

Obtención de nanopartículas orgánicas estabilizadas mediante almidón de amaranto para su potencial uso en terapia fotodinámica Obtaining organic nanoparticles using amaranth starch for potential use in photodynamic therapy

F. Y. Rodríguez-Hernández ^a, R. Leyva López ^b, R. A. Vázquez-García ^c, A. Vargas-Torres ^d, O. J. Hernández-Ortiz ^{c*}

^a Área Académica de Química, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, 42184, Pachuca, Hidalgo, México.

^b Tecnológico Nacional de México/ Instituto Tecnológico Superior de Venustiano Carranza, 73049, Ciudad Lázaro Cárdenas, Puebla, México.

^c Área Académica de Ciencias de la Tierra y Materiales, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, 42184, Pachuca, Hidalgo, México.

^d Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, 43600, Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México.

Resumen

En el presente trabajo, se reporta la obtención de nanopartículas de un derivado de DPP estabilizadas mediante almidón de amaranto con potencial aplicación en terapia fotodinámica (PDT). El almidón se extrajo utilizando una solución alcalina de NaOH al 0.25% (p/v), con un tratamiento previo de secado a 40 °C durante 48 h. Las propiedades fisicoquímicas mostradas en el almidón fueron: humedad de 6.6±0.1%, capacidad de absorción de agua 269.1±15.0%, capacidad de absorción de aceite 195.7±6.1%, claridad de la pasta 83.45±0.89%. La fabricación de nanopartículas se realizó mediante reprecipitación de DPP-BisTPa en una solución saturada del almidón obteniéndose diámetros de partículas alrededor de 57 nm. Se evaluó la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) mediante la degradación de ácido úrico, demostrando que el almidón no interfiere en sus propiedades fotofísicas en las de generación de ROS. Por lo cual el almidón es un potencial biopolímero para encapsular fotosensibilizadores para PDT.

Keywords: Amaranto, fotosensibilizador, terapia fotodinámica, almidón.

Abstract

In the present work, we report the obtention of nanoparticles of a DPP derivative stabilized by amaranth starch with potential application in photodynamic therapy (PDT). The starch was extracted using a 0.25% (w/v) alkaline NaOH solution, with a drying pretreatment at 40 °C for 48 h. The physicochemical properties exhibited by the starch were as follows: moisture content of 6.6±0.1%, water absorption capacity of 269.1±15.0%, oil absorption capacity of 195.7±6.1%, and paste clarity of 83.45±0.89%. The fabrication of nanoparticles was conducted via reprecipitation of DPP-BisTPa in a saturated starch solution, resulting in particle diameters of approximately 57 nm. The generation of reactive oxygen species (ROS) by uric acid degradation was evaluated, demonstrating that starch does not interfere with its photophysical properties in ROS generation. Therefore, starch is a potential biopolymer for encapsulating photosensitizers for PDT.

Keywords: Amaranth, photosensitizer, photodynamic therapy, starch.

1. Introducción

En los últimos años un área de gran interés y auge es el desarrollo de biomateriales que participen en el proceso

terapéutico en el combate de enfermedades tales como las relacionadas con diferentes tipos de cáncer (Yang *et al.*, 2020). También se han desarrollado nuevas técnicas para reducir los efectos secundarios y la invasividad que suelen tener las

*Autor para la correspondencia: javier_hernandez@uaeh.edu.mx

Correo electrónico: ro429529@uaeh.edu.mx (Fernanda Yedith Rodríguez-Hernández), leyva.roma11@gmail.com (Román Leyva-López), rosavg@uaeh.edu.mx (Rosa Angeles Vázquez García), apolonio@uaeh.edu.mx (Apolonio Vargas-Torres) y javier_hernandez@uaeh.edu.mx (Oscar Javier Hernández-Ortiz)

terapias convencionales como la quimio y radioterapia (Wang *et al.*, 2020; Gunaydin *et al.*, 2021). Entre estas novedosas técnicas destaca la terapia fotodinámica que hace uso de un material llamado fotosensibilizador que al ser irradiado por una fuente de luz puede promover en el oxígeno molecular intracelular especies reactivas tales como el oxígeno singlete o la formación de radicales (Niculescu & Grumezescu, 2021). Esta técnica es mínimamente invasiva. El material fotosensibilizador debe exhibir propiedades como baja citotoxicidad, estabilidad, absorción dentro de la ventana de terapia fotodinámica entre 650-800 nm y un tamaño nanométrico que permita su internalización en la célula cancerosa (Rui *et al.*, 2016; Xie *et al.*, 2018). Adicionalmente las nanopartículas pueden funcionalizarse para hacerlas selectivas a las células cancerosas y evitar que células sanas sean afectadas por el proceso terapéutico (Rui *et al.*, 2016).

El uso de nanomateriales es un área de gran auge actualmente en la medicina (Shi *et al.*, 2017). Dentro de los materiales empleados para la fabricación de este tipo de nanopartículas destacan las fabricadas a partir de compuestos orgánicos π -conjugados, algunos de ellos polímeros y algunas otras moléculas menor peso molecular con estructura química bien definidas (Vauthier & Ponchel, 2016; Li *et al.*, 2020; Nikzamir *et al.*, 2021). Si bien, la gran mayoría de este tipo de moléculas exhiben hidrofobicidad, el procesamiento como nanopartículas permite su introducción al medio biológico sin problemas. Sin embargo, la citotoxicidad de algunos compuestos podría limitar su empleo a pesar de exhibir propiedades ópticas adecuadas para ser un fotosensibilizador (Trejo-Santillan *et al.*, 2022). Ante ello, el uso de matrices biocompatibles de encapsulamiento o de estabilización de los nanoagregados (Kim *et al.*, 2007). La opción del uso de biopolímeros que cumplan con dicha función es atractiva para ello, para ello el biopolímero de recubrimiento de la nanopartícula debe no interferir con las propiedades ópticas de absorción ni de generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) del fotosensibilizador (Olaru *et al.*, 2018; Lu *et al.*, 2022; Trejo-Santillan *et al.*, 2022).

Un biopolímero muy interesante es el almidón, polisacárido renovable, ampliamente distribuido en la naturaleza, fácilmente disponible, económico y biodegradable que tiene amplias aplicaciones (Wang *et al.*, 2020). Se utiliza como estabilizador de emulsiones, aglutinante y agente de suspensión en las industrias farmacéuticas (Das *et al.*, 2015). El almidón de amaranto, como almidón no convencional, tiene varias propiedades fisicoquímicas únicas, como un bajo contenido de amilosa y un tamaño de gránulo pequeño (0.5–1.5 μm) (Kong *et al.*, 2009 & Zhu *et al.*, 2017). Los almidones con un tamaño de partícula < 10 μm ofrecen ventajas significativas en las industrias alimentarias y no alimentarias, como facilitar el transporte de nutraceuticos alimenticios naturales y compuestos bioactivos (Rostamabadi *et al.*, 2019 & Campelo *et al.*, 2020), actuando como portadores y mejorando las características fisicoquímicas (Guo *et al.*, 2017).

Por lo mencionado anteriormente, en el siguiente trabajo se propone almidón de amaranto como biopolímero para la estabilización de nanoagregados de un compuesto π -conjugado derivado de dicetopirrolpirrolo, (DPP) del cual se ha reportado su actividad como fotosensibilizador.

2. Metodología

Los reactivos para la síntesis de DPP-BisTPA (ver Figura 1) fueron adquiridos de sigma Aldrich.

2.1. Síntesis

La síntesis de DPP-BisTPA se llevó mediante una reacción de arilación directa conforme a los reportado (Escalona Hernández *et al.*, 2024).

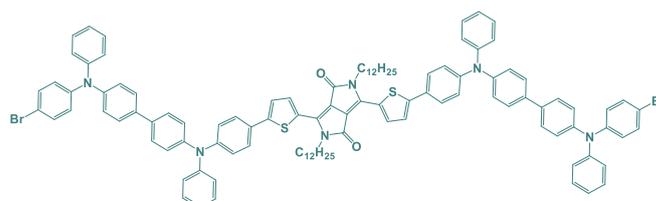


Figura 1: Estructuras moleculares de DPP-BisTPA.

2.2. Extracción de almidón

Se siguió la metodología de Choi *et al.*, (2004) con ligeras modificaciones. Las semillas de amaranto se limpiaron, secan a 40 °C durante 48 h y molieron. Se utilizó una solución de NaOH 0.1 M. La relación harina: solución NaOH (1:5) se dejó en remojo a 4 °C durante 20 h. Posteriormente se pasó la muestra por tamices de tamaños de malla 100, 200 y 300 (BSS), respectivamente. El filtrado recolectado después de la filtración se denominó almidón lechoso obtenido en la primera etapa y el residuo retenido en los tamices se recogió y se molió en húmedo con agua fresca (1:5) durante 2.5 minutos y se volvieron a aplicar los procesos de filtración. El filtrado se centrifugó a 3,000× g durante 15 minutos. Se recuperó el precipitado y se realizaron dos lavados con agua destilada y posteriormente se secó a 40 °C durante 24 h y luego se pasó a través de un tamiz de tamaño de malla 100 para la formación de polvo.

2.3. Propiedades funcionales del almidón

Color. Se utilizó el colorímetro Hunter (Modelo i5 Green Macbeth, EE. UU.) para determinar los valores L*, a* y b*.

Claridad de pasta. Suspensiones al 1% con agua destilada se calentaron en un baño de agua hirviendo durante 1 h con agitación constante y se enfriaron a temperatura ambiente (Sandhu & Singh, 2007). La claridad de la pasta se absorbió como porcentaje de transmitancia a 640 nm frente a agua como blanco con espectrofotómetro UV (Spectronics Genesys 5 UV/Vis, Rochester, NY, EE. UU.).

Amilosa. Se determinó por una modificación de Hoover & Ratnayake (2001) al método propuesto por McGrance *et al.*, (1998). Se disolvieron 20 mg de almidón en 8 mL KOH 1M, agitando vigorosamente por 12 h a 4 °C, posteriormente se neutralizó el pH y se aforó a 25 mL. Se tomó una alícuota de 0.5 mL y se transfirió a un matraz de 25 mL, se adicionaron 10 mL de agua destilada y 0.5 mL de una solución de I₂/KI, se

aforó con agua destilada y se dejó reposar por 15 min antes de leer la absorbancia a 600 nm.

Humedad. Se determinó de acuerdo con el método 44-16 descrito por la AACC. Se agregó 1 g de almidón en charolas de aluminio y se dejaron a 105 ± 2 °C por 4 h.

Absorción de agua y aceite. 1 g de almidón se agitó con 10 mL de agua y/o aceite de soja en un tubo de centrifuga de 15 mL durante 20 min, después se centrifugaron a $4000 \times g$ durante 15 min. A continuación, se eliminó el sobrenadante. El aceite y el agua restantes se decantaron usando papel de filtro. La capacidad de absorción se calculó como el peso del precipitado húmedo dividido por el peso seco de la muestra (g/g).

Poder de hinchamiento (SP) y solubilidad (S). Se determinaron de acuerdo con varios autores (Wang & Wang, 2004; Adebooye & Singh, 2008; Kong et al., 2009). Se añadieron 0.4 g de almidón en agua destilada y luego se calentaron a diferentes temperaturas 60, 70, 80 y 90 °C con agitación suave durante los primeros 15 min para cada temperatura y después se añadieron 2.5 mL de agua destilada. Seguido de un calentamiento durante 30 min. Posteriormente, las muestras se enfriaron en un baño de hielo por 30 min y se centrifugaron a 5000 rpm durante 30 min. En charolas para determinar humedad previamente pesadas, se drenó el sobrenadante y luego se secó a 100 °C en un horno de aire caliente y luego se enfrió en un desecador a temperatura ambiente. SP y S se midieron de la siguiente manera:

$$SP (g/g) = \frac{\text{Peso del sedimento (masa húmeda)}}{\text{Peso inicial de almidón}} \quad (1)$$

$$S (\%) = \frac{\text{Masa de sólidos secos}}{\text{Peso inicial de almidón}} \times 100 \quad (2)$$

2.4. Caracterización óptica de partículas

Se emplearon los espectrofotómetros de UV-Vis modelo Lambda XLS y de fluorescencia modelo L55S, ambos marca Perkin Elmer para la caracterización óptica. Para la determinación de los diámetros de las partículas en suspensión acuosa se empleó la técnica de dispersión de luz láser (DLS) usando un Zetasizer Nano ZS Instrument marca Malvern Panalytical.

2.5. Fabricación de nanopartículas

Se fabricaron las nanopartículas por reprecipitación (Escalona Hernández et al., 2024). Se preparó una solución acuosa saturada del almidón extraído y aislado. Se prepararon soluciones en THF de DPP-BisTPA con una concentración de 1×10^{-4} M. Se inyectaron gota a gota 2 ml de la solución de DPP-BisTPA a 5 mL de la solución acuosa, mientras se sónica. Terminada la adición de la solución del cromóforo se deja sonicar 30 min más y se inyecta nitrógeno para evaporar el THF presente en la suspensión. Una vez libre de THF se pasa por un filtro de 0.2 micras y se afora a 5 mL.

2.6. Prueba de degradación de ácido úrico

Se evaluó la actividad como fotosensibilizador de las nanopartículas empleando la prueba de degradación de ácido úrico monitoreado por UV-vis (Alejandro et al., 2020). Para ello se preparó un sistema con fosfato de sodio, ácido úrico y nanopartículas orgánicas con concentraciones finales de 7.5×10^{-4} M, 3.2×10^{-5} M, 1.7×10^{-5} M respectivamente. El sistema se burbujea con oxígeno grado medicinal durante 30 min, posteriormente se irradió con una lámpara de terapia fotodinámica con longitudes de onda de 630, 665 y 850 nm respectivamente. El sistema se colocó a 10 cm de la lámpara y se monitoreó la banda de absorción del ácido úrico aproximadamente a 290 nm y su disminución con respecto al paso del tiempo.

3. Resultados y discusión

3.1. Propiedades funcionales de almidón de amaranto

Color. Es un parámetro de calidad importante que determina su aplicación final. El valor de luminosidad fue de 78.26 (ver Tabla 1). Valor menor a lo reportado por Villarreal et al., (2012).

Claridad de la pasta. Es una característica de calidad importante y difiere de la fuente botánica del almidón. Fue de 83.45% menor a lo reportado por Shindu et al., (2021). Jacobson et al., (1997) observaron que la red de amilosa era responsable de la transmitancia y durante el almacenamiento la turbidez aumentó debido a la formación de agregados de amilosa de mayor densidad.

Tabla 1: Parámetros de color y claridad de pasta de almidón de amaranto.

Color			Claridad de pasta (%)
L*	a*	b*	
78.26 ± 0.76	1.47 ± 0.12	12.33 ± 0.7	83.4 ± 0.9

Los datos de claridad de la pasta y color fueron el promedio de tres y diez repeticiones \pm desviación estándar, respectivamente.

Humedad. El contenido de humedad fue de 6.6% (ver Tabla 2). Bello-Pérez et al., (1998) reportaron un contenido de humedad ligeramente menor (5.2%) que el valor presentado.

Amilosa. Es un parámetro importante que influye en las propiedades funcionales. Se encontró 3.2% de contenido de amilosa. Resultados comparables con lo informado por Mérida-López et al., (2024). El amaranto, debido a su bajo contenido de amilosa (<5 %), puede clasificarse como un almidón ceroso (Konishi et al., 1985).

Absorción de agua y aceite. La capacidad de absorción de agua y aceite de los almidones de amaranto fueron de 269% y 196%, respectivamente (ver Tabla 2). La capacidad de absorción de agua del gránulo de almidón es la tendencia a absorber agua y el grado de asociación de las moléculas de agua dentro del gránulo de almidón (Leach et al., 1959). El gránulo de almidón de amaranto está compuesto de amilopectina que retiene el agua y el aceite en su interior.

Tabla 2: Propiedades funcionales de almidón de amaranto.

Humedad (%)	Amilosa (%)	Absorción agua (%)	Absorción aceite (%)
6.6±0.1	3.2±0.3	269±15	196±6

Los datos son el promedio de tres repeticiones ± desviación estándar.

Poder de hinchamiento y solubilidad. El poder de hinchamiento (PS) se define como la capacidad de un material para absorber agua a una temperatura particular. El PS de los almidones tuvo un hinchamiento máximo a 90 °C (ver Figura 2). Claver *et al.*, (2010) informaron que la alta temperatura rompe los enlaces intermoleculares que permiten que los lugares de unión de hidrógeno acomoden moléculas de agua adicionales. Los resultados obtenidos para el PS del almidón de amaranto fueron ligeramente inferiores a los informados por Kong *et al.*, (2009). La solubilidad se refiere a la lixiviación de la amilosa, que se difunde desde los gránulos durante el hinchamiento. Los valores de solubilidad aumentaron con el incremento de temperatura. La variación podría atribuirse a las variaciones en la amilosa y las fuerzas de enlace asociativo dentro de los gránulos de almidón (Kaur *et al.*, 2007).

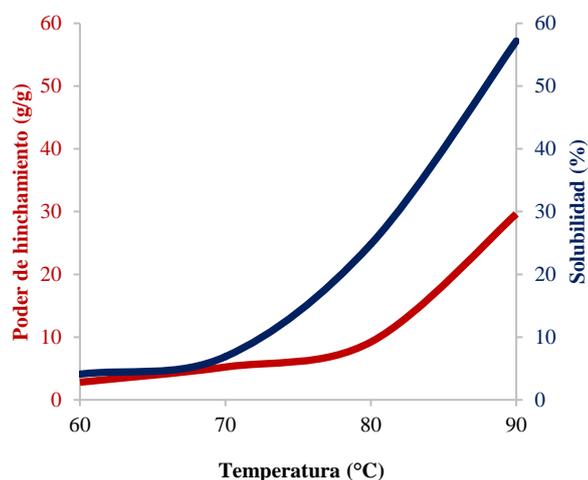


Figura 2: Poder de hinchamiento y solubilidad del almidón de amaranto a diferentes temperaturas.

3.2. Determinación de tamaño de partícula por DLS

La reprecipitación de DPP-BisTPA en la solución acuosa saturada de almidón después de alcanzada su temperatura de gelatinización dio como resultado la obtención de nanopartículas suspendidas en el medio acuoso. Lo cual permite su internalización en las células cancerosas. Para determinar el tamaño de las partículas obtenidas se empleó la técnica de DLS. La Figura 3 muestra las diferentes distribuciones de los diámetros hidrodinámicos en función de intensidad, número y volumen. Como se aprecia el rango de las partículas obtenidas está por debajo de los 100 nm, con un valor promedio de 57 nm. El almidón extraído permite la estabilización y el posible recubrimiento de los nanoagregados de DPP-BisTPA.

El tamaño del diámetro hidrodinámico es un gran resultado, basado en de la obtención de nanopartículas de almidón entre 82-92 nm (Putro *et al.*, 2020) siendo de los tamaños más pequeños. En la mayoría de los trabajos de reprecipitación de

partículas de almidón se reportan tamaños por arriba de los 100 nm (Morán *et al.*, 2021), como el trabajo de Mahmoudi Najafi *et al.* (2016) en el cual se encuentran entre 221-324 nm. Es claro que un desafío es la reducción del tamaño de las partículas. Una diferencia sustancial es que el método de reprecipitación en dichos trabajos se enfoca en la reprecipitación del almidón, para su posterior vaciamiento y carga del compuesto de interés. En nuestro trabajo, la reprecipitación gira alrededor del compuesto fotosensibilizador.

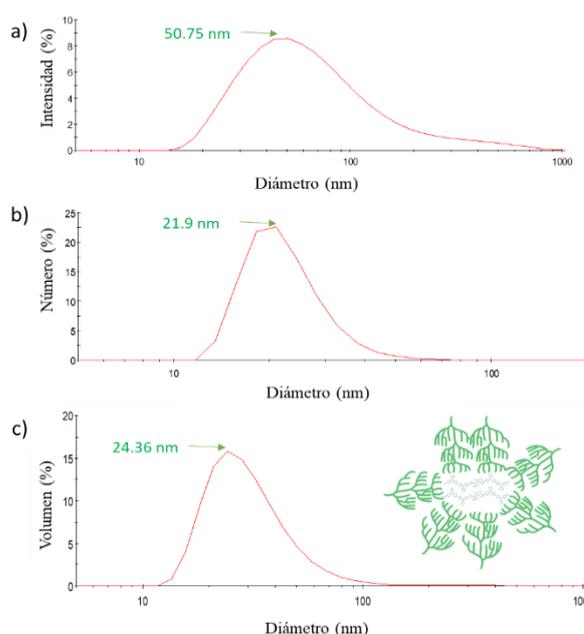


Figura 3: Distribución de diámetros aproximados de partículas determinadas por DLS en función de a) intensidad y b) número; c) distribución de potencial zeta de las partículas de BQ1-Almidón.

3.3. Caracterización óptica

Se caracterizó mediante espectroscopia UV-Vis la solución del compuesto DPP-BisTPA y la suspensión acuosa obtenida (ver Figura 4). Las nanopartículas orgánicas exhiben una longitud de onda más desplazada hacia el rojo alrededor de 650 nm, las transiciones electrónicas de la región entre 500 nm y 750 nm se incrementan en comparación de las que exhibe la solución de THF. Las interacciones en estado sólido provocan un ligero desplazamiento batocrómico, gracias a esto parte del espectro de absorción alcanza a entrar en la ventana fototerapéutica. Cabe mencionar que la presencia de almidón no genera transiciones electrónicas que puedan interferir en la región de absorción de los nanoagregados.

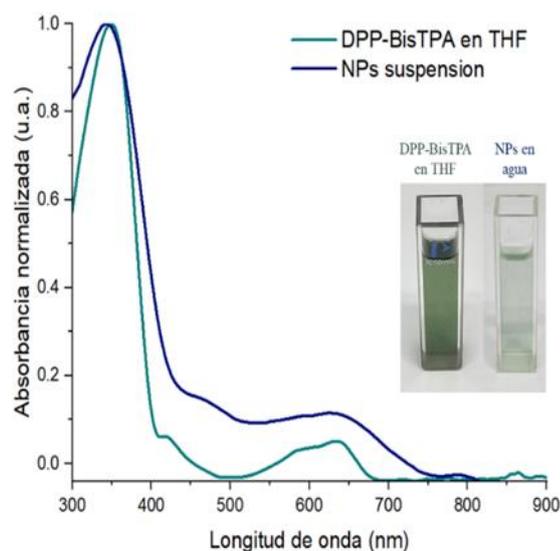


Figura 4: Espectros de absorción UV-Vis de la DPP-BisTPA en THF y de las nanopartículas estabilizadas con almidón.

3.4. Generación de especies reactivas de oxígeno

Para evaluar la capacidad de generación de especies reactivas de oxígeno se realizó una prueba de degradación de ácido úrico. Se empleó como estándar el azul de metileno, cuyo rendimiento de generación de ROS esta reportado en solución acuosa. Como se puede observar en la Figura 5a, la banda de absorción de 290 nm disminuye conforme el paso del tiempo de irradiación con la lampara de terapia fotodinámica. En la Figura 5b se ve el proceso de degradación mostrando el porcentaje de degradación del ácido úrico con respecto al tiempo, con estos datos se estimó la constante cinética de primer orden, el área bajo la curva del fotosensibilizador y del estándar para estimar el rendimiento de generación de ROS ($\Phi\Delta$), en la Tabla 3 se presentan los valores correspondientes a las nanopartículas obtenidas.

Tabla 3: Constante cinética de primer orden y eficiencia de generación de ROS obtenida para las NPs de DPP-BisTPA/Almidón

Fotosensibilizador	K1	$\Phi\Delta$
NPs DPP-BisTPA / almidón	0.0012	0.05

Este valor de 5% es consistente con el reportado para este fotosensibilizador de 4% (Escalona Hernández *et al.*, 2024). Esto indica que el almidón no interfiere con la capacidad de generación de oxígeno singlete del compuesto. El almidón al ser extraído le confiere biocompatibilidad al sistema coloidal, haciendo viable su evaluación *in vitro*.

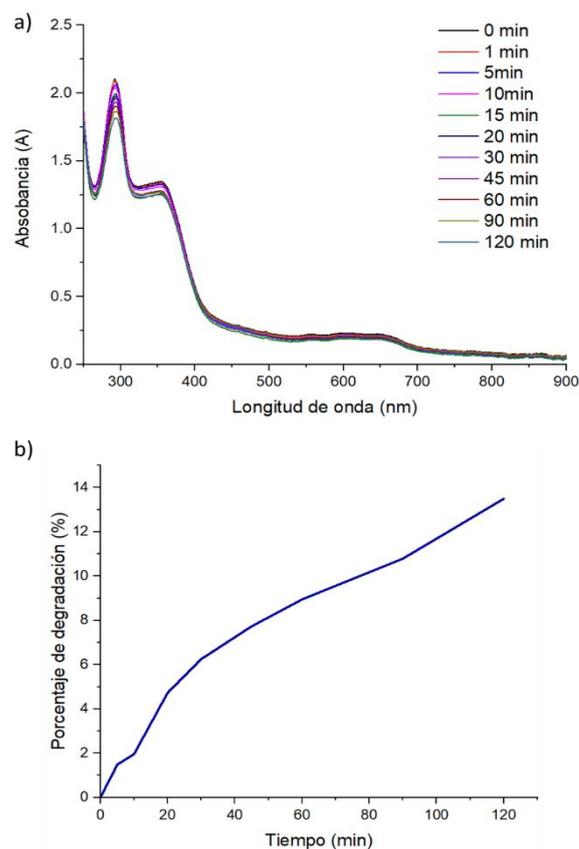


Figura 5: Degradación de ácido úrico a) espectros de absorción del sistema AU/FS en función del tiempo de irradiación, b) cinética de degradación del ácido úrico.

El almidón, como biopolímero, contribuye a incrementar la biodisponibilidad y estabilidad de los nanoagregados del fotosensibilizador π -conjugado DPP-BisTPA, protegiéndolo de condiciones ambientales adversas (como altas temperaturas y variaciones de pH) durante su transporte hacia órganos específicos en el cuerpo humano. Como polisacárido, el almidón ha demostrado ser un portador eficaz en aplicaciones alimentarias y nutraceuticas, gracias a sus propiedades de funcionalidad, seguridad y biocompatibilidad (Rostamabadi *et al.*, 2019). En el ámbito de la terapia fotodinámica, el efecto terapéutico del fotosensibilizador no depende de su liberación, sino de su capacidad para generar especies reactivas de oxígeno mediante la interacción con la luz de activación y el oxígeno celular (*vide supra*). Sin embargo, el almidón debe también proteger al fotosensibilizador de posibles reacciones químicas no deseadas y mejorar su biodisponibilidad al incrementar la relación superficie-volumen, lo que facilita la adhesión a tejidos mucosos (en el caso específico de polisacáridos como agente encapsulante) y permitiría un tratamiento localizado. Además, el tamaño nanométrico de las partículas promueve su penetración en las paredes celulares, el ingreso selectivo en células cancerosas y la inducción de apoptosis. Por lo anterior, estos resultados son alentadores en el desarrollo de nuevos fotosensibilizadores para terapias fotodinámicas en la lucha contra el cáncer, el siguiente paso es hacer la evaluación preclínica *in vitro* e *in vivo*, con el fin de confirmar los beneficios del almidón en las nanopartículas de los fotosensibilizadores.

4. Conclusiones

Se obtuvieron de manera exitosa nanopartículas de un compuesto π -conjugado empleando el almidón extraído de amaranto como agente estabilizante. El almidón no interfiere con las propiedades ópticas de los nanoagregados ni con la capacidad de generación de especies reactivas de oxígeno para la posible inducción de la apoptosis celular. Es sobresaliente el tamaño de las partículas obtenidas, muy por debajo de lo reportado por la media de los trabajos en la literatura. Este tamaño asegura la posible internalización de las partículas en las células cancerosas. El uso de este biopolímero confiere a la partícula del fotosensibilizador una biocompatibilidad mayor, por lo cual es de gran interés evaluar diferentes moléculas con actividad fotosensibilizadora, empleando como estabilizador o agente encapsulante al almidón. Para su posterior evaluación *in vitro* e *in vivo* en el tratamiento de cáncer de diferentes tipos.

Agradecimientos

Los autores agradecen a los laboratorios de Polímeros II en Ciudad del Conocimiento y al Laboratorio de Microbiología del Rancho Universitario por las facilidades para la realización del proyecto.

Referencias

- Adebooye, O. C., & Singh, V. (2008). Physico-chemical properties of the flours and starches of two cowpea varieties (Vigna unguiculata-lata (L.) Walp). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 92–100. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.06.003>
- Bello-Pérez, L. A., Colonna, P., Roger, P., & Paredes-López, O. (1998). Macromolecular features of amaranth starch. *Cereal chemistry*, 75(4), 395–402. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.1998.75.4.395>
- Campelo, P. H., Sant'Ana, A. S., & Clerici, M. T. P. S. (2020). Starch nanoparticles: production methods, structure, and properties for food applications. *Current Opinion in Food Science*, 33, 136–140. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.04.007>
- Claver, I. P., Zhang, H., Li, Q., Kexue, Z., & Zhou, H. (2010). Optimization of ultrasonic extraction of polysaccharides from Chinese malted sorghum using response surface methodology. *Pakistan Journal of nutrition*, 9(4), 336–342. <https://doi.org/10.3923/pjn.2010.336.342>
- Das, D., Jha, S., & Kumar, K. J. (2015). Isolation and release characteristics of starch from the rhizome of Indian Palo. *International journal of biological macromolecules*, 72, 341–346. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.08.009>
- Escalona Hernández, V., Padilla-Martínez, I. L., García, R. A. V., Rodríguez, M. A. V., & Hernández-Ortiz, O. J. (2024). Synthesis, and evaluation of photophysical properties of a potential DPP-derived photosensitizer for photodynamic therapy with D-A-D architecture. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 35(1), 11. <https://doi.org/10.1007/s10856-024-06776-0>
- Gunaydin, G., Gedik, M. E., & Ayan, S. (2021). Photodynamic Therapy for the Treatment and Diagnosis of Cancer—A Review of the Current Clinical Status. In *Frontiers in Chemistry (Vol. 9)*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.686303>
- Hoover, R., & Ratnayake, W. S. (2001). Determination of total amylose content of starch. *Current protocols in food analytical chemistry*, (1), E2–3. <https://doi.org/10.1002/0471142913.fae0203s00>
- Jacobson MR, Obanni M, Bemiller JN (1997) Retrogradation of starches from different botanical sources. *Cereal Chem* 74(5):511–518. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.1997.74.5.511>
- Kaur, A., Singh, N., Ezekiel, R., & Guraya, S. H. (2007). Physicochemical, thermal and pasting properties of starches separated from potato cultivars grown at different locations. *Food Chemistry*, 101, 643–651. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.01.054>
- Kim, S., Ohulchansky, T. Y., Pudavar, H. E., Pandey, R. K., & Prasad, P. N. (2007). Organically modified silica nanoparticle co-encapsulating photosensitizing drug & aggregation-enhanced 2-photon absorbing fluorescent dye aggregate for TPA two-photon photodynamic therapy. *Journal of the American Chemical Society*, 129(9), 2669–2675. <https://doi.org/10.1021/ja0680257>
- Kong, X., Bao, J., & Corke, H. (2009). Physical properties of Amaranthus starch. *Food Chemistry*, 113(2), 371–376. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.028>
- Konishi, Y., Nojima, H., Okuno, K., Asaoka, M., & Fuwa, H. (1985). Characterization of starch granules from waxy, nonwaxy, and hybrid seeds of Amaranthus hypochondriacus L. *Agricultural and biological chemistry*, 49(7), 1965–1971. <https://doi.org/10.1080/00021369.1985.10867018>
- Leach, H. W., McCowen, L. D., & Schoch, T. J. (1959). Structure of the starch granule. I. Swelling and solubility patterns of various starches. *Cereal Chemistry*, 36, 534–544.
- Li, T., Hu, X., Fan, Q., Chen, Z., Zheng, Z., & Zhang, R. (2020). The novel DPP-BDT nanoparticles as efficient photoacoustic imaging and positron emission tomography agents in living mice. *International Journal of Nanomedicine*, 15, 5017–5026. <https://doi.org/10.2147/IJN.S238679>
- Lu, B., Zhang, Z., Ji, Y., Zhou, S., Jia, B., Zhang, Y., Wang, J., Ding, Y., Wang, Y., Yao, Y., & Zhan, X. (2022). Icing on the cake: combining a dual PEG-functionalized pillararene and an A-D-A small molecule photosensitizer for multimodal phototherapy. *Science China Chemistry*, 65(6), 1134–1141. <https://doi.org/10.1007/s11426-022-1232-9>
- McGrance, S. J., Cornell, H. J., & Rix, C. J. (1998). A simple and rapid colorimetric method for the determination of amylose in starch products. *Starch-Stärke*, 50(4), 158–163. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-379X\(199804\)50:4<158](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-379X(199804)50:4<158)
- Mérida-López, J., Rojas, C. C., Bergenstahl, B., & Purhagen, J. (2024). Functional properties of starch cultivars of two Andean grains grown in Bolivia: Amaranth (*Amaranthus caudatus*) and canihua (*Chenopodium pallidicaule*). *Heliyon*, 10(15). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e35140>
- Niculescu, A. G., & Grumezescu, A. M. (2021). Photodynamic therapy—an up-to-date review. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(8), 1–18. <https://doi.org/10.3390/app11083626>
- Nikzamid, M., Hanifehpour, Y., Akbarzadeh, A., & Panahi, Y. (2021). Applications of Dendrimers in Nanomedicine and Drug Delivery: A Review. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 31(6), 2246–2261. <https://doi.org/10.1007/s10904-021-01925-2>
- Olaru, A. M., Marin, L., Morariu, S., Pricope, G., Pinteala, M., & Tartau-Mititelu, L. (2018). Biocompatible chitosan based hydrogels for potential application in local tumour therapy. *Carbohydrate Polymers*, 179(September 2017), 59–70. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.09.066>
- Rostamabadi, H., Falsafi, S. R., & Jafari, S. M. (2019). Starch-based nanocarriers as cutting-edge natural cargos for nutraceutical delivery. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 397–415. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.04.004>
- Rui, L. L., Cao, H. L., Xue, Y. D., Liu, L. C., Xu, L., Gao, Y., & Zhang, W. A. (2016). Functional organic nanoparticles for photodynamic therapy. *Chinese Chemical Letters*, 27(8), 1412–1420. <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2016.07.011>
- Sandhu, K. S., & Singh, N. (2007). Some properties of corn starches II. Physicochemical, gelatinization, retrogradation, pasting and gel textural properties. *Food Chemistry*, 101, 1499–1507. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.01.060>
- Shi, J., Kantoff, P. W., Wooster, R., & Farokhzad, O. C. (2017). Cancer nanomedicine: Progress, challenges and opportunities. *Nature Reviews Cancer*, 17(1), 20–37. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.108>
- Sindhu, R., Devi, A., & Khatkar, B. S. (2021). Morphology, structure and functionality of acetylated, oxidized and heat moisture treated amaranth starches. *Food Hydrocolloids*, 118, 106800. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106800>
- Trejo-Santillan, I., Mendoza-Guevara, C. C., Ramos-Godinez, M. D. P., & Ramon-Gallegos, E. (2022). Synthesis of Chitosan Nanoparticles Conjugated with Protoporphyrin IX and Vitamin B9 for Their Application in Photodynamic Therapy. *IEEE Transactions on Nanobioscience*, 21(4), 490–495. <https://doi.org/10.1109/TNB.2021.3137276>
- Vauthier, C., & Ponchel, G. (2016). Polymer Nanoparticles for Nanomedicines. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-41421-8>
- Villarreal, M. E., Ribotta, P. D., & Iturriaga, L. B. (2012). Comparing methods for extracting Amaranthus starch and the properties of the isolated starches. *LWT – Food Science and Technology*, 51, 441–447. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.11.009>

- Wang, L., & Wang, Y. J. (2004). Rice starch isolation by neutral protease and high intensity ultrasound. *Journal of Cereal Science*, 39, 291–296. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2003.11.002>
- Wang, X., Huang, L., Zhang, C., Deng, Y., Xie, P., Liu, L., & Cheng, J. (2020). Research advances in chemical modifications of starch for hydrophobicity and its applications: A review. *Carbohydrate polymers*, 240, 116292. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116292>
- Wang, X., Zhong, X., Liu, Z., & Cheng, L. (2020). Recent progress of chemodynamic therapy-induced combination cancer therapy. In *Nano Today* (Vol. 35). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2020.100946>
- Xie, Z., Yu, M., Shuai, X., Zheng, X., Wang, Y., Liu, S., He, H., & Zheng, M. (2018). Diketopyrrolopyrrole-based carbon dots for photodynamic therapy. *Nanoscale*, 10(23), 10991–10998. <https://doi.org/10.1039/c8nr02643b>
- Yang, F., Shi, K., Jia, Y. peng, Hao, Y., Peng, J. rong, & Qian, Z. yong. (2020). Advanced biomaterials for cancer immunotherapy. In *Acta Pharmacologica Sinica* (Vol. 41, Issue 7, pp. 911–927). Springer Nature. <https://doi.org/10.1038/s41401-020-0372-z>
- Zhu, F. (2017). Structures, physicochemical properties, and applications of amaranth starch. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(2), 313-325. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.862784>

□ □