido investigado y aplicado en dermatología por demostrar su eficacia como relleno dérmico, agente antiarrugas y regenerador de tejido (Huynh y Priefer, 2020). Se ha estudiado también la utilidad del HA en la regeneración ósea por su capacidad de formar andamios para siembra de células y actuar como vehículo de componentes bioactivos. Se pueden fabricar en formas rígidas o coloidales y tienen

potencial para mejorar la osteogénesis y la mineralización (Zhai et al., 2020). En otra investigación se pone de manifiesto el papel del HA como nanoportador de fármacos en terapias tumorales debido a su excelente biocompatibilidad, biodegradabilidad y orientación específica a células tumorales (Zhong et al., 2020).

## 5. CONCLUSIONES

Los avances científicos y tecnológicos han traído consigo la incorporación de los biopolímeros en el área de la salud. El principal desafío al que se enfrentan este tipo de polímeros es a su elevado coste de producción, que ha sido un factor limitante en la aplicabilidad no industrial de varios biopolímeros. Sin embargo, la búsqueda de microorganismos con alto rendimiento de producción, manipulación de las condiciones de fermentación y aplicación de técnicas de ingeniería genética y metabólica, así como la exploración de sustratos baratos y fácilmente obtenibles, han mejorado la posibilidad de producción del biopolímero a escala industrial y, como consecuencia, ha aumentado su utilización en diversos campos.

Los biopolímeros gracias a sus propiedades de biocompatibilidad y biodegradabilidad con las células y tejidos humanos, así como la facilidad para mejorar y adaptar sus propiedades mecánicas ya sea por combinación con otras sustancias o por copolimeración, lo hacen muy atractivos para sus aplicaciones en diversos sectores, especialmente en biomedicina y farmacia.

El uso de biopolímeros permite mejorar los sistemas terapéuticos convencionales en términos de modificación en la liberación de fármaco, localización en su tejido diana y mejora de la biodisponibilidad.

Se ha comprobado su aplicabilidad en ingeniería de tejidos, diagnósticos médicos, productos sanitarios y cosmética.

A pesar de que existen numerosas investigaciones sobre aplicaciones potenciales de los biopolímeros en el ámbito biomédico y farmacéutico, muchas de ellas aún esperan ser desarrolladas a productos farmacéuticos y dispositivos médicos comerciales. En base a los resultados exitosos de numerosos estudios que se han consultado para elaborar esta revisión, dada las propiedades versátiles que proporcionan los biopolímeros, podemos afirmar que las aplicaciones médicas y farmacéuticas de los biopolímeros tienen un amplio futuro por delante con uso próximo a nivel comercial.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez L, Barral L, Bouza R, Farrag Y, Otero-Espinar F, Feijóo-Bandín S, et al. Hydrocortisone loaded poly-(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) nanoparticles for topical ophthalmic administration: Preparation, characterization and evaluation of ophthalmic toxicity. *Int J Pharm* 2019;568:118519.
- Amspacher WHI, Curren AR. Use of Dextran in control of shock resulting from war wounds. *AMA Arch Surg* 1953;66:730-40.
- Andler R, Díaz A. Ingeniería para producir plásticos desde bacterias. *Ingenereare* 27 2013:29-36.
- Armentano I, Bitinis N, Fortunati E, Mattioli S, Rescignano N, Verdejo R, et al. Multifunctional nanostructured PLA materials for packaging and tissue engineering. *Prog Polym Sci* 2013;38:1720-47.
- Bonartsev AP, Yakovlev SG, Filatova E V, Soboleva GM, Makhina TK, Bonartseva GA, et al. Sustained release of the antitumor drug paclitaxel from poly(3-hydroxybutyrate)-based microspheres. *Biochem Suppl Ser B Biomed Chem* 2012;6:42-7.
- Cerning J. Exocellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Lett* 1990;87:113-30.
- Chen GQ, Hajnal I, Wu H, Lv L, Ye J. Engineering Biosynthesis Mechanisms for Diversifying Polyhydroxyalkanoates. *Trends Biotechnol* 2015;33:565-74.
- Constantinides C, Basnett P, Lukasiewicz B, Carnicer R, Swider E, Majid QA, et al. In Vivo Tracking and <sup>1</sup>H/<sup>19</sup>F Magnetic Resonance Imaging of Biodegradable Polyhydroxyalkanoate/Polycaprolactone Blend Scaffolds Seeded with Labeled Cardiac Stem Cells. *ACS Appl Mater Interfaces* 2018;10:25056-68.
- Dikshit PK, Kim BS. Bacterial cellulose production from biodiesel-derived crude glycerol, magnetic functionalization, and its application as carrier for lipase immobilization. *Int J Biol Macromol* 2020;153:902-11.
- Fialho AM, Moreira LM, Granja AT, Popescu AO, Hoffmann K, Sá-Correia I. Occurrence, production, and applications of gellan: Current state and perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol* 2008;79:889-900.
- Freitas F, Alves VD, Reis MAM. Advances in bacterial exopolysaccharides: From production to biotechnological applications. *Trends Biotechnol* 2011;29:388-98.
- Freitas F, Torres CAV, Reis MAM. Engineering aspects of microbial exopolysaccharide production. *Bioresour Technol* 2017;245:1674-83.
- Garcia-Cruz CH, Foggetti U, Da Silva AN. Alginato bacteriano: Aspectos tecnológicos, características e produção. *Quim Nova* 2008;31:1800-6.
- Gomes NO, Carrilho E, Machado SAS, Sgobbi LF. Bacterial cellulose-based



- electrochemical sensing platform: A smart material for miniaturized biosensors. *Electrochim Acta* 2020;349:136341.
- González García Y, Meza Contreras JC, González Reynoso O, Córdova López JA. Síntesis y biodegradación de polihidroxialcanoatos: Plásticos de origen microbiano. *Rev Int Contam Ambient* 2013;29:77-115.
  - Haghghatpanah N, Mirzaee H, Khodaiyan F, Kennedy JF, Aghakhani A, Hosseini SS, et al. Optimization and characterization of pullulan produced by a newly identified strain of *Aureobasidium pullulans*. *Int J Biol Macromol* 2020;152:305-13.
  - Herryman Munilla M, Blanco Carracedo G. Ácido láctico y poliláctico: Situación actual y tendencias. *ICIDCA Inst Cuba Investig los Deriv la Caña Azúcar* 2005;39:49-59.
  - Huang Y, Zhu C, Yang J, Nie Y, Chen C, Sun D. Recent advances in bacterial cellulose. *Cellulose* 2014;21:1-30.
  - Huynh A, Priefer R. Hyaluronic acid applications in ophthalmology, rheumatology, and dermatology. *Carbohydr Res* 2020;489:107950..
  - Israni N, Shivakumar S. Polyhydroxybutyrate: Development and applications as a biodegradable biotextile. Elsevier Inc.; 2019.
  - Jasson P-E, Kenne L, Lindberg B. Structure of the extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris*. *Carbohydr Res* 1967;4:284-91.
  - Keshk SM. Bacterial Cellulose Production and its Industrial Applications. *J Bioprocess Biotech* 2014;04.
  - Khanna S, Srivastava AK. Recent advances in microbial polyhydroxyalkanoates. *Process Biochem* 2005;40:607-19.
  - Kiliay E, Demirbilek M, Türk M, Güven E, Hazer B, Denkbas EB. Preparation and characterization of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) (PHBHHX) based nanoparticles for targeted cancer therapy. *Eur J Pharm Sci* 2011;44:310-20.
  - Kim D, Robyt JF. Production, selection, and characteristics of mutants of *Leuconostoc mesenteroides* B-742 constitutive for dextransucrases. *Enzyme Microb Technol* 1995;17:689-95.
  - Kniewel R, Prieto MA, Revelles O. Biogenesis of medium-chain-length polyhydroxyalkanoates 2017.
  - Koller M. Biodegradable and biocompatible polyhydroxy-alkanoates (PHA): Auspicious microbial macromolecules for pharmaceutical and therapeutic applications. *Molecules* 2018;23.
  - Korde JM, Kandasubramanian B. Microbiologically extracted poly(hydroxyalkanoates) and its amalgams as therapeutic nano-carriers in anti-tumor therapies. *Mater Sci Eng C* 2020;111:110799.
  - Labeaga AV. Trabajo de fin de máster módulo de química inorgánica e ingeniería



química de Polímeros biodegradables. Importancia y potenciales aplicaciones Universidad Nacional de educación a distancia máster universitario en ciencia y tecnología química 2018.

- Lee SY. Plastic bacteria? Progress and prospects for polyhydroxyalkanoate production in bacteria. *Trends Biotechnol* 1996;14:431-8.
- Lemos PC, Viana C, Salgueiro EN, Ramos AM, Crespo JPSG, Reis MAM. Effect of carbon source on the formation of polyhydroxyalkanoates (PHA) by a phosphate-accumulating mixed culture. *Enzyme Microb Technol* 1998;22:662-71.
- Li H, Chang J. Preparation, characterization and in vitro release of gentamicin from PHBV/wollastonite composite microspheres. *J Control Release* 2005;107:463-73.
- Li Z, Lim J. Biodegradable polyhydroxyalkanoates nanocarriers for drug delivery applications. Elsevier Ltd.; 2018.
- Lim J, You M, Li J, Li Z. Emerging bone tissue engineering via Polyhydroxyalkanoate (PHA)-based scaffolds. *Mater Sci Eng C* 2017;79:917-29.
- Liu L, Liu Y, Li J, Du G, Chen J. Microbial production of hyaluronic acid: current state, challenges, and perspectives. *Microb Cell Fact* 2011;10:1-9.
- Luef KP, Stelzer F, Wiesbrock F. Poly(hydroxy alkanoate)s in medical applications. *Chem Biochem Eng Q* 2015;29:287-97.
- Madhuri K V., Vidya Prabhakar K. Microbial exopolysaccharides: Biosynthesis and potential applications. *Orient J Chem* 2014;30:1401-10.
- McHugh DJ. Production, properties and uses of alginates. *Prod Util Prod from Commer Seaweeds FAO Fish Tech Pap* 1987;288:58-115.
- Memari E, Maghsoudi A, Yazdian F, Yousefi M, Mohammadi M. Synthesis of PHB-co-PEI nanoparticles as gene carriers for miR-128-encoding plasmid delivery to U87 glioblastoma cells. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp* 2020;599:124898.
- Michalak M, Kurcok P, Hakkarainen M. Polyhydroxyalkanoate-based drug delivery systems. *Polym Int* 2017;66:617-22.
- Mishra A, Jha B. Microbial Exopolysaccharides. En: Rosenberg E, DeLong EF, Lory S, Stackebrandt E, Thompson F, editores. *Prokaryotes Appl. Bacteriol. Biotechnol.*, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2013, p. 179-92.
- Moraes FC, Antunes JC, Forero Ramirez LM, Aprile P, Franck G, Chauvierre C, et al. Synthesis of cationic quaternized pullulan derivatives for miRNA delivery. *Int J Pharm* 2020;577:119041.
- Moscovici M. Present and future medical applications of microbial exopolysaccharides. *Front Microbiol* 2015;6:1-11.
- Nwodo UU, Green E, Okoh AI. Bacterial exopolysaccharides: Functionality and prospects. *Int J Mol Sci* 2012;13:14002-15.

- Otraj M, Taymouri S, Varshosaz J, Mirian M. Preparation and characterization of dry powder containing sunitinib loaded PHBV nanoparticles for enhanced pulmonary delivery. *J Drug Deliv Sci Technol* 2020;56:101570.
- Özcan E, Öner T. Microbial Production of Extracellular Polysaccharides from Biomass Sources. *Polysaccharides Bioactivity Biotechnol* 2015:162-78.
- Pang M, Huang Y, Meng F, Zhuang Y, Liu H, Du M, et al. Application of bacterial cellulose in skin and bone tissue engineering. *Eur Polym J* 2020;122:109365.
- Patel R., Patel V. Microbial Polysaccharides: Current innovations and Future trends in Medical science. *J Curr Pharma Res* 2011;1:204-9.
- Pattanashetti NA, Heggannavar GB, Kariduraganavar MY. Smart Biopolymers and their Biomedical Applications. *Procedia Manuf* 2017;12:263-79.
- Perdomo Morales R. Ensayo del lisado de amebocitos del Limulus (LAL). *Rev Cuba Farm* 2004.
- Pinho AC, Fonseca AC, Caseiro AR, Pedrosa SS, Amorim I, Branquinho M V., et al. Innovative tailor made dextran based membranes with excellent non-inflammatory response: In vivo assessment. *Mater Sci Eng C* 2020;107:110243.
- Poirier Y, Erard N, Pete JM. Synthesis of Polyhydroxyalkanoate in the Peroxisome of. *Society* 2001;67:5254-60.
- Qu J, Liang Y, Shi M, Guo B, Gao Y, Yin Z. Biocompatible conductive hydrogels based on dextran and aniline trimer as electro-responsive drug delivery system for localized drug release. *Int J Biol Macromol* 2019;140:255-64.
- Rana S, Upadhyay LSB. Microbial exopolysaccharides: Synthesis pathways, types and their commercial applications. *Int J Biol Macromol* 2020;157:577-83.
- Rehm B. Microbial Production of Biopolymers and Polymer Precursors: Applications and Perspectives. Caister Acad Press 2009.
- Rodriguez-Contreras A. Recent advances in the use of polyhydroxyalkanoates in biomedicine. *Bioengineering* 2019;6:1-14.
- Rojas Cortés, Manuel Guillermo; Vallejo Díaz, Bibiana Margarita; Perilla JEL. Biopolymers as materials for developing products in pharmaceutical applications and biomedical uses. *Ing e Investig* 2010;28:57-71.
- Ross P, Mayer R, Benziman M. Cellulose biosynthesis and function in bacteria. *Microbiol Rev* 1991;55:35-58.
- Safaei M, Taran M, Jamshidy L, Imani MM, Mozaffari HR, Sharifi R, et al. Optimum synthesis of polyhydroxybutyrate-Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> bionanocomposite with the highest antibacterial activity against multidrug resistant bacteria. *Int J Biol Macromol* 2020;158.
- Sanderson GR, Ress DA, Mindt L, Melton LD. Covalent structure of the extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris*: Evidence from partial hydrolysis studies

- 1976;46:245-57.
- Santo-Rosa AC. Análisis y simulación numérica del proceso de biodegradación por hidrólisis de biopolímeros en aplicaciones biomédicas 2013.
  - Schmid J, Sieber V, Rehm B. Bacterial exopolysaccharides: Biosynthesis pathways and engineering strategies. *Front Microbiol* 2015;6:1-24.
  - Sendil D, Gürsel I, L. Wise D, Hasirci V. Antibiotic release from biodegradable PHBV microparticles. *J Control Release* 1999;59:207-17.
  - Shishatskaya EI, Goreva A V, Voinova ON, Inzhevatin E V, Khlebopros RG, Volova TG. Evaluation of antitumor activity of rubomycin deposited in absorbable polymeric microparticles. *Bull Exp Biol Med* 2008;145:358-61.
  - Singh RS, Kaur N, Rana V, Kennedy JF. Pullulan: A novel molecule for biomedical applications. *Carbohydr Polym* 2017;171:102-21.
  - Sudesh K, Abe H, Doi Y. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: Biological polyesters. *Prog Polym Sci* 2000;25:1503-55.
  - Sutherland IW. Structure-function relationships in microbial exopolysaccharides. *Biotechnol Adv* 1994;12:393-448.
  - Tarrahi R, Fathi Z, Seydibeyoğlu MÖ, Doustkhah E, Khataee A. Polyhydroxyalkanoates (PHA): From production to nanoarchitecture. *Int J Biol Macromol* 2020;146:596-619.
  - Thangavel P, Vilvanathan SP, Kuttalam I, Lonchin S. Topical administration of pullulan gel accelerates skin tissue regeneration by enhancing collagen synthesis and wound contraction in rats. *Int J Biol Macromol* 2020;149:395-403.
  - Toloue EB, Karbasi S, Salehi H, Rafienia M. Evaluation of Mechanical Properties and Cell Viability of Poly (3-Hydroxybutyrate)-Chitosan/Al(2)O(3) Nanocomposite Scaffold for Cartilage Tissue Engineering. *J Med Signals Sens* 2019;9:111-6.
  - Unal S, Arslan S, Karademir Yilmaz B, Kazan D, Oktar FN, Gunduz O. Glioblastoma cell adhesion properties through bacterial cellulose nanocrystals in polycaprolactone/gelatin electrospun nanofibers. *Carbohydr Polym* 2020;233:115820.
  - Valero-valdivieso MF. Biopolímeros : Avances y perspectivas 2013:171-80.
  - Vettori MHPB, Franchetti SMM, Contiero J. Structural characterization of a new dextran with a low degree of branching produced by *Leuconostoc mesenteroides* FT045B dextranase. *Carbohydr Polym* 2012;88:1440-4.
  - Volkov A V., Muraev AA, Zharkova II, Voinova V V., Akoulina EA, Zhuikov VA, et al. Poly(3-hydroxybutyrate)/hydroxyapatite/alginate scaffolds seeded with mesenchymal stem cells enhance the regeneration of critical-sized bone defect. *Mater Sci Eng C* 2020;114:110991.
  - De Vuyst L, Degeest B. Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Rev* 1999;23:153-77.

- Zhai P, Peng X, Li B, Liu Y, Sun H, Li X. The application of hyaluronic acid in bone regeneration. *Int J Biol Macromol* 2020;151:1224-39.
- Zhang C, Zhao LQ, Dong YF, Zhang XY, Lin J, Chen Z. Folate-mediated poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyoctanoate) nanoparticles for targeting drug delivery. *Eur J Pharm Biopharm* 2010;76:10-6.
- Zheng Y, Chen JC, Ma YM, Chen GQ. Engineering biosynthesis of polyhydroxyalkanoates (PHA) for diversity and cost reduction. *Metab Eng* 2019;58:82-93.
- Zhong W, Pang L, Feng H, Dong H, Wang S, Cong H, et al. Recent advantage of hyaluronic acid for anti-cancer application: a review of “3S” transition approach. *Carbohydr Polym* 2020;238:116204.