

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN EN POLÍMEROS Y MATERIALES

**Hidrogel nanocompuesto electroconductor basado en
goma gellan como sistema estímulo-respuesta para
aplicaciones biomédicas**

Que para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIA DE MATERIALES

Presenta:

QBC. Brianda Maria Salazar Salas

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

VOTOS APROBATORIOS

Los miembros del jurado designado para revisar la tesis de maestría de Brianda María Salazar Salas han dictaminado que el trabajo cumple satisfactoriamente como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencia de Materiales otorgado por la Universidad de Sonora.



Dra. Teresa del Castillo Castro
Presidente



Dr. Jesús Daniel Fernández Quiroz
Secretario



Dra. María Mónica Castillo Ortega
Sinodal



Dr. José Carmelo Encinas Encinas
Sinodal



Dr. Pedro Jesús Herrera Franco
Sinodal Externo

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en esta tesis es propiedad intelectual de la Universidad de Sonora y del Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales (DIPM). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del director de tesis, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Director de la Tesis.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al DIPM, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director de tesis.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Castro', with a stylized flourish at the end.

Dra. Teresa del Castillo Castro

Jefe del Departamento

DEDICATORIA

Dedicado a mis padres, gracias por creer siempre en mí, por amarme tanto y por no darme siempre lo que quise.

Me enseñaron el valor de las cosas. Creo que la palabra gracias se queda corta para expresar todo el agradecimiento que siento por ustedes.

AGRADECIMIENTOS

Mi más profundo y sincero agradecimiento a la Universidad de Sonora, al Departamento de Investigación de Polímeros y Materiales y a todos los maestros que me apoyaron durante el proceso de mi formación académica.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo a través del proyecto "A1-S-26204 CONACyT, Convocatoria Ciencia Básica 2017-2018".

A la Dra. Teresa del Castillo, por todo su apoyo, conocimiento y tiempo que me ha compartido, ha sido una importante guía para mí. También por haberme tenido toda la paciencia y disposición para orientarme durante todo el desarrollo de la tesis.

A mi Co-director de tesis Dr. Daniel Fernández-Quiroz y a mi comité de tesis, Dra. María Mónica Castillo Ortega, Dr. José Carmelo Encinas Encinas y Dr. Pedro Jesús Herrera Franco, por su valiosa aportación a la realización de este trabajo, así como su disponibilidad y apoyo.

A la cDra. Adilene Grijalva por el apoyo y orientación en el desarrollo de pruebas vitales para este proyecto.

A la Dra. Lerma Chan, Dra. Judith Tanori, Dr. Alan German Acedo Mendoza, Dra. Silvia Burruel, Dra. Irela Santos y MC. Luisa Lorena Silva Gutiérrez, por su ayuda y orientación en la caracterización de los materiales realizados.

Y especialmente a mis padres, que gracias a su esfuerzo me ha sido posible todo esto. A mis hermanos Javier y Diana. Emmanuel por tu apoyo incondicional y cariño.

A mis compañeros de laboratorio Adilene Grijalva, Andya Ramírez, Karla García, Ana Torres Vianey Quevedo y Gabriela.

A mis amigos por estar ahí siempre apoyándome, Heidy Burrola, Viviana Calvillo, al team (Lupita, Cristian, Martin y Jerónimo), Eleany, Jeisson, Lily Quihui, Verónica, Abigail, Gema, Evelyn y Teresita Moreno.

ÍNDICE

ÍNDICE	
VOTOS APROBATORIOS	II
DEDICATORIA.....	IV
AGRADECIMIENTOS	V
ÍNDICE	VI
LISTA DE TABLAS.....	X
LISTA DE FIGURAS	XI
RESUMEN.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	2
2. OBJETIVOS	4
2.1 Objetivo General.....	4
2.2 Objetivos Particulares.....	4
3. ANTECEDENTES.....	5
3.1 Hidrogeles	5
3.2 Propiedades de los hidrogeles	6
3.2.1 Hinchamiento.....	6
3.2.2 Porosidad.....	6
3.2.3 Biocompatibilidad y biodegradabilidad	6
3.2.4 Rigidez.....	6
3.2.5 Aplicaciones.....	7
3.3 Mecanismo de cargado de fármacos en hidrogeles.....	7
3.3.1 Cargado posterior de la formación del hidrogel.....	7
3.3.2 Cargado <i>in situ</i>	7
3.4 Mecanismo de liberación de fármacos en hidrogeles.....	7
3.5 Polímeros	9
3.6 Biopolímeros.....	11
3.7 Goma gellan	12
3.7.1 Síntesis.....	13
3.8 Propiedades Fisicoquímicas.....	14
3.8.1 Grado de desacetilación	14
3.8.2 Viscosidad	15

3.8.3	<i>Transparencia</i>	15
3.8.4	<i>Hidratación</i>	15
3.8.5	<i>Solubilidad</i>	15
3.8.6	<i>Gelificación</i>	15
3.9	Aplicaciones	16
▪ 3.9.1	<i>Aplicaciones en alimentos:</i>	16
▪ 3.9.2	<i>Cosméticos:</i>	17
▪ 3.9.3	<i>Medio de cultivo:</i>	17
▪ 3.9.4	<i>Aplicaciones biomédicas:</i>	17
3.10	Espermidina	19
3.10.1	<i>Síntesis</i>	20
3.10.2	<i>Aplicaciones</i>	21
3.11	Polímeros conductores	23
3.12	Polipirrol	25
3.12.1	<i>Aplicaciones</i>	26
3.13	Polimerización por emulsión	27
3.13.1	<i>Emulsión</i>	27
3.14	Teoría de conducción	28
3.14.1	<i>Aplicaciones biomédicas</i>	31
3.15	Mecanismos de cargado de fármacos en PC	31
3.15.1	<i>Interacciones electrostáticas:</i>	31
3.15.2	<i>Interacciones hidrofóbicas y atrapamiento físico:</i>	32
3.16	Mecanismo de liberación de fármacos en PC	33
3.17	Hidrogeles que responden a estímulos	34
3.18	Mecanismos de liberación de fármacos en hidrogel compuesto electroconductor	36
3.19	Ibuprofeno	38
3.19.1	<i>Mecanismo de acción</i>	39
3.19.2	<i>Farmacocinética</i>	40
3.19.3	<i>Toxicidad</i>	40
4.	MATERIALES Y MÉTODOS	41
4.1	<i>Materiales</i>	41
4.2	Síntesis de nanopartículas de PPy	41
4.3	Estudios de caracterización de nanopartículas de PPy	42
4.3.1	<i>Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)</i>	42

4.3.2	Dispersión dinámica de luz (DLS)	42
4.3.3	Microscopia electrónica de transmisión.....	43
4.3.4	Análisis termogravimétrico (TGA)	43
4.3.5	Voltametría cíclica (VC)	43
4.3.6	Conductividad eléctrica.....	43
4.4	Preparación de hidrogeles de goma gellan	44
4.5	Preparación de hidrogeles nanocompuestos.....	45
4.6	Preparación de hidrogeles de goma gellan cargados de fármaco ibuprofeno....	47
4.7	Preparación de hidrogeles nanocompuestos cargados de fármaco ibuprofeno	47
4.8	Estudios de caracterización de los hidrogeles.....	48
4.8.1	Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)	48
4.8.2	Estudios de hinchamiento	48
4.8.3	Microscopia electrónica de barrido (SEM).....	49
4.8.4	Estudios reológicos.....	49
4.8.5	Análisis termogravimétrico (TGA)	49
4.8.6	Voltametría cíclica (VC)	49
4.8.7	Conductividad eléctrica.....	50
4.8.8	Estudios de cargado y liberación de fármaco modelo	50
5.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	52
5.1	Nanopartículas de PPy	52
5.1.1	<i>Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier</i>	52
5.1.2	<i>Distribución de tamaños por DLS.....</i>	53
5.1.3	<i>Microscopia electrónica de transmisión (TEM).....</i>	54
5.1.4	<i>Análisis termogravimétrico (TGA)</i>	55
5.1.5	<i>Conductividad eléctrica.....</i>	55
5.2	Obtención de hidrogeles GG-SPD	56
5.2.1	<i>Mecanismo de gelificación</i>	57
5.2.2	<i>Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier</i>	58
5.2.3	<i>Estudios de hinchamiento</i>	60
5.2.4	<i>Estudios morfológicos.....</i>	62
5.2.5	<i>Estudios reológicos.....</i>	62
5.2.6	<i>Análisis termogravimétrico (TGA)</i>	64
5.3	Obtención de hidrogeles nanocompuestos.....	65
5.3.1	<i>Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier</i>	66
5.3.2	<i>Estudios de hinchamiento</i>	67

5.3.3 Estudios morfológicos.....	68
5.3.4 Estudios reológicos.....	69
5.3.5 Análisis termogravimétrico (TGA)	71
5.3.6 Voltametría cíclica (VC)	72
5.3.7 Conductividad eléctrica.....	73
5.4 Obtención de hidrogeles cargados con ibuprofeno.....	74
5.4.1 Estudios morfológicos.....	75
5.4.2 Estudios de liberación.....	76
6. CONCLUSIONES.....	79
7. RECOMENDACIONES.....	80
8. BIBLIOGRAFIA.....	81
ANEXOS.....	89

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Descripción de las formulaciones preparadas de los hidrogeles de goma gellan .	45
Tabla 2. Descripción de las formulaciones preparadas de los hidrogeles nanocompuestos	46
Tabla 3. Conductividad eléctrica de nanopartículas de PPy e hidrogeles nanocompuestos.	56
Tabla 4. Resultados TGA. Velocidades máximas de degradación y pérdidas de masa de GG y SPD en polvo e hidrogeles GG-SPD a diferentes rangos de temperatura.....	64
Tabla 5. Resultados TGA. Velocidades máximas de degradación y pérdidas de masa en hidrogeles nanocompuestos y GG-SPD ₁	72
Tabla 6. Conductividad eléctrica de nanopartículas de PPy e hidrogeles nanocompuestos .	73
Tabla 7. Masa y porcentaje cargado de IB en los hidrogeles sin y con nanopartículas de PPy.	75

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representación de la reticulación química de hidrogel.....	5
Figura 2. Representación de la reticulación física de hidrogel.....	5
Figura 3. Esquemas de liberación controlada por: a) Difusión a partir de un sistema reservorio, b) Difusión a partir de un sistema matricial, c) Hinchamiento, d) Químicamente por erosión homogénea y e) Químicamente por erosión heterogénea	9
Figura 4. Representación de las diferentes estructuras de polímeros: a) Lineal, b) Ramificado y c) Entrecruzado.....	10
Figura 5. Clasificación de los biopolímeros.	11
Figura 6. Estructura química de la Goma gellan de alto acilo.....	12
Figura 7. Proceso de fabricación de goma gellan. A) Goma gellan de alto acilo clarificada B) Goma gellan de bajo acilo clarificada.....	14
Figura 8. Aplicaciones de GG.	19
Figura 9. Estructura y valores de pKa de putrescina, espermidina y espermina	20
Figura 10. Síntesis de poliaminas.	21
Figura 11. Sistemas biológicos y procesos en los que participan las poliaminas.....	22
Figura 12. Polímeros conductores (en su forma no dopada).	24
Figura 13. Mecanismo de polimerización del PPy mediante el acoplamiento de radicales cationes.	26
Figura 14. Modelo de bandas para los materiales con base a su grado de conductividad eléctrica.	28
Figura 15. Diagrama de energías electrónicas para PPy Neutro, Polarón, Bipolarón y PPy Completamente dopado.....	30
Figura 16. Estructuras electrónicas de PPy: A) Neutro, B) Polarón y C) Bipolarón en estado completamente dopado.	30
Figura 17. Interacciones electrostáticas.	32
Figura 18. Mecanismo de liberación del fármaco por contracción de volumen.	33
Figura 19. Mecanismo de liberación del fármaco por expansión de volumen.	34
Figura 20. Estímulos que controlan la liberación del fármaco en los sistemas poliméricos inteligentes	35
Figura 21. Curvas comparativas de los distintos sistemas de liberación de fármacos.	36
Figura 22. El efecto de un campo eléctrico sobre un gel de polielectrolito.....	37
Figura 23. Representación esquemática de los principales mecanismos de deshinchamiento en un hidrogel electroactivado.	38
Figura 24. Estructura química del ibuprofeno.	39
Figura 25. Diagrama general de la síntesis de nanopartículas de PPy.....	42
Figura 26. Diagrama para la prueba de conductividad eléctrica.	44
Figura 27. Diagrama general de la síntesis de hidrogel GG-SPD.....	45
Figura 28. Diagrama general de la síntesis de hidrogel nanocompuesto.....	46
Figura 29. Diagrama general de la síntesis de hidrogel GG-SPD ₁ cargado con ibuprofeno.	47
Figura 30. Diagrama general de la síntesis de hidrogel nanocompuesto cargados con ibuprofeno.....	48
Figura 31. Diagrama para la prueba de conductividad eléctrica en hidrogeles nanocompuestos.	50
Figura 32. Esquema de liberación de ibuprofeno bajo un estímulo eléctrico.	51
Figura 33. Espectro de FTIR para nanopartículas de PPy sintetizadas por técnica de emulsión.	53
Figura 34. Distribución de diámetro hidrodinámico (Dh) de partículas de PPy por DLS.	54

Figura 35. Micrografías de TEM de partículas de PPy.	54
Figura 36. Termograma de nanopartículas de: a) PPy y b) derivada de las curvas de porcentaje de masa con respecto a la temperatura.	55
Figura 37. Imagen de las diferentes formulaciones de hidrogel.	56
Figura 38. Imagen de las diferentes formulaciones de hidrogel.	57
Figura 39. Mecanismo de gelificación de goma gellan cuando se utiliza espermidina como reticulante en un pH 6.5.	58
Figura 40. Espectro de FTIR-ATR de GG en polvo, hidrogeles de GG-SPD con diferentes concentraciones de SPD (0.5, 0.25 y 0.125 mg/mL) y polvo de SPD.	59
Figura 41. Estudios de hinchamiento de hidrogeles de GG-SPD con diferentes concentraciones de entrecruzante a pH 3 y 7.4: a) 25 °C y b) 37 °C.	61
Figura 42. Micrografías de SEM en las diferentes formulaciones de hidrogeles GG-SPD con diferentes concentraciones de entrecruzante: A-B) GG-SPD ₁ , C-D) GG-SPD ₂ y E-F) GG-SPD ₃ a 150 y 350 X.	62
Figura 43. Barrido de frecuencia de hidrogeles de GG-SPD a diferentes concentraciones de espermidina realizado a 25 °C G' (símbolos rellenos) y G'' (símbolos vacíos).	63
Figura 44. Curvas TGA y DTG en hidrogeles de GG-SPD, a diferentes concentraciones de espermidina.	65
Figura 45. Imagen de las diferentes formulaciones de hidrogel fresco nanocompuesto.	65
Figura 46. Espectro de FTIR-ATR en hidrogel GG-SPD ₁ e hidrogeles nanocompuestos.	66
Figura 47. Estudios de hinchamiento de hidrogel GG-SPD ₁ e hidrogeles nanocompuestos con diferentes concentraciones de PPy a pH 3 y 7.4: a) 25 °C y b) 37 °C.	68
Figura 48. Micrografías de SEM en las diferentes formulaciones de hidrogeles nanocompuestos y del hidrogel GG-SPD ₁ : A-B) GG-SPD ₁ , G-H) GG-SPD ₁ -PPy ₁ y I-J) GG-SPD ₁ -PPy ₂ a 150 y 350 X.	69
Figura 49. Barrido de frecuencia de hidrogel GG-SPD ₁ e hidrogeles con nanopartículas de PPy, con diferentes proporciones de PPy realizado a 25 °C G' (símbolos rellenos) y G'' (símbolos vacíos).	70
Figura 50. Curvas TGA y DTG en hidrogel GG-SPD ₁ e hidrogeles nanocompuestos con diferentes concentraciones de PPy.	71
Figura 51. Curvas de VC del quinto ciclo de: a) Película de PPy y b) Xerogel GG-SPD ₁ -PPy ₁ en H ₂ SO ₄ 100 mM.	73
Figura 52. Diferentes formulaciones de los xerogeles sin y con nanopartículas de PPy.	74
Figura 53. Micrografías de SEM en las diferentes formulaciones de hidrogeles nanocompuestos y del hidrogel GG-SPD ₁ cargados con ibuprofeno: K-M) GG-SPD ₁ , N-O) GG-SPD ₁ -PPy ₁ y P-Q) GG-SPD ₁ -PPy ₂ a 150 y 350 X.	75
Figura 54. Liberación de hidrogel GG-SPD ₁ cargado con ibuprofeno en pH 7.4.	77
Figura 55. Liberación de hidrogel cargado con ibuprofeno en pH 7.4 a) GG-SPD ₁ -PPy ₁ y b) GG-SPD ₁ -PPy ₂	78

RESUMEN

En la actualidad, la industria farmacéutica está en búsqueda de procesos de liberación de fármacos para mejorar la formulación, biodisponibilidad y la modificación de las vías de administración. En este contexto, la Ciencia de Materiales tiene un papel fundamental, con el diseño, síntesis, caracterización y evaluación de materiales y sistemas funcionales en el área biomédica. Las aplicaciones incluyen el diagnóstico, terapia, tratamiento de enfermedades, ingeniería de tejidos y la liberación de fármacos.

Los hidrogeles son candidatos ideales para el desarrollo de nuevos sistemas de liberación controlada de fármacos, debido a su alta biocompatibilidad, insolubilidad en agua, su carácter hidrófilo y capacidad de hinchamiento. Adicionalmente, algunos hidrogeles tienen la capacidad para cambiar ciertas propiedades fisicoquímicas de forma reversible al ser sometidos a estímulos externos, lo que representa una gran potencialidad para ser empleados como sistemas de liberación controlada de fármacos en los diferentes tejidos del cuerpo humano.

En este proyecto se sintetizaron y caracterizaron nuevos hidrogeles nanocompuestos electroconductores a partir de la combinación de una matriz reticulada de goma gellan y nanopartículas de polipirrol. Las nanopartículas de polipirrol se obtuvieron mediante el método de química "verde" y los hidrogeles nanocompuestos se prepararon mediante la reticulación del polisacárido en presencia de las nanopartículas del polímero electroconductor. Se estudiaron las propiedades estructurales y morfológicas de los sistemas compuestos, así como su comportamiento en la liberación controlada de ibuprofeno, como fármaco modelo, bajo estimulación eléctrica en sitios específicos. Los resultados demostraron que la cinética de liberación del fármaco puede ser controlada mediante la aplicación de un potencial eléctrico de baja intensidad, lo que evidenció la potencialidad de los sistemas obtenidos para dispositivos de liberación controlada.

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente los fármacos son administrados convencionalmente por vía oral o mediante la aplicación de inyecciones, lo que conduce a una baja especificidad del medicamento en el sitio requerido. Existen métodos para mejorar la acción de los fármacos como el uso de los sistemas de liberación controlada (Sáez et al. 2002). Estos sistemas pueden ser localizados en cualquier cavidad corporal, ser adheridos o implantados.

En un tratamiento convencional, la administración del fármaco se debe realizar en varias dosis, en cambio, en un sistema de liberación controlada se puede lograr una concentración sostenida en una dosis. Comúnmente, la concentración del fármaco puede llegar a concentraciones tóxicas o subterapéuticas durante un tratamiento convencional, mientras que en un sistema de liberación controlada es posible regular el nivel en el intervalo terapéutico.

En este contexto, el uso de materiales poliméricos como matrices para el cargado y liberación controlada y/o prolongada de fármacos ha adquirido gran interés (Sáez et al. 2002). Los polímeros destacan por su versatilidad de aplicaciones, facilidad de síntesis y la posibilidad de controlar sus propiedades durante su preparación y procesamiento, haciéndolos candidatos excelentes como materiales para el transporte y liberación controlada de fármacos.

Entre los materiales poliméricos utilizados como matrices para el cargado y liberación de medicamentos destacan los hidrogeles, debido a su estructura tridimensional, propiedades mecánicas similares a tejidos biológicos, alto contenido de agua y biocompatibilidad.

Los hidrogeles son redes poliméricas obtenidas a partir de polímeros hidrófilos, que pueden ser naturales o sintéticos. La presencia de grupos funcionales hidrofílicos y su naturaleza entrecruzada permite que el hidrogel se hinche sin disolverse en medio acuoso. Estos sistemas se consideran una buena opción para aplicaciones biomédicas en ingeniería de tejidos, separación de biomoléculas o células y administración de fármacos (Bencherif et al. 2009; Hoare y Kohane 2008).

El uso de hidrogeles para la liberación de fármacos aporta múltiples ventajas entre las que se encuentran la disminución de los efectos secundarios, reducción de la pérdida de fármaco y de la dosis administrada, así como la protección contra fármacos irritantes. Además, su implementación contribuye a mantener durante más tiempo un nivel terapéutico del fármaco y aporta propiedades de adherencia a los tejidos lo que permite su localización en diferentes sitios de nuestro organismo.

En la actualidad se trabaja en el diseño y preparación de nuevos sistemas “inteligentes” para la administración de fármacos capaces de responder ante un estímulo externo; como cambios de pH, temperatura y campos eléctricos. Los estímulos pueden desencadenarse por factores internos o externos, incluso por la combinación de ambos. El uso de sistemas estímulo-respuesta para la administración de fármacos tiene la finalidad de conseguir la administración correcta del agente activo en un sitio específico, en el momento adecuado y de esta manera, disminuir los efectos secundarios (Moghanjoughi et al. 2016).

Se han desarrollado sistemas estímulo-respuesta constituidos por una matriz de hidrogel que incorpora nanoestructuras electroconductoras como materiales a base de carbono (nanotubos de carbono y grafeno) para aplicaciones biomédicas, incluyendo la liberación controlada de fármacos (Rauti et al. 2019). Sin embargo, estos materiales tienen varios inconvenientes ya que, a largo plazo, pueden provocar efectos de toxicidad *in vivo*.

Los problemas antes mencionados se pueden superar empleando nanoestructuras de polímeros electroconductores como el polipirrol (PPy), el politiofeno (PTh) y sus derivados. En este sentido se ha reportado que los polímeros electroconductores en combinación con otros polímeros biodegradables naturales, semisintéticos y sintéticos son compatibles con células y tejidos (Guo y Ma 2014), por lo que se pueden considerar como candidatos para la liberación controlada de fármacos bajo estimulación eléctrica.

Buscando reducir los efectos secundarios con sistemas de liberación capaces de administrar dosis terapéuticas del fármaco y tener un control sobre la cinética de liberación del fármaco mediante una señal eléctrica, en este trabajo se desarrolló un sistema que integró nanoestructuras electroconductoras de PPy en una matriz hidrogel de goma gellan.

El PPy se sintetizó mediante método de química “verde” basado en la técnica de emulsión. El sistema de hidrogel nanocompuesto se caracterizó mediante mediciones de cinéticas de hinchamiento, termogravimetría, FTIR, ensayos reológicos, mediciones de conductividad, voltametría cíclica y TEM. Adicionalmente, se evaluó el comportamiento de los materiales en el cargado y liberación *in vitro* de un fármaco modelo, el ibuprofeno, en condiciones de liberación pasiva y bajo estimulación eléctrica.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Preparar y caracterizar fisicoquímicamente hidrogeles nanocompuestos basados en goma gellan y nanopartículas de polipirrol, así como evaluar su potencialidad para la liberación controlada de fármacos bajo estímulos eléctricos.

2.2 Objetivos Particulares

1. Sintetizar nanopartículas de polipirrol mediante método de química verde basado en la técnica de emulsión.
2. Preparar hidrogeles de goma gellan e hidrogeles nanocompuestos de goma gellan/nanopartículas de PPy.
3. Caracterizar los hidrogeles mediante la obtención de cinéticas de hinchamiento, termogravimetría, espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), mediciones de propiedades mecánicas, voltametría cíclica, microscopía electrónica de barrido (SEM) y microscopía electrónica de transmisión (TEM).
4. Estudiar el cargado y liberación *in vitro* de ibuprofeno desde los hidrogeles compuestos sin y con estímulos eléctricos.

3. ANTECEDENTES

3.1 Hidrogeles

Los hidrogeles se definen como redes poliméricas tridimensionales que pueden ser obtenidos a partir de polímeros naturales o sintéticos, capaces de absorber y retener grandes cantidades de agua (Arredondo y Londoño 2009).

Los hidrogeles se pueden clasificar como químicos y físicos, de acuerdo con el tipo de entrecruzantes empleados durante su síntesis. Los hidrogeles entrecruzados químicamente son los que forman enlaces covalentes.

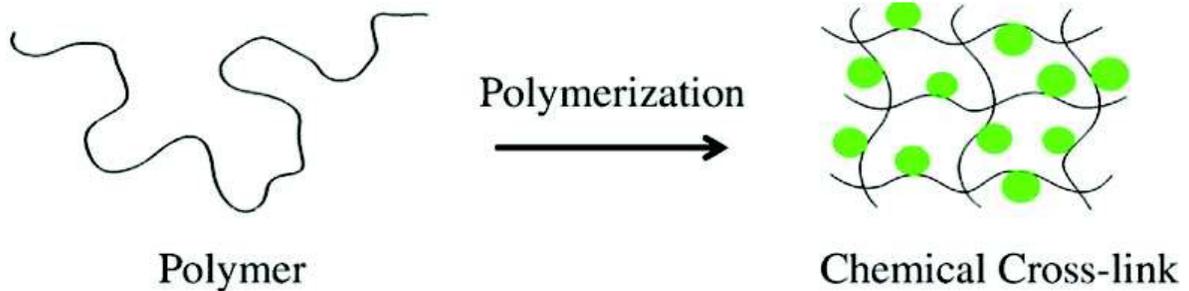


Figura 1. Representación de la reticulación química de hidrogel (Gururajan y Narayanaswamy 2016).

Por otra parte, los hidrogeles físicos se basan en la interacción física entrecruzante-matriz, mediante interacciones secundarias no covalentes como puentes de hidrógeno, interacciones de van der Waals e interacciones iónicas. El tipo de interacciones con las que se unen los hidrogeles físicos, facilita su biodegradabilidad y la eliminación de sus constituyentes en el organismo (López-Cebral et al. 2013).

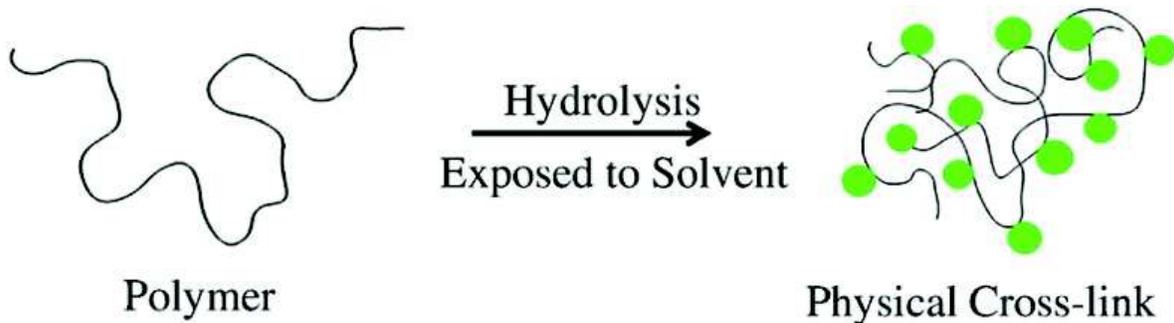


Figura 2. Representación de la reticulación física de hidrogel (Gururajan y Narayanaswamy 2016).

Sin embargo, también se pueden clasificar los hidrogeles con otros métodos. En la literatura se encuentran diversas formas, por ejemplo, en base a la composición química del

polímero, la carga iónica presente, el origen del polímero, el tipo del entrecruzante y el tipo de respuesta (Bahram et al. 2016). A continuación, se describe a más a detalle las propiedades de los hidrogeles.

3.2 Propiedades de los hidrogeles

3.2.1 Hinchamiento: Es una de las propiedades más características de los hidrogeles, consiste en que los hidrogeles pueden absorber y mantener en su estructura tridimensional grandes cantidades de agua o fluidos biológicos. Este proceso consta de tres pasos: 1) los grupos hidrofílicos de la matriz son solvatados, los grupos polares son rodeados por moléculas de agua, provocando que la matriz se hinche y expone los grupos hidrofóbicos, 2) otras moléculas de agua interaccionan con los grupos que quedaron expuestos y 3) ocurre un balance entre las fuerzas osmóticas, por el agua que entra en la red, y las fuerzas de oposición que ejercen las cadenas poliméricas a esta expansión (Ahmed 2015; Arredondo y Londoño 2009).

3.2.2 Porosidad: La porosidad es un factor determinante que facilita el transporte de moléculas a través de la matriz. El tamaño de poro se puede controlar desde la síntesis de los hidrogeles, con la cantidad de entrecruzante. Por ejemplo, al incrementar la cantidad de entrecruzante, provoca un mayor grado de reticulación y una disminución del tamaño del poro. La regulación del tamaño de poro es muy importante en la liberación de fármacos, una estructura porosa homogénea permite que el cargado del fármaco sea eficiente (Arredondo y Londoño 2009; Quevedo-Robles 2020).

3.2.3 Biocompatibilidad y biodegradabilidad: La biodegradabilidad es la capacidad del material de degradarse por microorganismos, los enlaces lábiles presentes en la cadena principal del polímero o en las reticulaciones tienden a romperse en condiciones fisiológicas, por acción enzimática o químicamente (Gururajan y Narayanaswamy 2016). Adicionalmente, los hidrogeles en su mayoría son biocompatibles, incluyendo aquellos que en su formulación incorporan carbohidratos, ya que estos presentan propiedades no tóxicas y pueden ser utilizados en diversas aplicaciones como en la liberación de fármacos (López-Cebral et al. 2013).

3.2.4 Rigidez: Generalmente los hidrogeles son de naturaleza blanda y gomosa, la rigidez depende del grado de reticulación y de la concentración del polímero. Existen diversas investigaciones que evalúan el comportamiento mecánico del hidrogel a partir de parámetros como el módulo de Young, el límite elástico y la resistencia máxima a la tracción (Gururajan y Narayanaswamy 2016).

3.2.5 Aplicaciones: El uso de hidrogeles es muy variado y esto se debe en gran medida a la versatilidad de estos sistemas, durante el proceso de síntesis. Las aplicaciones abarcan desde la industria y la agricultura hasta aplicaciones biomédicas. En las aplicaciones biomédicas, los hidrogeles se utilizan en la ingeniería de tejidos debido a su similitud con tejidos biológicos y a sus propiedades de biocompatibilidad. En la actualidad, se encuentran en desarrollo investigaciones enfocadas al uso de hidrogeles en la liberación de fármacos, con el objetivo de desarrollar nuevos sistemas que permitan la administración de fármacos de manera controlada y mejorar los sistemas actuales, haciéndolos más cómodos y efectivos. (Berti et al. 2017; López-Cebral et al. 2013).

Como una de las principales aplicaciones biomédicas de los hidrogeles consiste en la liberación de fármacos, a continuación, se describe los diferentes mecanismos de cargado y liberación.

3.3 Mecanismo de cargado de fármacos en hidrogeles

Debido a la estructura tridimensional característica de los hidrogeles, es posible cargar fármacos u otras moléculas en su interior. El cargado de fármacos puede deberse (Mártinez 2016):

3.3.1 Cargado posterior de la formación del hidrogel: Cuando el fármaco se carga por absorción, después de la formación del hidrogel. Si el hidrogel es inerte, la liberación se puede dar por difusión y/o hinchamiento. Si el hidrogel contiene un ligando de unión con el fármaco, se debe considerar la interacción polímero-fármaco.

3.3.2 Cargado in situ: Cuando el fármaco o la mezcla de fármaco-polímero se carga antes de la formación del hidrogel, es decir, el cargado y la gelificación se dan simultáneamente. El tipo de liberación a través de este cargado puede ser por difusión, hinchamiento o por control químico.

3.4 Mecanismo de liberación de fármacos en hidrogeles

Los mecanismos de liberación de fármacos desde los hidrogeles pueden clasificarse en tres tipos: difusión, hinchamiento y por efecto químico. A continuación, se describen más a detalle los mecanismos (Figura 3) (Mártinez 2016; Pal et al. 2009; Zarzycki et al. 2010):

- 3.4.1 Liberación controlada por difusión, a partir de un sistema reservorio o un sistema matricial:

En el sistema reservorio, el fármaco está contenido en el núcleo rodeado por una membrana polimérica que permite la difusión del fármaco. Cuando el hidrogel entra en contacto con el agua, se disuelve el fármaco y se difunde a través de la membrana hacia el exterior, disminuyendo la concentración del fármaco en el núcleo. Este fenómeno se puede explicar con la primera ley de Fick debido al gradiente de concentración. Este es proceso continuo y permanece constante hasta que el fármaco se agota.

El sistema de difusión matricial es similar, este mecanismo difiere en que el hidrogel no está rodeado por una membrana y la liberación del fármaco ocurre cuando el hidrogel entra en contacto con agua o un medio acuoso. Posteriormente, el fármaco se disuelve y se sale por difusión a través de la matriz o de los poros.

□ 3.4.2 Liberación por hinchamiento:

En este sistema la matriz es hidrófila y la liberación ocurre cuando entran moléculas del medio acuoso a la matriz, produciendo un hinchamiento de la matriz y por lo tanto, el fármaco se disuelve, provocando su liberación. En este sistema el parámetro que limita la velocidad en la que se relajan las cadenas es la velocidad de hinchamiento.

□ 3.4.3 Liberación química, por erosión homogénea o por erosión heterogénea:

La liberación ocurre por la degradación y/o disolución de la matriz, existen dos tipos de erosión homogénea y heterogénea. Dependen del grado de hidrofobicidad y morfología del polímero.

La erosión homogénea se produce por la degradación de toda la matriz, en cambio la liberación heterogénea ocurre en la superficie. En cuanto más hidrófilo sea el polímero tiene mayor probabilidad que la erosión sea homogénea debido a que tiene mayor capacidad de absorber agua.

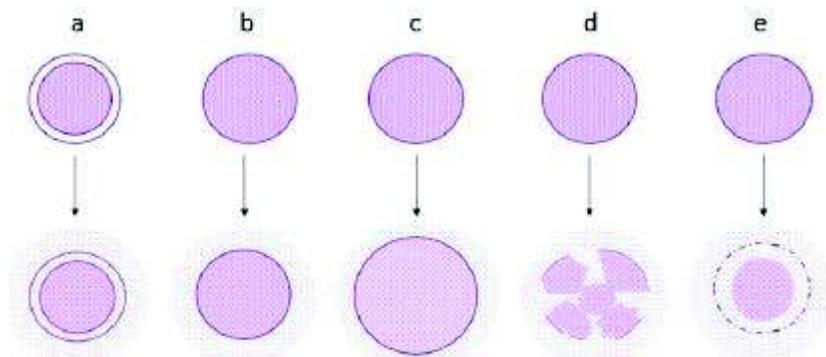


Figura 3. Esquemas de liberación controlada por: a) Difusión a partir de un sistema reservorio, b) Difusión a partir de un sistema matricial, c) Hinchamiento, d) Químicamente por erosión homogénea y e) Químicamente por erosión heterogénea (Mártinez 2016).

3.5 Polímeros

El conocimiento de los polímeros es fundamental para el estudio de las propiedades y características de los hidrogeles. Los polímeros son macromoléculas formadas por la unión de muchas moléculas pequeñas llamadas “monómeros”, cuyo componente principal es el carbono. El origen de la palabra polímeros es griego, es una combinación de “polys” que significa muchos y “meros” que significa partes. La Real Academia Española, define a los polímeros como “un compuesto químico, natural o sintético, formado por polimerización y que consiste esencialmente en unidades estructurales repetidas”.

A la reacción química que da como resultado la formación del polímero se le conoce como polimerización. Los polímeros pueden presentar diferentes estructuras (Figura 4). Las diferentes estructuras se pueden deber a la velocidad de la formación de las cadenas y a la terminación del crecimiento de las cadenas. Existe la probabilidad de que se produzcan cadenas ramificadas, cuando hay reacciones laterales e incluso se pueden formar redes tridimensionales por el entrecruzamiento de dos cadenas distintas a través de una misma ramificación (Pardilla et al. 2007; Pérez 2013).

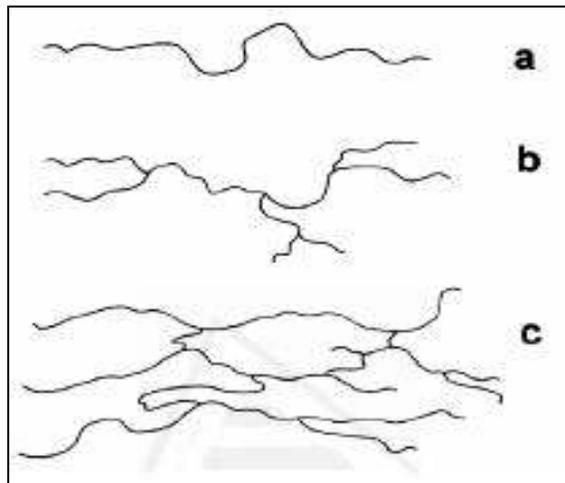


Figura 4. Representación de las diferentes estructuras de polímeros: a) Lineal, b) Ramificado y c) Entrecruzado (Pardilla et al. 2007).

Los polímeros tienen un papel importante en la vida cotidiana del hombre. En la naturaleza encontramos polímeros naturales como el alginato, la seda, la lana, el caucho y la celulosa, que han sido utilizados desde el principio de los tiempos, incluso sin tener conocimiento de su composición, estructura y propiedades.

En la actualidad se utilizan exitosamente una gran variedad de polímeros naturales y biomateriales; por ejemplo, en odontología para la fabricación de dispositivos dentales, en la medicina para la cirugía plástica mediante implantes o prótesis, en ingeniería de tejidos y en la liberación controlada de fármacos. Los hidrogeles elaborados a partir de polímeros naturales tienen varias ventajas que incluyen buena estabilidad y nula o baja toxicidad en comparación a los polímeros sintéticos. Sin embargo, tienen algunos inconvenientes debido a la complejidad estructural.

Por otra parte, el uso de los polímeros sintéticos y su campo de aplicación ha ido en aumento. Los polímeros sintéticos se obtienen mediante reacciones químicas y entre los más utilizados, encontramos las poliolefinas, poliésteres, poliamidas, entre otras familias de polímeros (Salazar 2018).

Los inconvenientes que presentan los hidrogeles de polímeros naturales relacionados con sus pobres propiedades mecánicas y rápida degradación pueden ser superados modificando el método de síntesis o mediante la combinación de polímeros naturales con polímeros sintéticos. Por ejemplo, los hidrogeles a base de polímeros naturales se pueden

combinar con cargas, como partículas de polímeros electroconductores para mejorar la capacidad de transporte y ampliar sus aplicaciones.

3.6 Biopolímeros

Los biopolímeros son polímeros formados en la naturaleza durante los ciclos de crecimiento de los organismos o por procesos químicos a partir de monómeros naturales.

La Figura 5 muestra ejemplos de los biopolímeros más comunes. En un primer grupo se encuentran los biopolímeros provenientes de organismos vivos que son proteínas (colágeno, queratina, gelatina y proteínas de leche), polisacáridos (derivados de la celulosa, alginatos, pectinas y goma gellan) y lípidos (ceras y ácidos grasos). Los polisacáridos naturales se degradan en subproductos biocompatibles a través de la hidrólisis enzimática.

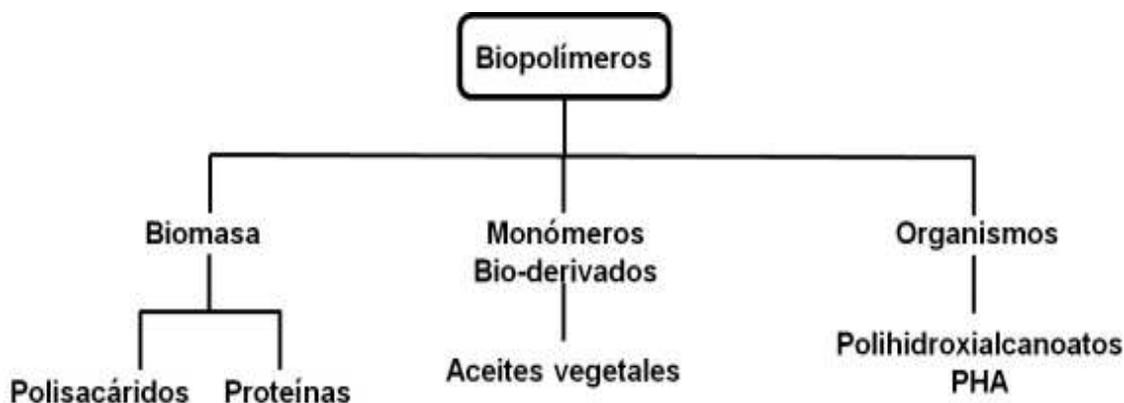


Figura 5. Clasificación de los biopolímeros.

En el segundo grupo se encuentran los que requieren ser sintetizados; sin embargo, provienen de recursos renovables, por ejemplo, el ácido poliláctico. En un tercer grupo se encuentran aquellos que se obtienen por acción de microorganismos, como los poliésteres y polihidroxicanoatos que son productos del metabolismo de bacterias (Burrola 2014; Chandra y Rustgi 1998).

Dentro de los polisacáridos destaca la goma gellan por sus propiedades hidrofílicas, estabilidad térmica, nula toxicidad, bajo costo y buenas propiedades mecánicas (Sharanappa et al. 2019).

3.7 Goma gellan

Dentro de los biopolímeros se encuentra la goma gellan (GG). Es un polisacárido de origen biológico obtenido a partir de la fermentación anaeróbica de la bacteria *Shingomonas elodea* (Higgins et al. 2011). Es un polímero aniónico lineal (Figura 6) con un peso molecular alrededor de 0.5×10^6 Da, formado por unidades repetitivas de un tetrasacárido, que contiene α -L-ramnosa, β -D-ácido glucurónico y β -D-glucosa (Gibson y Sanderson 1997).

Se puede variar el grado de acetilación de la GG, para obtener diferentes propiedades, los de mayor grado de desacetilación se caracterizan por formar geles más fuertes. La GG se caracteriza por tener elevada estabilidad térmica y por ser formador de hidrogeles transparentes en presencia de cationes mono o divalentes.

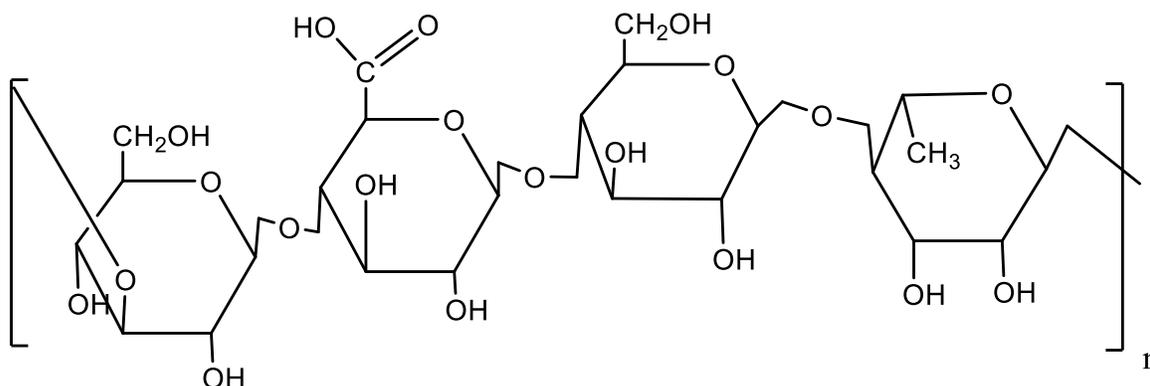


Figura 6. Estructura química de la Goma gellan de alto acilo.

Sus aplicaciones varían desde la industria alimenticia como agente espesante, gelificante y estabilizador, hasta en la medicina, donde se utiliza en la regeneración de tejidos y en la administración de fármacos. El uso de la GG en la preparación de alimentos y medicinas ha sido aprobado por la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA) y la Unión Europea.

La versatilidad de la GG permite su procesamiento para formar diferentes estructuras como discos, membranas, fibras, partículas, andamios e hidrogeles. Oliveira et al. 2010 demostraron que la GG es muy versátil en términos de procesamiento y se puede controlar su geometría final por medio de la temperatura y pH, dando como resultado estructuras con diferentes formas usando diferentes técnicas.

La GG puede formar redes acopladas o redes interpenetradas para mejorar las características gelificantes y propiedades del gel (como mecánicas, barrera, etc.) de la manera deseada.

3.7.1 Síntesis

Para obtener GG, el cultivo puro de *S. elodea* es inoculado en un medio de fermentación que contiene una fuente de carbono como la sacarosa, glucosa, fuente de nitrógeno y sales inorgánicas (Figura 7). Después, el sistema se mantiene en condiciones estériles y controladas de pH, temperatura y agitación (Giavasis et al. 2000; Gibson y Sanderson 1997).

El caldo se vuelve más viscoso conforme el organismo metaboliza la glucosa. Cuando la fuente de carbono se agota, el caldo se somete a un tratamiento con álcali para eliminar sustituyentes de acilo y residuos.

Por último, el polímero se precipita con alcohol o se realiza un proceso de desacetilación. Este caldo puede recuperarse por diferentes caminos para obtener dos tipos diferentes de GG, es decir si se recupera directamente usando precipitación con alcohol se obtiene GG de alto acilo (A). La GG alto de acilo se caracteriza por su naturaleza viscosa y su capacidad para de formar geles con propiedades cohesivas y elásticas.

Alternativamente, la goma se puede tratar en medio alcalino para eliminar el componente acilo, creando la estructura desacetilada (B). Esta goma desacetilada da lugar a soluciones de bajas viscosidades, mientras que sus geles son bastantes rígidos y quebradizos.



Figura 7. Proceso de fabricación de goma gellan. A) Goma gellan de alto acilo clarificada B) Goma gellan de bajo acilo clarificada.

Es de vital importancia conocer las propiedades características de los diferentes tipos de GG, en seguida se explica las propiedades fisicoquímicas que los diferencian.

3.8 Propiedades Fisicoquímicas

Las propiedades fisicoquímicas de la GG se ven influenciadas por la presencia y la cantidad de cadenas laterales de grupos de acilo. Sus propiedades están definidas con base en el contenido de acilo y en la relación de acetato/glicerato en las cadenas. A continuación, se tratará con más detalle las propiedades de la GG.

3.8.1 Grado de desacetilación

Además de la GG nativa existen dos tipos diferentes de acuerdo con su grado de desacetilación (Sworn 2009):

- GG de alto acilo clarificada: donde el grado de desacetilación es parcial.

- GG de bajo acilo clarificada: el grado de desacetilación es alto.

3.8.2 Viscosidad

La viscosidad intrínseca depende de la fuerza iónica, de su estructura y de la presencia o ausencia de grupos acilo (Banik et al. 2000). Además, la viscosidad es dependiente de la temperatura; disminuye cuando la temperatura aumenta. En general, la solución acuosa de GG presenta alta viscosidad.

3.8.3 Transparencia

El alto contenido de azúcares presentes en la GG, permite que se formen geles transparentes.

3.8.4 Hidratación

La presencia de iones mono y divalentes tiene un efecto inhibitorio sobre la hidratación a temperatura ambiente. En agua desionizada a temperatura ambiente, la GG se hidrata parcialmente. Para alcanzar una hidratación completa se requiere utilizar agua caliente alrededor de los 70 °C.

La GG puede ser hidratada incluso a pH bajo, pero si el pH es inferior de 3.2, la hidratación de la GG se inhibe (García et al. 2011). Cabe mencionar que se debe tener cuidado cuando se expone a condiciones ácidas y calientes, ya que la exposición prolongada a altas temperaturas puede provocar degradación hidrolítica y con la consiguiente pérdida de funcionalidad (Sworn y Stouby 2021).

Cuando la GG ha sido hidratada, la adición de iones a la solución caliente, si se mantiene la temperatura por encima de la temperatura de gelificación, evitará que el gel se forme (Sworn 2009).

3.8.5 Solubilidad

La GG es soluble en agua. Se requieren cationes, ácidos, sólidos solubles o combinaciones de estos para mejorar su solubilidad y ser capaz de formar geles (Cassanelli et al. 2017).

3.8.6 Gelificación

El mecanismo de gelificación en hidrogeles reticulados físicamente se debe a las interacciones iónicas entre las hélices del polisacárido cargadas negativamente y la presencia de cationes provenientes del reticulante.

Los hidrogeles reticulados físicamente tienen ventajas respecto a los hidrogeles químicos. Las interacciones secundarias que unen a los hidrogeles físicos facilitan su biodegradabilidad y la eliminación de sus componentes en el cuerpo.

Los hidrogeles de GG se han preparado mediante la combinación de diferentes azúcares como sacarosa, fructosa y glucosa para mejorar las propiedades gelificantes.

Adicionalmente, se han utilizado cationes o productos naturales (por ejemplo, quitosano, pectina, alginato, gomas, polisacáridos, almidón, proteínas, etc.) y polímeros sintéticos (es decir, ácido poliacrílico, polietilenglicol, alcohol polivinílico, carboximetilcelulosa, etc.).

3.9 Aplicaciones

La GG es muy versátil y sus aplicaciones abarcan desde la industria alimenticia hasta aplicaciones biomédicas (Figura 8). A continuación, se describen con más detalle:

- 3.9.1 Aplicaciones en alimentos:

Se utiliza como estabilizador, para dar más textura, como espesante y como formador de película comestible. Dependiendo de la aplicación, se elige la fuente de producción de la GG. Patarroyo y Cárdenas, 2014 aplicaron una película comestible a base de goma gellan, caseína y gelatina para prolongar la vida de anaquel de la mora de castilla.

Se utiliza en la elaboración de bebidas a base de frutas y en diversos productos lácteos como helados, leche y yogur como agente gelificante y estabilizante, debido a la estabilidad térmica y la baja viscosidades de la GG a altas temperaturas (Giavasis et al. 2000).

La interacción de las cargas negativas de la GG con los grupos positivos de las proteínas de la leche provoca la precipitación de la leche. En otros productos lácteos como el queso cheddar, las interacciones de la GG con las proteínas de leche ayudan a reducir la pérdida de sólidos como proteínas en el suero.

Kia et al. 2018 desarrollaron un yogur probiótico mediante la incorporación de concentrado de proteína de leche y micro encapsulado *Lactobacillus paracasei* en una mezcla de GG-caseinato. La GG influyó positivamente en las propiedades funcionales del yogur.

Además, es utilizado en la repostería y panadería como agente reductor de fraguado. Se puede utilizar como gelatina, en comparación con el alginato o el agar, la GG es altamente transparente.

Kim y Chun, 2004 utilizaron una mezcla de GG y goma xantana en diferentes proporciones, para modificar la textura de un pastel frito tradicional coreano, donde se observó que la GG modifica más la textura del pastel en comparación de la goma xantana.

Otras investigaciones en la industria alimenticia se han enfocado en las propiedades térmicas de la GG para su uso con rellenos de frutas utilizados en panadería y repostería. El estudio de Cropotova et al. 2017 reveló que existe una influencia en la GG como estabilizador térmico en rellenos de manzana, y lo correlaciona con las propiedades termoestables del polímero

- 3.9.2 Cosméticos:

Por la naturaleza estable e hidrófila de la GG, se utiliza para extender el tiempo de hidratación de cremas faciales, loción, mascarillas y lápiz labial.

Kozłowska et al. 2020 elaboraron materiales a base de microesferas de goma gellan y goma xantana cargadas con extracto de hierbas para aplicaciones cosméticas; que se pueden almacenar liofilizados y se pueden usar en productos con un tiempo de liberación prolongada.

- 3.9.3 Medio de cultivo:

La GG se puede utilizar como alternativo al agar para medios microbiológicos, como medio de crecimiento bacteriano y para el cultivo de microorganismos termófilos. Destaca por formar geles termoestables, ya que pueden soportar tiempos de incubación prolongados a altas temperaturas.

- 3.9.4 Aplicaciones biomédicas:

Se utiliza para la liberación controlada o sostenida de varios fármacos.

Singh y Kim, 2005 estudiaron el efecto de la liberación y encapsulación de azatioprina en perlas de GG preparadas con diferentes reticulantes: CaCl_2 , ZnCl_2 , BaCl_2 , CuCl_2 , y MgCl_2 . Los estudios mostraron que a pesar de que las perlas reticuladas con CuCl_2 presentaron una mayor eficiencia de cargado del fármaco, las perlas reticuladas con CaCl_2 mostraron mayor resistencia mecánica y facilidad de manipulación.

Investigaciones anteriores han logrado incorporar ibuprofeno en hidrogeles de GG reticulados con CaCl_2 (Sebri y Amin 2015). El perfil de liberación mostró una liberación lenta, junto con excelentes propiedades mecánicas, haciéndolo candidato potencial para apósito de heridas en ingeniería de tejidos.

Los autores (Cardoso et al. 2017) prepararon un hidrogel mezclando dos polisacáridos naturales (GG y almidón) reticulado con AlCl_3 y glutaraldehído, los cuales presentaron adecuadas propiedades mecánicas y estructurales convirtiéndolos en materiales prometedores para aplicaciones de administración de fármacos.

También se han investigado hidrogeles de GG-albumina-sulfato de condroitina reticulados con poliaminas como la espermidina (SPD), para aplicaciones farmacéuticas. Los hidrogeles presentaron propiedades de hinchamiento, mecánicas y morfológicas adecuadas y fueron capaces de liberar eficientemente diferentes moléculas de uso farmacéutico (Teofilina, Vitamina B12 y mioglobina). Los hidrogeles mostraron ausencia de citotoxicidad en fibroblastos W3T3, evidenciando su gran potencial para aplicaciones en el campo biomédico (López-Cebral et al. 2013).

Koivisto et al. 2017 evaluaron el potencial de hidrogeles de GG reticulados con la espermidina y espermina. Concluyeron que los hidrogeles de GG son citocompatibles y pueden ser usados como andamios para células neurales humanas.

Además, se han desarrollado hidrogeles GG que contienen nanotubos de carbono como candidatos prometedores para aplicaciones biomédicas en ingeniería de tejidos, capaces de estimular células para la formación de tejido (Ferris y Panhuis 2009).

Por otro lado, se investigó la eficiencia de hidrogeles de GG con PPy (Berti et al. 2017) en usos de ingeniería de músculo esquelético. La polimerización química oxidativa del Py se llevó a cabo *in situ*, utilizando como oxidante persulfato de amonio (APS). No se observó citotoxicidad en células L929 y se observó buena adherencia en células (C2C12) del musculo esquelético, por lo tanto, se propuso el material para aplicaciones en ingeniería de tejido de musculo esquelético.

Zargar et al. 2019 incorporaron 2% en peso de óxido de grafeno reducido en hidrogeles de GG reticulado con CaCl_2 , para la aplicación como andamio en tejido miocárdico. Los ensayos no mostraron citotoxicidad en mioblastos de rata (H9C2).



Figura 8. Aplicaciones de GG.

La GG es capaz de formar geles en presencia de cationes, como la espermidina.

3.10 Espermidina

La espermidina es una poliamina de naturaleza policatiónica en un amplio intervalo de valores de pH y se encuentra en los tejidos asociados con ácidos nucleicos. Es una molécula estructuralmente sencilla que regula múltiples procesos celulares.

La SPD se encuentra entre los principales constituyentes de las poliaminas como la putrescina y la espermina (Figura 9). Las poliaminas fueron descubiertas en 1678 por Antonie Van (Herrera et al. 2014). Tienen cadenas variables de hidrocarburos y dos o más grupos amino primarios.

La espermidina es una de las moléculas que se encuentra en todas las células de todos los reinos, prevaleciendo en las células de mamíferos, donde puede cumplir diferentes funciones (López-Cebral et al. 2013). Se encuentran en altas concentraciones en el sistema nervioso de los vertebrados.

En los seres humanos, la espermidina proviene de dos fuentes diferentes, por origen endógeno y exógeno. Se obtiene endógenamente mediante la biosíntesis de novo y los

productos del catabolismo de las células intestinales. El origen exógeno se deriva del consumo dietético y de la producción de espermidina por microorganismos intestinales (Herrera et al. 2014).

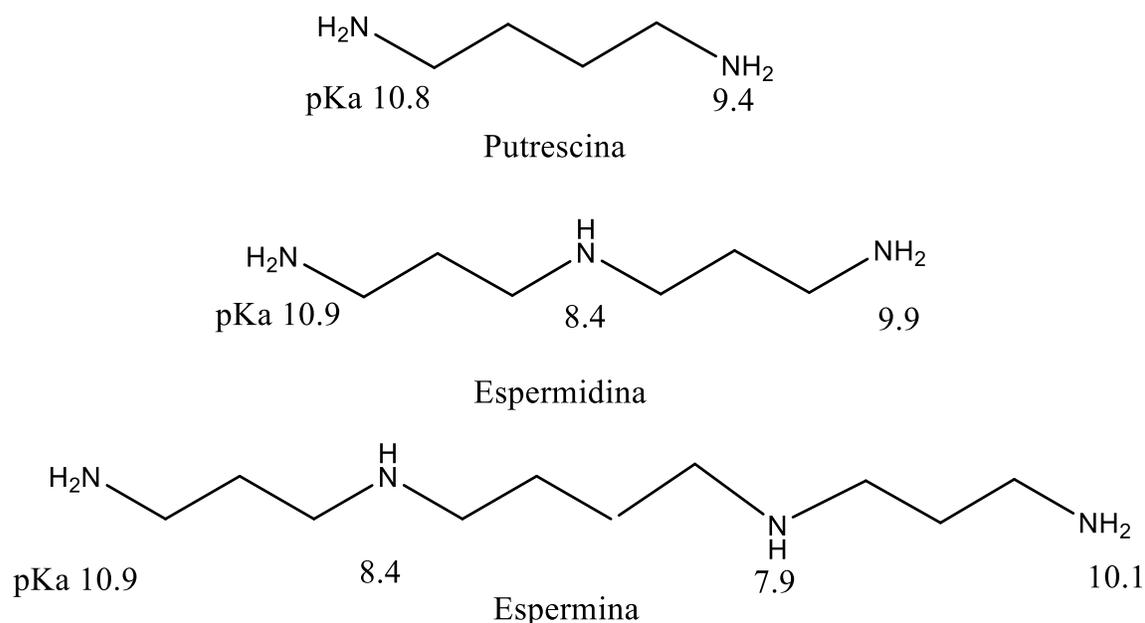


Figura 9. Estructura y valores de pKa de putrescina, espermidina y espermina.

3.10.1 Síntesis

La síntesis de las poliaminas inicia con los precursores arginina u ornitina, los cuales son metabólicamente reversibles, la L-ornitina se puede convertir en L-arginina por acción de la enzima arginasa (Luna-Esquivel et al. 2014).

Estas poliaminas se generan a partir de la descarboxilación de arginina u ornitina, catalizados por arginina u ornitina descarboxilasa (ADC o ODC) como se observa en la Figura 10. Un gran porcentaje de células de mamíferos tienen la capacidad de producir poliaminas a partir de ornitina descarboxilasa (ODC), primero se produce la putrescina y después se originan la espermidina y la espermina, por acción de la espermidina sintasa y la espermina sintasa, respectivamente.

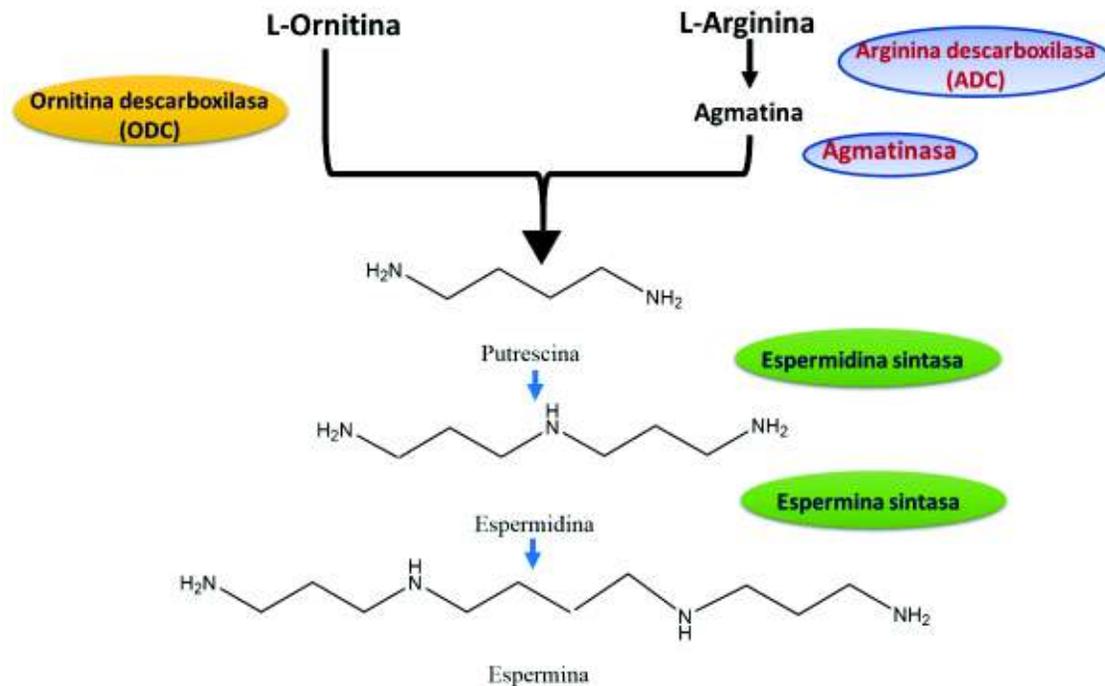


Figura 10. Síntesis de poliaminas.

3.10.2 Aplicaciones

Numerosas investigaciones realizadas en seres humanos y en animales han evidenciado la importancia de las poliaminas. Estas son de gran interés para el hombre porque participan en procesos de señalización, replicación, transcripción, traducción, diferenciación y apoptosis celular (Herrera et al. 2014).

Además, las poliaminas son de vital importancia en procesos de estimulación del sistema inmunitario y modulan diferentes actividades enzimáticas (Figura 11). La espermidina desempeña un papel positivo en diferentes procesos regenerativos, se cree que modulan el aprendizaje y la memoria al interactuar con el sitio de unión de la poliamina con el receptor NMDA, y se ha comprobado que ayuda a mejorar la memoria en ratones; sin embargo, no se ha definido el mecanismo por el cual ocurre (Guerra et al. 2012). La citotoxicidad y la biocompatibilidad son puntos clave para su uso, informes anteriores muestran toxicidad nula en fibroblastos W3T3 en la aplicación de hidrogeles reticulados con espermidina (López-Cebral et al. 2013).

El uso de espermidina es prometedor, recientes investigaciones han encontrado que es útil para la detección de biomarcadores de cáncer de próstata y ha demostrado ser eficiente

en la protección y unión del ADN (Gururajan y Narayanaswamy 2016). Asimismo, se ha observado que tiene efectos antiinflamatorios y proporciona protección al ADN ante el estrés oxidativo.

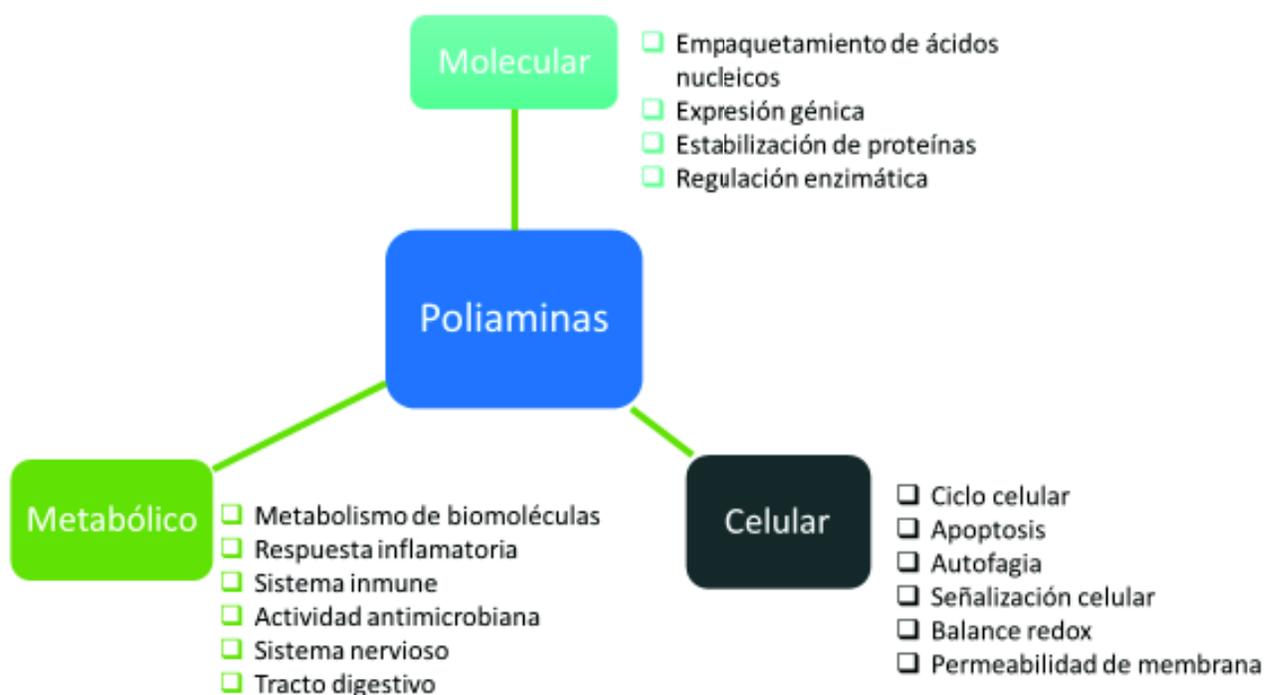


Figura 11. Sistemas biológicos y procesos en los que participan las poliaminas.

Cuando se trata de unir y proteger al ADN, la espermidina se convierte en buen candidato para este uso. La distribución de sus cargas y la flexibilidad de la molécula le permite unirse a macromoléculas como el ARN, ADN y en menor proporción a moléculas de ATP, proteínas y fosfolípidos. Además, dado a su naturaleza policationica puede ser útil en la administración de fármacos con carga negativa.

Debido a la elevada afinidad y a la selectividad de la espermidina se ha identificado como una molécula de relevancia biológica. Por las buenas propiedades que se describieron de la espermidina, en este trabajo se optó por utilizarlo como entrecruzante en la formación de hidrogeles de GG. Como se mencionó anteriormente, en la actualidad se estudian nuevos sistemas para la administración de fármacos, es por lo cual, en este proyecto se propuso elaborar un material híbrido que responda a estímulos eléctricos para controlar la liberación de fármacos, partir de la incorporación de un polímero electroconductor.

3.11 Polímeros conductores

Un polímero conductor (PC) es un material orgánico capaz de conducir electricidad. En 1964, Little publicó un trabajo teórico sobre la posibilidad de obtener superconductores orgánicos a temperatura ambiente, lo cual impulsó la idea de obtener los llamados polímeros conductores intrínsecos (Little 1964).

Los polímeros electroconductores han sido ampliamente estudiados debido a sus características distintivas, como propiedades físicas y químicas versátiles, es por lo que su investigación es un requisito indispensable para su apropiada utilización.

Los conductores electrónicos se pueden clasificar como extrínsecos e intrínsecos. Los conductores extrínsecos son aquellos donde la conductividad eléctrica se debe a la inclusión de otros materiales (como nanotubos de carbono, metales, etc.) que poseen conductividad. En cambio, los conductores intrínsecos son aquellos polímeros en los cuales la conductividad es una propiedad inherente del material.

Los polímeros conductores intrínsecos se caracterizan por poseer una distribución de dobles enlaces alternados C=C con enlaces sencillos C-C, a lo largo de la cadena polimérica. En algunos casos, la conjugación se extiende por la presencia de heteroátomos con pares de electrones libres. Entre este grupo de polímeros se encuentran el poliacetileno, el polipirrol (PPy), el politiofeno y la polianilina (Figura 12).

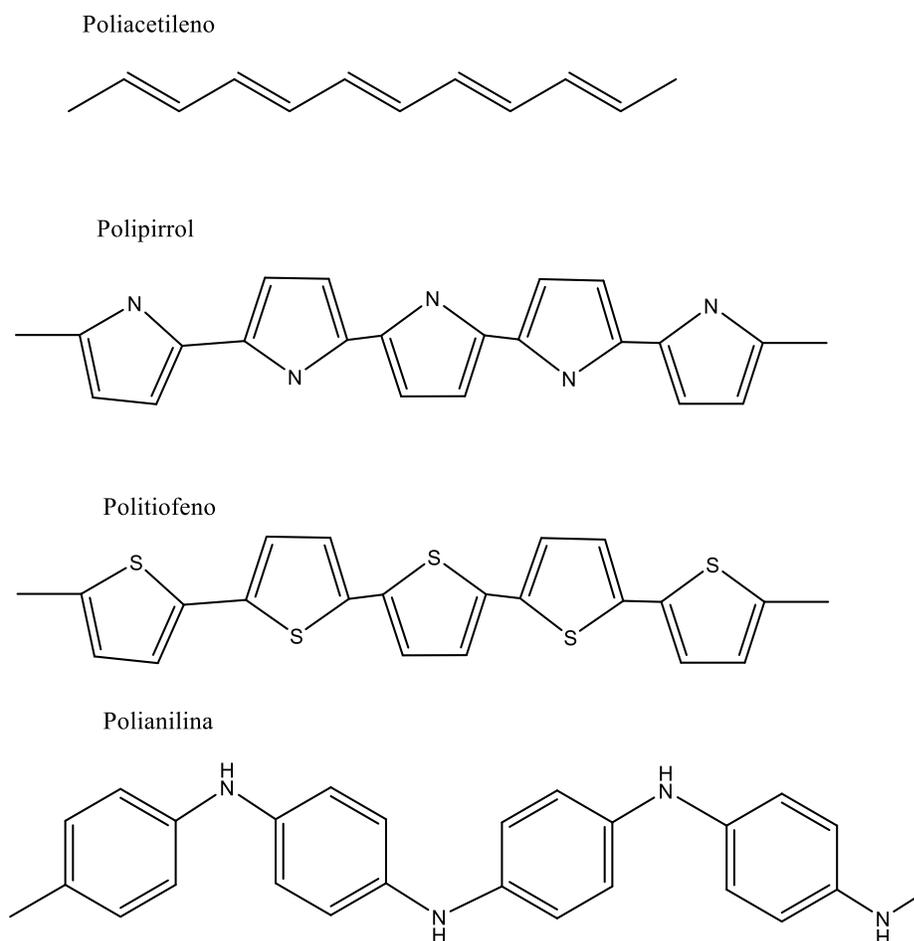


Figura 12. Polímeros conductores (en su forma no dopada).

Entre los polímeros conductores intrínsecos destaca el PPy, el cual se ha evaluado en múltiples aplicaciones, que abarcan dispositivos electrónicos, baterías, sensores y sistemas biomédicos. La síntesis del PPy puede llevarse a cabo mediante diferentes técnicas, basadas en procesos electroquímicos o de oxidación química usando diversos disolventes orgánicos y también, medios acuosos.

La relativa sencillez en el proceso de síntesis, la estabilidad química, la alta afinidad electrónica, el bajo potencial de ionización y la biocompatibilidad con diferentes células, hacen que el PPy sea un buen candidato para su evaluación en aplicaciones biomédicas. En este contexto, se ha reportado su uso como recubrimiento electroconductor de poliaminas para ingeniería de tejidos.

3.12 Polipirrol

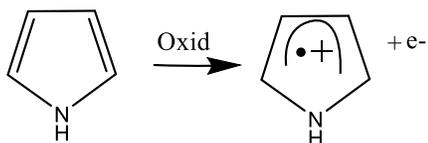
El pirrol es un compuesto heterocíclico, compuesto de un anillo que contiene átomos de carbono y nitrógeno, unidos por dobles enlaces (C=C) alternados. El PPy se forma al oxidar monómeros de pirrol que, en conjunto con los contraiones asociados a la cadena principal, generan un polímero conductor.

El PPy se descubrió en 1968 por Dall'Olio et al. quienes lo obtuvieron por oxidación electroquímica del pirrol en medio sulfúrico diluido. Inicialmente, fue llamado negro de pirrol por su apariencia ya que se formó un precipitado negro, insoluble y en forma de polvo. Sin embargo, es hasta 1977 que se reconoció su capacidad conductora después del descubrimiento de (Shirakawa et al. 1977).

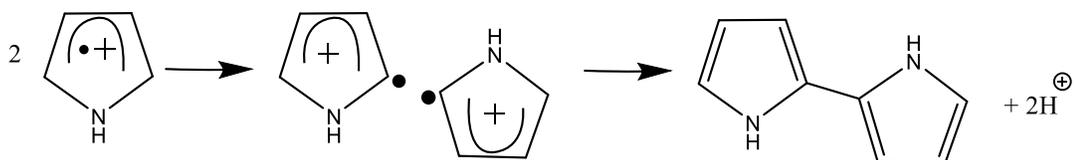
El mecanismo de polimerización del pirrol se basa en el acoplamiento de radicales catiónicos, tal como se muestra en la Figura 13. El mecanismo comienza con la oxidación de un monómero de pirrol que promueve la formación de un catión radical. En seguida, ocurre el acoplamiento de dos cationes radicales y posteriormente la desprotonación, dando como resultado la formación del bpirrol. El bpirrol se oxida y se une a otro segmento oxidado.

En la propagación ocurre una re-oxidación, el acoplamiento y la desprotonación para formar oligómeros o cadenas largas de PPy. Cuando la longitud de la cadena sobrepasa el límite de solubilidad del disolvente, el PPy se precipita.

Iniciación: Oxidación del monómero



Acoplamiento: Radical-Radical



Propagación

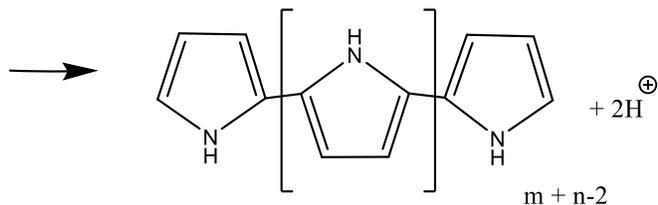
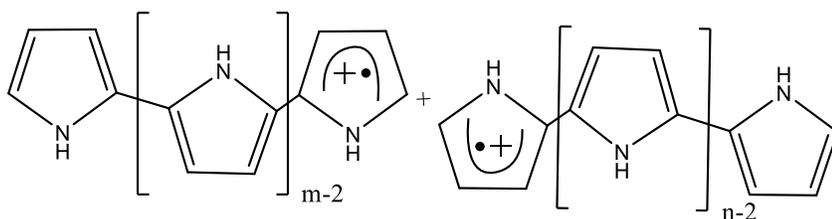
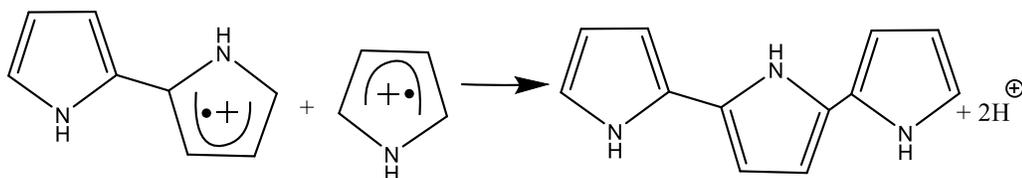
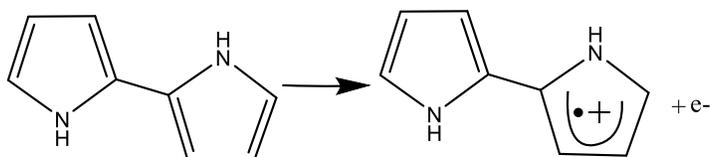


Figura 13. Mecanismo de polimerización del PPy mediante el acoplamiento de radicales cationes.

3.12.1 Aplicaciones

Se ha reportado la incorporación de PPy en matrices de hidrogeles con potencialidad para aplicaciones biomédicas debido a su biocompatibilidad con varios tipos de células. Entre los

estudios se encuentra la preparación de un hidrogel nanocompuesto de polipirrol y goma gellan que mostró no tener citotoxicidad para las células L929 y además, presentó adherencia a células del músculo esquelético C2C12 (Berti et al. 2017).

Por otro lado, también se reportó el recubrimiento de electrodos de polipirrol dopados con GG (Higgins et al. 2011), con lo que se obtuvo una reducción significativa de la impedancia encontrada en las frecuencias relevantes para la comunicación de las células neurales, mejorando las características electroquímicas de electrodos protésicos neurales.

3.13 Polimerización por emulsión

3.13.1 Emulsión

Uno de los métodos de obtención de PPy más amigables con el medio ambiente, es por el método de emulsión. La polimerización en emulsión se lleva a cabo en medio líquido y requiere de un emulsificador, controladores de pH, reguladores de tensión superficial, reguladores de polimerización y activadores.

El emulsificante tiene la función de formar micelas, donde el monómero queda contenido. La reacción de polimerización se puede llevar dentro de las micelas, los polímeros obtenidos con esta técnica son de altos pesos moleculares y la polimerización tiene alta velocidad de reacción y conversión. Esta polimerización se puede controlar fácilmente a través de la agitación y temperatura.

En este trabajo se utilizó la técnica de emulsión por ser un método eficaz para producir polímeros a escala nanométrica. Reportes anteriores han mostrado que las moléculas de tensioactivos permanecen ligadas fuertemente a los coloides de PPy como contraiones o estabilizadores. Debido a lo anterior, es importante seleccionar adecuadamente los tensioactivos, principalmente cuando el polímero se pretende usar en un medio biológico.

Por ello en este trabajo se consideró utilizar la química verde para obtener coloides poliméricos con características adecuadas para aplicaciones biomédicas (Grijalva-Bustamante et al. 2020). Se utilizó taurocolato de sodio como biosurfactante y H_2O_2 como iniciador de la polimerización ya que este se degrada a agua y oxígeno molecular.

En seguida se explica la teoría de conducción para poder entender con mayor profundidad, como conducen electricidad los polímeros electroconductores.

3.14 Teoría de conducción

Los materiales se pueden clasificar en función de su conductividad eléctrica como aislantes, semiconductores y conductores. Entre las diferentes teorías y mecanismos para explicar la conducción electrónica, las más comunes son el modelo de banda, el mecanismo de salto y el modelo de percolación.

El modelo de bandas proporciona información sobre los estados electrónicos del material para comprender si un material es conductor o aislante. En este modelo se consideran los estados electrónicos de la banda de conducción (BC) y la banda de valencia (BV). La BC incluye los niveles de energía no ocupados, mientras que la BV corresponde a los niveles electrónicos ocupados (Figura 14).

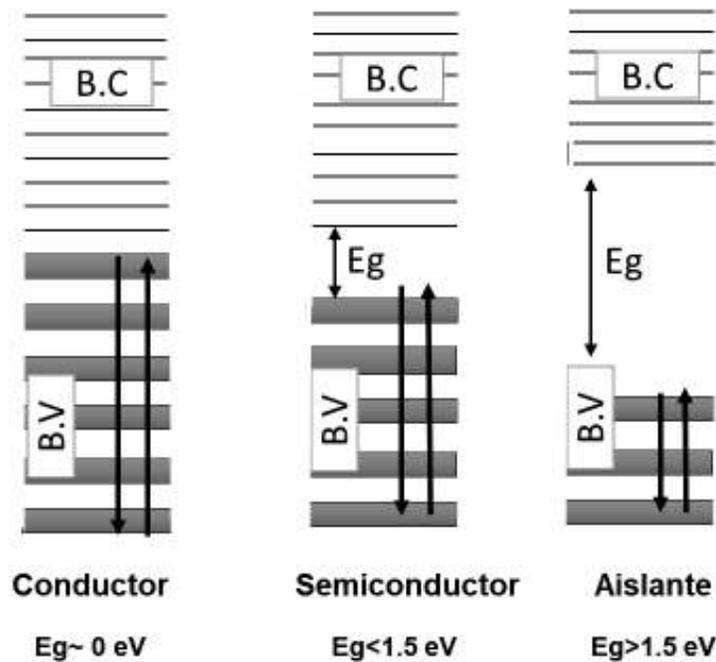


Figura 14. Modelo de bandas para los materiales con base a su grado de conductividad eléctrica.

A la diferencia de energía entre la BV y la BC se le denomina brecha de banda o banda prohibida (E_g). En los materiales convencionales, el material se comporta como conductor cuando hay una transición de electrones desde la BV a la BC.

En los materiales conductores como los metales, la BV y la BC se solapan. Por otro lado, en los semiconductores inorgánicos, la E_g es estrecha y a temperaturas relativamente

bajas, los electrones se pueden excitar desde la BV a la BC y funcionar como portadores de carga para conducir electricidad. La brecha de energía que separa las BC y BV es muy grande en los materiales aislantes y, por consiguiente, es difícil excitar los electrones.

Un polímero con carga neutra se clasifica como aislante porque la brecha de energía es suficientemente amplia para limitar la transferencia de electrones de la BV a la BC a temperatura ambiente (Figura 15).

La conductividad asociada a los polímeros en estado conductor no se puede explicar completamente con el uso de este modelo. Actualmente se acepta que la naturaleza conductora de los polímeros se fundamenta en la formación de diferentes estados redox desestabilizados tras la oxidación o reducción de unidades de la cadena principal. Estas distorsiones electrónicas asociadas a segmentos de la cadena pueden extenderse a lo largo de las cadenas y generar portadores de carga móviles. Según su naturaleza electrónica, las distorsiones pueden ser de tipo polarones y bipolarones.

En este contexto, el dopaje se define como un proceso donde se introducen contraiones (dopantes) para estabilizar las cargas móviles en un sistema polimérico π -conjugado. Este proceso acompaña la oxidación o reducción de la cadena principal del polímero.

Durante la formación del PPy en medio ácido, se produce la extracción de una carga negativa en un segmento neutro de la cadena del polímero, lo que produce una estructura con carga positiva y espín desapareado que se conoce como polarón (Figura 15). La formación del polarón induce dentro de la E_g , la formación de dos nuevos estados intermedios (enlazante y antienlazante). El electrón desapareado ocupa el lugar en el estado enlazante de baja energía y otorga un espín de $\frac{1}{2}$ al polarón (Figura 15).

Si el proceso de oxidación se extiende, se favorece la extracción de otra carga negativa en el segmento que abarca el polarón, dando lugar a la formación de un bipolarón. El bipolarón es energéticamente más favorable en comparación a la formación de dos polarones (Figura 15 y 16).

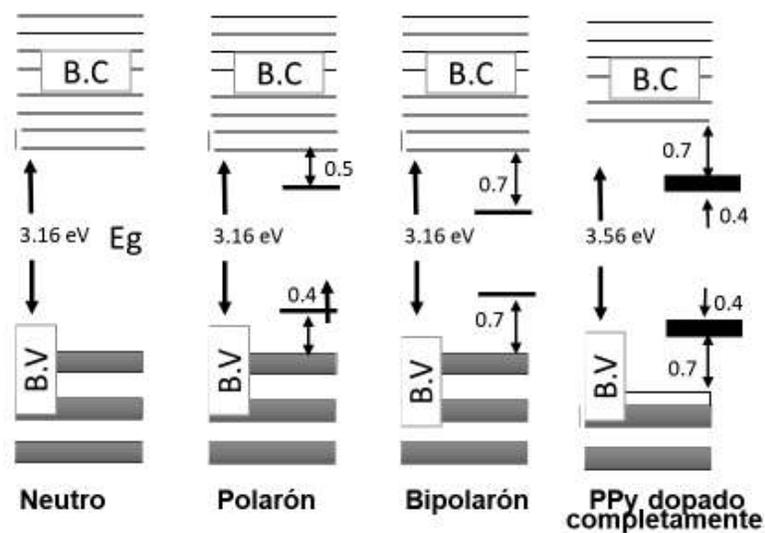


Figura 15. Diagrama de energías electrónicas para PPy Neutro, Polarón, Bipolarón y PPy Completamente dopado.

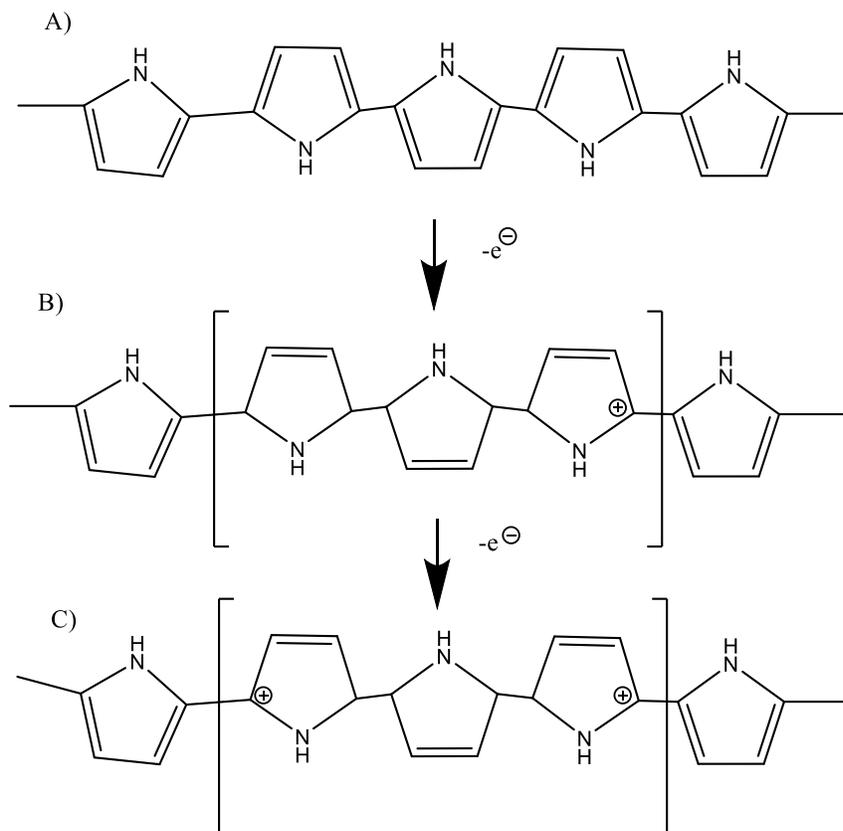


Figura 16. Estructuras electrónicas de PPy: A) Neutro, B) Polarón y C) Bipolarón en estado completamente dopado.

3.14.1 Aplicaciones biomédicas

Se ha reportado la incorporación de PPy en matrices de hidrogeles con potencialidad para aplicaciones biomédicas debido a su biocompatibilidad con varios tipos de células. Entre estos estudios se incluye la preparación y caracterización de un hidrogel nanocompuesto de GG y PPy que demostró no tener citotoxicidad para las células L929 y además, al que se adhirieron a células del músculo esquelético C2C12 (Berti et al. 2017).

Por otro lado, también se ha reportado el recubrimiento de electrodos de PPy dopados con GG (Higgins et al. 2011), mostrando una reducción significativa de la impedancia en frecuencias que son relevantes para la comunicación de las células neurales, mejorando las características electroquímicas de electrodos protésicos neurales.

3.15 Mecanismos de cargado de fármacos en PC

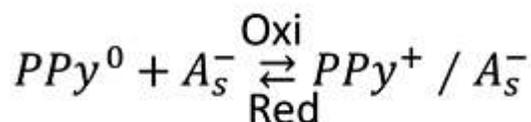
En general, los principales mecanismos para el cargado de fármacos en polímeros electroconductores se basan en interacciones electrostáticas entre el polímero conductor y el fármaco cargado, interacciones hidrofóbicas y el atrapamiento físico.

3.15.1 Interacciones electrostáticas:

Como se observa en la Figura 17, un fármaco (A_s) de carácter aniónico se puede asociar al PPy como contratién por medio de un proceso de oxidación, donde se produce una interacción electrostática a partir de las cargas positivas que se generan en el polímero electroconductor y las que tiene el fármaco cargado.

En el caso del PPy, teóricamente se considera que el máximo cargado o incorporación de dopante al PPy se da cuando se asocia una molécula de dopante por cada 3 unidades de pirrol. Esto es en el caso de moléculas pequeñas.

En caso de utilizar dopantes de gran peso molecular, este intercambio de masa que comúnmente ocurre en el polímero electroconductor mediante los procesos redox es mucho más complejo, ya que es más difícil el proceso de difusión del dopante a través del volumen del polímero. En este caso, un fármaco catiónico B^+ puede incorporarse al PPy dopado con un dopante de alto peso molecular mediante un proceso de reducción.



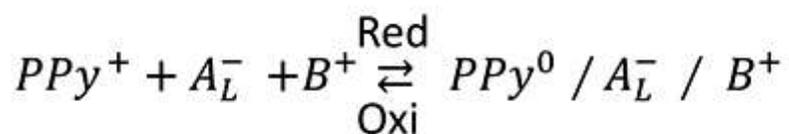


Figura 17. Interacciones electrostáticas.

En el proceso redox se intercambian los iones que están presentes en el medio, es decir, los iones del electrolito que está en contacto con el sistema conductor. Cuando el PPy está en estado conductor y se quiere llevar a estado neutro, se lleva a cabo un proceso de reducción. Durante este proceso, el ion dopante de alto peso molecular no va a salir del sistema polimérico. Al aplicar carga catódica al sistema, lo que va a ocurrir es que las especies iónicas cargadas positivamente presentes en el electrolito se van a incorporar al polímero conductor para balancear la carga negativa del dopante.

En resumen, mediante un proceso de reducción se tendrá asociado al PPy, el dopante de alto peso molecular cuya carga se contrarresta, no con la del polímero conductor sino con la del fármaco de carácter catiónico.

3.15.2 Interacciones hidrofóbicas y atrapamiento físico:

El mecanismo de interacciones hidrofóbicas sirve para explicar el cargado de fármacos de baja solubilidad, por lo que comúnmente se utilizan sistemas como micelas para realizar el cargado y como material de soporte.

Los fármacos pueden formar complejos directamente con los polímeros conductores, pero el uso de plantillas durante la polimerización hace que la polimerización sea más versátil y se pueda dirigir.

En el atrapamiento físico se puede usar una plantilla para cargar el fármaco, la plantilla se puede retirar después de la polimerización y el espacio vacío puede actuar como un depósito para contener el fármaco. El atrapamiento incluye el encerramiento del fármaco dentro de una matriz polimérica o detrás de una membrana semipermeable.

La interacción hidrofóbica ocurre en la solución acuosa, donde las sustancias poco solubles en agua pueden tener una interacción entre sí. Debido a la baja afinidad de ambas sustancias con la fase acuosa, la agregación de las sustancias sería favorable, ya que reduce el área de contacto entre la sustancia hidrófoba y la fase acuosa.

La síntesis de los polímeros conductores se puede realizar mediante la técnica de emulsión. Las micelas se forman en la fase continua acuosa, donde el núcleo hidrófobo se puede usar para cargar fármacos hidrófobos, y su superficie hidrófila proporciona estabilidad coloidal. Comúnmente las micelas tienen la capacidad para solubilizar el fármaco y actuar como plantilla para guiar la polimerización del monómero.

La estimulación eléctrica a sistemas de polímero conductor/fármaco puede alterar las tasas de administración del fármaco. Este comportamiento estímulo-respuesta se puede atribuir a los cambios en la carga de la cadena principal del polímero, así como modificaciones del volumen del polímero, su permeabilidad y equilibrio hidrofílico/hidrofóbico.

3.16 Mecanismo de liberación de fármacos en PC

El mecanismo de liberación del fármaco desde polímeros conductores está controlado por su estado redox. De acuerdo con su condición redox, se puede modificar sus interacciones electrostáticas y, al mismo tiempo, su volumen:



Figura 18. Mecanismo de liberación del fármaco por contracción de volumen.

Cuando un fármaco de carácter aniónico es incorporado al PPy mediante un proceso de oxidación, la liberación del fármaco se puede lograr por un proceso de reducción, que implica la disociación del fármaco del polímero. En este caso, el PPy queda en estado neutro y a su vez, ocurre una disminución del volumen libre que hay en el sistema polimérico. Al estar en estado neutro, el PPy genera fuertes interacciones intermoleculares, lo que provoca una

contracción en su volumen que puede llevar a la liberación del fármaco. Este efecto puede ser producido por un estímulo eléctrico o químicamente.

El otro mecanismo ocurre cuando el PPy de carácter catiónico se encuentra asociado a un dopante voluminoso de carácter aniónico y un fármaco de carácter catiónico. En este caso, el proceso de liberación se da por oxidación, que trae consigo una expansión volumétrica, es decir, que aumenta el volumen libre del sistema polimérico y se favorece la difusión del fármaco a través del polímero hasta el medio de liberación (Figura 19).



Figura 19. Mecanismo de liberación del fármaco por expansión de volumen.

3.17 Hidrogeles que responden a estímulos

Una alternativa para generar sistemas poliméricos multifuncionales consiste en encapsular nanopartículas en matrices de hidrogeles. De esta manera se combinan las propiedades inherentes de cada material para potenciar sus aplicaciones. Estos hidrogeles compuestos pueden considerados materiales “inteligentes”, si responden a uno o varios estímulos externos como cambios de pH, temperatura, aplicación de campos magnéticos, eléctricos, entre otros (Figura 20) (Oak et al. 2012).

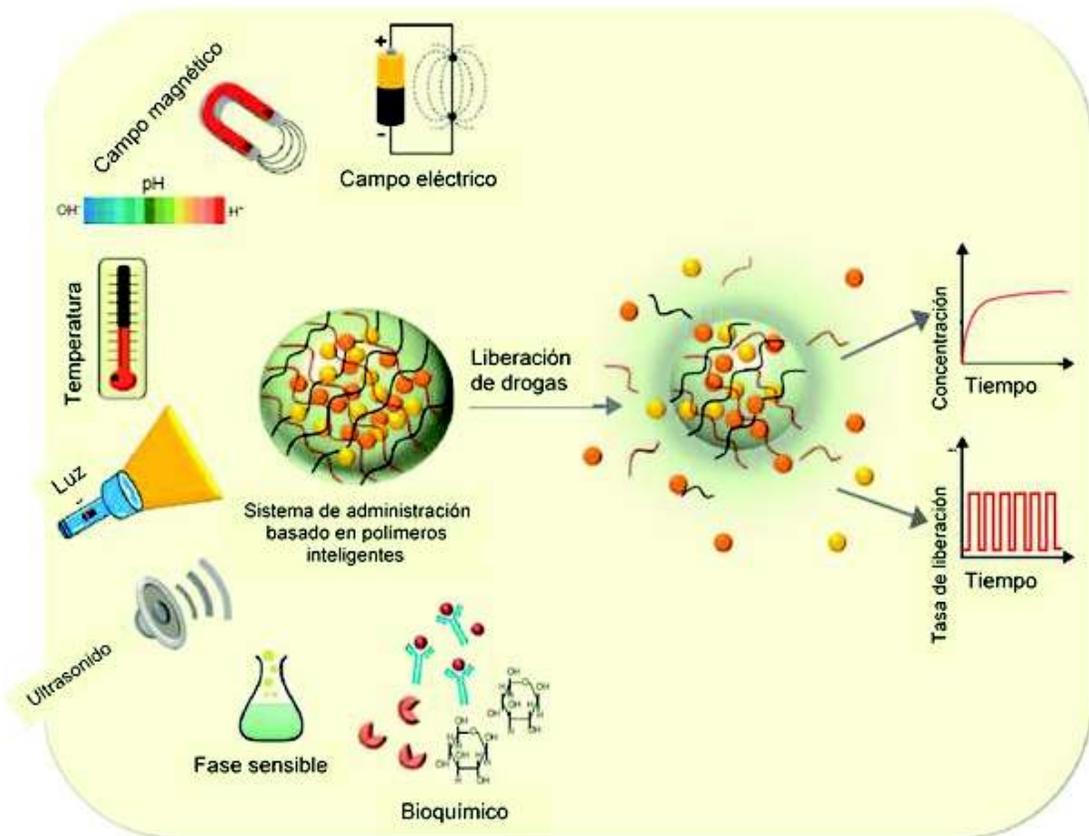


Figura 20. Estímulos que controlan la liberación del fármaco en los sistemas poliméricos inteligentes (Oak et al. 2012).

Los sistemas de liberación controlada basados en polímeros inteligentes buscan reducir los efectos secundarios mediante administración de dosis terapéuticas del fármaco. Otro punto importante que se busca es mantener la concentración requerida del fármaco en el organismo. Como se puede observar en la Figura 21, en un sistema convencional se necesitan varias administraciones del fármaco durante el tratamiento, en cambio, en un sistema de liberación controlada, se busca mantener la concentración terapéutica del fármaco en una dosis.

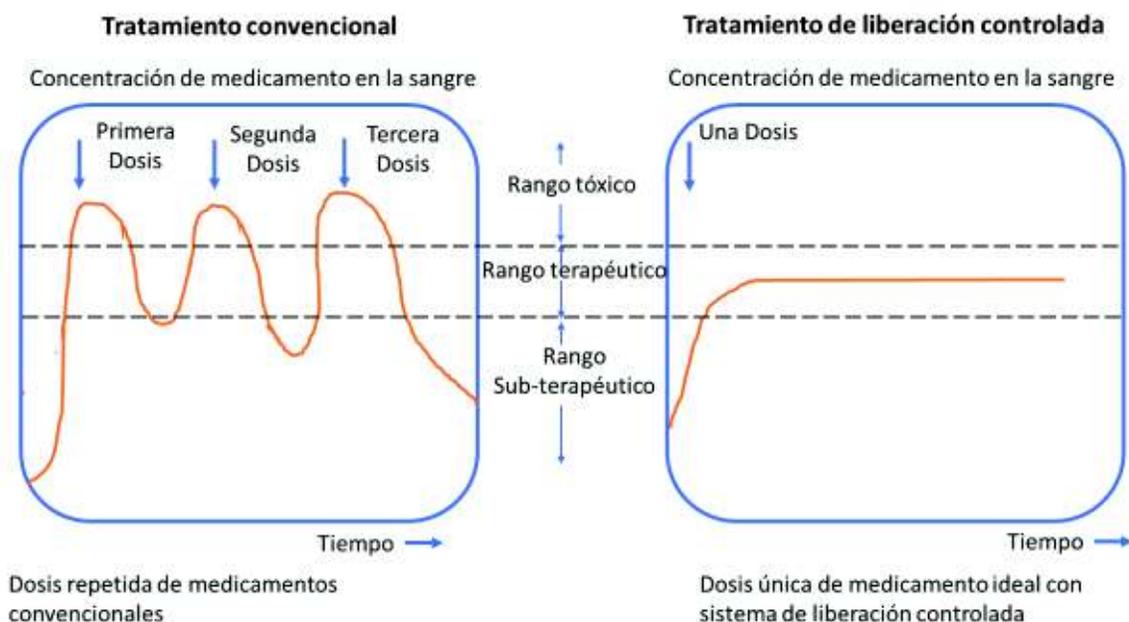


Figura 21. Curvas comparativas de los distintos sistemas de liberación de fármacos.

La concentración del fármaco en el sistema de liberación controlada se mantiene dentro del límite terapéutico, lo que difiere del sistema convencional, en el que se puede llegar a concentraciones tóxicas y concentraciones subterapéuticas.

En particular, los hidrogeles sensibles a campos eléctricos se pueden preparar a partir de partículas de polímeros electroconductores en una matriz reticulada de polímeros hidrofílicos. Los hidrogeles sensibles a campos eléctricos se caracterizan por exhibir una respuesta y deformación rápida bajo condiciones tales como exposición a corrientes iónicas.

3.18 Mecanismos de liberación de fármacos en hidrogel compuesto electroconductor

En hidrogeles estimulados por un campo o potencial eléctricos, la liberación se promueve por cambios físicos o químicos. Por ejemplo, el fármaco puede migrar hacia un electrodo de carga opuesta o bien el hidrogel puede sufrir un cambio en su morfología, como la contracción y promover la salida del fármaco. Los sistemas de liberación eléctricamente activados se pueden explicar con tres mecanismos:

3.18.1 Desarrollo de un gradiente a lo largo del hidrogel. Se mantiene un gradiente de concentración en cada lado del hidrogel y al aplicarle un campo eléctrico se produce

una fuerza en los contraiones móviles y en los grupos cargados inmóviles (Guiseppe-Elie 2010; Murdan 2003). Los contraiones cargados positivamente migran hacia el cátodo, mientras que los grupos aniónicos poliméricos inmóviles son atraídos hacia el ánodo. Se cree que este gradiente de tensión contribuye a la deformación del hidrogel.

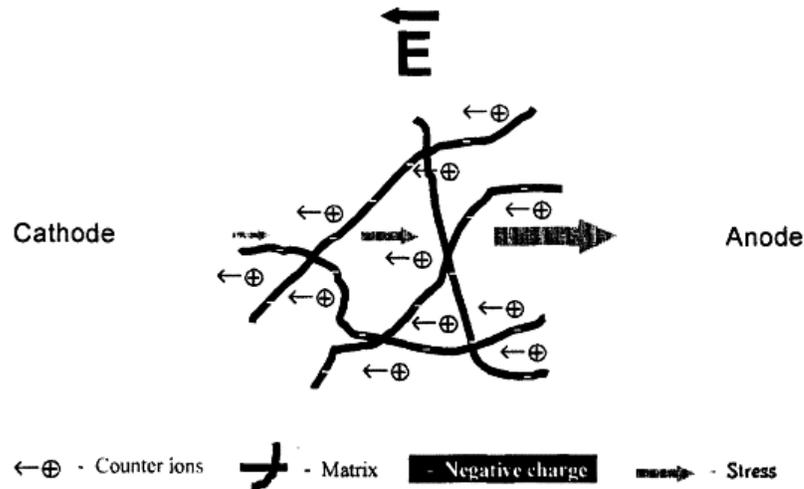


Figura 22. El efecto de un campo eléctrico sobre un gel de polielectrolito (Murdan 2003).

3.18.2 Cambios en el pH del electrodo inducido por la electrólisis del agua (Murdan 2003). Cuando se aplica un campo eléctrico en un medio acuoso, el proceso de electrólisis del agua da como resultado una disminución del pH local en el ánodo y un aumento del pH en el cátodo, conforme el agua se oxida en el ánodo y se reduce en el cátodo.

En los hidrogeles aniónicos, los iones H^+ afectan al hidrogel situado en el ánodo. Los grupos cargados negativamente se protonan y se neutralizan y da como resultado una disminución en la densidad de carga de las cadenas del polímero, repulsión entre cadena-cadena y disminución en la hidratación del polímero, haciendo que el gel se deshaga en el ánodo.

Ocurre de manera similar en los hidrogeles catiónicos, la generación de iones OH^- dan como resultado la deprotonación y neutralización de los grupos cargados positivamente en la red del polímero y por consecuente deshinchamiento del gel en el cátodo. El proceso de deshinchamiento del gel es inducido por el cambio del pH.

3.19.3 Electo-ósmosis del agua acoplada por electroforesis (Murdan 2003). Después de la estimulación eléctrica, los contraiones móviles pueden estar hidratados en la red

del gel (son los que normalmente neutralizan las cargas) migran hacia el electrodo de carga opuesta, trayendo consigo el agua. Se cree que se debe a la fuerza de volumen en los iones y al efecto de presión osmótica inducida.

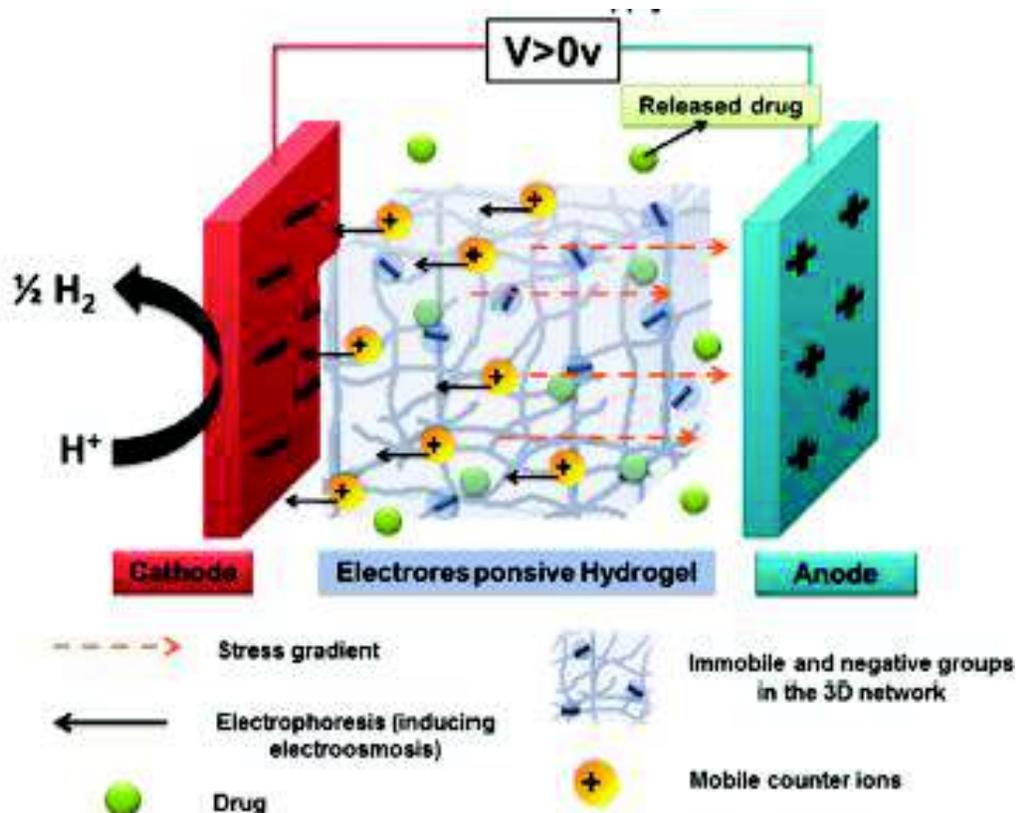


Figura 23. Representación esquemática de los principales mecanismos de deshinchamiento en un hidrogel electroactivo (Merino et al. 2015).

3.19 Ibuprofeno

El ibuprofeno (IB) es un derivado del ácido propiónico que posee propiedades antiinflamatorias, antipiréticas y analgésicas (Figura 24). Es un antiinflamatorio no esteroideo que se utiliza a menudo para el tratamiento de enfermedades artríticas agudas y crónicas (Rhee et al. 2008). Su efecto terapéutico es derivado de la actividad inhibitoria de la prostaglandina-sintetasa.

El ibuprofeno tiene mayor potencia analgésica a la del acetaminofeno y una potencia analgésica y antiinflamatoria similar al ácido acetilsalicílico. La dosis usual en adulto para el tratamiento del dolor en vía oral es de 600 mg a 1-2g divididos en varias dosis y en uso cutáneo

para adultos y niños mayores de 12 años se debe aplicar una capa en la zona con dolor de 3 a 4 veces al día (es recomendable dar un masaje ligero, para facilitar su penetración).

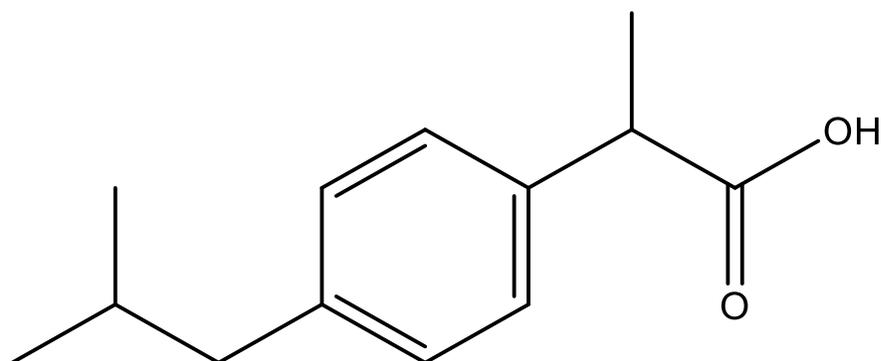


Figura 24. Estructura química del ibuprofeno.

En este trabajo se propone la administración de ibuprofeno vía transdérmica, específicamente mediante un parche transdérmico. Los parches transdérmicos son preparaciones flexibles de tamaño variable que contienen uno o más principios activos. El medio de aplicación es sobre la piel, para liberar y difundir el principio activo en la circulación, después de atravesar la barrera cutánea.

Para incrementar la absorción transdérmica del fármaco se propuso utilizar promotores químicos nanotransportadores, es por lo que en este sistema se incorporó nanopartículas de PPy.

La administración transdérmica presenta varias ventajas:

- Pueden abarcar gran área superficial
- Son fácilmente accesibles
- No son invasivos o son mínimamente invasivos
- Tienen la capacidad de lograr una liberación sostenida y/o controlada
- Evita la degradación en el tracto gastrointestinal del fármaco
- Reduce la frecuencia de administración

3.19.1 Mecanismo de acción

El ibuprofeno inhibe la acción de las enzimas ciclooxigenasas (COX-1 y COX-2), los efectos antiinflamatorios del ibuprofeno son el resultado de la inhibición de la síntesis de las prostaglandinas y como consiguiente, la inhibición de la ciclooxigenasa. Además, inhibe la migración leucocitaria, impidiendo la liberación de leucocitos de citoquinas (Bonilla 2018).

La ciclooxigenasa COX-1 es predominante en casi todas las células y tejidos normales y es dominante en células del epitelio gástrico, además es la principal fuente para la formación de prostaglandinas citoprotectoras. Por otro lado, la COX-2 es inducida por las citocinas y mediadores de inflamación.

3.19.2 Farmacocinética

El ibuprofeno se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal y presenta picos de concentraciones plasmáticas en 1 o 2 horas después de ser administrado. La vida media de eliminación es de aproximadamente 2 horas. El ibuprofeno se une fuertemente a proteínas plasmáticas. Posteriormente se metaboliza en el hígado y da a lugar a 2 metabolitos inactivos que, en conjunto con el ibuprofeno, se excretan por vía renal como metabolitos conjugados o como su forma inalterada. La excreción renal es rápida y compleja, su corto tiempo de vida media plasmática (1.8 a 2 h), lo hace candidato ideal para formular sistemas de liberación controlada y/o sostenida (Negm y Furst 2019).

3.19.3 Toxicidad

El ibuprofeno no es teratogénico en diferentes especies animales, de igual manera los estudios de mutagénesis como el de cancerogénesis han arrojado resultados negativos. Las reacciones más frecuentes son gastrointestinales como náuseas, vómitos, hemorragia digestiva, dolor abdominal, ulcera gástrica y perforación.

Por lo tanto, existe un gran interés en desarrollar formas de dosificación tópica, para evitar los efectos secundarios orales y administrar niveles terapéuticos en el sitio de aplicación durante periodos prolongados.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materiales

- Pirrol 98,0% (Sigma-Aldrich).
- Peróxido de hidrógeno 50,0%(Sigma-Aldrich).
- Taurocolato de sodio hidratado 97,0% (Sigma-Aldrich).
- Citrato de sodio monobásico 99,0% (Sigma-Aldrich).
- Gelzan™ CM (Sigma-Aldrich).
- Triclorhidrato de espermidina 99,0% (Sigma-Aldrich).
- HEPES (Sigma-Aldrich).

4.2 Síntesis de nanopartículas de PPy

Se prepararon nanopartículas de polipirrol (PPy) como se reportó previamente por el grupo de investigación (Grijalva-Bustamante et al. 2020). Brevemente, se disolvió hidrato de taurocolato de sodio 9 mM en 15 mL de tampón citrato (100 mM, pH 4), manteniéndose en agitación constante durante 1 h a temperatura ambiente, posteriormente se adicionó pirrol (800 mM) y se sometió a agitación magnética durante 2 h. La reacción de polimerización se llevó a cabo por la adición de alícuotas de peróxido de hidrógeno (800 mM). Después, la mezcla se dejó reaccionar por 24 h. Finalmente, los coloides se separaron por filtración se realizaron lavados con agua deionizada por centrifugación y se sometieron a secado por vacío (Figura 25).



Figura 25. Diagrama general de la síntesis de nanopartículas de PPy.

4.3 Estudios de caracterización de nanopartículas de PPy

4.3.1 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)

Para la caracterización de las nanopartículas de PPy se llevó a cabo el análisis por espectroscopía de infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR) utilizando un espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo Frontier. Para el análisis se prepararon pastillas mezclando la muestra con bromuro de potasio (KBr) previamente secado a 110 °C. Estas pastillas se colocaron en el equipo de FTIR, para obtener los espectros correspondientes de las muestras. Los espectros se registraron en el intervalo de 3600 a 400 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} sobre 16 escaneos.

4.3.2 Dispersión dinámica de luz (DLS)

Las mediciones de dispersión de luz dinámica se obtuvieron de un equipo Möbiuz (Wyatt Technologies). El sistema Möbiuz utiliza un diodo de estado sólido bombeado con láser en modo longitudinal simple, operando a 532 nm y un ángulo de detección de 163.5. La muestra de nanopartículas de PPy se dispersó en agua milli-Q a una concentración de 2 mg mL^{-1} . Pevio a su medición, las muestras se sonicaron por 5 minutos en un baño ultrasonicator Branson CPX® (Branson Ultrasonic baths) y posteriormente se colocaron en celdas de cuarzo de 45 μL con un ensamblaje de electrodo y se analizaron a 25 °C. Los datos colectados se analizaron con el software DYNAMICS 7.10.1.21 (Wyatt Technology Corporation).

4.3.3 Microscopia electrónica de transmisión

Una gota de la suspensión de las muestras se colocó entre dos rejillas de cobre, para su análisis morfológico utilizando un microscopio JEOL JEM-2010F.

4.3.4 Análisis termogravimétrico (TGA)

Se analizaron las propiedades térmicas de los materiales por medio de TGA utilizando un equipo Pyris 1 con automuestreador de Perkin Elmer. Se pesaron aproximadamente 5 mg por muestra y se realizaron corridas de 25 hasta 800 °C, utilizando una velocidad de calentamiento de 10 °C/min y un cambio de gases N₂/O₂ a 600 °C. Con los termogramas obtenidos, se determinaron las temperaturas de velocidad máxima de descomposición de los materiales ($T_{m\acute{a}x}$).

4.3.5 Voltametría cíclica (VC)

Se utilizó un sistema de electrodos serigrafados para la medición (Dropsens modelo 110CNT). El sistema tiene un electrodo de trabajo circular (4 mm de diámetro), constituido por una mezcla de carbono conductor y nanotubos de carbono funcionalizados con grupos carboxílicos.

Se depositó la muestra sobre el electrodo de trabajo y se añadió una gota de solución de H₂SO₄ 100 mM sobre los electrodos. Se realizaron barridos de voltaje en intervalos de potencial de -0.9 a + 0.9 V, utilizando un potenciostato Dropsens STAT 400 controlado con un software DropView.

4.3.6 Conductividad eléctrica

Las mediciones de conductividad eléctrica se realizaron mediante el método de dos puntos, utilizando un multímetro Agilent 34410^a. Primero se formaron pastillas de nanopartículas de PPy previamente liofilizadas, después se les midió su espesor con un micrómetro y se midió la conductividad con el multímetro (Figura 26).



Figura 26. Diagrama para la prueba de conductividad eléctrica.

La conductividad eléctrica se calculó aplicando la siguiente ecuación:

Ecuación 1 $\sigma = \frac{l}{R \cdot S}$

Donde:

σ = Conductividad (S/cm)

l = espesor (cm)

R = Resistencia (Ω)

S = Área sección transversal (cm^2)

4.4 Preparación de hidrogeles de goma gellan

Se prepararon hidrogeles de goma gellan (GG) usando como entrecruzante espermidina (SPD) (Figura 27). Se partió de soluciones acuosas del polisacárido (5 mg mL^{-1}) y de espermidina (0.5 mg mL^{-1}). Se utilizó como disolvente buffer HEPES 20 mM (pH 6.5) en ambos casos.

A la disolución del polisacárido, previamente calentada a $55 \pm 1^\circ\text{C}$, se le adicionó la disolución de espermidina, previamente calentada a $37 \pm 1^\circ\text{C}$. La mezcla resultante se colocó en moldes cilíndricos (9 mm de diámetro) y se dejó en reposo a temperatura ambiente hasta la gelación. Se mezclaron diferentes proporciones de las soluciones, tal como se muestra en la Tabla 1.

Los hidrogeles se sometieron a procesos de lavados con agua Mili-Q durante 24 h para eliminar los residuos de los reactivos que no reaccionaron. Después, el producto se liofilizó durante 24 h.

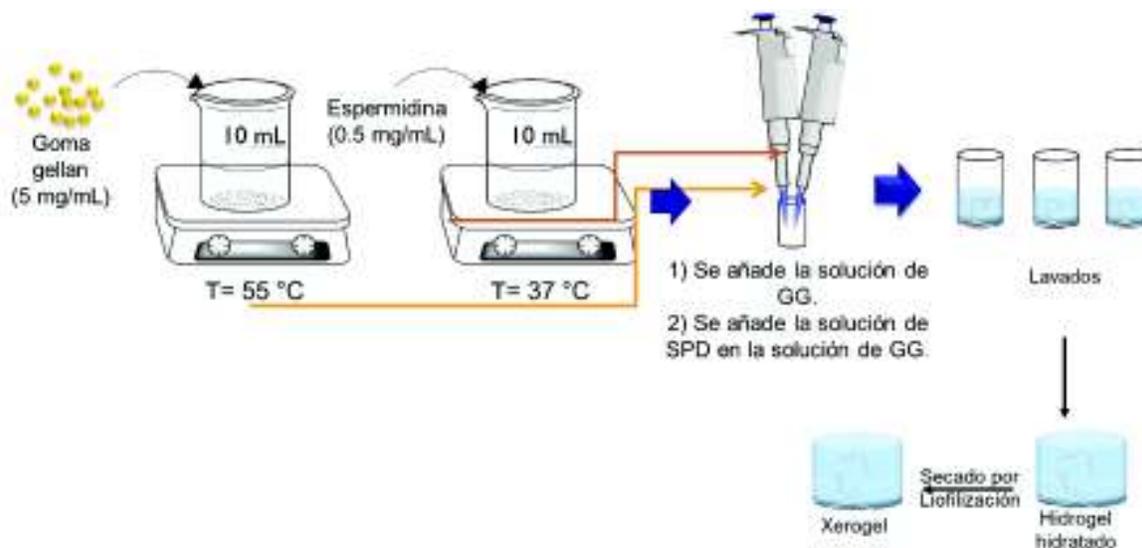


Figura 27. Diagrama general de la síntesis de hidrogel GG-SPD.

Tabla 1. Descripción de las formulaciones preparadas de los hidrogeles de goma gellan.

Formulación	GG (mL)	[GG] (mg/mL)	GG (mg)	SPD (mL)	[SPD] (mg/ mL)	SPD (mg)
GG-SPD ₁	.71	5	3.55	.43	0.5	0.215
GG-SPD ₂	.71	5	3.55	.43	0.25	0.1075
GG-SPD ₃	.71	5	3.55	.43	0.125	0.0575

4.5 Preparación de hidrogeles nanocompuestos

Se prepararon hidrogeles nanocompuestos de PPy usando goma gellan y espermidina como entrecruzante.

Los hidrogeles GG-SPD-PPy se prepararon a partir de la incorporación de las nanopartículas de PPy en la solución acuosa del polisacárido (5 mg mL^{-1}) (Figura 28). Se utilizó como disolvente buffer HEPES 20 mM (pH 6.5) en ambos casos.

La suspensión del polisacárido con los coloides de PPy previamente calentada a $55 \pm 1^\circ\text{C}$ por 5 minutos, se le adicionó la disolución de espermidina (0.5 mg mL^{-1}), previamente calentada a $37 \pm 1^\circ\text{C}$. La mezcla resultante se colocó en moldes cilíndricos (9 mm de diámetro) y se dejó en reposo a temperatura ambiente hasta la gelación. Se utilizaron 2 proporciones de PPy en el hidrogel (GG-SPD-PPy₁ y GG-SPD-PPy₂), tal como se muestra en la Tabla 2.

Los hidrogeles se sometieron a procesos de lavados con agua Mili-Q durante 24 h para eliminar los residuos de los reactivos que no reaccionaron. Después, el producto se liofilizó durante 24 h.

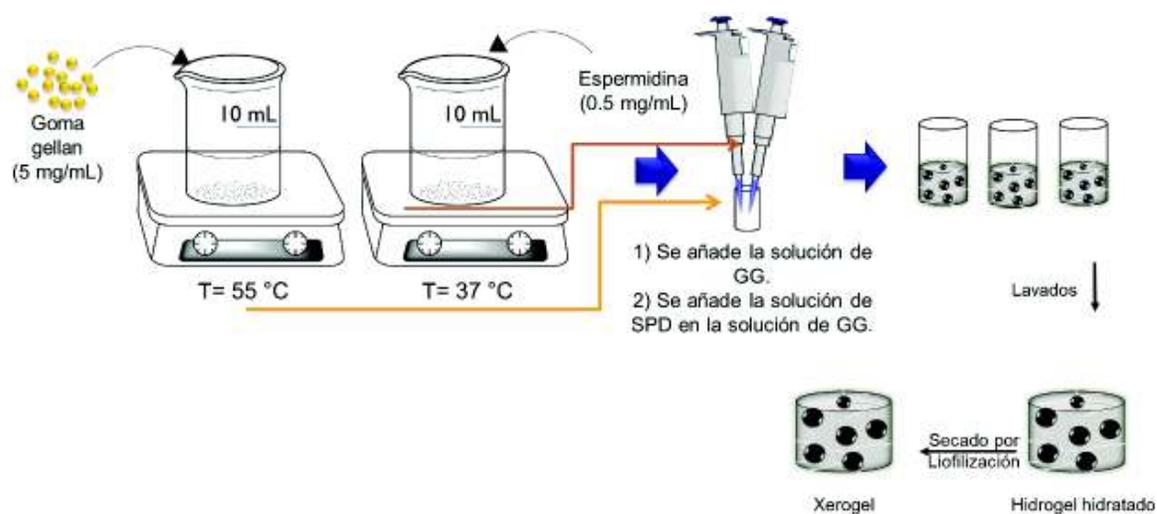


Figura 28. Diagrama general de la síntesis de hidrogel nanocompuesto.

Tabla 2. Descripción de las formulaciones preparadas de los hidrogeles nanocompuestos.

Formulación	NPs PPy	GG (mL)	[GG] (mg/mL)	GG (mg)	SPD (mL)	[SPD] (mg/ mL)	SPD (mg)
GG-SPD ₁ -PPy ₁	11 mg	.71	5	3.55	.43	0.5	0.215
GG-SPD ₁ -PPy ₂	22 mg						

4.6 Preparación de hidrogeles de goma gellan cargados de fármaco ibuprofeno

Se prepararon hidrogeles de goma gellan (GG) usando como entrecruzante espermidina (SPD) (Figura 29). Se partió de soluciones acuosas de GG-ibuprofeno y SPD. Primero se disolvió el ibuprofeno (3 mg/mL) en buffer HEPES (pH 6.5) y se dejó en agitación magnética durante 3 h. A la disolución del fármaco se le añadió el polisacárido y se calentó a 55 ± 1 °C. Una vez obtenida la solución, esta se vació en moldes cilíndricos (9 mm de diámetro) y se mezcló con la solución de espermidina previamente obtenida a 37 ± 1 °C. El proceso de gelación ocurrió a temperatura ambiente.

Los hidrogeles se sometieron a procesos de lavados con agua Mili-Q durante 24 h para eliminar los residuos de los reactivos que no participaron en la reticulación, así como las moléculas de fármaco que no quedaron retenidas en la matriz por interacciones físicas. Después, el producto se liofilizó durante 24 h.

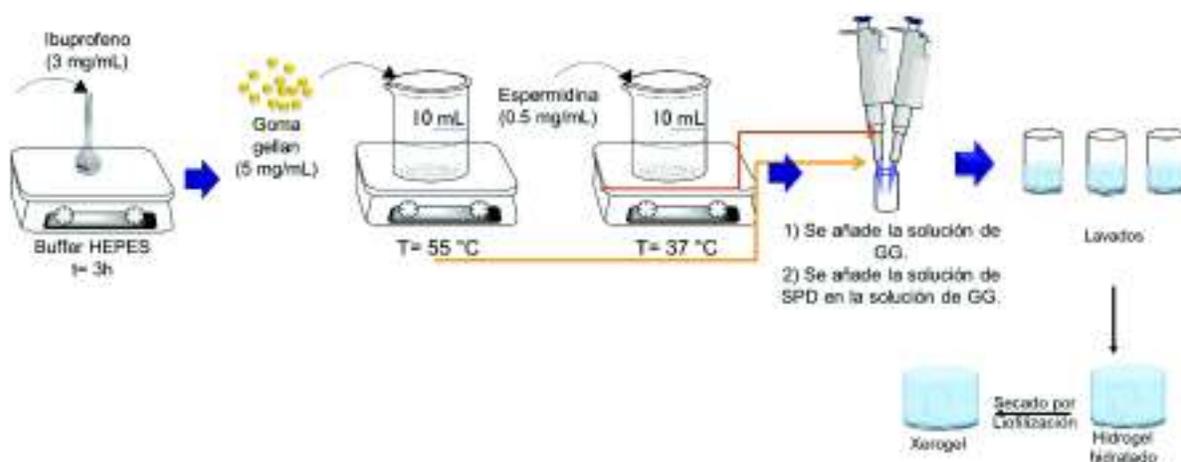


Figura 29. Diagrama general de la síntesis de hidrogel GG-SPD₁ cargado con ibuprofeno.

4.7 Preparación de hidrogeles nanocompuestos cargados de fármaco ibuprofeno

Se prepararon hidrogeles GG-SPD-PPy₁ y GG-SPD-PPy₂ cargados con el fármaco a partir de la incubación de las nanopartículas de PPy en la solución del fármaco y siguiendo los pasos descritos de la preparación de los hidrogeles nanocompuestos (Figura 30).

Se disolvió ibuprofeno (3 mg/mL) en la suspensión de NPs y se dejó en agitación magnética durante 3 h. A la suspensión PPy-fármaco se le añadió el polisacárido y se calentó a 55 ± 1 °C. La mezcla resultante se vació en moldes cilíndricos (9 mm de diámetro) y se mezcló con la solución de espermidina previamente obtenida a 37 ± 1 °C. El sistema se dejó gelar a temperatura ambiente.

Los hidrogeles se sometieron a procesos de lavados con agua Mili-Q durante 24 h para eliminar los residuos de los reactivos que no participaron el proceso de reticulación y las moléculas de fármaco no retenidas. Después, el producto se liofilizó durante 24 h.

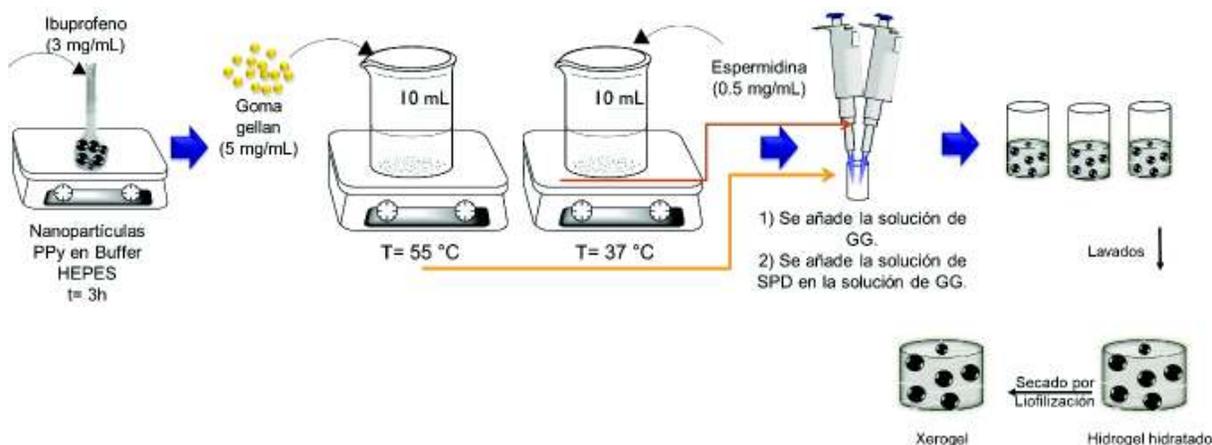


Figura 30. Diagrama general de la síntesis de hidrogel nanocompuesto cargados con ibuprofeno.

4.8 Estudios de caracterización de los hidrogeles

4.8.1 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)

En la caracterización de los hidrogeles de GG-SPD sin y con nanopartículas se llevó a cabo el análisis por FTIR-ATR para elucidar el mecanismo de entrecruzamiento y posibles interacciones entre los componentes del sistema.

Se utilizó un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo Frontier. Para el análisis se utilizó el accesorio de reflexión total atenuada (ATR). Los espectros se registraron en el intervalo de 4000 a 500 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} sobre 16 escaneos, en el modo de transmitancia.

4.8.2 Estudios de hinchamiento

Se obtuvieron las cinéticas de hinchamiento de los hidrogeles sin y con la adición de nanopartículas de PPy, a partir de muestras cilíndricas de xerogel de dimensiones 1.14 cm de altura y 1.5 cm de diámetro, las cuales se sumergieron en buffer de citrato (pH 3) o PBS (pH 7.4) a la temperatura de 37 °C.

En diferentes intervalos de tiempo, el hidrogel fue retirado del medio de hinchamiento, se retiró la humedad en la superficie y se midió su peso. El porcentaje de hinchamiento de los hidrogeles se calculó utilizando la ecuación:

$$\text{Ecuación 2} \quad \text{Hinchamiento } \tau = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100$$

Donde W_t es el peso del hidrogel a un tiempo t del hinchamiento, W_0 es el peso inicial de los hidrogeles secos.

4.8.3 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

La morfología de los hidrogeles se observó utilizando un microscopio electrónico de barrido JEOL 5410LV. Todas las muestras se recubrieron con una película de oro previo a su análisis en el microscopio.

4.8.4 Estudios reológicos

Se evaluaron las propiedades viscoelásticas de las diferentes formulaciones de hidrogeles GG-SPD sin y con la adición de nanopartículas de PPy. El estudio se realizó en sistemas hidratados sometidos a cargas cortantes en un reómetro Anton Para MCR 502.

Se utilizaron muestras cilíndricas de 50mm de diámetro y 2mm de espesor. Se obtuvieron el módulo de almacenamiento (G') y el módulo de pérdida (G'') durante un barrido de frecuencia de 0.1 a 100 rad/s, con un porcentaje de deformación máximo de 1%.

4.8.5 Análisis termogravimétrico (TGA)

Se analizaron propiedades térmicas de los materiales por medio de TGA utilizando un equipo Pyris 1 con automuestreador de Perkin Elmer. Se pesaron aproximadamente 5 mg por muestra y se realizaron corridas de 25 hasta 800 °C, utilizando una velocidad de calentamiento de 10 °C/min y un cambio de gases N_2/O_2 a 600 °C. Con los termogramas obtenidos, se determinaron las T_{max} .

4.8.6 Voltametría cíclica (VC)

Se utilizó un sistema de electrodos serigrafiados para la medición (Dropsens modelo 110CNT). El sistema tiene un electrodo de trabajo circular (4 mm de diámetro), constituido por una mezcla de carbono conductor y nanotubos de carbono funcionalizados con grupos carboxílicos.

Se depositó la muestra sobre el electrodo de trabajo y se añadió una gota de solución de H_2SO_4 100 mM sobre los electrodos. Se realizaron barridos de voltaje en intervalos de potencial de -0.9 a + 0.9 V, utilizando un potenciostato Dropsens STAT 400 controlado con un software DropView.

4.8.7 Conductividad eléctrica

Las mediciones de conductividad eléctrica se realizaron mediante el método de dos puntos, utilizando un multímetro Agilent 34410A. Primero se comprimieron los hidrogeles nanocompuestos previamente liofilizados, después se les midió su espesor con un micrómetro y se midió la conductividad con el multímetro (Figura 31).



Figura 31. Diagrama para la prueba de conductividad eléctrica en hidrogeles nanocompuestos.

La conductividad eléctrica se calculó aplicando la siguiente ecuación:

$$\text{Ecuación 3} \quad \sigma = \frac{l}{R \cdot S}$$

Donde:

σ = Conductividad (S/cm)

l = espesor (cm)

R = Resistencia (Ω)

S = Área sección transversal (cm^2)

4.8.8 Estudios de cargado y liberación de fármaco modelo

Los estudios de liberación de fármaco a partir de las diferentes formulaciones de hidrogeles se realizaron en buffer PBS (pH 7.4, 1M) a 37 °C, se estudiaron sin la aplicación de voltaje y bajo la aplicación de voltaje.

La liberación espontánea de ibuprofeno se realizó colocando el hidrogel en 20 mL de solución buffer PBS. Se tomaron alícuotas en diferentes intervalos de tiempo y se reemplazaron con buffer fresco. Se monitoreó la concentración del fármaco en el medio de liberación mediante

espectroscopía de absorción UV/Vis (espectrofotómetro Agilent), monitoreando la absorbancia a una longitud de onda de 265 nm. El valor de absorbancia resultante se relacionó con la concentración de ibuprofeno liberado mediante una curva de calibración.

Los estudios de liberación mediante la aplicación de un estímulo eléctrico se realizaron insertando en el centro de los hidrogeles, un electrodo de titanio recubierto con platino (Figura 30). Se conectaron los electrodos a una fuente de poder DC marca Agilent (E3632A). El hidrogel se sumergió en 20 mL de buffer PBS y se colocó un contraelectrodo (idéntico al electrodo de trabajo) a una distancia de 5 mm. Inmediatamente después de sumergir el hidrogel en el medio de liberación (tiempo 0), se aplicó un único potencial durante 1 min. La concentración del fármaco liberado se obtuvo en diferentes tiempos tal como se describió en la liberación espontánea. Todos los estudios de liberación se realizaron por triplicado y se reporta el valor promedio con una variabilidad de una desviación estándar.

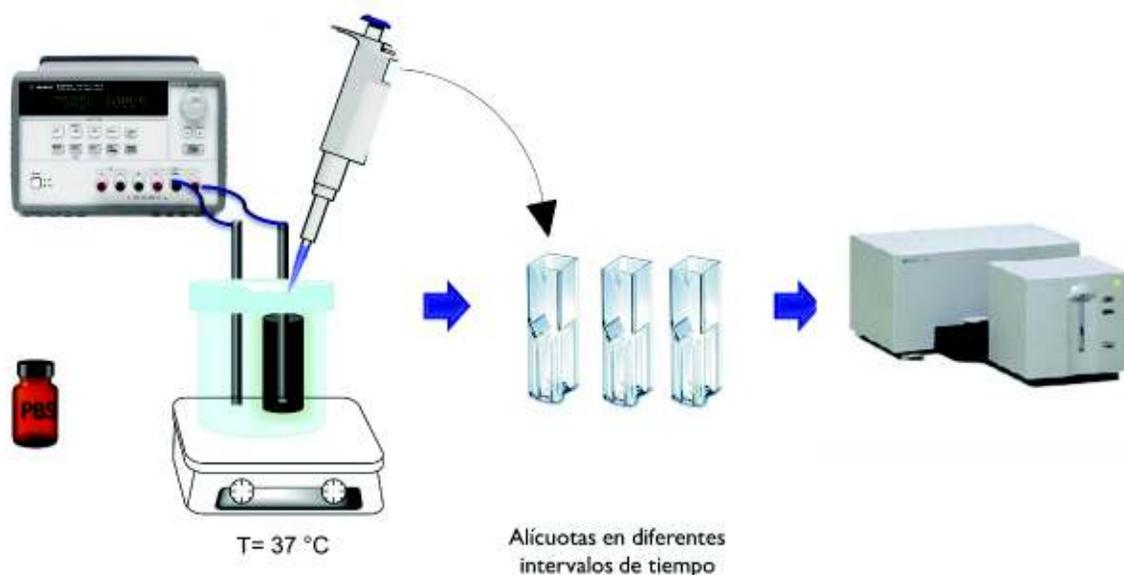


Figura 32. Esquema de liberación de ibuprofeno bajo un estímulo eléctrico.

5. RESULTADOS Y DISCUSIONES

En esta sección se presentan los resultados obtenidos de las nanopartículas de PPy sintetizadas por emulsión, mediante diversas técnicas de caracterización. Del mismo modo, se muestran los resultados de la caracterización de los hidrogeles GG-SPD sin y con nanopartículas de PPy.

5.1 Nanopartículas de PPy

En este trabajo se sintetizaron nanopartículas de PPy de acuerdo con el método reportado por (Grijalva-Bustamante et al. 2020). Se estudio las propiedades eléctricas de las nanopartículas, para posteriormente, comprobar si conservan sus propiedades eléctricas en los hidrogeles nanocompuestos.

5.1.1 Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier

En la Figura 33 se muestra el espectro de FTIR de las nanopartículas de PPy. Se observan las señales típicas de sus grupos funcionales. La banda ancha ubicada de 3500 a 3150 cm^{-1} se asigna al modo de estiramiento vibracional de N-H (G. Grijalva-Bustamante et al. 2020). La banda a 2868 cm^{-1} corresponde a movimientos simétricos y asimétricos del grupo $-\text{CH}_2$ en la muestra de PPy (G. Grijalva-Bustamante et al. 2020).

Además, el espectro muestra una señal notable en 1572 cm^{-1} , que está relacionada con las vibraciones de C=O debido a la sobre-oxidación del PPy. Esta característica se ha observado previamente para PPy sintetizado por reacciones mediadas por H_2O_2 (Bouldin et al. 2010; Cruz-Silva et al. 2008; Kausaite-Minkstimiene et al. 2015).

La señal a 1561 cm^{-1} se atribuye al estiramiento de anillo (C-C), mientras que la banda a 1377 cm^{-1} está relacionada con el estiramiento vibracional asimétrico C-N. Las bandas intensas a 1044 y 932 cm^{-1} se asignan a N-H y C-H en vibraciones de deformación plana, respectivamente.

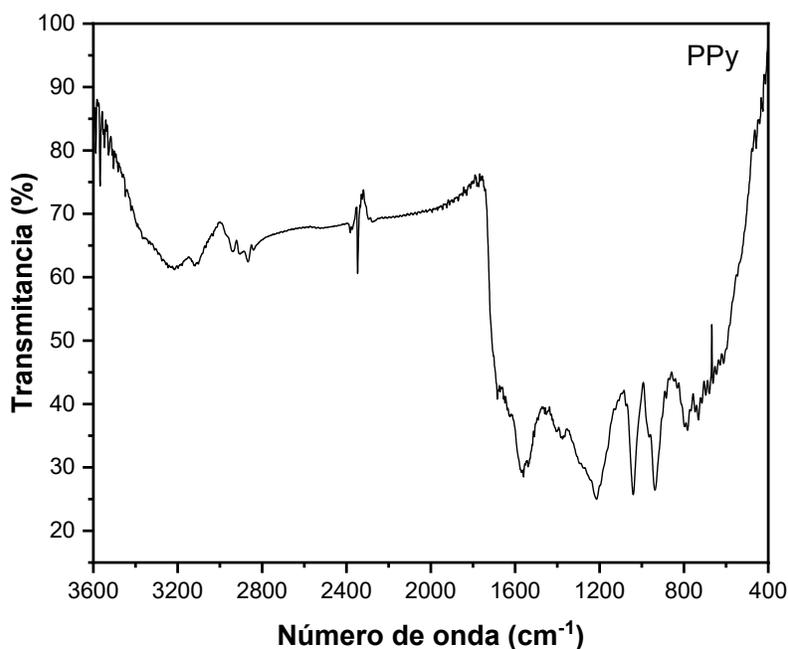


Figura 33. Espectro de FTIR para nanopartículas de PPy sintetizadas por técnica de emulsión.

5.1.2 Distribución de tamaños por DLS

La Figura 34 muestra los resultados del análisis de la muestra de PPy por DLS. En el gráfico se observa una distribución monomodal de tamaños, encontrándose que las nanopartículas tienen un diámetro hidrodinámico (D_h) aparente de 175 nm, con índice de polidispersidad (PDI) de 0.15. Estos datos obtenidos muestran que las partículas se encuentran en un intervalo de la escala nanométrica y submicrométrica, lo que se considera adecuado para aplicaciones como la liberación de fármacos (De Jong y Borm 2008; Kharb et al. 2006; Saez et al. 2000).

Resultado similar se reporta en la literatura para el nanocompuesto de PPy/nanotubos de carbón/alginato en un medio emulsionado con surfactante dodecil sulfato de sodio (SDS) mediado por el efecto oxidativo del H_2O_2 . En este caso se formaron agregados en el medio micelar de 3.78, 53.39 y 205.4 nm (Quevedo-Robles et al. 2019).

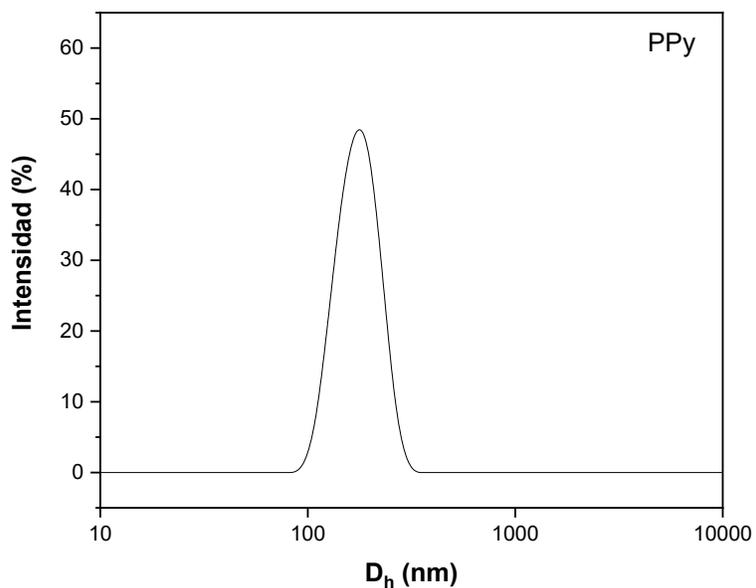


Figura 34. Distribución de diámetro hidrodinámico (D_h) de partículas de PPy por DLS.

5.1.3 Microscopia electrónica de transmisión (TEM)

La Figura 35 muestra en las micrografías de TEM de las partículas de PPy. Se observa que la mayoría de las nanopartículas tienen dimensiones alrededor de los 100 nm. Las nanopartículas sintetizadas tienen morfología uniforme con bordes definidos y geometría cuasiesférica.

Si se comparan los resultados obtenidos por DLS y TEM, en las micrografías de TEM se observa que hay variaciones de tamaños, encontrándose también partículas submicrométricas de tamaños alrededor de los 400 nm. Esto se puede deber a que el DLS proporciona información del tamaño hidrodinámico, en cambio en el TEM el tamaño observado es libre de solvente.

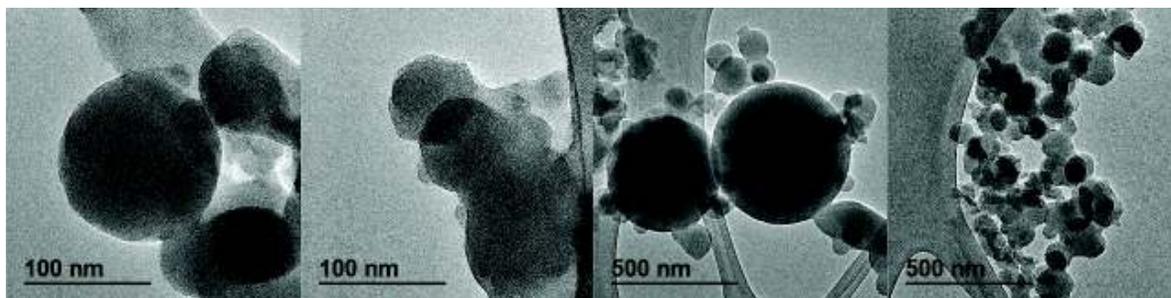


Figura 35. Micrografías de TEM de partículas de PPy.

5.1.4 Análisis termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico del PPy aporta información de su estabilidad térmica y composición. Las Figuras 36a y 36b muestran el termograma del PPy y su primera derivada, respectivamente. La descomposición del PPy ocurre en cuatro etapas. La primera pérdida de ~7 % se asocia con la liberación de humedad (<130°C).

La segunda pérdida de ~10% ocurre en el intervalo de 200 a 300°C y se atribuye a la descomposición de las cadenas de bajo peso molecular del PPy; Hazarika & Kumar, 2013 reportaron pérdidas similares en el intervalo de 170-320 °C para nanopartículas de PPy sintetizadas con persulfato de amonio y dodecilsulfato de sodio.

Se observaron pérdidas de ~15% en cada uno de los intervalos de 300 a 423 °C y de 600-719 °C. Estas últimas pérdidas se relacionan con la degradación de las cadenas principales del polímero.

Los resultados obtenidos demostraron que las nanopartículas de PPy que se sintetizaron por emulsión tienen mayor estabilidad térmica en comparación a reportes anteriores de PPy sintetizado químicamente, donde el inicio de la pérdida de masa comienza ~250 °C, por Cruz-Silva et al. 2008.

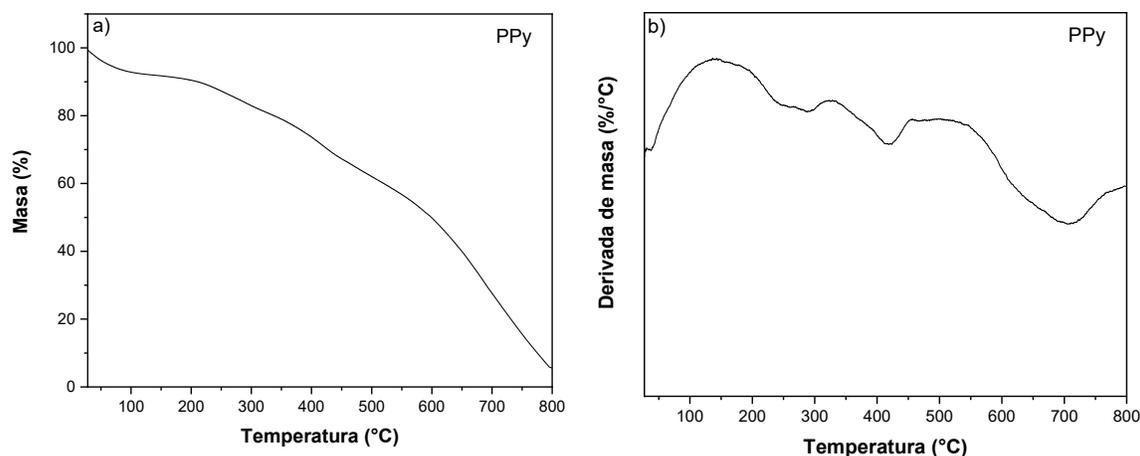


Figura 36. Termograma de nanopartículas de: a) PPy y b) derivada de las curvas de porcentaje de masa con respecto a la temperatura.

5.1.5 Conductividad eléctrica

Los métodos de síntesis de nanopartículas de PPy más comunes son la polimerización química y electroquímica. Sin embargo, los oxidantes utilizados son fuertes y generan subproductos dañinos para el medio ambiente. En este trabajo se empleó una alternativa más

ecológica para obtener nanopartículas mediante la técnica de emulsión utilizando agentes oxidantes verdes. En la tabla 3 se muestra la conductividad eléctrica de las nanopartículas de PPy es de $6 \times 10^{-2} \text{ S/cm}^{-1}$.

Investigaciones anteriores de síntesis de nanopartículas de PPy oxidadas con H_2O_2 y radiación de UV, encontraron valores de conductividad eléctrica de $10^{-0} \text{ S/cm}^{-1}$ (Zhang et al. 2015). Heidarizadeh y Asadipour 2015 reportaron la conductividad de fibras y nanopartículas globulares de PPy en un rango de 3.3×10^{-3} a $10^{-2} \text{ S/cm}^{-1}$, oxidadas con H_2O_2 y FeCl_3 . Si bien estas investigaciones son aportes a la química verde, en nuestro caso se usó un biosurfactante en una vía de emulsión totalmente verde para obtener las nanopartículas de PPy.

Tabla 3. Conductividad eléctrica de nanopartículas de PPy e hidrogeles nanocompuestos.

Muestra	Conductividad (S/cm)
PPy	6×10^{-2}

5.2 Obtención de hidrogeles GG-SPD

Se obtuvieron diferentes formulaciones de hidrogeles con un volumen de 1 mL (Figura 37 y 38). Cualitativamente, se observa que los hidrogeles son homogéneos y transparentes, en los tres casos cuando se varió la concentración de SPD (0.5, 0.25 y 0.125 mg/mL). Además, los hidrogeles conservan la geometría del molde. Lo anterior indica que los componentes se mezclaron adecuadamente y el proceso de reticulación ocurrió homogéneamente.



Figura 37. Imagen de las diferentes formulaciones de hidrogel.



Figura 38. Imagen de las diferentes formulaciones de hidrogel.

5.2.1 Mecanismo de gelificación

La Figura 39 muestra un esquema del proceso de gelificación de la GG con SPD. Se propone que los grupos carboxílicos de la GG interaccionan iónicamente al estar en contacto con la espermidina en un pH de 6.5. Los grupos carboxílicos de la GG están desprotonados debido a que el pH del medio es mayor a su pKa; en cambio, los grupos aminos de la espermidina se encuentran protonados ya que el pKa es mayor al pH del medio.

El hecho de que las poliaminas endógenas están completamente protonadas a pH fisiológico, ha sido la base para justificar su uso como reticulante, ya que son propensas a interactuar con otros materiales cargados negativamente (López-Cebral et al. 2013).

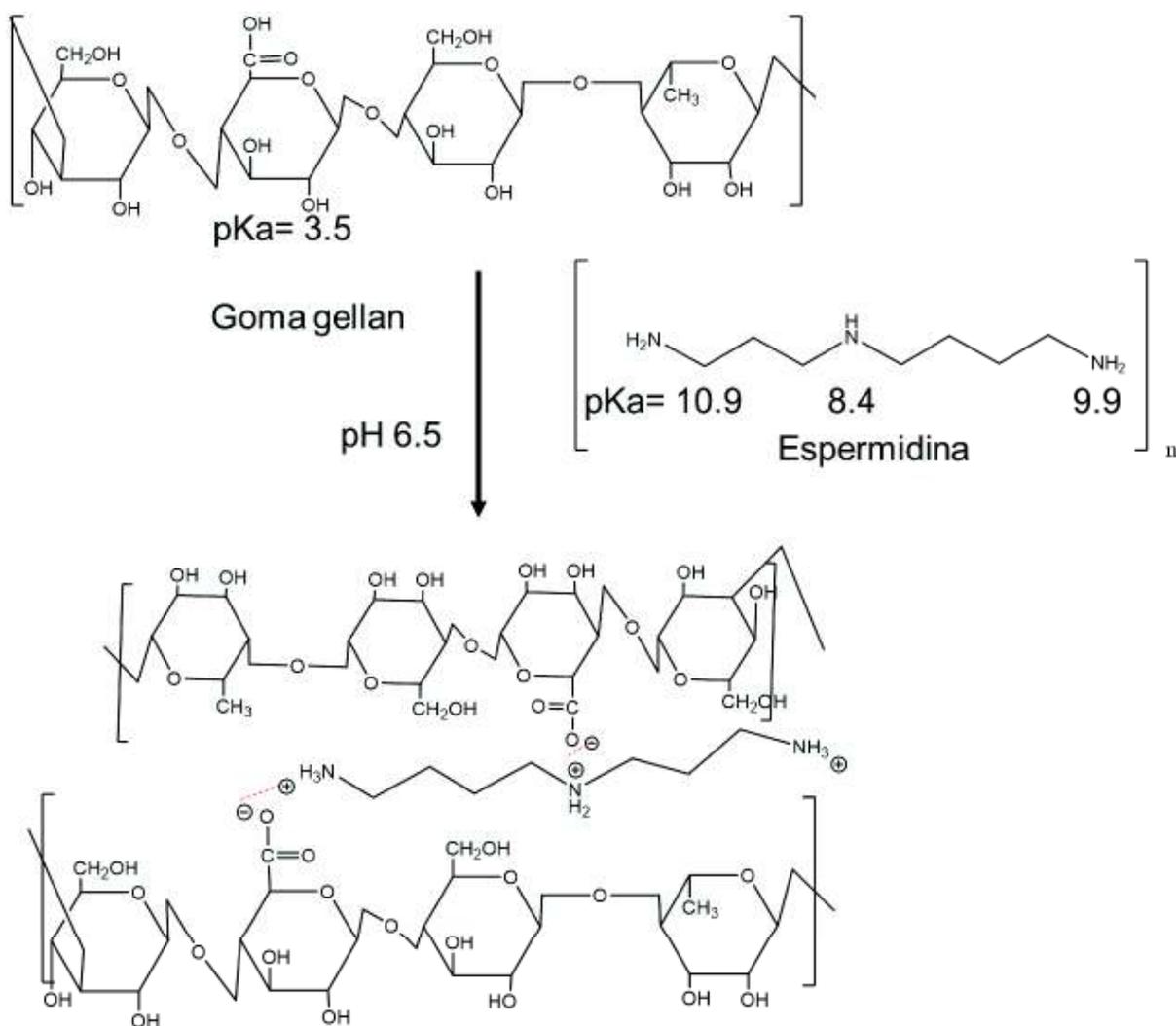


Figura 39. Mecanismo de gelificación de goma gellan cuando se utiliza espermidina como reticulante en un pH 6.5.

5.2.2 Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier

Con el fin de conocer la identidad química de las muestras de hidrogel, se procedió a caracterizarla por espectroscopía FTIR. La Figura 40 muestra el espectro de las muestras de GG reactivo y el entrecruzante SPD, así como de los hidrogeles de GG con diferentes proporciones de SPD.

En el espectro de SPD se observa la banda de flexión de N-H a 1608 cm⁻¹ y la banda estiramiento C-N a 1057 cm⁻¹. Gururajan & Narayanaswamy, 2016 reportaron en el espectro de la espermidina la banda del estiramiento C-N a 1265 cm⁻¹.

El espectro de GG-SPD₂ muestra una vibración de estiramiento del grupo (-OH) en el intervalo 3622-3000 cm⁻¹, mientras que en la muestra GG-SPD₃ se observó en el rango 3618-3000cm⁻¹. La GG-SPD₁ mostró un pequeño corrimiento en la banda de vibración de estiramiento del grupo (-OH) 3587-3000cm⁻¹. Resultados similares han sido reportados por diferentes autores (Mohd et al. 2016; Sebri y Amin 2015).

Las bandas 2919-2876 cm⁻¹, 2915-2853 y 2913-2871 corresponden a estiramientos simétricos y asimétricos de (-CH₃) en GG-SPD₁, GG-SPD₃ y GG-SPD₂. En las regiones de 1606-1601 cm⁻¹ y 1415-1405 cm⁻¹ se observaron los estiramientos asimétricos y simétricos del grupo carboxilo (-COO-) (Bonifacio et al. 2017; De Souza et al. 2016; Zargar et al. 2019). En el espectro de polvo de GG también se puede observar las señales de (-COO-), pero con una menor intensidad relativa y desplazadas a 1598 y 1405 cm⁻¹.

Las señales a 1033, 1032 y 1029 cm⁻¹ corresponden a flexiones (C-O) de las formulaciones GG-SPD₃, GG-SPD₂ y GG-SPD₁. Esta banda se observó a 1018 cm⁻¹ en el polvo de GG.

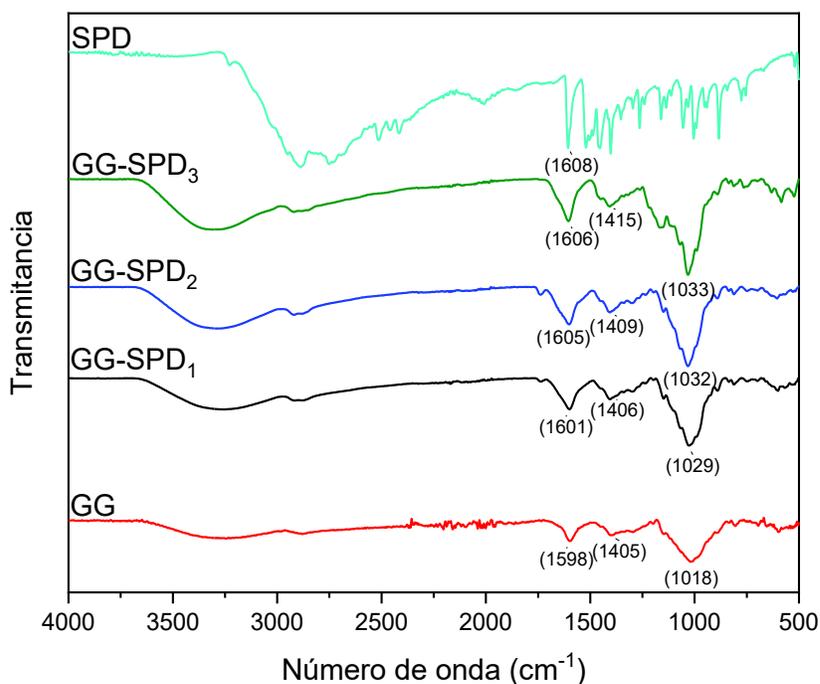


Figura 40. Espectro de FTIR-ATR de GG en polvo, hidrogeles de GG-SPD con diferentes concentraciones de SPD (0.5, 0.25 y 0.125 mg/mL) y polvo de SPD.

5.2.3 Estudios de hinchamiento

Se observó un rápido hinchamiento en todas las formulaciones de hidrogeles liofilizados durante los primeros 25 min de contacto con el buffer a 37°C. La capacidad de hinchamiento en función al pH y la cantidad de entrecruzante a diferentes temperaturas se observa en las Figuras 41 a) y b).

Como es de esperarse, a mayor cantidad de entrecruzante, menor es la capacidad de hinchamiento y esto se refleja en la Figura 41 a) y b). La capacidad de hinchamiento de GG-SPD₁ es menor en comparación a la del GG-SPD₂ y GG-SPD₃, en ambas temperaturas (37°C y 25°C) y en los diferentes pH (7.4 y 3.0). Esto se debe a que a mayor entrecruzamiento la movilidad es menor y por lo tanto los hidrogeles tienen menor capacidad en la penetración de agua. Cabe destacar que la capacidad de hinchamiento en todas las formulaciones es menor a 25°C en comparación al hinchamiento a 37°C.

En la formulación de GG-SPD₃ se obtuvieron valores más altos de hinchamiento, debido que al ser la formulación que contiene menor concentración de entrecruzante, tiene mayor movilidad de las cadenas poliméricas, al no ser tan obstaculizadas por la presencia de SPD (Pacelli et al. 2016).

López-Cebral et al. 2013 estudiaron la capacidad de hinchamiento en hidrogeles de GG reticulados con espermidina, al incrementar la cantidad de entrecruzante disminuyó la capacidad de hinchamiento en agua.

Otros autores muestran el mismo comportamiento en hidrogeles entrecruzados con diferentes concentraciones de lisina. Al aumentar la concentración de entrecruzante disminuyó la capacidad de hinchamiento en agua a 37 °C (Matricardi et al. 2009).

En cuanto al efecto del pH, se observó que a pH 3.0, la capacidad de hinchamiento es menor debido a la alteración en la red del hidrogel, causada por la protonación de los grupos carboxílicos de la GG y por consiguiente, se produce una menor expansión de la red polimérica, en comparación con el comportamiento a pH 7.4 (Bonifacio et al. 2017; Coutinho et al. 2010; Pacelli et al. 2016).

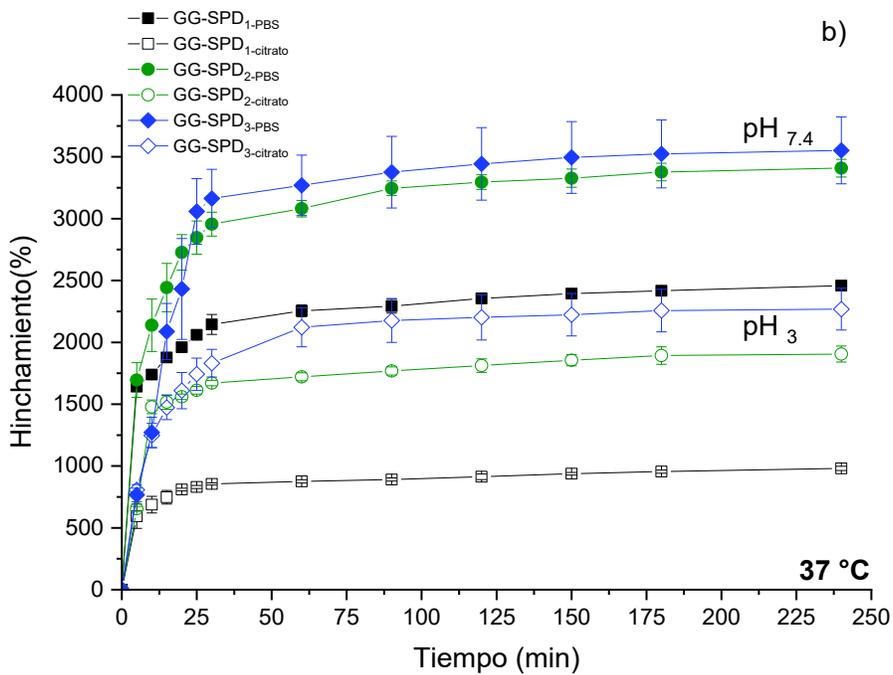
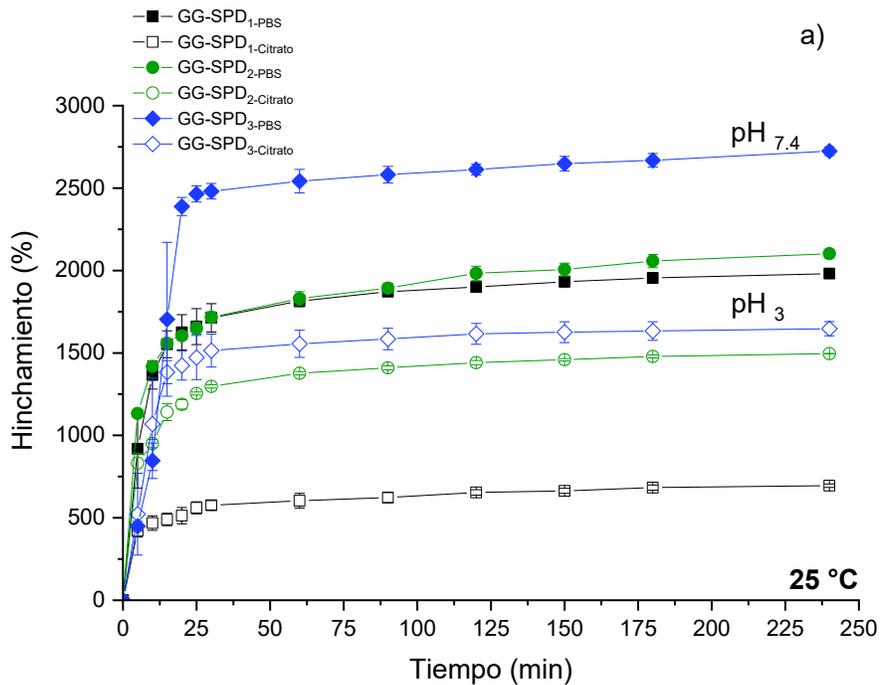


Figura 41. Estudios de hinchamiento de hidrogeles de GG-SPD con diferentes concentraciones de entrecruzante a pH 3 y 7.4: a) 25 °C y b) 37 °C.

5.2.4 Estudios morfológicos

Los estudios morfológicos en los xerogeles podemos observar que en todas las formulaciones poseen morfología tridimensional, poros abiertos y porosidad anisotrópica (Figura 42). No se encontraron diferencias en la morfología al variar la cantidad de entrecruzante.

En hidrogeles de GG-almidón reticulados iónicamente en diferentes proporciones de Al^{+3} , observaron estructuras porosas e irregulares en micrografías de SEM a 500 y 1000x (Oliveira et al. 2017).

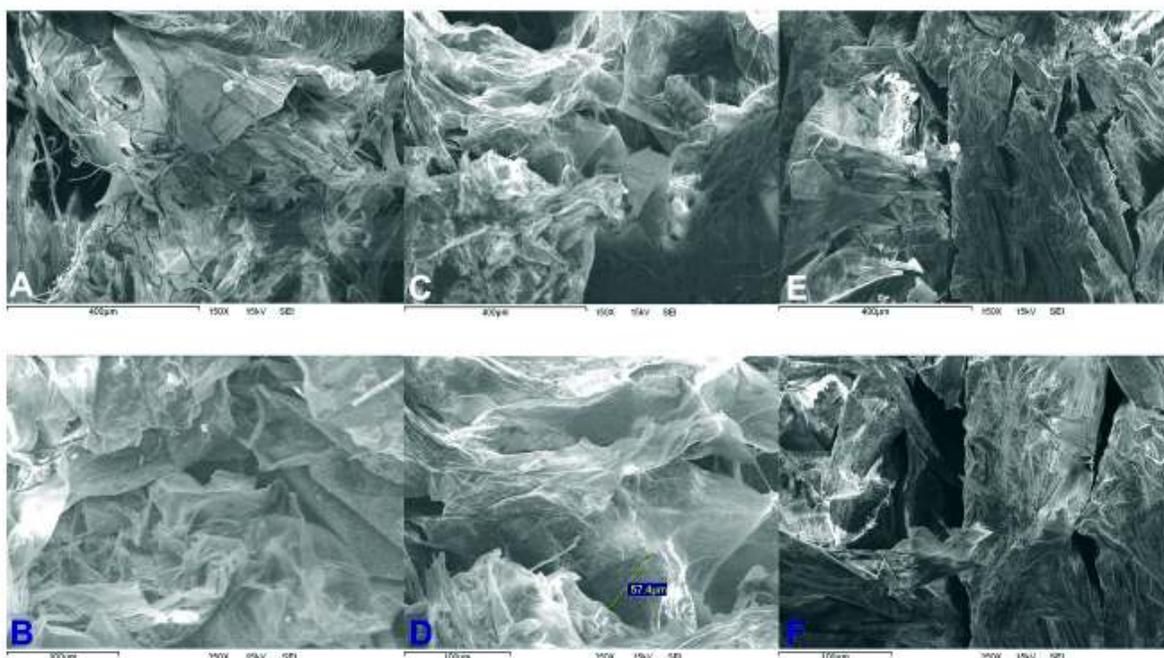


Figura 42. Micrografías de SEM en las diferentes formulaciones de hidrogeles GG-SPD con diferentes concentraciones de entrecruzante: A-B) GG-SPD₁, C-D) GG-SPD₂ y E-F) GG-SPD₃ a 150 y 350 X.

5.2.5 Estudios reológicos

La Figura 43 muestra barridos de frecuencia del módulo de almacenamiento (G') y el módulo de pérdida (G'') para las diferentes formulaciones de hidrogeles de GG con SPD.

Se observó una dependencia de los módulos dinámicos en función de la cantidad de SPD utilizada. Los valores de G' aumentan cuando la SPD se incrementó de 0.125 mg/mL a 0.5 mg/mL. Este resultado evidencia la efectividad del entrecruzamiento del polisacárido con la SPD, aumentando la rigidez del hidrogel debido al aumento en la densidad de entrecruzamiento.

Un comportamiento similar ha sido registrado por López-Cebral et al. 2013 en hidrogeles de GG-albúmina-sulfato de condroitina-SPD; entre mayor es la cantidad de SPD mayor es el módulo de almacenamiento. Matricardi et al. 2009 reportaron también un efecto similar en hidrogeles de GG reticulados con diferentes concentraciones de lisina (8.91, 17.82, 26.73 μmol), al aumentar la cantidad de entrecruzante, aumentó G' .

El valor de G'' en las formulaciones GG-SPD₁ y GG-SPD₂ es un orden menor respecto a G' lo que indica que en estos hidrogeles domina el componente elástico sobre el viscoso y que estos materiales tienen un comportamiento de un sólido viscoelástico (Cardoso et al. 2017; Koivisto et al. 2018; Matricardi et al. 2009).

Los valores de G' y G'' son casi independientes a la frecuencia, lo que es típico de los materiales gelatinosos (García et al. 2011); los módulos dinámicos permanecen prácticamente constantes a excepción de la formulación de GG-SPD₃ que contiene menor cantidad de SPD.

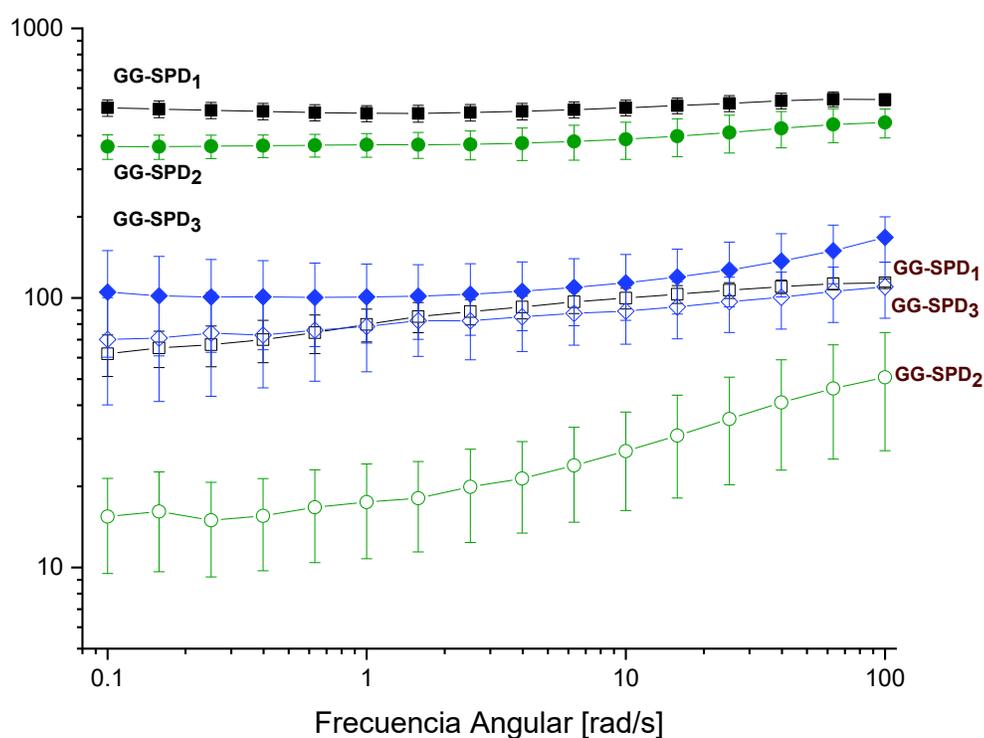


Figura 43. Barrido de frecuencia de hidrogeles de GG-SPD a diferentes concentraciones de espermidina realizado a 25 °C G' (símbolos rellenos) y G'' (símbolos vacíos).

5.2.6 Análisis termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico de las diferentes formulaciones de hidrogeles aporta información de su estabilidad térmica y composición. La Tabla 4 muestran las $T_{m\acute{a}x}$ para todas las muestras examinadas, es decir de los reactivos y de las diferentes formulaciones de hidrogeles.

El termograma de polvo de GG indicó una pérdida de masa de ~3%, con una $T_{m\acute{a}x}$ de 52 °C, lo cual se debe a la eliminación del agua (Lopez-Heredia et al. 2018). La segunda pérdida de masa del 23% a 251 °C, se asocia a la ruptura de la cadena y a la pérdida de componentes volátiles (Bonifacio et al. 2017). Una última pérdida se observó a 556 °C del 22%, que se asocia con la fragmentación de los monómeros (Bonifacio et al. 2017).

En el polvo de entrecruzante (SPD) se observó una buena estabilidad térmica, ya que la primera pérdida ocurrió hasta los 314 °C.

La mezcla de GG-SPD muestra una estabilidad térmica intermedia en comparación a sus componentes individuales. La primera pérdida del ~5% se asocia con la liberación de humedad (<130°C), se observó una $T_{m\acute{a}x}$ de 36 °C para GG-SPD₁, $T_{m\acute{a}x}$ de 37 °C para GG-SPD₂ y $T_{m\acute{a}x}$ de 33 °C para GG-SPD₃.

La segunda pérdida para GG-SPD₁, GG-SPD₂ y GG-SPD₃, es de ~20-22%, conforme se aumenta la cantidad de entrecruzante disminuye la $T_{m\acute{a}x}$ de 254 °C a 247 °C. Esta segunda pérdida de masa se atribuye a la descomposición de las cadenas de bajo peso molecular.

Finalmente el último paso de pérdida de masa ocurrió a 621-626 °C, que corresponde a la degradación del polímero de GG (Douglas et al. 2016; Lopez-Heredia et al. 2018).

Tabla 4. Resultados TGA. Velocidades máximas de degradación y pérdidas de masa de GG y SPD en polvo e hidrogeles GG-SPD a diferentes rangos de temperatura.

Rangos de temperatura	0-130 °C		130-300 °C		>300 °C	
	$T_{m\acute{a}x}$ (°C)	Masa (%)	$T_{m\acute{a}x}$ (°C)	Masa (%)	$T_{m\acute{a}x}$ (°C)	Masa (%)
GG	52	3	251	23	556	22
SPD	-	-	-	-	314	37
GG-SPD ₁	36	5	247	20	626	64
GG-SPD ₂	37	5	251	21	621	59

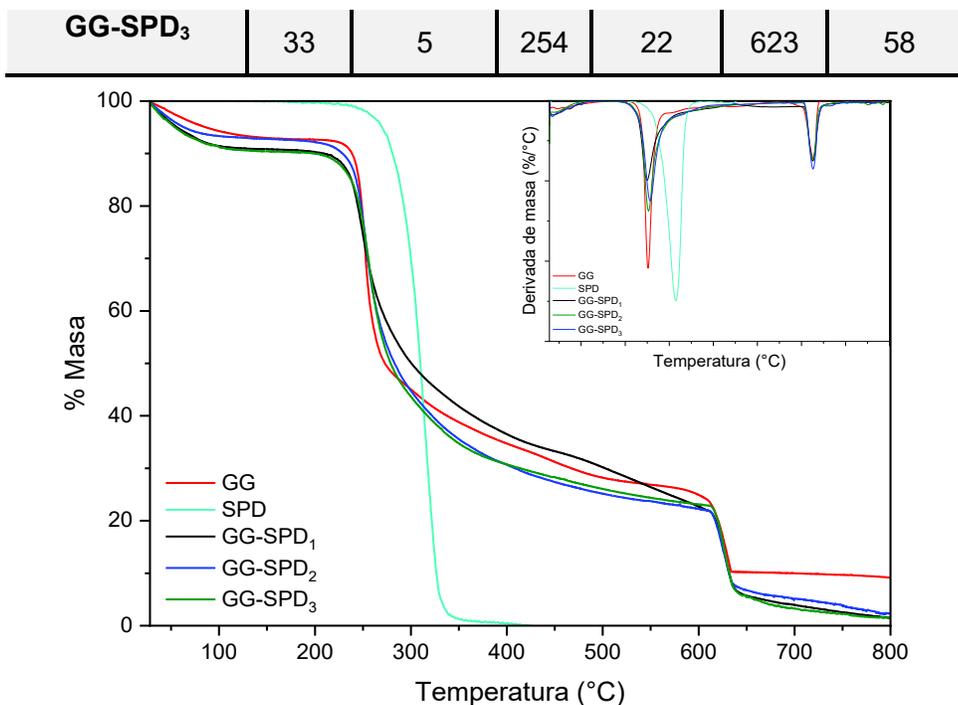


Figura 44. Curvas TGA y DTG en hidrogeles de GG-SPD, a diferentes concentraciones de espermidina.

5.3 Obtención de hidrogeles nanocompuestos

Se obtuvieron diferentes formulaciones de hidrogeles con un volumen de 1 mL como se observa en la Figura 45. La superficie, en vista macroscópica es homogénea en ambos casos, dando indicios de que los componentes que lo formulan se mezclaron adecuadamente.

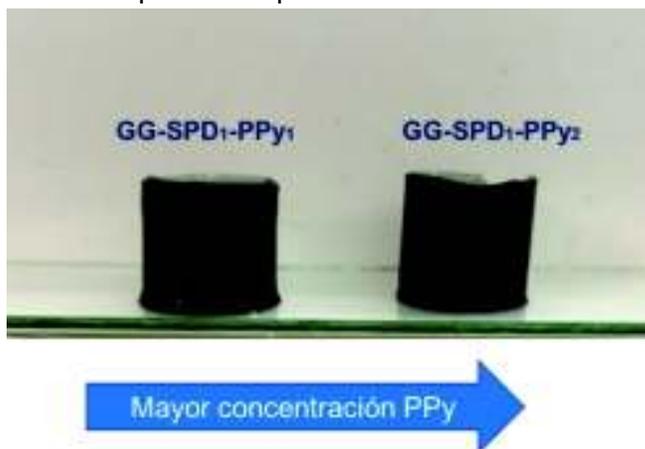


Figura 45. Imagen de las diferentes formulaciones de hidrogel fresco nanocompuesto.

5.3.1 Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier

La Figura 46 muestra el espectro de FTIR-ATR de los diferentes hidrogeles nanocompuestos con diferentes proporciones de PPy. En los hidrogeles nanocompuestos se observó bandas similares al hidrogel sin nanopartículas GG-SPD₁. Se puede observar que hay un ligero recorrimiento de las bandas y variación en las intensidades.

El espectro de GG-SPD₁ muestra una vibración de estiramiento del grupo (-OH) 3587-3000cm⁻¹, en GG-SPD₁-PPy₁ se observó a una longitud de onda de 3612-3067cm⁻¹ y en GG-SPD₁-PPy₂ se mostró a 3590-3049cm⁻¹.

En las regiones de 1601-1596 cm⁻¹ y 1417-1406 cm⁻¹ se observaron las vibraciones de estiramientos asimétricos y simétricos del grupo carboxilo (-COO-), respectivamente (Bonifacio et al. 2017; De Souza et al. 2016; Zargar et al. 2019).

En la región de 1037-1029 cm⁻¹ se señalan que corresponden a flexiones (C-O) en las diferentes formulaciones. La diferencia entre las intensidades y el recorrimiento de las bandas se debe a la cantidad de PPy utilizado. En los hidrogeles nanocompuestos no se observaron las bandas del PPy ya que las señales del PPy están dentro del mismo rango de las señales de la GG. Además, estos hidrogeles están reticulados físicamente, es decir no están unidos covalentemente. Lo que dificulta aún más su visualización por FTIR. A pesar de que no se pueden ver las bandas correspondientes de PPy se observó un recorrimiento y un cambio en las intensidades de las señales.

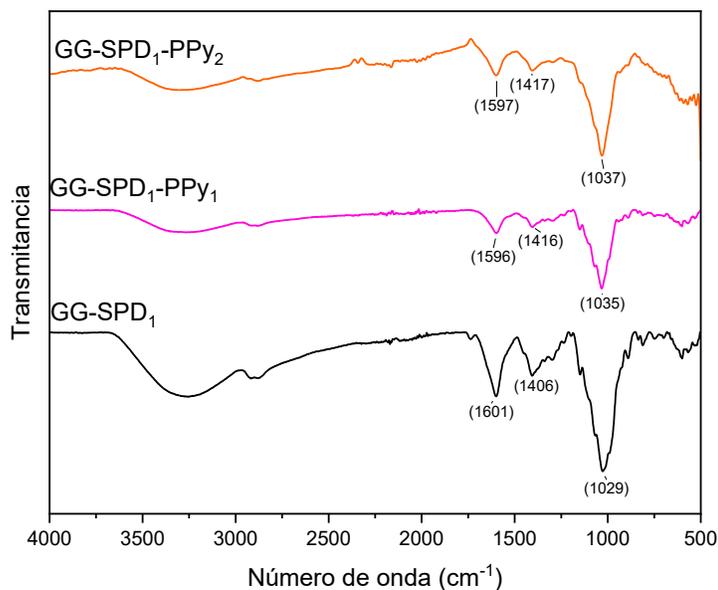


Figura 46. Espectro de FTIR-ATR en hidrogel GG-SPD₁ e hidrogeles nanocompuestos.

5.3.2 Estudios de hinchamiento

Se observó un rápido hinchamiento en todas las formulaciones de hidrogeles liofilizados durante los primeros 25 min de contacto con el buffer a 37°C. La capacidad de hinchamiento en los hidrogeles nanocompuestos en función del pH y temperatura se puede observar en las Figuras 47 a) y b).

El hidrogel GG-SPD₁-PPy₁ presenta un menor porcentaje de hinchamiento en el equilibrio en comparación con el hidrogel sin nanopartículas (GG-SPD₁). Esto se relaciona con la naturaleza hidrofóbica de las nanopartículas de PPy y la disminución del volumen libre de la matriz (Bonifacio et al. 2017; Coutinho et al. 2010).

Se aprecia una disminución en la capacidad de hinchamiento al aumentar el contenido de nanopartículas de PPy en ambos pH y temperaturas, como se puede apreciar la capacidad de hinchamiento del hidrogel GG-SPD₁-PPy₂ es menor en comparación a la formulación que contiene menor concentración de nanopartículas (GG-SPD₁-PPy₁). Estas disminuciones en la absorción de agua pueden estar relacionadas al contenido del polímero hidrofóbico (Bonifacio et al. 2017; Huang et al. 2017).

En hidrogeles de GG con glicerol cargados con nanotubos de halloysita y entrecruzados con CaCl₂, se obtuvo menor capacidad de hinchamiento en buffer PBS, en los hidrogeles que contenían mayor concentración de nanotubos (Bonifacio et al. 2017).

Para los hidrogeles tipo esponjosos de GG, reforzados con nanopartículas de vidrio bioactivo y entrecruzados con CaCl₂ por Gantar et al. 2014 se reportó el mismo comportamiento en buffer PBS. A medida que aumentaron la cantidad de nanopartículas de vidrio bioactivas del 25% al 50%, disminuyó la capacidad de hinchamiento.

Se observó que las muestras GG-SPD₁-PPy₁ y GG-SPD₁-PPy₂, tienen una mayor capacidad de hinchamiento a pH 7.4 comparado con su comportamiento a pH 3.0. Lo anterior evidencia que la adición de nanopartículas de PPy, no afecta la sensibilidad al pH de la red de GG.

Estas diferencias podrían ser útiles para controlar la liberación de fármacos cargados en la matriz y estos resultados muestran la versatilidad para responder de manera diferente según la fuerza iónica, el pH y la temperatura, de este nuevo sistema nanocompuesto.

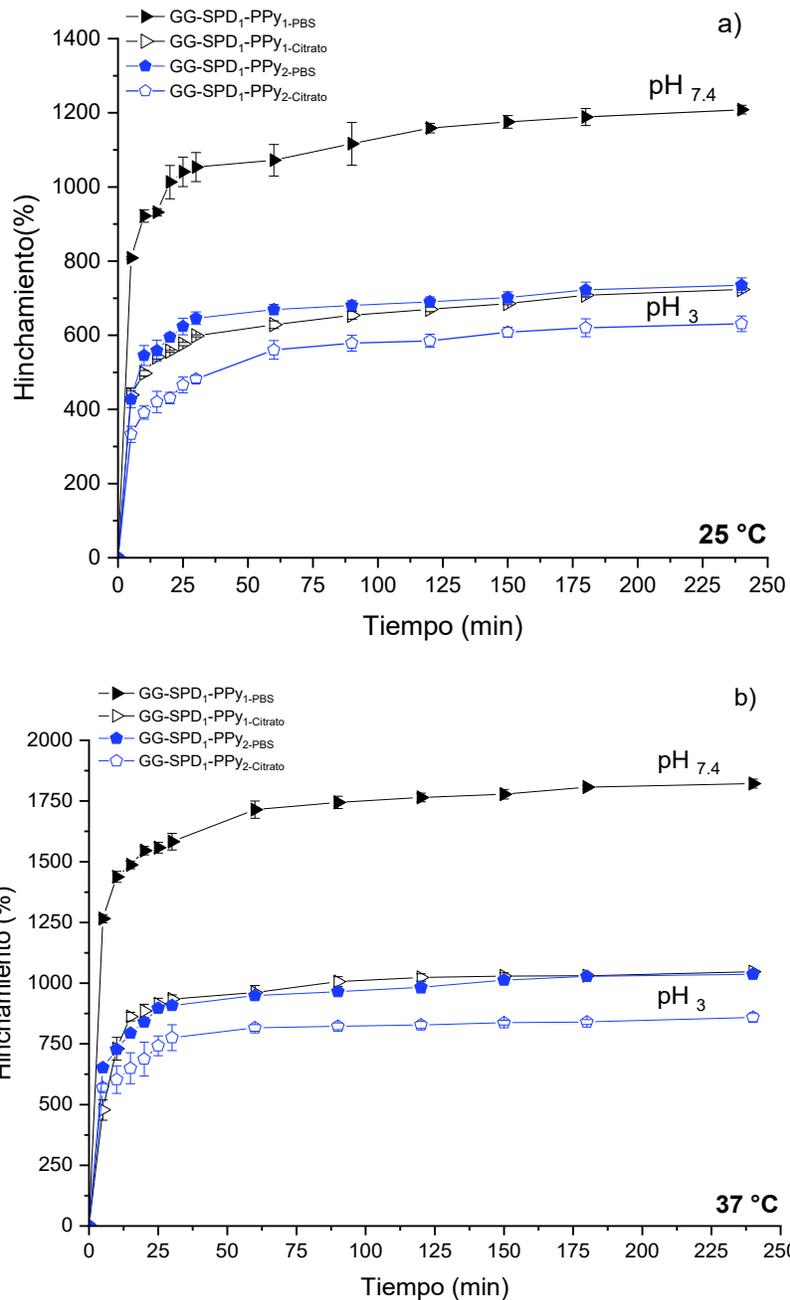


Figura 47. Estudios de hinchamiento de hidrogel GG-SPD₁ e hidrogeles nanocompuestos con diferentes concentraciones de PPy a pH 3 y 7.4: a) 25 °C y b) 37 °C.

5.3.3 Estudios morfológicos

Los estudios morfológicos y de microestructura en los xerogeles sin y con nanopartículas podemos observar que en todas las formulaciones el tamaño de poro no es uniforme (Figura

48). Además, se observó que el añadir nanopartículas no tiene efecto en el control del tamaño de poro.

En hidrogeles de GG-glicerol-nanoarcilla de halloysita (HNT) reticulados con CaCl_2 , no observaron cambios significativos en la microestructura o en el tamaño de los poros de los hidrogeles, al variar la concentración de HNT (Bonifacio et al. 2017).

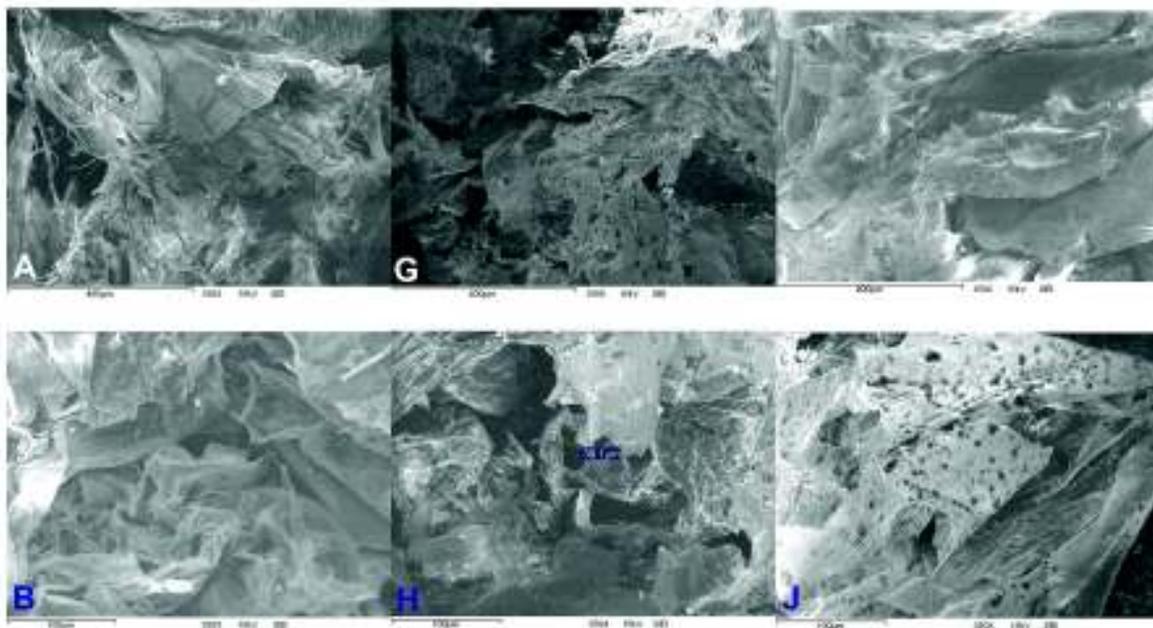


Figura 48. Micrografías de SEM en las diferentes formulaciones de hidrogeles nanocompuestos y del hidrogel GG-SPD₁: A-B) GG-SPD₁, G-H) GG-SPD₁-PPy₁ y I-J) GG-SPD₁-PPy₂ a 150 y 350 X.

5.3.4 Estudios reológicos

La Figura 49 muestra barridos de frecuencia del módulo de almacenamiento (G') y el módulo de pérdida (G'') para las formulaciones de hidrogeles nanocompuestos de PPy con diferente concentración de nanopartículas. Se incluyen los resultados de la matriz de GG-SPD con fines comparativos.

Se observó un efecto en el G' al incorporar nanopartículas de PPy; es mayor en el hidrogel que contiene nanopartículas de GG-SPD₁-PPy₁ en comparación al hidrogel sin nanopartículas (GG-SPD₁) lo que indica que la adición de las nanopartículas produce un reforzamiento de la estructura tridimensional de los hidrogeles.

De forma contrastante, se puede observar que el hidrogel que contiene mayor concentración de nanopartículas de PPy (GG-SPD₁-PPy₂) tiene menor G' y G'' en comparación al GG-SPD₁-PPy₁.

El valor de G'' en la formulación GG-SPD₁-PPy₁ es una orden menor respecto a G' lo que indica que en los hidrogeles domina el comportamiento elástico sobre el comportamiento viscoso y que estos materiales tienen un comportamiento de un sólido viscoelástico (Cardoso et al. 2017; Koivisto et al. 2018; Matricardi et al. 2009).

En el hidrogel GG-SPD₁-PPy₂ predomina el comportamiento de semi-líquido ($G'' > G'$). Esto denota el carácter predominante como un líquido viscoelástico, lo que indica que la energía utilizada para deformar el material se disipa de forma viscosa (Farahnaky et al. 2010; Naficy et al. 2014).

Los valores de G' y G'' son casi independientes a la frecuencia, lo que es típico de los materiales gelatinosos (García et al. 2011); permanecen prácticamente constantes a excepción de la formulación de GG-SPD₁-PPy₂ que contiene mayor cantidad de PPy.

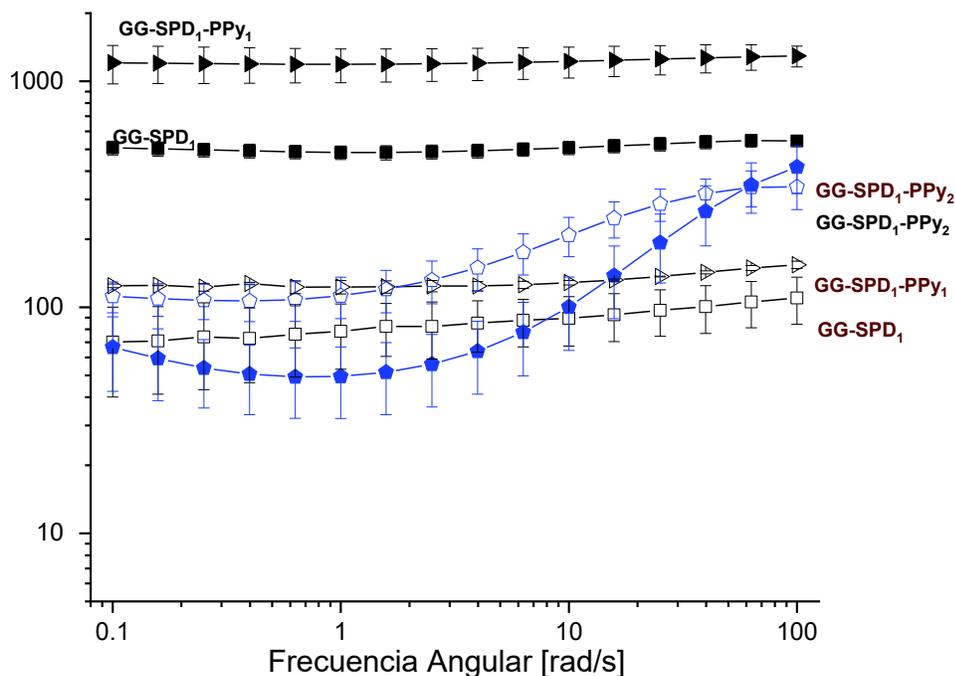


Figura 49. Barrido de frecuencia de hidrogel GG-SPD₁ e hidrogeles con nanopartículas de PPy, con diferentes proporciones de PPy realizado a 25 °C G' (símbolos rellenos) y G'' (símbolos vacíos).

5.3.5 Análisis termogravimétrico (TGA)

La Tabla 5 muestra las $T_{m\acute{a}x}$ para las diferentes formulaciones de hidrogeles nanocompuestos con diferentes concentraciones de PPy.

En los hidrogeles nanocompuestos, la primera pérdida de masa fue del 4 al 5% con una $T_{m\acute{a}x}$ de 45 °C para GG-SPD₁-PPy₂ y $T_{m\acute{a}x}$ de 35 °C para GG-SPD₁-PPy₁. La última pérdida de masa en los hidrogeles nanocompuestos fue menor en comparación a la formulación de hidrogel que contienen la misma cantidad de entrecruzante, pero sin nanopartículas GG-SPD₁.

Estas últimas pérdidas se relacionan con la degradación de las cadenas principales del polímero. Al incorporar PPy en las muestras de GG-SPD₁-PPy₁ y GG-SPD₁-PPy₂ se observan los mismos patrones de pérdida de masa que en los hidrogeles sin nanopartículas, pero con menor intensidad y un recorrimiento en el intervalo de temperatura.

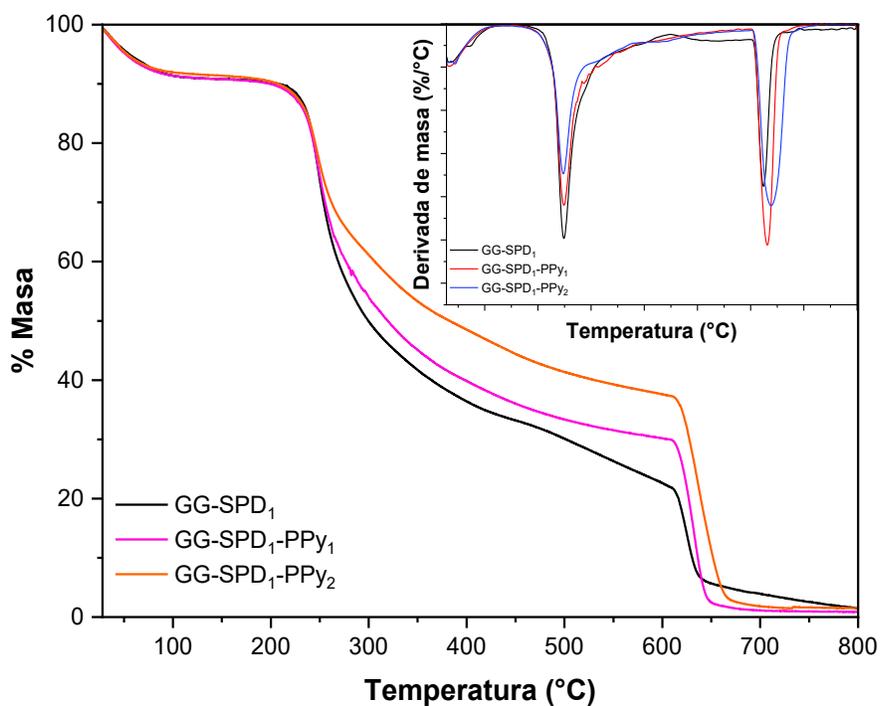


Figura 50. Curvas TGA y DTG en hidrogel GG-SPD₁ e hidrogeles nanocompuestos con diferentes concentraciones de PPy.

Tabla 5. Resultados TGA. Velocidades máximas de degradación y pérdidas de masa en hidrogeles nanocompuestos y GG-SPD₁.

Rangos de temperatura	0-130 °C		130-300 °C		>300 °C	
	T _{máx} (°C)	Masa (%)	T _{máx} (°C)	Masa (%)	T _{máx} (°C)	Masa (%)
GG-SPD ₁	36	5	247	20	626	64
GG-SPD ₁ -PPy ₁	35	5	250	19	632	60
GG-SPD ₁ -PPy ₂	45	4	248	18	639	55

5.3.6 Voltametría cíclica (VC)

La VC se utilizó para investigar las características electroquímicas de las nanopartículas de PPy, en función de la carga que abarca tanto las reacciones de reducción como la oxidación, sin causar cambios irreversibles en el polímero. El estudio se realizó en el polvo de PPy sintetizado y en el hidrogel GG-SPD₁-PPy₁.

En el caso de la muestra de PPy se observaron los picos de oxidación y reducción del polímero alrededor de 0.12 (a) y -0.19 V (b), respectivamente (Figura 51 izquierda).

En la figura 51 derecha se observan los picos de oxidación y reducción a 0.07 y -0.32 V, respectivamente, con menor intensidad en comparación a PPy, esto se debe a la presencia de la matriz no conductora GG.

No se logró obtener VC del hidrogel GG-SPD₁-PPy₂, a causa de la mala adhesión del hidrogel con el electrodo.

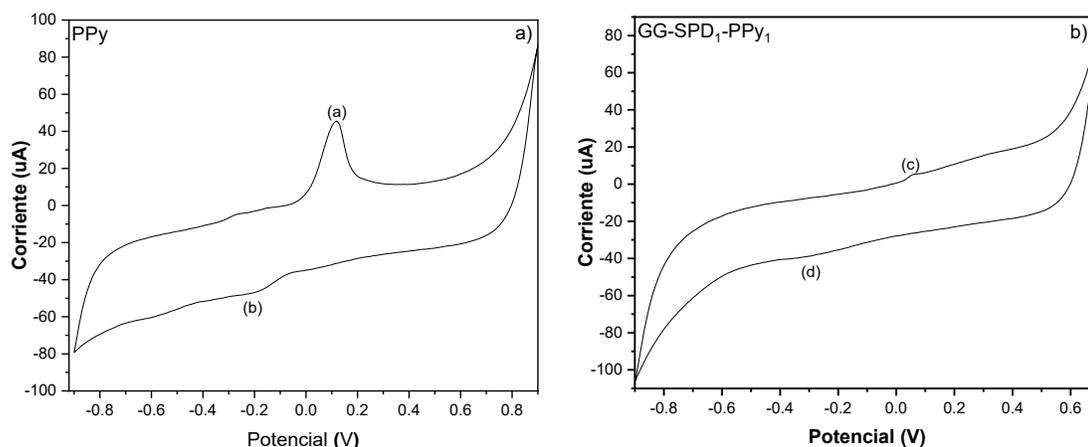


Figura 51. Curvas de VC del quinto ciclo de: a) Película de PPy y b) Xerogel GG-SPD₁-PPy₁ en H₂SO₄ 100 mM.

5.3.7 Conductividad eléctrica

Para comprobar si los hidrogeles conservaban la capacidad conductora del PPy se realizó análisis de conductividad eléctrica. La conductividad en el xerogel que contiene mayor concentración de PPy fue mayor en comparación a GG-SPD₁-PPy₁. Se observó que mantienen sus propiedades eléctricas. La prueba de conductividad en los xerogeles no es común; sin embargo, por las características de estos hidrogeles fue posible la medición (Anexo 2).

La conductividad en el xerogel que contiene mayor concentración de PPy (GG-SPD₁-PPy₂) fue mayor en comparación al GG-SPD₁-PPy₁ Tabla 6. Es importante destacar que la conductividad de la muestra GG-SPD₁-PPy₁ es aceptable en comparación a la conductividad obtenida en otros sistemas como partículas de PPy obtenidas con H₂O₂ y radiación de UV. La conductividad eléctrica que reportaron fue de 10⁻⁰ S/cm⁻¹ (Zhang et al. 2015).

Tabla 6. Conductividad eléctrica de nanopartículas de PPy e hidrogeles nanocompuestos.

Muestra	Conductividad (S/cm)
PPy	6x10 ⁻²
GG-SPD ₁ -PPy ₁	3.9x10 ⁻²
GG-SPD ₁ -PPy ₂	5x10 ⁻²

5.4 Obtención de hidrogeles cargados con ibuprofeno

Se utilizó Ibuprofeno como fármaco modelo para estudiar el comportamiento de liberación a partir de los hidrogeles. El IB es un fármaco muy utilizado como analgésico y antiinflamatorio para el tratamiento de estados dolorosos, acompañados de inflamación como artritis reumatoide leve, osteoartritis, esguinces y torceduras (Sebri y Amin 2015).

La Figura 52 muestra las diferentes formulaciones de los xerogeles sin y con NPS cargados con IB. En todas las formulaciones los xerogeles tienen forma definida. Los xerogeles conservaron la forma cilíndrica proveniente del molde utilizado, durante su elaboración.



Figura 52. Diferentes formulaciones de los xerogeles sin y con nanopartículas de PPy.

La masa y el porcentaje de cargado de fármaco en el hidrogel se observa en la Tabla 7. Al aumentar la concentración de nanopartículas, provoca una disminución en la capacidad de IB cargado en los hidrogeles. El aumentar el contenido PPy disminuye el volumen libre del hidrogel.

Tabla 7. Masa y porcentaje cargado de IB en los hidrogeles sin y con nanopartículas de PPy.

Muestra	Ibuprofeno (g) en el hidrogel	Ibuprofeno (%)
GG-SPD ₁	.0145±0.0875	46.9±0.0875
GG-SPD ₁ -PPy ₁	.0018±0.069	56.55±0.069
GG-SPD ₁ -PPy ₂	.00116±0.072	36.43±0.072

5.4.1 Estudios morfológicos

Los estudios morfológicos en los xerogeles sin y con nanopartículas cargados con ibuprofeno, se observó que en todas las formulaciones el tamaño de poro no es uniforme (Figura 53). Además, se observó que el añadir fármaco no tiene efecto en el control del tamaño de poro.

En hidrogeles de GG-almidón cargados con ketofreno, reticulados iónicamente en diferentes proporciones de Al⁺³, observaron estructuras porosas e irregulares en micrografías de SEM a 500 y 1000x (Oliveira et al. 2017).

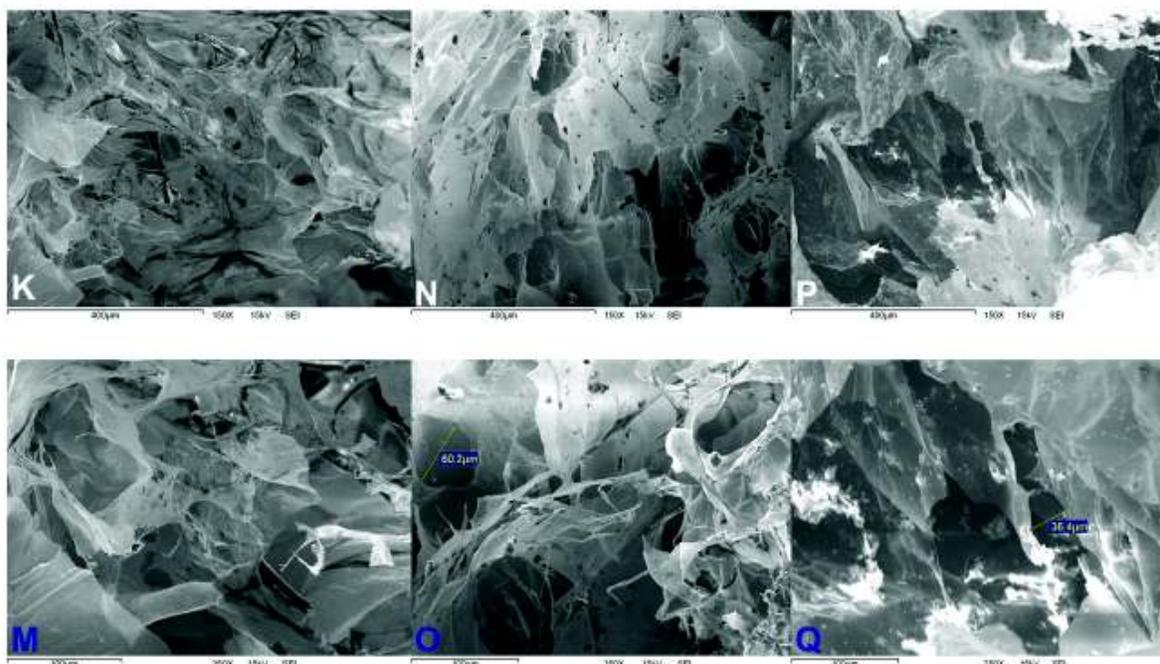


Figura 53. Micrografías de SEM en las diferentes formulaciones de hidrogeles nanocompuestos y del hidrogel GG-SPD₁ cargados con ibuprofeno: K-M) GG-SPD₁, N-O) GG-SPD₁-PPy₁ y P-Q) GG-SPD₁-PPy₂ a 150 y 350 X.

5.4.2 Estudios de liberación

En este trabajo se realizó la liberación *in vitro* en un ambiente controlado usando una solución de tampón de fosfato 100mM a pH 7.4 para imitar las condiciones fisiológicas. Los hidrogeles nanocompuestos se prepararon para evaluar su potencial como material sensible a estímulos eléctricos para la administración controlada de fármacos.

Existen diversos factores que pueden afectar los perfiles de liberación como la naturaleza del fármaco, el método de cargado y la interacción entre el fármaco-polímero (Bansal et al. 2020).

La liberación espontánea en GG-SPD₁ fue de 0% (Figura 54). Se asume que uno de los factores principales que afectó la liberación del fármaco del hidrogel GG-SPD₁ fue la fuerte interacción del fármaco con el entrecruzante, debido a que a pH 7.4 el ibuprofeno (pKa= 4.91) está desprotonado y el entrecruzante está protonado.

Quevedo-Robles et al. 2019 obtuvieron un comportamiento similar en hidrogeles reticulados físicamente, donde el fármaco interaccionó fuertemente con la matriz. En este caso se fundamentó la formación de un complejo entre alginato aniónico y el fármaco catiónico en condiciones fisiológicas.

Sin embargo, la aplicación de un estímulo eléctrico puede cambiar el tamaño de poros y puede provocar un aumento en la liberación de biomoléculas (Bansal et al. 2020).

Al aplicarle un voltaje negativo de -5V la liberación es mayor en comparación a la liberación espontánea (Figura 54), ya que el impulso aplicado puede provocar la repulsión en los grupos (-COOH) del fármaco. Esta liberación también puede asociarse a los movimientos de las moléculas cargadas del fármaco (electroforesis) por el impulso eléctrico aplicado, debido a que el ibuprofeno a pH 7.4 presenta carga negativa.

Cuando se aplicó un impulso +5V, se observó que el porcentaje de liberación fue mayor en comparación a la liberación espontánea. Este comportamiento se puede atribuir a una repulsión del fármaco con el entrecruzante (-NH₂), por la aplicación de la carga.

En general, la liberación del fármaco desde la matriz de GG-SPD fue menor al 18%, tanto de forma pasiva, como con la aplicación del estímulo eléctrico positivo o negativo.

Una de las ventajas de emplear un polímero electroactivo se basa en que las drogas iónicas pueden ser cargadas y liberadas electroquímicamente de la matriz polimérica de forma controlada. Al aplicar un impulso eléctrico se produce un cambio redox en la carga de la red del polímero durante la reacción, como respuesta de la señal eléctrica aplicada, permitiendo al polímero atraer y expulsar iones (Sáez y Sanz, 2002).

En la Figura 55a) y b) se observa que la liberación espontánea del fármaco aumenta ligeramente al añadir nanopartículas en comparación al hidrogel sin nanopartículas (GG-SPD₁). También se observó que la cantidad de fármaco liberado aumentó con el incremento de concentración de NPs de PPy en los hidrogeles.

Favorablemente, el hidrogel GG-SPD₁-PPy₂ liberó casi un 70% de ibuprofeno cuando se aplicó un impulso negativo de -5 V, en cambio GG-SPD₁-PPy₁ liberó 60%. Este efecto se puede deber al cambio de carga neta global dentro de la matriz, después del proceso de oxidación-reducción (Ge et al. 2012). La reducción electroquímica del PPy puede provocar cambios en la densidad de carga y contracción del volumen de la matriz, lo que conlleva a la liberación de ibuprofeno. Este resultado indica que la cinética de liberación del fármaco desde los hidrogeles compuestos puede ser controlada y activada mediante la aplicación de un potencial eléctrico de baja intensidad. La aplicación de un voltaje positivo de 5V produjo también un incremento en la liberación con respecto a la liberación espontánea; sin embargo, este aumento es menos significativo que el obtenido con el potencial negativo.

Con base en los resultados obtenidos, es posible proponer un esquema que muestre el efecto de las cargas sobre la liberación del fármaco a partir de los hidrogeles de goma gellan nanocompuestos.

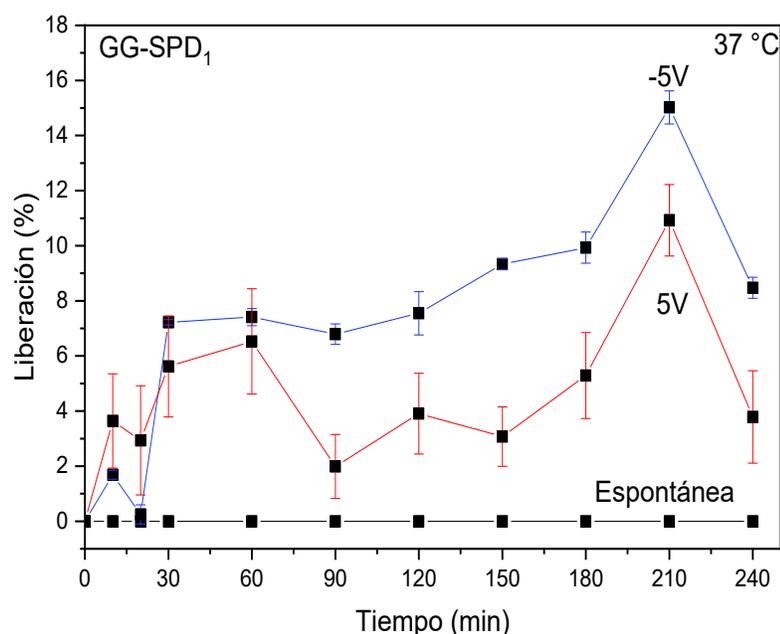


Figura 54. Liberación de hidrogel GG-SPD₁ cargado con ibuprofeno en pH 7.4.

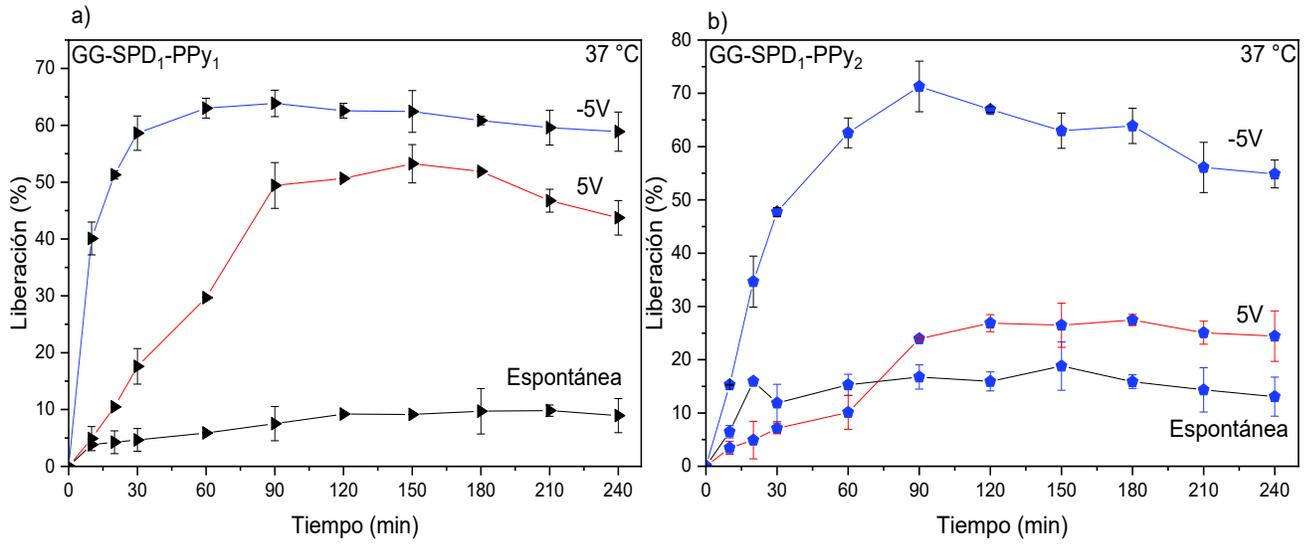


Figura 55. Liberación de hidrogel cargado con ibuprofeno en pH 7.4 a) GG-SPD₁-PPy₁ y b) GG-SPD₁-PPy₂.

6. CONCLUSIONES

En este trabajo se desarrolló la síntesis de coloides de PPy mediante el método de emulsión basado en la química verde por el uso de peróxido de hidrogeno como agente oxidante, que no genera residuos contaminantes en el polímero y es amigable con el medio ambiente. Se sintetizaron hidrogeles homogéneos de goma gellan, utilizando espermidina como entrecruzante iónico, sin y con la adición de nanopartículas de PPy.

En los estudios de hinchamiento se observó que al variar la cantidad de entrecruzante en los hidrogeles de GG-SPD cambia la capacidad de hinchamiento, confirmando la efectividad de la reticulación con la SPD. Se observó también que la capacidad de hinchamiento disminuye al añadir nanopartículas de PPy en los hidrogeles, lo que se asocia con el efecto hidrofóbico del polímero electroconductor. Los hidrogeles nanocompuestos (GG-SPD₁-PPy₁ y GG-SPD₁-PPy₂) conservaron la sensibilidad al pH típica de la matriz GG.

Se comprobó la estabilidad mecánica de los diferentes sistemas preparados, encontrándose que el módulo de almacenamiento se modifica según el contenido de PPy. La estabilidad térmica fue mayor en los hidrogeles nanocompuestos y además se observó que las nanopartículas de PPy conservaron sus propiedades conductoras y electroactivas, a pesar de estar contenidos en una matriz no conductora.

La cinética de liberación de ibuprofeno desde los hidrogeles nanocompuestos fue sensible a la aplicación de potenciales eléctricos, lo que se relacionó con las propiedades electroactivas del polímero electroconductor.

De acuerdo con los resultados obtenidos, la formulación del hidrogel nanocompuesto GG-SPD₁-PPy₁ se considera la más favorable ya que se observaron valores adecuados de capacidad de hinchamiento, propiedades mecánicas estables con un carácter de hidrogel verdadero y un perfil de liberación más sostenido y controlado en función del estímulo aplicado, en comparación a las otras formulaciones de hidrogeles.

7. RECOMENDACIONES

- Realizar pruebas de voltametría cíclica con otro método, por ejemplo, con un potenciostato galvanostato.
- Realizar pruebas de liberación a diferentes pH y temperatura, sin y con estímulos eléctricos.
- Realizar pruebas de liberación con estímulos eléctricos, en base al mecanismo del sistema prendido-apagado.
- Realizar pruebas de liberación con diferentes fármacos. Para confirmar la efectividad de liberación de los hidrogeles.
- Realizar pruebas de citotoxicidad.

8. BIBLIOGRAFIA

- Ahmed E. 2015. "Hydrogel: Preparation, Characterization, and Applications: A Review." *Journal of Advanced Research* 6(2):105–21.
- Arredondo A, Londoño M 2009. "Hidrogeles: Potenciales Biomateriales Para La Liberación Controlada De Medicamentos." *Revista Ingeniería Biomédica* 3(5):83–94.
- Bahram M, Mohseni N, Moghtader M. 2016. "An Introduction to Hydrogels and Some Recent Applications". in *Emerging Concepts in Analysis and Applications of Hydrogels*, Vol. 51535, IntechOpen.
- Banik R, Kanari B, Upadhyay S. 2000. "Exopolysaccharide of the Gellan Family: Prospects and Potential." *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 16(5):407–14.
- Bencherif S, et al. 2009. "Nanostructured Hybrid Hydrogels Prepared by a Combination of Atom Transfer Radical Polymerization and Free Radical Polymerization." *Biomaterials* 30(29):5270–78.
- Berti F, et al. 2017. "Synthesis and Characterization of Electroactive Gellan Gum Spongy-like Hydrogels for Skeletal Muscle Tissue Engineering Applications." *Tissue Engineering - Part A* 23(17–18):1–12.
- Bonifacio M, Gentile P, Ferreira A, Cometa S, De Giglio E. 2017. "Insight into Halloysite Nanotubes-Loaded Gellan Gum Hydrogels for Soft Tissue Engineering Applications." *Carbohydrate Polymers* 163:280–91.
- Bonilla M. 2018. "Elaboración de Una Nano-Emulsión de Liberación Controlada Con Lecitina de Soya y Un Fármaco Lipofílico." Universidad central de ecuador.
- Bouldin R, et al. 2010. "Enzymatic Synthesis of Electrically Conducting Polymers." Pp. 23–315 in *Green Polymer Chemistry: Biocatalysis and Biomaterials*. Vol. 1043, *ACS Symposium Series*. American Chemical Society.
- Burrola H. 2014. "Preparación de Películas Extruidas de Poli(Ácido Láctico) y Quitosano." Universidad de Sonora.
- Cardoso V, Cury B, Evangelista R, Gremião M. 2017. "Development and Characterization of

- Cross-Linked Gellan Gum and Retrograded Starch Blend Hydrogels for Drug Delivery Applications.” *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 65:317–333.
- Cassanelli M, I Norton I, Mills T. 2017. “Effect of Alcohols on Gellan Gum Gel Structure: Bridging the Molecular Level and the Three-Dimensional Network.” *Food Structure* 14(5):112–20.
- Chandra R, Rustgi R. 1998. “Biodegradable Polymers.” *Progress in Polymer Science (Oxford)* 23(7):1273–1335.
- Coutinho D, et al. 2010. “Modified Gellan Gum Hydrogels with Tunable Physical and Mechanical Properties.” *Biomaterials* 31(29):7494–7502.
- Cropotova J, Tylewicz U, Rocculi P, Popel S, Rosa M. 2017. “Thermal Properties of Fruit Fillings as a Function of Different Formulations.” *Food Structure* 14:85–94.
- Cruz-Silva R, et al. 2008. “Biocatalytic Synthesis of Polypyrrole Powder, Colloids, and Films Using Horseradish Peroxidase.” *Journal of Colloid and Interface Science* 328(2):263–69.
- Dall’Olio A, Dascola G, Varacca V, Bocche V. 1968. “No Title.” *Acad. Sci* 433:267C.
- Douglas T, et al. 2016. “Generation of Composites for Bone Tissue-Engineering Applications Consisting of Gellan Gum Hydrogels Mineralized with Calcium and Magnesium Phosphate Phases by Enzymatic Means.” *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* 10(11):938–54.
- Farahnaky A, Askari H, Majzoubi M, Mesbahi G. 2010. “The Impact of Concentration, Temperature and PH on Dynamic Rheology of Psyllium Gels.” *Journal of Food Engineering* 100(2):294–301.
- Ferris C, Panhuis M. 2009. “Conducting Bio-Materials Based on Gellan Gum Hydrogels.” *Soft Matter* 5(18):3430–3437.
- Gantar A, et al. 2014. “Nanoparticulate Bioactive-Glass-Reinforced Gellan-Gum Hydrogels for Bone-Tissue Engineering.” *Materials Science and Engineering C* 43:27–36.
- García C, Alfaro C, Calero N, Muñoz J. 2011. “Influence of Gellan Gum Concentration on the Dynamic Viscoelasticity and Transient Flow of Fluid Gels.” *Biochemical Engineering*

Journal 55(2):73–81.

Giavasis I, Harvey L, McNeil B. 2000. "Gellan Gum." *Critical Reviews in Biotechnology* 20(3):177–211.

Gibson W, Sanderson G. 1997. "Gellan Gum." *Thickening and Gelling Agents for Food* 119–43.

Grijalva-Bustamante G, et al. 2020. "A Novel Bile Salt-Assisted Synthesis of Colloidal Polypyrrole Nanoparticles." *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 600:124961.

Guerra G, et al. 2012. "Spermidine-Induced Improvement of Memory Involves a Cross-Talk between Protein Kinases C and A." *Journal of Neurochemistry* 122(2):363–73.

Guiseppi-Elie A. 2010. "Electroconductive Hydrogels: Synthesis, Characterization and Biomedical Applications." *Biomaterials* 31(10):2701–16.

Guo B, Ma P. 2014. "Synthetic Biodegradable Functional Polymers for Tissue Engineering: A Brief Review." *Science China Chemistry* 57(4):490–500.

Gururajan R, Narayanaswamy S. 2016. "Synthesis and Characterization of Spermidine - Oxalic Acid (Sp-Ox) Nanoparticles and Its Toxicity in Chinese Hamster Ovary (CHO) Cells." SRM University.

Hazarika J, Kumar A. 2013. "Controllable Synthesis and Characterization of Polypyrrole Nanoparticles in Sodium Dodecylsulphate (SDS) Micellar Solutions." *Synthetic Metals* 175:155–62.

Heidarizadeh F, Asadipour S. 2015. "Green Synthesis of Nano Polypyrrole Using Urea-Hydrogen Peroxide." *Quarterly Journal of Iranian Chemical Communication* 3(Issue 3, pp. 180-282, Serial No. 8):187–98.

Herrera C, et al. 2014. "Poliaminas: Pequeños Gigantes de La Regulación Metabólica." *REB. Revista de Educación Bioquímica* 33(2):51–57.

Higgins T, Moulton S, Gilmore K, Wallace G, Panhuis M. 2011. "Gellan Gum Doped Polypyrrole Neural Prosthetic Electrode Coatings." *Soft Matter* 7(10):4690–4695.

- Hoare T, Kohane D. 2008. "Hydrogels in Drug Delivery: Progress and Challenges." *Polymer* 49(8):1993–2007.
- Huang B, Liu M, Long Z, Shen Y, Zhou C. 2017. "Effects of Halloysite Nanotubes on Physical Properties and Cytocompatibility of Alginate Composite Hydrogels." *Materials Science and Engineering C* 70(Part 2):303–310.
- De Jong W, Borm P. 2008. "Drug Delivery and Nanoparticles: Applications and Hazards." *International Journal of Nanomedicine* 3(2):133–149.
- Kausaite-Minkstimiene A, Mazeiko A, Ramanaviciene V, Ramanavicius A. 2015. "Evaluation of Chemical Synthesis of Polypyrrole Particles." *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 483:224–231.
- Kharb V, Bhatia M, Dureja H, Kaushik D. 2006. "Nanoparticle Technology for the Delivery of Poorly Water-Soluble Drugs." *Pharmaceutical Technology* 30(2).
- Kia E, Ghasempour Z, Ghanbari S, Pirmohammadi R, Ehsani A. 2018. "Development of Probiotic Yogurt by Incorporation of Milk Protein Concentrate (MPC) and microencapsulated Lactobacillus Paracasei in Gellan-Caseinate Mixture." *British Food Journal* 120(7):1516–1528.
- Kim H, Chun H. 2004. "Use of Gellan Gum and Xanthan Gum as Texture Modifiers for Yackwa, a Korean Traditional Fried Cake." *Preventive Nutrition and Food Science* 9(2):107–12.
- Koivisto J, et al. 2017. "Bioamine-Crosslinked Gellan Gum Hydrogel for Neural Tissue Engineering." *Biomedical Materials (Bristol)* 12(2):0–37.
- Koivisto J, et al. 2018. "Texture-Property Relations of Bioamine Crosslinked Gellan Gum Hydrogels BT - EMBEC & NBC 2017" edited by H. Eskola, O. Väisänen, J. Viik, and J. Hyttinen. 189–192.
- Kozłowska J, et al. 2020. "Modification of Collagen/Gelatin/Hydroxyethyl Cellulose-Based Materials by Addition of Herbal Extract-Loaded Microspheres Made from Gellan Gum and Xanthan Gum." *Materials* 13(16):3507.
- Little W. 1964. "Possibility of Synthesizing an Organic Superconductor." *Physical Review*

134(6A):A1416–1424.

López-Cebral R, et al. 2013. “Spermidine-Cross-Linked Hydrogels as Novel Potential Platforms for Pharmaceutical Applications.” *Journal of Pharmaceutical Sciences* 102(8):2632–2643.

Lopez-Heredia M, et al. 2018. “Mineralization of Gellan Gum Hydrogels with Calcium and Magnesium Carbonates by Alternate Soaking in Solutions of Calcium/Magnesium and Carbonate Ion Solutions.” *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* 12(8):1825–1834.

Luna-Esquivel E, Ojeda-Barríos D, Guerrero-Prieto V, Ruiz-Anchondo T, Martínez-Téllez J. 2014. “Poliaminas Como Indicadores de Estrés En Plantas.” *Revista Chapingo. Serie Horticultura* 20:283–295.

Mártinez M. 2016. “Desarrollo y Aplicaciones de Hidrogeles Para La Administración y Liberación Modificada de Fármacos.” Universidad de Valencia.

Matricardi P, Cencetti C, Ria R, Alhaique F, Coviello T. 2009. “Preparation and Characterization of Novel Gellan Gum Hydrogels Suitable for Modified Drug Release.” *Molecules* 14(9):3376–3391.

Merino S, Martín C, Kostarelou K, Prato M, Vázquez E. 2015. “Nanocomposite Hydrogels: 3D Polymer-Nanoparticle Synergies for on-Demand Drug Delivery.” *ACS Nano* 9(5):4686–4697.

Moghanjoughi A, Khoshnevis D, Zarrabi A. 2016. “A Concise Review on Smart Polymers for Controlled Drug Release.” *Drug Delivery and Translational Research* 6(3):333–340.

Mohd S, Mohd A, Khairul M. 2016. “Gellan Gum/Clay Hydrogels for Tissue Engineering Application: Mechanical, Thermal Behavior, Cell Viability, and Antibacterial Properties.” *Journal of Bioactive and Compatible Polymers* 31(6):648–666.

Murdan S. 2003. “Electro-Responsive Drug Delivery from Hydrogels.” *Journal of Controlled Release* 92(1–2):1–17.

Naficy S, et al. 2014. “Graphene Oxide Dispersions: Tuning Rheology to Enable Fabrication.” *Materials Horizons* 1(3):326–331.

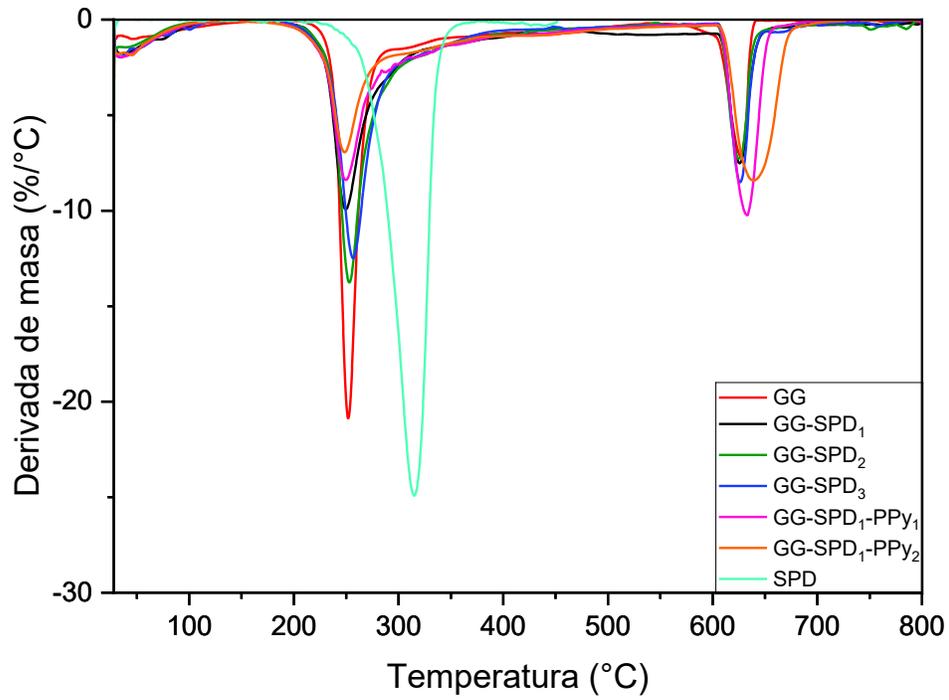
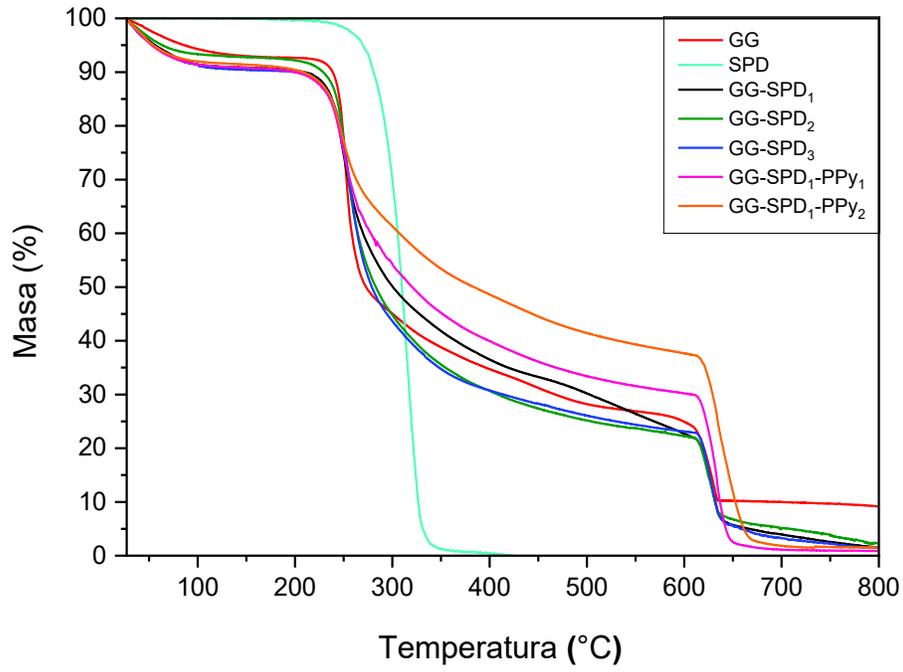
- Negm A, Daniel F. 2019. "Chapter 36: Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs, Disease-Modifying Antirheumatic Drugs, Nonopioid Analgesics, & Drugs Used in Gout." in *Basic & Clinical Pharmacology*, 14e. McGraw-Hill Medical.
- Oak M, Mandke R, Singh J. 2012. "Smart Polymers for Peptide and Protein Parenteral Sustained Delivery." *Drug Discovery Today: Technologies* 9(2):e131–140.
- Oliveira J, et al. 2010. "Gellan Gum: A New Biomaterial for Cartilage Tissue Engineering Applications." *Journal of Biomedical Materials Research-Part A* 93(3):852–863.
- Oliveira V, et al. 2017. "Development and Characterization of Cross-Linked Gellan Gum and Retrograded Starch Blend Hydrogels for Drug Delivery Applications." *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 65:317–333.
- Pacelli S, et al. 2016. "Gellan Gum Methacrylate and Laponite as an Innovative Nanocomposite Hydrogel for Biomedical Applications." *European Polymer Journal* 77:114–123.
- Pal K, Banthia A, Majumdar D. 2009. "Polymeric Hydrogels: Characterization and Biomedical Applications." *Designed Monomers and Polymers* 12(3):197–220.
- Pardilla J, Pico J, Núñez E. 2007. "Síntesis y Caracterización de Polímeros Conductores Basados En Anilinas Sustituidas y Su Aplicación En Electrocatálisis."
- Patarroyo C, Cárdenas A. 2014. "Efecto de Recubrimientos Comestibles a Base Goma Gellan, Gellatina y Caseína Sobre La Cinética de Deterioro de La Mora Castilla Rubus Glaucus Benth Rubus Glaucus Benth." Ibagué : Universidad del Tolima.
- Pérez C. 2013. "Preparación Y Caracterización De Películas Flexibles Compuestas Por Micro-Nano Una Matriz Elastomérica De Poli (Estireno-Etileno/Butileno-Estireno)." 1–96.
- Quevedo-Robles, R. 2020. "Hidrogeles Compuestos Electroconductores Sintetizados A Partir De Una Matriz Ionotrópica De Alginato-Calcio Y Polipirrol Nanoestructurado Utilizando Como Sistemas De Liberación De Fármacos." Universidad de Sonora.
- Quevedo-Robles R, et al. 2019. "Novel Electroconducting Polypyrrole/Carbon Nanotube/Alginate Nanocomposites Synthesized by Hydrogen Peroxide-Mediated Emulsion Pathway." *Synthetic Metals* 253:100–109.

- Rauti R, Musto M, Bosi S, Prato M, Ballerini L. 2019. "Properties and Behavior of Carbon Nanomaterials When Interfacing Neuronal Cells: How Far Have We Come?" *Carbon* 143:430–46.
- Rhee Y, Chang S, Park C, Chi S, Park E. 2008. "Optimization of Ibuprofen Gel Formulations Using Experimental Design Technique for Enhanced Transdermal Penetration." *International Journal of Pharmaceutics* 364(1):14–20.
- Saez A, Guzmán M, Molpeceres J, Aberturas M. 2000. "Freeze-Drying of Polycaprolactone and Poly(D,L-Lactic-Glycolic) Nanoparticles Induce Minor Particle Size Changes Affecting the Oral Pharmacokinetics of Loaded Drugs." *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 50(3):379–387.
- Sáez V, Hernáez E, Sanz L. 2002. "Sistemas De Liberación Controlada De Medicamentos." *Revista Iberoamericana de Polímeros* 3(3):1–20.
- Salazar B. 2018. "Películas y Recubrimientos Comestibles (PCs y RCs) Basadas En Quitosano-Agar." Universidad de Sonora.
- Sebri N, Khairul A. 2015. "Slow Drug Release of Encapsulated Ibuprofen in Cross-Linked Hydrogel for Tissue Engineering Application." *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 9(8):48–52.
- Sharanappa C, Ambresh A, Gangadhar B. 2019. "Gellan Gum Based Silver Nanocomposite Hydrogel: Preparation, Characterisation and Anti-Bacterial Study." Pp. 3937–45 in *Materials Today: Proceedings*. Elsevier Ltd.
- Shirakawa H, Louis E, MacDiarmid A, Chiang C, Heeger A. 1977. "Synthesis of Electrically Conducting Organic Polymers: Halogen Derivatives of Polyacetylene, (CH)_x." *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* (16):578–580.
- Singh B, Kwon K. 2005. "Effects of Divalent Cations on Drug Encapsulation Efficiency of Deacetylated Gellan Gum." *Journal of Microencapsulation* 22(7):761–771.
- De Souza F, et al. 2016. "Evaluation of Different Methods to Prepare Superabsorbent Hydrogels Based on Deacetylated Gellan." *Carbohydrate Polymers* 148:309–317.

- Sworn G. 2009. "Gellan Gum." Pp. 204–27 in *Handbook of Hydrocolloids: Second Edition*. Elsevier Inc.
- Sworn G, Stouby L. 2021. "Gellan Gum." Pp 855–885 in *Handbook of Hydrocolloids*. Elsevier.
- Zargar S, Mehdikhani M, Mohammad R. 2019. "Reduced Graphene Oxide–Reinforced Gellan Gum Thermoresponsive Hydrogels as a Myocardial Tissue Engineering Scaffold." *Journal of Bioactive and Compatible Polymers* 34(4–5):331–345.
- Zarzycki R, Modrzejewska Z, Nawrotek K. 2010. "Drug Release from Hydrogel Matrices." *Ecological Chemistry and Engineering S-Chemia I Inzynieria Ekologiczna S* 17:117–136.
- Zhang S, Guowei L, Wang G, Zhu K, Yu D, Shao J. 2015. "Effects of UV Radiation on the Preparation of Polypyrrole in the Presence of Hydrogen Peroxide." *Radiation Effects and Defects in Solids* 170(10):821–831.

ANEXOS

1. Termogramas TGA



2. Morfología del hidrogel de GG-SPD₁-PPy₁ antes de realizar la prueba de conductividad.



3. Constancia de participación en el congreso de la SPM.



4. Constancia de participación en el coloquio bienal en ciencia de materiales.



5. Constancia de participación en el simposio anual de estudiantes relacionados a la ciencia e ingeniería de materiales.

