

## Trabajos

***Nanoplataformas sintéticas, Bio-conjugadas e inmunológicas para diagnóstico y desarrollo de nuevos tratamientos de enfermedades infecciosas.***

***Bioconjugated, Immunological and Synthetic Nanoplatforms for diagnoses and development of new treatments for infectious diseases.***

***Por Luna R. Gomez Palacios [1], Sofia Martinez [3], Cecilia Tettamanti [3], Daniela Quinteros[3], Guillermo Bracamonte [1], [2]***

***[1]. Instituto de Investigaciones en Físicoquímica de Córdoba (INFIQC). Centro Laser del INFIQC, y Departamento de Química Orgánica del INFIQC, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. Ciudad Universitaria, 5000 Córdoba, Argentina.***

***[2]. Departement de chimieet Centre d'optique, photonique et laser (COPL), UniversitéLaval, Québec (QC) G1V 0A6, Canada.***

***[3]. Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. Ciudad Universitaria, 5000 Córdoba, Argentina***

### Indice

Resumen

1. Introducción
2. Estrategias para el diseño de vacunas y nuevos tratamientos en base al control desde moléculas hacia la Nano-escala
3. Importancia de la Bioconjugación en la Nano-escala.
4. Conclusiones y perspectivas Futuras

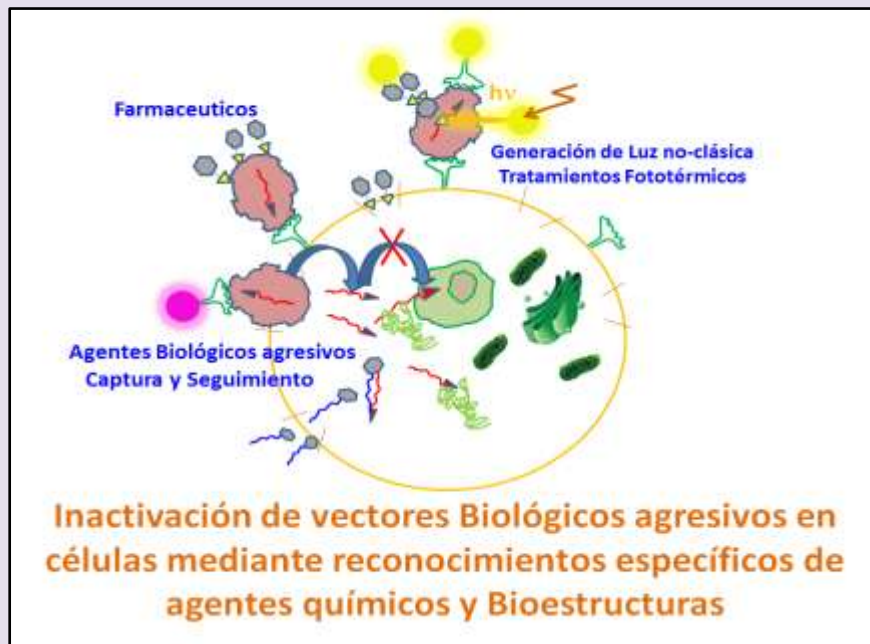
## Resumen

En esta comunicación se ha abordado diferentes temas implicados en el desarrollo de nuevos tratamientos y vacunas aplicadas a patologías desarrolladas en el ser humano tal como las producidas por virus. En este contexto se han presentado y discutido diferentes estrategias utilizadas, las cuales contemplan desde el diseño de moléculas pequeñas hacia mayores estructuras químicas y nuevas Nano-estructuras. En particular se ha discutido estudios para el tratamiento del Corona Virus; los cuales permitieron el planteo de los principales mecanismos de acción de fármacos y Nanopartículas con funcionalidades específicas. En esta dirección se ha destacado la importancia de la Bioconjugación de moléculas y variables Nano-arquitecturas para la incorporación dentro de células y desarrollo de vacunas. Además, se ha tratado sobre el desarrollo de tratamientos combinados en base a diferentes estrategias aplicadas. En este mismo sentido, finalmente se han presentados diferentes estudios y desarrollos actualmente en progreso, relacionados con el diseño de Nanoarquitecturas funcionales o Multifuncionales, con potencial implicación en tratamientos a venir.

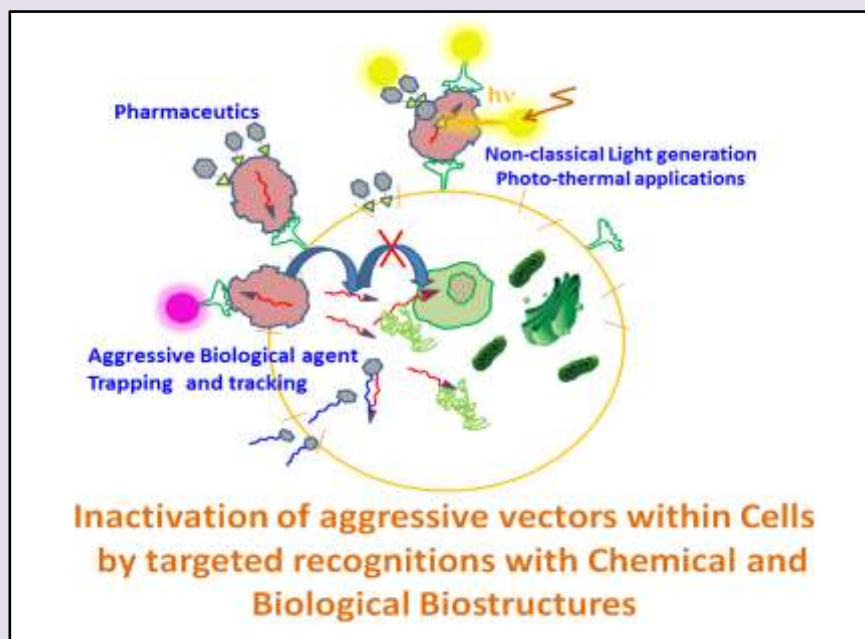
## Abstract

In this communication it was addressed different themes and topics implicated in the development of new treatments and vaccines applied to pathologies developed in humans such as by Virus. In this context, it was presented and discussed different strategies used, which were contemplated from the design of small molecules, towards higher sized chemical structures and new Nanoarchitectures. In particular, it was discussed varied studies developed for the Corona Virus treatment; which afforded to the main mechanisms of action of pharmacophores and targeted functional Nanoparticles. In this direction, it was highlighted the importance of Bioconjugation of molecules and variable Nanoarchitectures for their incorporation within cells and for the development of vaccines. Moreover, it was discussed about the development of combinatory treatments based on different applied strategies. In similar manner, finally it was presented different studies and developments actually in progress related with the design of functional and Multifunctional Nanoarchitectures with potential implications in future treatments.

Resumen Gráfico



Graphical Abstract



## 1. Introducción

La Nano-, y Biotecnología puede generar nuevas alternativas en diferentes aspectos para el desarrollo de nuevas terapias y generación de vacunas. En este sentido existen muchos desarrollos a ser realizados desde el diseño de moléculas pequeñas, hacia mayores dimensiones moleculares, contemplando Biomoléculas tales como péptidos, proteínas, oligonucleótidos naturales y sintético. Estas nuevas estructuras deben ser desarrolladas tanto como en condiciones completamente controladas al igual que en sistemas In Vitro e In Vivo; para luego pasar hacia otra escala de Bio-ensayos en búsqueda de realizar la evaluación del efecto deseado.

Estas apreciaciones de manera muy general intentan mostrar el complejo y multifactorial desafío a desarrollar. Sin embargo, es importante destacar que actualmente existen diferentes estrategias para el tratamiento de patologías producidas por agentes infecciosos Bioestructuras tales como virus. Es así que actualmente debido a la aparición del “Corona Virus” se han replanteado diferentes necesidades en variados aspectos para dar tratamiento al conocido SARS CoV-2. Por ejemplo, se debe considerar desde la interacción con los receptores de la proteína específica incorporada en el Corona Virus implicada en la adhesión en la membrana celular, y posterior introducción hacia el citoplasma, en donde se producen nuevas interacciones. En este sentido es necesario nuevos estudios relacionados en la detección de los mecanismos involucrados en cada una de las etapas mencionadas. De esta manera, se podría inferir más acerca de su proliferación tanto “In Vitro” e “In Vivo” en tiempo real. Así, nuevos fármacos o alternativos tratamientos combinatorios de diferentes drogas y sus respectivas estrategias podrían plantearse<sup>1</sup> en base a las etapas en el desarrollo de la enfermedad. Para comenzar el conocimiento de las principales estructuras químicas involucradas en la interacción, tal como la proteína específica del Corona Virus fue fundamental para el planteo de soluciones en la detección y tratamiento. Es allí, en donde se puede mencionar la importancia de la composición de amino-ácidos en base a la mutación del Virus, la cual produce modificaciones en las regiones alifáticas hidrofóbicas, estructuras aromáticas neutras, grupos sulfuros y tioles, grupos carboxilos e hidroxilos con variables propiedades hidrofílicas. Así, luego de la internalización, interacciones extras se desarrollan las cuales están presentes hasta la misma replicación del RNA. De esta manera en cada una de las etapas, surgen nuevas oportunidades para proponer nuevas estrategias desde un punto de vista de la Nanotecnología, Nanomedicina y Biotecnología. En este contexto, el desarrollo de nuevas vacunas y nuevos tratamientos alternativos cobran importancia<sup>2</sup>.

## 2. Estrategias para el diseño de vacunas y nuevos tratamientos en base al control de moléculas hacia la Nano-escala

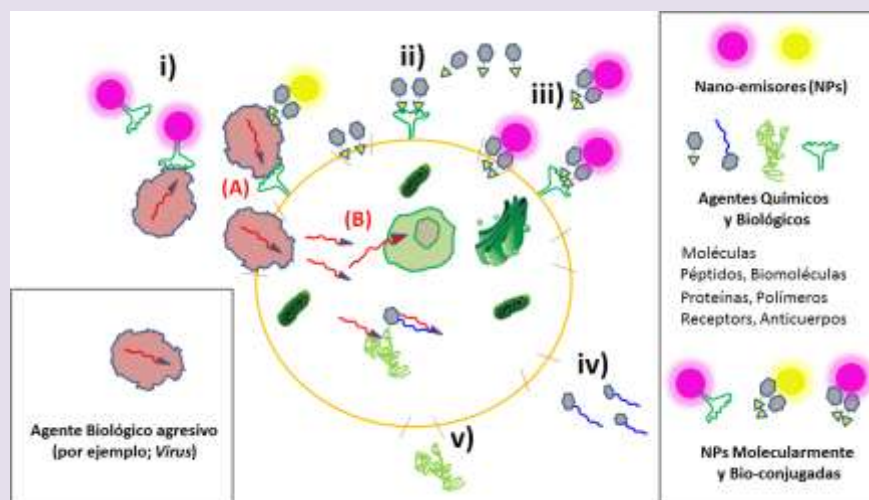
En este sentido se puede mencionar diferentes estrategias evaluadas para el desarrollo de nuevas vacunas y tratamientos de Coronavirus en diferentes niveles de avance de la enfermedad. Por ejemplo; i) utilización de anticuerpos con variados objetivos tales como desde la detección, separación, y liberación controlada de Fármacos; ii) administración de antígenos; iii) bloqueadores de receptores moleculares; iv) uso de partículas del tipo Virus no infectivos o inocuos; v) péptidos y proteínas con aplicaciones tales como agentes de Bioconjugación y desarrollo de vacunas; vi) estrategias basadas en material genético tal como vacunas en base a ácidos nucleicos; vii) desarrollo de vectores virales con respuestas inmunes como vacunas; y viii) otras estrategias combinatorias<sup>3</sup>. En todas las anteriores posibilidades igualmente deben tenerse en cuenta las variaciones intrínsecas de cada uno de los medios biológicos involucrados. En este contexto se debe resaltar el tiempo implementado en la generación de conocimiento

fundamental para luego poder desarrollar un estudio aplicado tales como los mencionados “In Vitro” e “In Vivo” de manera de comprender diferentes mecanismos involucrados y eficiencias de vacunas y tratamientos del COVID-19<sup>4</sup>.

En esta dirección, tal como para los Corona Virus, se encuentra un enorme trabajo de Investigación y desarrollo de Vacunas y nuevos tratamientos en diferentes fases de su aplicación. Se puede mencionar la evaluación de respuestas de anticuerpos neutralizantes mediante el diseño apropiado de estructuras de proteínas<sup>5</sup>; y RNA codificando el antígeno del S-2P de la proteína específica del Corona Virus<sup>6</sup>. Además, la posibilidad de la utilización de agentes químicos, nuevos Nanomateriales, y mezclas sintéticas de coadyuvantes<sup>7</sup> y aplicación de tratamientos combinados son tenidos también en cuenta<sup>8</sup>.

Aun así, luego del desarrollo de una vacuna es necesaria la evaluación de la misma en diferentes poblaciones debido a posibles rechazos en base a variaciones biológicas entre las mismas<sup>9</sup>. Y en esa dirección, aun si hay unas pocas vacunas desarrolladas ya aceptadas e incorporadas en el mercado, continua en discusión acerca de nuevas aplicaciones y nuevas estrategias para efectos más eficientes<sup>10, 11</sup>. Es por ello que durante el transcurso de la evolución biológica de la enfermedad permanece el desafío y necesidad de la evaluación continua de las estrategias propuestas al igual que la contemplación de modificaciones o mutaciones en el mecanismo de la enfermedad<sup>12-14</sup>.

Se pueden plantear nuevos tratamientos emulando mecanismos de acción ya conocidos al igual que proponer otros. En base a este conocimiento y mediante un acompañamiento de desarrollo y síntesis de nuevos agentes químicos, Nanoplateformas funcionales, y agentes Biológicos se puede plantear nuevas estrategias de acción controladas y direccionadas específicamente. Además; es importante mencionar que con el advenimiento de la Biotecnología nuevas estrategias basadas en sistemas Nano-Bio- híbridos podrían evaluarse para la incorporación en células (Figura 1).



**Figura 1.** Mecanismos de acción de un potencial agente Biológico en una Célula o Micro-organismo Uni-celular; y aplicación de diferentes tratamientos en base a Moléculas, Biomoléculas, y Nanoplateformas Bio-conjugadas. Situación (A) contempla mecanismos superficiales y (B) dentro de la Célula. El agente Biológico contiene cargado vectores tóxicos (vector representado con línea curva roja y flecha azul). Los mecanismos de acción de fármacos, agentes Biológicos, y Nano-fármacos corresponden mediante la utilización de i) antígenos y anticuerpos unidos a Moléculas Orgánica Laser, y Nanopartículas Luminiscentes, ii) Moléculas con interacciones específicas, iii) Nanopartículas modificadas con Moléculas con interacciones específicas, iv) Biomoléculas sintéticas y naturales, v) Péptidos y proteínas. Reproducción by Bracamonte at al.@2021.



En las diferentes vías de incorporación de una determinada Bio-estructura patológica tal como los Virus, existen diferentes interacciones específicas las cuales deben ser consideradas para el diseño de un nuevo tratamiento o vacuna. Las mencionadas deben ser consideradas para dirigir el tratamiento de una manera específica. En este sentido se puede mencionar la Inmunomodulación contemplada para el tratamiento guiado por la Inmuno-patología de la infección del SARS-CoV-2<sup>15</sup>. De manera similar, se debe tener en cuenta para la aplicación de otras estrategias tal como para el bloqueo de sitios específicos implicados en el desarrollo de una infección<sup>16</sup>. De esta manera se puede dirigir el desarrollo e Investigación hacia el diseño y síntesis de nuevas estructuras químicas, Biomoléculas y Nanoarquitecturas. Es así que la Biodetección, diagnóstico y aplicación de nuevos tratamientos específicos puede ser considerado como una actividad constante y perenne de desarrollo e Investigación aplicada; en donde las Ciencias fundamental y Aplicada están muy cercanas y superpuestas.

### 3. Importancia de la Bioconjugación en la Nano-escala.

La bioconjugación implica la unión de una molécula a otra, generalmente a través de un enlace covalente, para crear un complejo formado por ambas moléculas unidas entre sí. En la mayoría de los casos, al menos una de las moléculas es de origen biológico o es un fragmento o derivado de una biomolécula.

La importancia de la bioconjugación radica en la capacidad de producir un material híbrido que reúne las propiedades y la funcionalidad únicas de ambos materiales<sup>17, 18</sup>. Asimismo, las excelentes propiedades que poseen las nanopartículas pueden potenciarse mediante la conjugación con biomoléculas, lo que permite el aprovechamiento de la especificidad natural del componente biológico, mientras que la NP proporciona una mayor estabilidad y con frecuencia mejora las propiedades biológicas de la biomolécula en comparación con su estado nativo. Debido a la amplia variedad de metodologías utilizadas para la conjugación de biomoléculas existen innumerables aplicaciones de los bioconjugados obtenidos<sup>19</sup>.

En los últimos años, tras el avance de las nuevas tecnologías, existe un creciente interés en el desarrollo de nanomateriales para aplicaciones biológicas. En este sentido, la nanomedicina se ha centrado en el desarrollo de vacunas, dispositivos de diagnóstico, sistemas de imágenes ultrafinas, dispositivos médicos invasivos y no invasivos, especialmente para el diagnóstico temprano para la detección y el tratamiento de numerosas enfermedades<sup>20</sup>.

Varios tipos de nanopartículas se han desarrollado para potenciales aplicaciones clínicas y biomédicas; como por ejemplo, nanopartículas poliméricas, nanotubos de carbono, sílice, nanopartículas de plata, nanopartículas de oro, puntos cuánticos, nanopartículas magnéticas, etc. Estas estructuras son frecuentemente utilizadas como plataformas para sistemas de administración de fármacos, ya que pueden bioconjugarse con fármacos y/o biomoléculas con el objetivo de mejorar la biocompatibilidad, la biodisponibilidad y la farmacocinética<sup>21</sup>.

Algunas vacunas conjugadas con proteínas ya han sido aprobadas para la inmunización masiva, como es el caso de las vacunas conjugadas contra la fiebre tifoidea (Typbar-TCV® y PedaTyphTM) que consisten en la bioconjugación de antígenos del polisacárido Vi y proteínas del toxoide tetánico<sup>22</sup>.

Una vacuna basada en bioconjugados ha entrado en ensayos clínicos de fase II en Cuba, en la cual Valdes-Balbin y col. conjugaron SARS-CoV-2 RBD (dominio de unión al receptor) con toxoide tetánico. Este bioconjugado indujo una potente respuesta inmune en animales de laboratorio<sup>23</sup>.

En este sentido, se espera que con los avances en nanotecnología, y a través del desarrollo de nano-vacunas conjugadas se logre una mayor eficacia y seguridad, respecto a las vacunas actuales, en la prevención y tratamiento de patologías.

#### 4. Conclusiones y perspectivas Futuras

En esta comunicación se discutió sobre los diferentes mecanismos involucrados para la evaluación de vacunas y nuevos tratamientos a enfermedades, tal como por ejemplo la generada por el Corona Virus. En ese sentido se destaca la participación de variadas estructuras químicas para interacciones específicas, al igual que anticuerpos y antígenos; y otras Biomoléculas tales como péptidos, RNA, y DNA, etc. También es importante mencionar el diseño y evaluación de Nanoestructuras Bio-conjugadas con una función específica o multi-funcionalidades dentro de las cuales se pueden contemplar, reconocimiento, bloque de sitios activos, incorporación dentro de células, detección, activación de sistemas de Nano-Fotónicos, liberación controlada de luz no-clásica, y de fármacos, entre otras. Además, en base al control desde la escala molecular hacia la Nano-, y Micro-escala se puede generar variados Nano-dispositivos, Micro-dispositivos con potenciales usos en Biofotónica y Nanomedicina<sup>24</sup>. En estas perspectivas, se pueden mencionar recientes publicaciones con alto interés, valor agregado, e interés científico y tecnológico tales como desarrollo de Micro-jeringas para la liberación de Nano-vacunas en base a ADN (Ácido Desoxirribonucleico) para combatir el COVID-19<sup>25</sup>. Además, a partir del concepto de Nano-plataformas Luminiscentes o con respuesta Ópticamente activa e Inteligente producidas para diagnóstico y tratamiento (conocidas del Idioma Inglés, como del tipo *Lab. On Particles*)<sup>26</sup>. Es así, que se puede mencionar el desarrollo de Moléculas Foto sensibilizadoras y Nanoestructuras afines para la generar respuestas de sistemas Nano-Ópticos altamente sensibles en sistemas Micro-, y Nano-fluídicos<sup>27, 28</sup>. Además, con la posibilidad de desarrollar estrategias para la destrucción de Bioestructuras tales como tumores<sup>29</sup>. Y en este contexto se debe destacar la importancia de la precisión y exactitud de los nuevos tratamiento debido a los posibles efectos colaterales, los cuales pueden llegar a problemas tan serios como a nivel Neurológico<sup>30</sup>. Y es allí, en donde se debe destacar la importancia e implicación de Investigación y desarrollo en Bioconjugación de Fármacos, Nano-fármacos, Nano-vacunas y nuevas Nanoplateformas Multi-funcionales.

#### Agradecimientos

En esta sección se agradece especialmente a todas las Subvenciones otorgadas para el desarrollo de Actividades de Investigación en las diferentes áreas involucradas discutidas en este artículo. Así, es importante mencionar a CONICET, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (National Research Council of Argentine), a la ANPCyT, Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (National Agency of Scientific and Technology Promotion of Argentine); y especialmente a SECyT (Secretary of Science and Technology from the National University of Cordoba, UNC, Argentina) por el otorgamiento de la Subvención para jóvenes Investigadores al autor A. G. B. del INFIQC, FCQ, UNC, Argentina.

Además, se agradece al Profesor Denis Boudreau del “Département de chimie y Centre d’optique, photonique et laser (COPL)”, Québec, Canada, por su contribución y trabajo en colaboración en progreso; al igual que por su apoyo en demandas de subvenciones relacionadas en curso. De igual manera, se agradece a la Profesora Valeria Ame del “Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI), Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias, Químicas, UNC”, Argentina, por su colaboración en proyectos relacionados.

Por último, se agradece especialmente a la Profesora Daniela Quinteros del Departamento de Ciencias Farmacéuticas de la Facultad de Ciencias Químicas, de la UNC, junto a su Grupo de

trabajo compuesto por la estudiante de Doctorando Sofía Martínez, y la Dra. Cecilia Tettamanti, por el trabajo en colaboración relacionado con Bioconjugación de Nanopartículas.

### Bibliografía

- <sup>1</sup> M. Mousavi, L Tan Moriyama, C. Grecco, et al. Photodynamic therapy dosimetry using multiexcitation multiemission wavelength: toward real-time prediction of treatment outcome *J Biomed Opt*; 25, 6 (2020) 1-15.
- <sup>2</sup> Draz MS, Vasan A, Muthupandian A, et al. (2020) Virus detection using nanoparticles and deep neural network-enabled smartphone system. *Sci Adv*; 6(51): eabd5354:1-. <http://dx.doi.org/10.1126/sciadv.abd5354> PMID: 33328239.
- <sup>3</sup> Morse JS, Lalonde T, Xu S, Liu WR. (2020) Learning from the Past: Possible Urgent Prevention and Treatment Options for Severe Acute Respiratory Infections Caused by 2019-nCoV. *ChemBioChem*; 21(5): 730-8. <http://dx.doi.org/10.1002/cbic.202000047> PMID: 32022370.
- <sup>4</sup> Amanat F, Krammer F. (2020) SARS-CoV-2 Vaccines: Status Report *Immunity*. *Cell press*; 52: pp. 583-588.
- <sup>5</sup> Callaway E. (2020) The race for coronavirus vaccines: a graphical guide. *Nature*; 580(7805): 576-7. <http://dx.doi.org/10.1038/d41586-020-01221-y> PMID: 32346146.
- <sup>6</sup> Lipsitch M, Dean NE. (2020) Understanding COVID-19 vaccine efficacy. *Science*; 370(6518): 763-5. <http://dx.doi.org/10.1126/science.abe5938> PMID: 33087460.
- <sup>7</sup> Walls AC, Fiala B, Schäfer A, et al. (2020) Elicitation of Potent Neutralizing Antibody Responses by Designed Protein Nanoparticle Vaccines for SARS-CoV-2. *Cell*; 183(5): 1367-1382.e17. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2020.10.043> PMID: 33160446.
- <sup>8</sup> Jackson LA, Anderson EJ, Roupael NG, et al. (2020) An mRNA Vaccine against SARS-CoV-2 — Preliminary Report, *The New England Journal of Medicine*. *N Engl J Med*; : 1-12.
- <sup>9</sup> Ni Q, Zhang F, Liu Y, et al. (2020) A bi-adjuvant nanovaccine that potentiates immunogenicity of neoantigen for combination immunotherapy of colorectal cancer. *Sci Adv* 2020; 6(12): eaaw6071. <http://dx.doi.org/10.1126/sciadv.aaw6071> PMID: 32206706.
- <sup>10</sup> Cohen M S, Corey L. From the Editorial. Combination prevention for COVID-19 *Science*; 368(6491): 551-552.
- <sup>11</sup> Drysdale S B, Barr R S, Rollier C S, Green C A, Pollard A J, Sande C J. (2020) Priorities for developing respiratory syncytial virus vaccines in different target populations *Science Translational Medicine*; 12(535): 1-4. <http://dx.doi.org/10.1126/scitranslmed.aax2466>.
- <sup>12</sup> Mina MJ, Andersen KG. (2020) COVID-19 testing: One size does not fit all. *Science*. <http://dx.doi.org/10.1126/science.abe9187:1-3> PMID: 33414210.



- <sup>13</sup> Ball P. (2021) The lightning-fast quest for COVID vaccines - and what it means for other diseases. *Nature*; 589(7840): 16-8. <http://dx.doi.org/10.1038/d41586-020-03626-1> PMID: 33340018.
- <sup>14</sup> Das S, Das S, Ghangrekar MM. (2020) The COVID-19 pandemic: biological evolution, treatment options and consequences. *Innovative Infrastructure Solutions*; 5(76): 1-13.
- <sup>15</sup> M. J. Christie, A. T. Irving, S. C. Forster, B. J. Marsland, P. M. Hansbro, P. J. Hertzog, C. A. Nold-Petry, M. F. Nold, Of bats and men: Immunomodulatory treatment options for COVID-19 guided by the immunopathology of SARS-CoV-2 infection, *Sci. Immunol.* 6, eabd0205 (2021) 1-10.
- <sup>16</sup> S. A. Rahman, B. Yagnik, A. P. Bally, K. N. Morrow, S. Wang, T. H. Vanderford, G. J. Freeman, R. Ahmed, R. Rao, Amara, PD-1 blockade and vaccination provide therapeutic benefit against SIV by inducing broad and functional CD8+ T cells in lymphoid tissue, *Sci. Immunology*, 6, 63 (2021) 1-10.
- <sup>17</sup> Elzahhar P., Belal A.S.F., Elamrawy F., Helal N.A., Nounou M.I. (2019) Bioconjugation in Drug Delivery: Practical Perspectives and Future Perceptions. In: Weissig V., Elbayoumi T. (eds) *Pharmaceutical Nanotechnology. Methods in Molecular Biology*, vol 2000. Humana, New York, NY. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9516-5\\_11](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9516-5_11).
- <sup>18</sup> Greg T. Hermanson, Chapter 1: Introduction to Bioconjugation. Editor(s): Greg T. Hermanson, *Bioconjugate Techniques (Third Edition)*. Academic Press, 2013, Pages 1-125, ISBN 780123822390, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382239-0.00001-7>.
- <sup>19</sup> Iriarte-Mesa, C., López, Y.C., Matos-Peralta, Y. et al. Gold, Silver and Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis and Bionanoconjugation Strategies Aimed at Electrochemical Applications. *Top Curr Chem (Z)* 378, 12 (2020). <https://doi.org/10.1007/s41061-019-0275-y>.
- <sup>20</sup> Greg T. Hermanson, Chapter 1: Introduction to Bioconjugation. Editor(s): Greg T. Hermanson, *Bioconjugate Techniques (Third Edition)*. Academic Press, 2013, Pages 1-125, ISBN 9780123822390, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382239-0.00001-7>.
- <sup>21</sup> Long NV, Yang Y, Teranishi T, Thi CM, Cao Y, Nogami M. Biomedical Applications of Advanced Multifunctional Magnetic Nanoparticles. *J Nanosci Nanotechnol.* 2015 Dec;15(12):10091-107. doi: 10.1166/jnn.2015.11691. PMID: 26682455.
- <sup>22</sup> Lu, L.; Duong, V.T.; Shalash, A.O.; Skwarczynski, M.; Toth, I. Chemical Conjugation Strategies for the Development of Protein-Based Subunit Nanovaccines. *Vaccines* 2021, 9, 563. <https://doi.org/10.3390/vaccines9060563>.
- <sup>23</sup> Valdes-Balbin, Y., Santana-Mederos, D., Quintero, L., ...Garcia-Rivera, D., Verez Bencomo, V. SARS-CoV-2 RBD-Tetanus Toxoid Conjugate Vaccine Induces a Strong Neutralizing Immunity in Preclinical Studies. *ACS Chem. Biol.* 2021, 16, 7, 1223–1233 Publication Date: July 4, 2021 <https://doi.org/10.1021/acscchembio.1c00272>.

<sup>24</sup> Book entitled: “Frontiers in Nano- and Micro-device Design for Applied Nanophotonics, Biophotonics and Nanomedicine”, Chapters 1-15, authored Book by A.Guillermo Bracamonte, Bentham Science Publishers, ISBN: 978-1-68108-857-0 ©(2021) 1-200. DOI 10.2174/97816810885631210101 (<https://benthambooks.com/book/9781681088563/>).

<sup>25</sup> Y. Yin, W. Su, J. Zhang, W. Huang, X. Li, H. Ma, M. Tan, M. Tan, M. Tan, H. Song, G. Cao, S. Yu, D. Yu, J. Hoon Jeong, X. Zhao, H. Li, G. Nie, H. Wang, Separable Microneedle Patch to Protect and Deliver DNA Nanovaccines Against COVID-19, ACS Nano 2021, 15, 9, 14347–14359.

<sup>26</sup> Martin Ame, S. A. Serea, A. Shalan, A. G. Bracamonte, Detection of Viruses and Development of New Treatments: Insights into Antibody-Antigen Interactions and Multifunctional Lab-On-Particle for SARS CoV-2 , J Nanotechnol Nanomaterials, Scientific Archives (Creative Commons Attribution License), 2, 2 (2021) 67-75.

<sup>27</sup> C. Salinas, A. G. Bracamonte, From Microfluidics to Nanofluidics and signal Wave-guiding for Nanophotonics, Biophotonics resolution and Drug Delivery, Frontiers in Drug, Chemistry and Clinical Research, 2 (2019) 1-6.

<sup>28</sup> Luna R. Gomez Palacios, Alicia Veglia, A. Guillermo Bracamonte, Inflow nano-optics from the near-to the far-field detection based on Metal-Enhanced Fluorescence signaling, Microchemical Journal, 169, 106539 (2021) 1-9.

<sup>29</sup> J. Guo, K. Feng, W. Wu, Y. Ruan, H. Liu, X. Han, G. Shao, X. Sun, Smart I-Labeled Self-Illuminating Photosensitizers for Deep Tumor Therapy, Angewandte Chemie International, 60, 40 (2021) 21884-21889. <https://doi.org/10.1002/anie.2021072>.

<sup>30</sup> T. L. Wiemken, J. Salas, D. F. Hoft, C. Jacobs, J. E. Morley, J. F. Scherrer, Dementia risk following influenza vaccination in a large veteran cohort, Vaccine, 39, 39 (2021) 5524-5531.