

**Encapsulación de puntos de carbono en un hidrogel basado en alginato:
Prueba de concepto de liberación controlada de fármacos**

Karen Lizeth Rojas Suárez

Trabajo Dirigido

Tutoras

**Diana Consuelo Rodríguez Burbano, PhD.
Marcela Cristina Múnera Ramírez, PhD.**



UNIVERSIDAD DEL ROSARIO
ESCUELA COLOMBIANA DE INGENIERÍA JULIO GARAVITO
PROGRAMA DE INGENIERÍA BIOMÉDICA
BOGOTÁ D.C
2021

Agradecimientos

"La satisfacción radica en el esfuerzo, no en el logro. El esfuerzo total es una victoria completa"(Mahatma Gandhi)

Para mi angelito, Rosa Suárez. Mami de ti aprendí que la vida te da batallas que no te imaginabas, momentos inesperados llenos de felicidad y de tristeza. Fue en el 2007, donde nuestras vidas dieron un giro de 180°, durante 10 años batallaste contra el cáncer y fueron los mismos que me motivaron a estudiar una carrera relacionada con la salud. Gracias por permitirme cambiarme de carrera, pensé que me acompañarías con tus palabras de aliento, tus sonrisas, tus abrazos y tus regaños; exigiéndome cada día más. No pensé que partieras tan rápido. Sé que me acompañaste en el transcurso de estos 6 años, especialmente, cuando me rendí. Pero de ti aprendí que las batallas se luchan hasta el fin.

Hernan Rojas no tengo palabras para decirte que estoy orgullosa y feliz que seas mi papá. Gracias por tus sacrificios, tu esfuerzo, tu amor, tu paciencia y por apoyarme en mis ideas locas, sin ellos hoy no estaría terminando esta carrera. Gracias por permitirme tomar una pausa.

Valentina Rojas agradezco tu apoyo, tus regaños de hermana menor, tus palabras de aliento y tus detalles de amor en los momentos que más necesite. Anair Suárez, gracias por ser mi confidente, mi consejera, por tus llamados de atención y tus sonrisas. A mis demás familiares en general por el apoyo que siempre me brindaron día a día en el transcurso de cada año de mi carrera Universitaria.

Laura Pedreros, la vida te puso en mi camino para no dejarme derrumbar en el momento más difícil de mi vida hasta el momento. Gracias por ser mi compañera, mi amiga y mi cooequipera; sin tu apoyo, tu amabilidad no hubiera pasado el primer semestre y llegar hasta aquí.

Los instantes son efímeros pero determinantes. En un instante encontré a una hermana. Marcela Suárez es un privilegio haberte encontrado, gracias por descubrir a que sabe Bogotá conmigo y que la vida no solo es estudiar. Gracias por ser mi psicóloga, por escucharme, por reír y llorar conmigo.

Daniela Pineda, gracias por alegrarme, por compartir tu chispa y ponerle sabor a mi vida con tus ocurrencias, por alimentarme y consentirme. También agradezco a todos los que fueron mis compañeros de clase durante todos los niveles de Universidad de cada uno me llevo anécdotas y momentos únicos.

Quiero expresar un agradecimiento especial a mi tutora Diana Rodriguez y co tutora Marcela Múnera por brindarme guía, apoyo en este proceso.

A mis amigos en Tunja, Diego Barreto, Monica Pérez, María Fernanda Arias, Nicolás Suárez y Tania Chaparro gracias por su amistad incondicional, por ser mi polo a mis raíces, por alegrarse de mis avances y apoyarme en las caídas.

Por último, les quiero agradecer a todos los profesores de la Universidad del Rosario y la Escuela Colombiana de Ingeniería Julio Garavito por sus enseñanzas a lo largo de esta carrera.

Resumen

Los sistemas de administración de fármacos buscan suministrar una cantidad terapéutica de una molécula o compuesto con un fin biológico o biomédico al organismo. Estos sistemas se clasifican en tradicionales, liberación modificada y controlada. Los sistemas tradicionales no presentan diseño de formulación que permita orientar el medicamento a un sitio específico o controlar la tasa de su liberación. Por el contrario, los sistemas de liberación controlada poseen un diseño de formulación que les permite controlar la velocidad de liberación y/o presentan una configuración que facilita la identificación de un área específica para su acción. Así, estos últimos ofrecen ventajas sobre los sistemas tradicionales tales como simplificar la posología, disminución de efectos adversos y el aumento de la eficacia de los tratamientos farmacoterapéuticos.

Los puntos de carbono (CDs, por sus siglas en inglés) son nanopartículas que presentan alta solubilidad en medio acuoso, buena biocompatibilidad y naturaleza no citotóxica. Estas partículas han sido propuestas como nanoportadores para la administración de fármacos con fin de liberación controlada, ya que presentan emisión fluorescente en la región visible del espectro electromagnético, aumentan la biodistribución y la estabilidad de agentes terapéuticos a los órganos diana.

Por otro lado, los hidrogeles se han utilizado como vehículos en los sistemas de liberación controlada. Los hidrogeles son redes poliméricas, biocompatibles, que pueden absorber hasta mil veces su peso en agua o fluidos de base acuosa, poseen propiedades viscoelásticas similares a la de los tejidos humanos y permiten la encapsulación de diferentes especies tales como fármacos o moléculas de interés biomédico.

El presente trabajo de grado propone un sistema de liberación, en donde se encapsula puntos de carbono en un hidrogel basado en alginato y se realiza una prueba de concepto de liberación controlada. Este trabajo está vinculado al proyecto marco ***‘Desarrollo de los componentes de un sistema de liberación controlada de medicamentos basado en un hidrogel electroresponsivo integrado por puntos de carbono funcionalizados con curcumina’*** financiado por Fondos Concursables UR-Capital Semilla.

Este proceso de elaboración del sistema se centrará en cuatro etapas de desarrollo: (i) síntesis de puntos de carbono mediante el método microondas con ácido cítrico, N,N-dimetilformamida y etanol como materiales de partida buscando variar la temperatura de reacción, la caracterización de propiedades ópticas en pro de determinar que puntos de carbono presentan mejores propiedades para la utilización como molécula ha encapsular. (ii) El desarrollo del hidrogel de alginato y la evaluación de su degradación en respuesta a pH para el diseño de sistemas de administración de fármacos. (iii) La encapsulación de los puntos de carbono en el hidrogel y su respectiva prueba de liberación controlada. (iv) Adicionalmente, se desarrolla una revisión literaria de protocolos de síntesis de hidrogeles electroresponsivos.

En este proyecto se presentan los resultados de cada etapa, los puntos de carbono sintetizados evidenciaron un ancho de banda de absorción en la región UV (200–320 nm) y de fluorescencia en la región azul al cian (427–520 nm). Los puntos de carbono a 200°C evidenciaron mayor emisión a longitudes de excitación de 360/380 nm en comparación con los puntos de carbono a 100°C, 125°C, 150°C y 175°C. En la síntesis del hidrogel de alginato, la relación del polímero y reticulante ($\text{CaCl}_2 - \text{NaCl}$) presentó un papel importante en la velocidad de degradación del hidrogel en medio acuoso con características de pH ácido ($\text{pH} = 3.2$) y básico ($\text{pH} = 8.5$). Además, la degradación de los hidrogeles con relación alginato y reticulante (1:1.5) se

completo a la mitad del tiempo en comparación a la relación (1:1). Los perfiles de liberación de los puntos de carbono embebido en los hidrogeles en medio ácido-básico no presentaron tendencias descritas en los modelos matemáticos para determinar la cinética de liberación. Por consiguiente, se realizó una linealización para obtener un comportamiento lineal. También, se evidenció una mayor fluorescencia en el medio acuoso con pH básico en comparación al medio ácido.

De la revisión literaria se encontró que las técnicas para sintetizar los polímeros conductivos utilizados en los hidrogeles electroresponsivos son polimerización química oxidativa, electroquímica o por irradiación. La polianilina (PAni), el polipirrol (PPy) y el PEDOT son los polímeros conductivos más empleados debido a su biocompatibilidad y buenas propiedades eléctricas y electroquímicas. La polimerización química oxidativa es la técnica más utilizada para sintetizar estos polímeros, debido a la cantidad de producción final obtenida ya que presenta polimerización homogénea. Sin embargo, esta técnica presenta limitaciones para controlar los procesos y los reactivos implícitos como oxidante, la temperatura, el disolvente.

Índice general

Agradecimientos	I
Resumen	II
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Motivación	1
1.2. Proyecto relacionado	3
1.3. Objetivos	3
1.3.1. General	3
1.3.2. Específicos	4
1.4. Contribuciones	4
1.5. Organización del documento	4
2. ESTADO DEL ARTE	6
2.1. Sistemas de liberación de fármacos	6
2.2. Puntos de Carbono	8
2.2.1. Síntesis de puntos de carbono	8
2.2.1.1. Enfoque “de arriba hacia abajo”	9
2.2.1.2. Enfoque “de abajo hacia arriba”	10
2.2.2. Propiedades de los puntos de carbono	10
2.2.2.1. Composición química	10
2.2.2.2. Absorción	11
2.2.2.3. Fotoluminiscencia (PL)	12
2.2.3. Aplicaciones de los puntos de carbono	13
2.2.3.1. Vehículo portador de fármacos	13
2.2.3.2. Biosensores ópticos	14
2.2.3.3. Bioimágenes	14
2.3. Hidrogeles	15
2.3.1. Clasificación de los hidrogeles	15
2.3.2. Características de los hidrogeles	16
2.3.2.1. Hinchamiento	16
2.3.2.2. Liberación	17
2.3.2.3. Propiedades mecánicas	18
2.3.2.4. Propiedades reológicas	18
2.3.3. Aplicaciones de los hidrogeles	18
2.3.3.1. Sistema de liberación de fármacos	19
2.3.3.2. Ingeniería Tisular	19

2.3.3.3.	Apósitos de heridas	19
2.3.3.4.	Lentes de contacto	19
2.3.4.	Síntesis de hidrogeles	20
2.4.	Hidrogeles inteligentes	21
2.4.1.	Estímulos físicos	22
2.4.1.1.	Hidrogeles sensibles a la temperatura	22
2.4.1.2.	Hidrogeles fotosensibles	22
2.4.1.3.	Hidrogeles eléctricamente sensibles	23
2.4.2.	Estímulos Químicos	24
2.4.2.1.	Hidrogeles sensibles al pH	24
2.4.2.2.	Hidrogeles sensibles a la glucosa	25
2.4.2.3.	Hidrogeles sensibles a enzimas	26
2.4.3.	Hidrogeles y puntos de carbono	26
2.5.	Alginato de Sodio	26
3.	METODOLOGÍA	29
3.1.	Síntesis de puntos de carbono y caracterización de las propiedades ópticas . .	29
3.2.	Síntesis de hidrogel de alginato	30
3.3.	Desarrollo de puntos de carbono embebidos en el hidrogel y prueba de liberación controlada	31
3.4.	Revisión literaria de protocolo de síntesis de polímeros conductivos	32
4.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	35
4.1.	Síntesis de puntos de carbono y caracterización de las propiedades ópticas . . .	35
4.2.	Síntesis de hidrogel de alginato	38
4.3.	Desarrollo de puntos de carbono embebidos en el hidrogel y prueba de liberación controlada	39
5.	REVISIÓN DE LITERATURA: SÍNTESIS DE HIDROGELES ELECTRO-RESPONSIVOS	43
5.1.	Polímeros conductivos (PC)	44
5.2.	Síntesis de polímeros conductivos	46
5.2.1.	PoliAnilina (PAni)	47
5.2.2.	PolyPirrol (PPy)	50
5.2.3.	Poli(3,4-etilendioxitiofeno) (PEDOT)	52
5.3.	Conclusiones	53
6.	CONCLUSIONES	55
7.	RECOMENDACIONES Y TRABAJOS FUTUROS	56
7.1.	Recomendaciones	56
7.2.	Trabajos futuros	56
	BIBLIOGRAFÍA	58

Índice de figuras

2.1. Representaciones esquemáticas de los procesos de preparación de puntos de carbono mediante enfoques (a) de arriba hacia abajo y (b) de abajo hacia arriba. Tomado de [43].	9
2.2. a) El proceso de excitación y b) Niveles y transiciones de energía electrónica. Tomado de [60].	11
2.3. Diagramas esquemáticos de posibles estructuras de cuatro muestras de puntos de carbono (CDs) a partir de ácido cítrico y diferentes fuentes de nitrógeno (d-CDs=DMF, u-CDs=urea, e-CDs=etanoamida y f-CDs=formamida) e ilustración del nivel de energía. Tomado de [62].	12
2.4. Espectros de emisión de fluorescencia de los puntos de carbono al aumentar las longitudes de onda de excitación a partir de 400 nm (más a la izquierda) con un incremento de 20 nm. Las intensidades de emisión se normalizan a picos espectrales en el recuadro. Tomado de [44]	13
2.5. Síntesis de hidrogeles mediante reacciones de polimerización de radicales libres y reacciones de reticulación. Tomado de [81].	20
2.6. Hidrogeles sensibles a estímulos. Tomado de [101].	21
2.7. Configuraciones experimentales de varios sistemas de administración de fármacos con respuesta eléctrica. Tomado de [86].	23
2.8. Comportamiento de hinchamiento de equilibrio de hidrogeles aniónicos y catiónicos. Tomado de [107]	25
2.9. Hidrogel responsivo a la glucosa. Tomado de [108].	25
2.10. Estructura química del alginato y sus componentes β -1,4D-manuronato y α -1,4 y l- guluronato. Tomado de [117].	27
2.11. Modelo “Egg-Box” de gelificación de alginato por interacción iónica de iones $-\text{COO}^-$ de residuos de guluronato de moléculas de alginato e iones Ca^{2+} . Tomado de [22].	28
3.1. Etapas de la metodología desarrollada en la investigación.	29
3.2. Esquema del proceso de la síntesis de puntos de carbono.	30
3.3. Esquema del proceso de la síntesis de hidrogel de alginato.	31
3.4. Esquema del desarrollo de puntos de carbono embebidos en el hidrogel y prueba de liberación controlada.	32
3.5. Etapas desarrolladas durante la selección de un correcto enfoque en la búsqueda de literatura.	33

4.1.	Soluciones de puntos de carbono (5mg/ml) según temperatura de reacción (a. en luz visible y b. bajo irradiación UV , respectivamente)	36
4.2.	Espectro de absorbancia de los puntos de carbono según la temperatura de reacción.	36
4.3.	Espectros de emisión de los puntos de carbono según temperatura de reacción a) 100°C, b) 125°C, c) 150°C, d) 175°C y e) 200°C. f) Espectro de emisión de los puntos de carbono según temperatura a longitud de excitación de 380 nm. .	37
4.4.	Hidrogeles de alginato (HA, HB) en solución de pH básico (izquierda), HA y HB inmediatamente después de la preparación (derecha).	38
4.5.	Perfil de degradación del hidrogel de alginato (HA, HB) a pH ácido y básico. .	39
4.6.	Esquema de captura de puntos de carbono en la red de hidrogel.	40
4.7.	Hidrogeles con puntos de carbono embebidos (a. en ausencia y b. bajo irradiación UV, respectivamente).	40
4.8.	a)Cambio en los espectros de Fluorescencia de puntos de carbono embebidos en H1 y H2 en presencia de medio ácido-básico a través del tiempo. b)Cinética de liberación de H1 y H2 en pH ácido y básico. c)Cambio de masa de H1 y H2 en presencia medio ácido-básico a través del tiempo. d) Soluciones ácida (izquierda) y básica (derecha) al finalizar la liberación de H2 en presencia de lampara UV($\lambda_{exc} = 365\text{nm}$).	41
5.1.	Ilustración esquemática de un hidrogel de polímero conductor.Tomado de [132].	44
5.2.	(a) Escala de conductividad del material. (b) Estructura química de los ICP más empleados (PAni, PPy y PEDOT).Tomado de [136].	45
5.3.	Ilustración esquemática de las rutas sintéticas generalizadas a hidrogeles electroconductores.Tomado de [157].	46
5.4.	Oxidación de la anilina. Tomado de [188].	47
5.5.	Mecanismos de polimerización química (A) y electroquímica (B) de polianilina. Tomado de [190].	48
5.6.	Esquema de polimerización química de polianilina.	49
5.7.	Configuración química de pirrol y polipirrol. Tomado de [191].	50
5.8.	Mecanismos de polimerización química (a) y electroquímica (b) de polipirrol. Tomado de [191], [192].	51
5.9.	Esquema de polimerización química de polipirrol.	51
5.10.	Configuración química de PEDOT:PSS. Tomado de [193].	52
5.11.	Mecanismo de polimerización química de PEDOT. Tomado de [190].	53
5.12.	Esquema de polimerización química de PEDOT.	53

Índice de tablas

2.1. Clasificación de sistemas de liberación de fármacos.	7
2.2. Ubicaciones dentro del cuerpo que exhiben un rango de pH dinámico durante el funcionamiento normal o como respuesta a una enfermedad. Modificado de [102].	24
3.1. Temperaturas empleadas en la elaboración de la síntesis de los puntos de carbono a partir de ácido cítrico, etanol y dimetilformamida.	30
5.1. Técnicas utilizadas para la síntesis de polímeros conductivos (PAni, PPy y PEDOT). En donde, APS: persulfato de amonio, FeCl ₃ : cloruro férrico, Ag/AgCl: Electrodo de referencia de plata/cloruro de plata y UV: radiación ultravioleta	47

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN

Este primer capítulo presenta la motivación general del trabajo presentado en esta tesis. Esta motivación incluye definiciones y conceptos teóricos sobre sistemas de liberación, puntos de carbono e hidrogeles. A partir de esto, se presenta el proyecto marco, los objetivos del estudio, las contribuciones y la organización del documento.

1.1 Motivación

La administración de fármacos se refiere a varios enfoques para administrar un compuesto farmacéutico en el cuerpo humano para lograr efectos terapéuticos [1]. Los sistemas de administración de fármacos buscan suministrar una cantidad terapéutica de éste fármaco al organismo [2]. Estos sistemas se pueden clasificar en diferentes categorías según su vía de administración. En los enfoques tradicionales se encuentran las formas de dosificación oral, rectal, vaginal, tópica, parental y de inhalación [3]. Los sistemas tradicionales no presentan diseño de formulación que permita orientar el medicamento a un sitio específico o controlar la tasa de su liberación y los resultados dependen de parámetros tales como dosis requerida, frecuencia de dosificación, perfiles farmacocinéticos y cumplimiento por parte del paciente [4].

Nuevos sistemas de administración de fármacos están atrayendo cada vez más la atención en el desarrollo de fármacos. Los sistemas de liberación controlada han utilizado diferentes estrategias de diseño para su optimización, permitiendo controlar la velocidad de liberación y/o presentando una configuración que permite la identificación de un área específica para su acción [5]. Estos nuevos sistemas han mostrado ventajas con respecto a los tradicionales ya que, simplifica la posología, disminuyendo los efectos adversos que puede presentar los sistemas convencionales y aumentan la eficacia de los tratamientos farmacoterapéuticos [6], [7].

Se han formulado diferentes nanoestructuras como portadores de administración de fármacos. Por ejemplo, liposomas, nanopartículas poliméricas, dendrímeros, nanopartículas a partir de materiales de carbono o silicio y nanopartículas magnéticas. Los puntos de carbono son nanopartículas que hacen parte de la familia de las nanoestructuras basadas en carbono. Estas nanopartículas de morfología cuasi-esférica y de diámetro usualmente inferior a 10 nm, pueden ser sintetizadas a partir de diferentes precursores orgánicos[8]. Los puntos de carbono han sido propuestos como nanoportadores para la administración de fármacos/genes mediante conjugación y fines de liberación controlada, debido a la emisión fluorescente en la región visible del espectro electromagnético permite monitorear el recorrido del fármaco y su perfil

de liberación. Han sido usados como agentes de contraste para la obtención de imágenes *in vitro* e *in vivo* por fluorescencia [9], [10].

Los puntos de carbono presentan alta estabilidad coloidal, fotoestabilidad, biocompatibilidad y naturaleza no citotóxica [11]. La asociación de los fármacos y los puntos de carbono ha mejorado la farmacocinética debido a un aumento en la biodistribución de agentes terapéuticos a los órganos diana, lo que dará como resultado una mayor eficacia en los tratamientos. Incrementan la estabilidad de una amplia variedad de agentes terapéuticos, como pequeñas moléculas hidrófobas, péptidos y oligonucleótidos [12]. La toxicidad del fármaco se reduce como consecuencia de la acumulación preferencial en los sitios diana y la concentración más baja en los tejidos sanos [13].

Los hidrogeles permiten la encapsulación de los puntos de carbono asociados con fármacos [14], ganado atención considerable como vehículos en los sistemas de liberación controlada en los últimos años [15]. El hidrogel es una red polimérica, biocompatible, que puede absorber hasta mil veces su peso en agua o fluidos de base acuosa, poseen propiedades viscoelásticas similares a los tejidos humanos y permiten la encapsulación de diferentes especies tales como fármacos o moléculas de interés biomédico [16]. Los hidrogeles pueden mostrar cambios fisicoquímicos en reacción a estímulos externos particulares, como la temperatura, el pH, el campo eléctrico, enzimas, permitiendo tener control sobre las condiciones de liberación de los fármacos o moléculas de interés biomédico encapsulado dentro del hidrogel [17].

El pH es uno de los estímulos que se ha explorado ampliamente en la liberación de fármacos inteligentes y sostenibles, debido a un amplio rango de pH presente en los fluidos corporales, compartimentos celulares y tisulares, por ejemplo, el pH en el tracto gastrointestinal varía de 1.0 hasta 8.0 [18]. Además, un cambio de pH también podría ser un signo de anomalía, como el microambiente ácido del tumor [19]. A partir de un sistema sensible al pH se puede lograr potencialmente una administración dirigida del fármaco a un sitio específico y la concentración total requerida puede ser incluida en un solo sistema sin la necesidad de requerir varias dosis.

Los hidrogeles de alginato han mostrado resultados favorables como sistema de liberación sensible al pH [20], [21]. Los alginatos se utilizan como polímeros de control de la velocidad en la administración de fármacos, pueden formar un gel al hidratarse con agua en condiciones suaves sin el uso de disolventes orgánicos y son ideales para atrapar macromoléculas biológicas como ADN, células, proteínas o incluso fármacos de bajo peso molecular, mientras conserva su actividad natural. El alginato de sodio es un polisacárido económico, fácilmente disponible, biocompatible, biodegradable y no tóxico que tiene innumerables aplicaciones en la industria farmacéutica y alimentaria [22].

La liberación controlada de fármacos a través de hidrogeles que transportan nanopartículas metálicas y/o materiales a base de carbono ha captado el foco de la investigación en los campos biomédicos, farmacéuticos, agrícolas e industriales [23], [24]. La introducción de nanopartículas con propiedades ópticas como la fluorescencia en los hidrogeles es una técnica ampliamente aceptada, confiere señales de fluorescencia a los andamios de hidrogel [11]. Sin embargo, la investigación sobre la participación de nanopartículas de carbono, especialmente puntos de carbono, encapsulados en hidrogeles es muy reciente [25]. Sin embargo, los califican como vehículos prometedores para la administración de fármacos y materiales para cicatrización de heridas [26], [27], [28]. En consecuencia, monitorear y comprender la liberación de los puntos de carbono asociado con fármacos incorporados en hidrogeles es muy conveniente debido a la respuesta de fluorescencia [29], [30].

Para proporcionar un perfil de liberación de fármaco particular de un sistema terapéutico,

es necesario conocer los mecanismos de transporte de masa exactos implicados en la liberación de fármaco y predecir cuantitativamente la cinética de liberación de fármaco resultante [31]. Con la ayuda de modelos matemáticos para predecir propiedades útiles como el perfil de liberación del fármaco, el comportamiento de degradación, se permite medir algunos parámetros físicos importantes y recurrir al ajuste del modelo en los datos de liberación experimental, por consiguiente, se reduce el tiempo empleado en ensayo y error y se puede acelerar el desarrollo de futuros sistemas de liberación controlada [32]. La prueba de concepto se realiza con el propósito de verificar y generar parámetros experimentales en la encapsulación de puntos de carbono, en un ambiente hidrofílico como es un hidrogel basado en alginato y su liberación en medios acuosos con diferentes pH.

1.2 Proyecto relacionado

El presente proyecto está vinculado al proyecto marco *‘Desarrollo de los componentes de un sistema de liberación controlada de medicamentos basado en un hidrogel electroresponsivo integrado por puntos de carbono funcionalizados con curcumina’* financiado por Fondos Concursables UR-Capital Semilla. El proyecto marco cuenta con 3 etapas generales (puntos de carbono, hidrogel electroresponsivo y estudios de citotoxicidad), cada etapa general presenta subetapas para su desarrollo total. Este proyecto, que cuenta con la participación de estudiantes del semillero SyNERGIA, busca desarrollar puntos de carbono con su superficie modificada por la adición de curcumina, un compuesto fenólico que ha sido reportado por tener participación sobre la activación fisiológica y una potencial eficacia en el cáncer. Otro objetivo del proyecto, es sintetizar un hidrogel electroresponsivo que tiene como función ser vehículo encapsulador de los puntos de carbono funcionalizados con curcumina. Finalmente, la actividad citotóxica de cada uno de los componentes del sistema será evaluada en líneas celulares (MCF7, BT474 y MDA-MB468) de cáncer de seno y en una línea de fibroblastos (3T3). Este trabajo hace parte de la etapa de desarrollo del hidrogel electroresponsivo. La prueba de concepto de liberación controlada de fármacos permite generar parámetros experimentales en la posibilidad de encapsular puntos de carbono en un ambiente hidrofílico como es un hidrogel basado en alginato y su posterior comparación con las posteriores etapas. Adicionalmente, se presenta una revisión literaria en pro de conocer los polímeros conductivos utilizados en los hidrogeles electroresponsivos empleados en aplicaciones biomédicas, como acercamiento a un vehículo que presenta mayor control de respuesta de hinchamiento / deshinchamiento a estímulos eléctricos; el desarrollo del hidrogel electroresponsivo es el siguiente paso del proyecto marco.

1.3 Objetivos

Los objetivos de este proyecto son presentados a continuación.

1.3.1. General

Evaluar la cinética de la liberación de los puntos de carbono encapsulados en un hidrogel de alginato en función de pH.

1.3.2. Específicos

1. Sintetizar, purificar y caracterizar las propiedades ópticas de puntos de carbono sintetizados a partir de ácido cítrico, etanol y N,N-dimetilformamida, por método microondas.
2. Sintetizar un hidrogel a partir de un polímero natural (alginato).
3. Generar curvas de la cinética de liberación de los puntos de carbono usando las propiedades ópticas de estas nanopartículas
4. Realizar una revisión bibliográfica de protocolos de síntesis de hidrogeles electroresponsivos.

1.4 Contribuciones

Este proyecto está orientado a ser una prueba de concepto que genere condiciones de parámetros experimentales a tener en cuenta en la encapsulación de puntos de carbono en un ambiente hidrofílico como es un hidrogel basado en alginato. Además, se busca evaluar el comportamiento de liberación a través de la propiedad de fluorescencia que presentan los puntos de carbono a un medio acuoso con características de pH ácido y básico.

La respuesta de un hidrogel a un estímulo eléctrico ocurre en un mecanismo muy similar al que se rige para los hidrogeles sensibles al pH. La principal diferencia entre la estimulación eléctrica y la de pH, es que el campo eléctrico mueve iones móviles para regular el gradiente de concentración de iones a través del hidrogel y la solución[33].

De modo complementario se realizó una revisión de literatura con el objetivo de revisar los protocolos realizados en la síntesis de hidrogeles electroresponsivos según los polímeros conductivos utilizados en aplicaciones biomédicas; el desarrollo de este sistema hace parte del proyecto marco.

1.5 Organización del documento

Se presenta siete capítulos, el primero presentó la motivación, proyecto relacionado, objetivos y las contribuciones del proyecto. El segundo capítulo presenta el estado del arte. Este capítulo considera conceptos de sistemas de liberación de fármacos, puntos de carbono, las propiedades y aplicaciones de estos; hidrogeles, su clasificación y principales aplicaciones biomédicas y el concepto de hidrogeles como materiales inteligentes.

El tercer capítulo presenta la metodología utilizada en este proyecto. Primero, la metodología de la síntesis de puntos de carbono utilizando ácido cítrico como precursor y una mezcla de etanol y dimetilformamida como solvente. A continuación, se explica el procedimiento para la síntesis del hidrogel de alginato. Posteriormente, se describe el proceso para embeber los puntos de carbono en el hidrogel y la prueba de liberación controlada. Finalmente, se describe el protocolo para la revisión literaria de los protocolos de síntesis de hidrogel electroresponsivo.

El cuarto capítulo muestra los resultados y discusión de la parte experimental de este trabajo. El quinto capítulo presenta la revisión literaria, inicialmente, se presenta el marco teórico acerca de hidrogeles electroresponsivos y polímeros conductivos, luego se describen las técnicas para la síntesis de estos polímeros y finalmente el protocolo para la síntesis de la polianilina (PAni), el polipirrol (PPy) y el poli(3,4-etilendioxitiofeno) (PEDOT) como polímero conductivo utilizado en hidrogeles conductivos.

El capítulo sexto presenta las conclusiones y el cumplimiento de los objetivos inicialmente planteados. El último capítulo de este documento tiene las recomendaciones y trabajos futuros.

Capítulo 2

ESTADO DEL ARTE

Este capítulo presenta una perspectiva teórica sobre los sistemas de liberación de fármacos, los puntos de carbono, sus métodos de fabricación, propiedades y aplicaciones, el concepto de hidrogeles, su clasificación, características y aplicaciones biomédicas y finalmente el alginato de sodio, que será el material usado en este proyecto.

2.1 Sistemas de liberación de fármacos

El objetivo de cualquier sistema de liberación de fármacos consiste en suministrar una cantidad terapéutica de medicamento al sitio apropiado del organismo. Para ello, se tiene en cuenta dos aspectos importantes en la liberación de drogas: la ubicación espacial y la liberación temporal de una droga con la que se alcance rápidamente la concentración de droga deseada y luego sea mantenida [4].

Según la vía de administración de los sistemas de liberación de fármacos se pueden dividir en 5 categorías: (i) administración oral: comprimidos, cápsulas, jarabes, suspensiones; (ii) administración rectal y vaginal: supositorios, enemas, óvulos; (iii) administración tópica: Pomadas, geles, lociones, parches, colirios, gotas nasales, gotas óticas; (iv) administración parenteral: inyectables para administración subcutánea, intramuscular o intravenosa; (v) administración inhalatoria: Aerosoles, nebulizadores, entre otros [34], [35], [36].

El desarrollo de los sistemas de liberación de fármacos buscan concentrar la medicación en los tejidos de interés y reducirla concentración relativa en los tejidos restantes. La administración de estos sistemas se basa en el acceso y la introducción específica del fármaco con su receptor candidato, minimizando al mismo tiempo su introducción con tejido no objetivo. Por lo tanto, estos sistemas reducen significativamente la toxicidad general al tiempo que mantiene sus beneficios terapéuticos [1], [36]. La tabla 2.1 muestra la clasificación de los sistemas de liberación y sus características. Entre los sistemas de liberación de fármacos se encuentran los siguientes:

- Las microesferas compuestas por polímeros biodegradables, son partículas con un tamaño en el rango de 1 a 1000 μm e idealmente tienen un tamaño de partícula menor de 200 μm . Las microesferas constituyen una parte importante en el campo farmacéutico en virtud de su pequeño tamaño y características como biocompatibilidad, focalización en sitios específicos y degradación dentro de un período de tiempo aceptable. Aunque se sigue estudiando la toxicidad de este sistema y la biodistribución impredecible[37].

Tabla 2.1: Clasificación de sistemas de liberación de fármacos.

Sistema de liberación	Forma de liberación	Características
Modificada: Son diseñados de tal forma que el principio activo es liberado en un lugar específico o presenta control de la velocidad de liberación. Presentan riesgo de liberación brusca de toda la dosis, desarrollo de tolerancia, coste elevado y dificultad de suspender de forma repentina el tratamiento	Retardada:	El principio activo se retrasa, se libera en un momento distinto al de la administración, pero sin prolongar el efecto terapéutico [34],[38],[39]
	Prolongada:	El principio activo se libera inicialmente en proporción suficiente para producir efecto terapéutico y posteriormente lo hace de forma más lenta, manteniendo la concentración eficaz, con lo que se consigue alargar el efecto terapéutico [38]
	Sostenida:	El principio activo se libera a una velocidad constante [39]
	Pulsátil:	La liberación se produce en distintas fases [34],[38]
Controlada: El fármaco se libera gradualmente en el tiempo a una velocidad limitada por el sistema de liberación, alargándose el efecto terapéutico. Enfrentan desafíos para prolongar la liberación de fármacos y pérdida de flexibilidad para ajustar la dosis	Sostenida:	Disminuyendo la fluctuación de los niveles plasmáticos de medicamento [34],[37]
	Prolongada:	Inicialmente se libera en proporción suficiente para producir su efecto, y después de manera lenta, no necesariamente constante, manteniendo la concentración eficaz durante más tiempo [37]

- Los liposomas están compuestos de lípidos anfífilos en una bicapa concéntrica y compartimentos acuosos centrales. Las similitudes de los fosfolípidos con los lípidos corporales hacen que su aplicación sea biocompatible y diversa. Los fármacos lipófilos se encapsulan dentro de la bicapa y los fármacos hidrófilos quedan atrapados en el compartimento acuoso. Presentan baja estabilidad, su fusión con membranas es específica y la elaboración es compleja y costosa, por ejemplo requiere liofilización[40].
- Las micelas poliméricas son una plataforma de administración de fármacos coloidal de tamaño nanométrico, compuesta de copolímeros de bloque anfífilos que tienen la característica de autoensamblaje en el sistema micelar en soluciones acuosas en concentraciones superiores a su CMC (concentración crítica de micelas). Sin embargo, han presentado polidispersión de tamaño y baja estabilidad en solución por fenómenos de

dilución [41].

- Los biopolímeros ofrecen propiedades como alta porosidad con tamaño poroso controlable, biodegradabilidad, biocompatibilidad, versatilidad química, así como una gran flexibilidad de diseño que los hace adecuados para diversas aplicaciones biomédicas. Los hidrogeles se encuentran entre los más prometedores biopolímeros para la administración de fármacos, las investigaciones siguen en proceso en perfeccionar los procesos de síntesis debido a las fuentes, los derivados implícitos y disminuir costos [42].

2.2 Puntos de Carbono

Los puntos de carbono son nanoestructuras basados en carbono que varían de tamaño de 1 a 10 nm. Los puntos de carbono son una nueva clase de partículas emisoras de luz o sondas fluorescentes y pueden doparse con heteroátomos tales como nitrógeno (N), azufre (S), fósforo (P), boro (B), entre otras. Además, los puntos de carbono son químicamente modificables para mejorar y proporcionar algunas propiedades funcionales adicionales [43]. La caracterización estructural y morfológica de las nanopartículas es un factor determinante para entender sus propiedades, no solo físicas sino también químicas, y en base a ello explorar diversas aplicaciones tecnológicas. Las técnicas más utilizadas para la caracterización de los puntos de carbono son: (i) la microscopía electrónica de transmisión (TEM) proporciona información sobre la morfología y tamaño de los puntos de carbono; (ii) la difracción de rayos X (XRD) suministra información sobre las dimensiones de la celda unitaria y el espacio entre cristales dentro de los núcleos de carbono y (iii) la dispersión Raman revela las características estructurales de los átomos de carbono dentro de los puntos de carbono [44], [45], [46], [47], [48], [49].

En las siguientes subsecciones se describe los procesos de síntesis, las propiedades como la absorción, la fluorescencia y finaliza con las aplicaciones de los puntos de carbono.

2.2.1. Síntesis de puntos de carbono

Los métodos de preparación de puntos de carbono fluorescentes se han mejorado mediante el empleo de una amplia gama de técnicas de preparación. Los métodos de preparación de puntos de carbono se pueden clasificar en dos enfoques principales, los enfoques “de arriba hacia abajo” y “de abajo hacia arriba” que se resumen en la figura 2.1 [43].

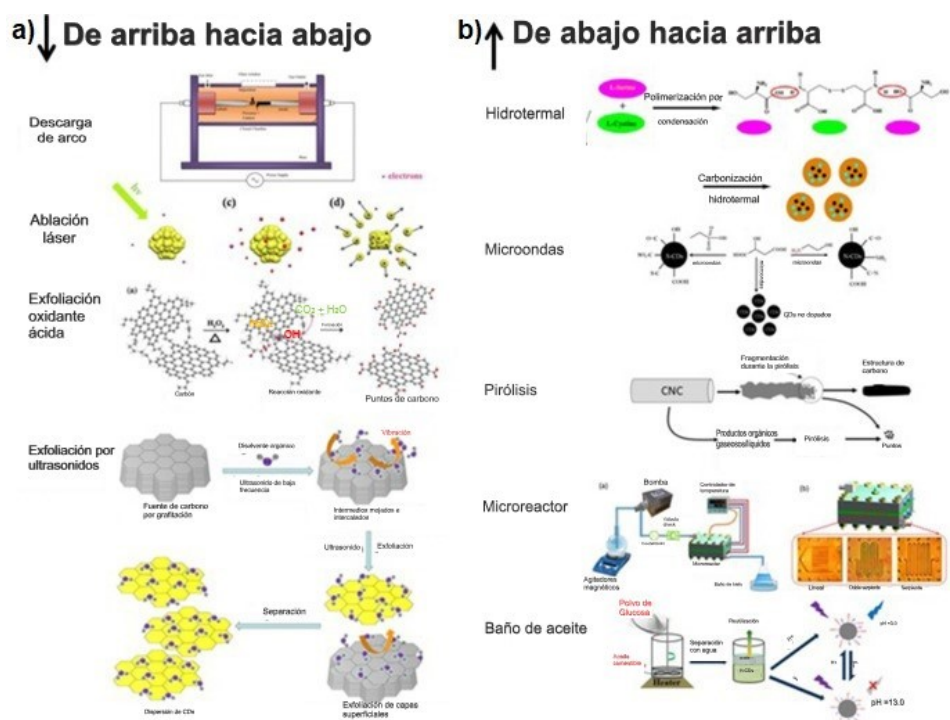


Figura 2.1: Representaciones esquemáticas de los procesos de preparación de puntos de carbono mediante enfoques (a) de arriba hacia abajo y (b) de abajo hacia arriba. Tomado de [43].

2.2.1.1 Enfoque “de arriba hacia abajo”

En los enfoques “arriba hacia abajo”, se utilizan materiales relativamente grandes, que incluyen grafeno, láminas de óxido de grafeno, nanotubos de carbono, fibras de carbono, grafito de hollín de carbono, entre otros. Los precursores de carbono a granel se rompen o exfolian para obtener partículas de tamaño nanométrico. Los enfoques de descarga de arco, ablación con láser y oxidación electroquímica son los métodos comunes de arriba hacia abajo empleados para obtener puntos de carbono (figura 2.1a) [50].

La descarga de arco es la ruptura eléctrica de un gas para generar plasma mediante el uso de corriente eléctrica con electrodos de ánodo y cátodo. El ánodo se llena con precursores de carbono y comienza a generar plasma con una corriente de arco bajo un medio gaseoso a una temperatura alta de casi 4000 K. Luego, el vapor de carbono se agrega en el gas hacia el cátodo y se enfría [51].

Por otro lado, la técnica de ablación con láser puede implicar tres pasos: (1) los materiales de carbono absorben la alta energía mediante el pulso del láser; (2) los electrones se eliminan de los átomos mediante emisión fotoeléctrica y termoiónica; y (3) un campo eléctrico elevado produce una fuerte fuerza repulsiva entre los iones positivos y el material sólido, rompiendo los puntos de carbono [52].

En los métodos de exfoliación oxidante de ácidos, ácidos fuertes como HNO_3 , H_2SO_4 e incluso KMnO_4 se han utilizado ampliamente para exfoliar puntos de carbono mediante la oxidación de materiales de carbono [53].

Los métodos de síntesis del enfoque “de arriba hacia abajo” no son adecuados para la preparación de la producción de puntos de carbono a gran escala. Estas técnicas presentan las siguientes desventajas, rendimiento cuántico bajo, control deficiente sobre tamaño de los puntos de carbono, las condiciones de proceso incontrolables y tóxicas y el alto costo de equipos complicados [43].

2.2.1.2 Enfoque “de abajo hacia arriba”

En los enfoques “de abajo hacia arriba”, se reportaron diferentes tipos de precursores como ácido cítrico, urea, glicerol, cisteamina, poliaminas y acrilamida y precursores biológicos como carbohidratos, aminoácidos, leche, lignina, hongos, etc. Las propiedades ópticas de los puntos de carbono se ven afectadas por la elección de los precursores, puesto que está directamente relacionada con la cantidad de contenido de carbono y los grupos funcionales. La pirólisis hidrotermal, irradiación de microondas son las técnicas utilizadas en este enfoque [50].

En la técnica de síntesis hidrotermal es uno de los procesos más populares empleados en la síntesis de puntos de carbono debido a la simplicidad del procedimiento de síntesis, que permite un tamaño de partícula uniforme con un alto rendimiento cuántico, es una ruta de bajo costo, ecológica y no tóxica. Una solución de precursor orgánico se sella y se hace reaccionar en un reactor hidrotermal a alta temperatura [54].

Por otro lado, el proceso de irradiación de microondas ha sido más favorable debido a la rápida síntesis y de bajo costo. El proceso de preparación de puntos de carbono dopado con N tiene tres pasos principales: polimerización, deshidratación y carbonización, que tienen lugar mediante métodos de irradiación de microondas. Los precursores orgánicos ricos en amina se mezclaron mediante sonicación general y el grupo reticulado se preparó mediante deshidratación intermolecular e intermolecular a 160°C durante 10 min. Estos grupos orgánicos tienen un rendimiento cuántico tan alto como 51,6%, similar a los tintes fluorescentes con una fuerte fluorescencia azul relacionada con enlaces ricos en amina [55].

2.2.2. Propiedades de los puntos de carbono

Los puntos de carbono son ampliamente aceptados debido a las características que incluyen biocompatibilidad, fotoluminiscencia (PL), morfología, tamaño y estabilidad [56]. Desde el descubrimiento de los puntos de carbono, se han realizado diversos estudios para caracterizar e investigar sus propiedades ópticas y fisicoquímicas. A continuación, se explica la composición química, la absorción, la fotoluminiscencia, como propiedades de los puntos de carbono

2.2.2.1 Composición química

La espectroscopia de fotoelectrones de rayos X (XPS) proporciona información sobre unidades atómicas específicas presentes en la superficie de los puntos de carbono. Los estudios publicados encontraron alto contenido de carbono, seguido de oxígeno y pequeños porcentajes de hidrógeno y nitrógeno. De manera similar, los puntos de carbonos obtenidos del tratamiento hidrotermal de recursos naturales como alimentos y cáscaras de frutas también consisten en un mayor porcentaje de contenido de carbono [57], [58]. La técnica de infrarrojos por transformada de Fourier (FT-IR) se utiliza comúnmente para analizar los grupos funcionales disponibles en los puntos de carbono. Es muy común encontrar funcionalidades carboxílicas/carbonilo de

muestras de puntos de carbono, como se evidencia en un pico en el rango de 1600-1770 cm^{-1} , que se origina en el estiramiento vibratorio de $\text{C} = \text{O}$ [59], [45].

2.2.2.2 Absorción

La mayoría de moléculas pueden absorber energía luminosa y almacenarla en forma de energía interna en el espectro electromagnético que llamamos regiones ultravioleta (UV) y visible (VIS), es decir, la regiones donde las longitudes de onda oscilan entre 190 nm y 800 nm [60]. Como resultado de la absorción de energía, los átomos o moléculas pasan de un estado de baja energía (el estado inicial o fundamental) a un estado de mayor energía (el estado excitado). Y sólo se absorberá la energía que permita el salto al estado excitado. Cada molécula tiene una serie de estados excitados (o bandas) que la distingue del resto de moléculas. La molécula en forma excitada libera la energía absorbida hasta el estado energético fundamental [61]. La figura 2.2a describe este proceso de excitación, la radiación electromagnética que se absorbe tiene una energía exactamente igual a la diferencia de energía entre los estados excitado y fundamental.

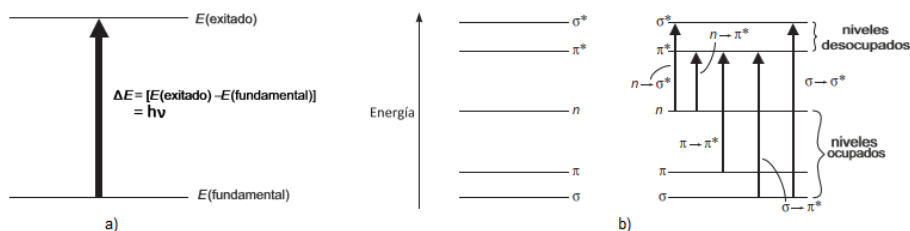


Figura 2.2: a) El proceso de excitación y b) Niveles y transiciones de energía electrónica. Tomado de [60].

Las transiciones que resultan en la absorción de radiación electromagnética en la región ultravioleta y visible del espectro son transiciones entre niveles de energía electrónica. A medida que una molécula absorbe energía, un electrón pasa de un orbital ocupado a un orbital desocupado de mayor energía potencial. Generalmente, la transición más probable es del orbital molecular ocupado más alto (HOMO) al orbital molecular desocupado más bajo (LUMO).

La figura 2.2b muestra una progresión típica de los niveles de energía electrónica. Para la mayoría de las moléculas, los orbitales moleculares ocupados con menor energía son los orbitales σ , que corresponden a los enlaces σ . Los orbitales π se encuentran en niveles de energía superior y contienen pares no compartidos. Los orbitales no enlazantes (n), se encuentran a energías aún más altas. Por último, los orbitales desocupados o antienlazantes (π^* y σ^*) son los orbitales de mayor energía.

La energía requerida para producir transiciones desde el nivel de energía ocupado más alto (HOMO) en el estado fundamental al nivel de energía desocupado más bajo (LUMO) es menor que la energía requerida para lograr una transición desde un nivel de energía ocupado más bajo. Por tanto, en la figura 2.2b, una transición $n \rightarrow \pi^*$ tendría una energía menor que una transición $\pi \rightarrow \pi^*$.

Las propiedades ópticas de las nanopartículas suelen ser sensibles a su perfil morfológico, concentración, estado de aglomeración e índice de refracción cerca de la superficie por lo

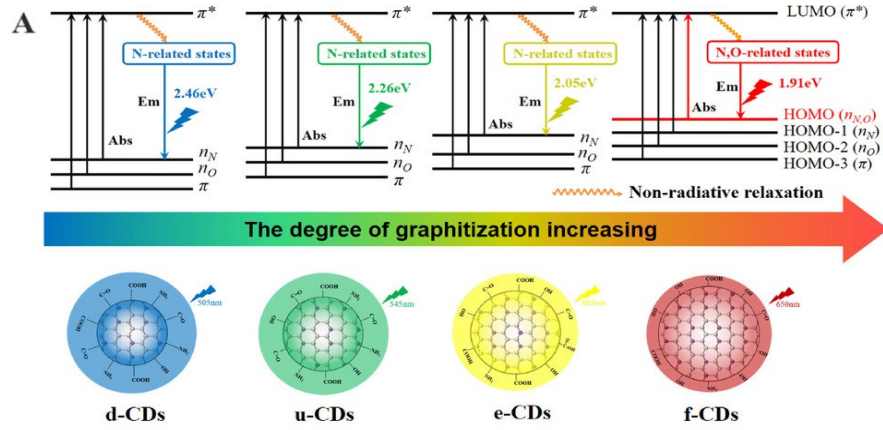


Figura 2.3: Diagramas esquemáticos de posibles estructuras de cuatro muestras de puntos de carbono (CDs) a partir de ácido cítrico y diferentes fuentes de nitrógeno (d-CDs=DMF, u-CDs=urea, e-CDs=etanoamida y f-CDs=formamida) e ilustración del nivel de energía. Tomado de [62].

tanto, la espectroscopía UV-Vis se convierte en una herramienta útil para estudiar nanomateriales, especialmente la comprensión de las propiedades estructurales. La figura 2.3 evidencia esquemáticamente los niveles de energía de los puntos de carbono.

2.2.2.3 Fotoluminiscencia (PL)

La fotoluminiscencia (PL) es una de las propiedades ópticas más atractivas de los puntos de carbono. En general, la mayoría de los puntos de carbono emiten fluorescencia azul, con un pico entre 400 y 500 nm región tras la excitación por luz UV [63]. Excepcionalmente, algunos puntos de carbono mostraron una emisión de fluorescencia dependiente de la excitación, con un desplazamiento hacia el rojo en la emisión cuando se excitaron a longitudes de onda más largas, como se muestra en la figura 2.4.

Aunque la mayoría de los estudios han informado de puntos de carbono emiten azul, todavía es deseable producir puntos de carbono que pueden emitir con menor energía. Esto puede reducir el ruido de fondo de la longitud de onda de excitación UV, al mismo tiempo que permite la excitación en el rango visible utilizando fuentes de luz mucho más económicas, en comparación con las fuentes de luz UV [44].

El origen de la fotoluminiscencia de los puntos de carbono todavía no se ha entendido completamente, pero han sugerido algunas explicaciones aceptables. El confinamiento cuántico debido al pequeño tamaño es una de las primeras ideas que se ha propuesto. Dong et al, han mostrado que la fluorescencia de los puntos de carbono oxidados eran dependiente del tamaño, ya que ambos espectros de excitación y de emisión han mostrado un desplazamiento hacia el rojo cuando el peso molecular de los puntos de carbono ha aumentado [64].

Por otro lado, la presencia de trampas de energía superficial en defectos superficiales son el resultado de la etapa de pasivación. Se ha llevado a cabo un estudio para investigar este efecto variando los defectos superficiales mediante el proceso de oxidación y para correlacionarlo con el perfil de fluorescencia posterior de estas nanopartículas. Los puntos de carbono elegidos eran de tamaños similares para garantizar que el efecto de confinamiento cuántico se mantuviera

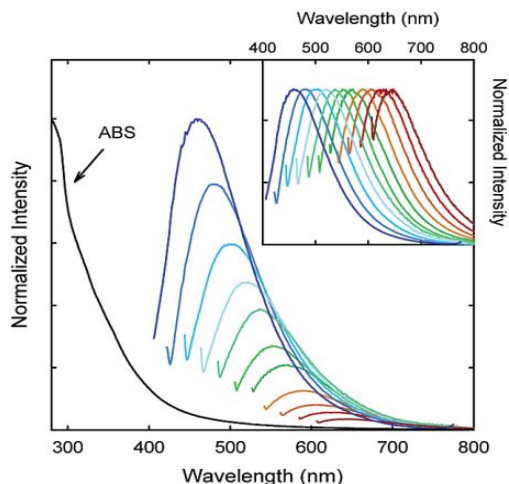


Figura 2.4: Espectros de emisión de fluorescencia de los puntos de carbono al aumentar las longitudes de onda de excitación a partir de 400 nm (más a la izquierda) con un incremento de 20 nm. Las intensidades de emisión se normalizan a picos espectrales en el recuadro. Tomado de [44]

constante. Los resultados demostraron que los defectos superficiales formados por la presencia de terminales ricos en oxígeno han provocado la emisión a 520 nm, mientras que otra emisión a 450 nm se debe al efecto de tamaño cuántico. Estos hallazgos han proporcionado una visión adicional sobre el origen de la fluorescencia de los puntos de carbono [65].

2.2.3. Aplicaciones de los puntos de carbono

Los puntos de carbono han demostrado una excelente biocompatibilidad para aplicaciones biomédicas como imágenes celulares, terapia contra el cáncer, vehículos portadores de fármacos/genes, diagnóstico de enfermedades, entre otras. En esta subsección, se expondrá algunas aplicaciones biomédicas como vehículo portador de fármacos, biosensores y bioimágenes.

2.2.3.1 Vehículo portador de fármacos

El uso de puntos de carbono como portadores de fármacos ha atraído una gran atención ya que tienen un área de superficie específica alta, apilamiento $\pi - \pi$ e interacciones electrostáticas, que se puede aprovechar para lograr una carga de fármacos poco solubles [12]. Los sistemas de administración de fármacos basados en puntos de carbono juegan un papel importante en las terapias del futuro como nanomedicina, permite reducir las dosis requeridas para la eficacia y aumentando los índices terapéuticos y los perfiles de seguridad de las nuevas terapias [12]. Los sistemas de nanoportadores basados en puntos de carbono poseen múltiples atributos deseables.

Algunos atributos son, la asociación de los fármacos y los puntos de carbono proporciona volúmenes de distribución menores, la capacidad de mejorar la farmacocinética debido a un aumento en la biodistribución de agentes terapéuticos a los órganos diana, lo que dará como resultado una mayor eficacia y poseer un agente de contraste debido a la fluorescencia de

los puntos de carbono. Segundo, la toxicidad del fármaco se reduce como consecuencia de la acumulación preferencial en los sitios diana y la concentración más baja en los tejidos sanos, la focalización y el aclaramiento reducido aumentan el índice terapéutico y disminuyen la dosis requerida para la eficacia. Tercero, los portadores de fármacos basados en puntos de carbono tienen la ventaja deseable de mejorar la solubilidad de los compuestos hidrófobos en el medio acuoso para hacerlos adecuados para la administración parenteral. Finalmente, se ha demostrado que los sistemas de administración basado en puntos de carbono aumentan la estabilidad de una amplia variedad de agentes terapéuticos, como pequeñas moléculas hidrófobas, péptidos y oligonucleótidos [12], [13].

2.2.3.2 Biosensores ópticos

Recientemente, se han desarrollado biosensores ópticos utilizando puntos de carbono como fluoróforo principal. Principalmente, en inmunosensores que hacen uso de interacciones anticuerpo-antígeno y aptasensores que presentan la especificidad entre aptámero y analito de interés. Un biosensor óptico simple basado en estas nanopartículas consiste en un receptor de detección biológico conjugado o etiquetado en los puntos de carbono que funciona como transductor. La propiedad óptica de los puntos de carbono cambiará en correspondencia con el proceso de interacción entre el analito diana y el receptor [13].

Algunos biosensores de puntos de carbono utilizan el proceso de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) ocurre cuando los espectros de emisión del fluoróforo (donante de energía) se superponen con la absorción del extintor (aceptor de energía), el donante de energía debe proporcionar una salida fluorescente estable altamente resistente al fotoblanqueo, y el aceptor debe poseer una alta capacidad de absorción [66]. Por ejemplo, la utilización de FRET para la detección sensible de microARN usando puntos de carbono mostró una alta especificidad y fue capaz de discriminar entre el miRNA-155 diana complementario para detectar células de cáncer de mama MCF-7 [67]. También, se desarrollaron inmunosensor para la detección del marcador tumoral CA125 y células OVCAR-3 mediante Nanohojas de puntos de carbono y disulfuro de molibdeno y puntos de carbono-aptámero [68], [69].

2.2.3.3 Bioimágenes

Los puntos de carbono pueden servir como una etiqueta fluorescente prometedora para varias técnicas de imagen comúnmente empleadas, que incluyen microscopía de fluorescencia, microscopía de barrido láser confocal (CLSM), microscopía multifotónica y microscopía de resonancia magnética (MRM) [13]. Los puntos de carbono que exhiben fluorescencia multicolor cuando se excitan a diferentes longitudes de onda también se informan para la formación de imágenes de células tumorales. Se han utilizado en imágenes de fluorescencia *in vitro* e *in vivo* [12].

Por ejemplo, se han utilizado puntos de carbono en células madres, estas dan lugar a células progenitoras de tejido y, a su vez, se diferencian en células formadoras de tejido, son fundamentales para comprender el desarrollo nativo y la regeneración tisular [70]. Existe una necesidad crítica de delinear la contribución relativa a los tejidos y órganos regenerados de las células administradas frente a la célula huésped [71]. Por lo tanto, el marcaje a largo plazo y citocompatible de las células madre es fundamental en el campo de la medicina de la regeneración para comprender su destino, migración y contribución a los tejidos en regeneración [72].

Liu et al. [73] utilizaron 2'-(etilendioxi)bis(etilamina)- puntos de carbono para el etiquetado de células madre mesenquimales fijas (MSC), las imágenes obtenidas presentaron el nucleolo hipercromático más brillante que las otras regiones.

Asimismo, el núcleo celular es fundamental para varios eventos celulares importantes, incluidos el metabolismo, la herencia y la reproducción [74]. Kang sintetizó puntos de carbono dopados con nitrógeno, las imágenes celulares validaron la eficacia de tinción del núcleo con cuatro tipos de células cancerosas, incluidas las células de feocromocitoma de rata (PC12), las células de cáncer de adenocarcinoma de pulmón humano (A549), las células de carcinoma de hígado humano (HepG2) y las células de cáncer de mama (MD -MBA-231) como modelos [75].

Además, Ge et al. utilizó puntos de carbono fluorescentes rojos con el pico de emisión a 640 nm para la obtención de imágenes de animales *in vivo* mediante inyección intravenosa en ratones con tumores HeLa. Los puntos de carbono se acumulan en el área del tumor a través del efecto de permeabilidad y retención mejoradas (EPR), se observó una señal de fluorescencia significativa en el área del tumor en comparación con otros tejidos. La intensidad de fluorescencia de los puntos de carbono acumulados en las áreas tumorales aumentó rápidamente entre las 2 y las 5 horas posteriores a la inyección, alcanzó una meseta entre las 6 y las 9 horas posteriores a la inyección y disminuyó de manera constante con el tiempo [76].

2.3 Hidrogeles

Los hidrogeles son redes tridimensionales obtenidas a partir de los polímeros, pueden absorber hasta mil veces su peso en agua o fluidos de base acuosa. Estos materiales son suaves y gomosos por naturaleza, asemejándose a tejidos vivos en sus propiedades físicas como: la capacidad de absorber y retener fluidos biológicos; permeabilidad a moléculas pequeñas como oxígeno, nutrientes y metabolitos. La baja tensión interfacial de los hidrogeles con medios acuosos reduce la adsorción y desnaturalización de proteínas. La consistencia blanda y gomosa en estado hinchado minimiza la irritación por fricción de las células de los tejidos circundantes [42].

La naturaleza hidrófila de los hidrogeles se debe a la presencia de grupos funcionales como hidroxilo (-OH), carboxilo (-COOH), amida (-CONH₂) y sulfónico (-SO₃H), a lo largo de las cadenas poliméricas [77]. La formación de hidrogeles implica un proceso de reticulación (formación de redes) de cadenas poliméricas [78]. Los tres precursores principales requeridos en la fabricación de hidrogeles son el monómero como la unidad base de las cadenas poliméricas, agente reticulante y un agente iniciador [79].

2.3.1. Clasificación de los hidrogeles

Los hidrogeles se pueden clasificar en función de multitud de criterios: tipo de origen de los polímeros, tamaño, composición química, método de preparación, carga iónica, entrecruzamiento y sensibilidad a estímulos. A continuación, se describen brevemente las distintas clasificaciones.

La naturaleza del polímero se clasifican como hidrogeles de polímeros naturales y de polímeros sintéticos. Los hidrogeles a base de polímeros sintéticos ofrecen una vida útil más larga, una mayor absorción de agua, una fuerza de gel mejorada y propiedades ajustables; los hidrogeles de origen natural tienen ventajas en lo que respecta a la biocompatibilidad y

biodegradabilidad. Varios polímeros naturales empleados en la preparación de hidrogeles incluyen alginatos, dextrano, quitosano, pectinas, xantano, polisacárido de psyllium, polisacárido de tamarindo, goma de algarrobo, goma sterculia, goma tragacanto, etc [77]. En función de su tamaño, se pueden distinguir hidrogeles macroscópicos, microgeles o nanohidrogeles[80]. Además, los hidrogeles se clasifican en amorfos, semicristalinos o cristalinos debido a su composición química [81].

Los hidrogeles pueden ser categorizados en tres clases según la composición del polímero, homopolimérico, copolímero y multi-interpenetrante (IPN). Los hidrogeles homopoliméricos tienen una sola especie como monómero. Los hidrogeles copolímeros constan de dos o más monómeros diferentes, siendo al menos uno de ellos hidrofílico. Este grupo hidrófilo podría organizarse de forma aleatoria, alterna o en bloque a lo largo de la cadena de la red. El hidrogel IPN de polímeros múltiples involucra dos cadenas reticuladas de polímeros, naturales o sintético, colocado en forma de red. El polímero semi-IPN está formado por una cadena reticulada y un polímero no reticulado[82]. Según la presencia o ausencia de carga en las cadenas reticuladas se pueden clasificar en cuatro grupos: (a) no iónico (neutro), (b) Iónico (incluyendo aniónico o catiónico), (c) anfótero electrolito (anfolítico) que contienen grupos tanto ácidos como básicos, (d) zwitteriónico (polibetaínas) que contiene grupos tanto aniónicos y catiónicos en cada unidad repetitiva estructural[82], [81].

El tipo de entrecruzamiento puede ser: a) reticulación covalente, b) fuerzas iónicas, c) enlaces de hidrógeno, d) interacciones de afinidad o "bio-reconocimiento", e) interacciones hidrofóbicas, f) cristalitos de polímero, g) entrelazamientos físicos de cadenas de polímeros individuales, o h) una combinación de dos o más de las interacciones anteriores[81].

En función de su sensibilidad a los estímulos, existen hidrogeles no sensibles a estímulos, que se hinchan por absorción de agua sin responder a cambios del ambiente, e hidrogeles sensibles a estímulos o hidrogeles inteligentes que se hinchan en respuesta a alteraciones sutiles del medio ambiente como temperatura, pH, fuerza iónica, luz, campo eléctrico o presencia de biomoléculas[82].

2.3.2. Características de los hidrogeles

Los hidrogeles presentan características como la capacidad de hinchamiento, liberación, propiedades mecánicas y reológicas. Estas características se describen a continuación.

2.3.2.1 Hinchamiento

La capacidad de hinchamiento de los hidrogeles es la propiedad más característica debido a las redes de polímeros reticulados hinchados en un medio líquido. El líquido absorbido actúa como un filtro selectivo para permitir la libre difusión de algunas moléculas de soluto, mientras que la red de polímero actúa como una matriz para mantener el líquido unido[83].

En el estado deshidratado, el hidrogel tiene una estructura cristalina y cuando entra en contacto con un medio acuoso tiende a absorber agua. En la matriz del hidrogel, el contenido en agua aumenta desde el núcleo hacia la superficie, pudiendo distinguirse tres regiones: gomosa blanda (principalmente agua), gomosa relativamente dura (hidrogel y agua) y cristalina (principalmente hidrogel). La primera región está altamente hinchada y es mecánicamente débil, esta capa actúa de barrera frente a la difusión del agua restante; la segunda región de la matriz está moderadamente hinchada y es relativamente fuerte; mientras que la tercera

región aún no ha sido alcanzada por el agua y permanece en estado cristalino por más tiempo. Cuando un hidrogel se introduce en un medio líquido se hincha o se deshincha hasta alcanzar el equilibrio, que es el resultado del balance entre las fuerzas osmóticas originadas por el agua al entrar en la red macromolecular y las fuerzas cohesivas-elásticas ejercidas por las cadenas de polímero que se oponen a esa expansión[84].

La propiedad de absorción y desorción reversible de líquido permite que el hidrogel alcance un equilibrio de hinchamiento en el que la presión osmótica sea nula; si inicialmente la presión es positiva, el hidrogel absorberá líquido y se expandirá, mientras que, si la presión es negativa, expulsará fluido y se contraerá. La penetración del agua depende de la rapidez de relajación de las cadenas de polímero, que está condicionada por distintos factores como el tipo de polímero (grupos funcionales, carga iónica, carácter hidrófilo), el secado previo del hidrogel, el tipo de entrecruzante, la densidad de entrecruzamiento y el tamaño de poro [85].

El grado de hinchamiento es directamente proporcional a la cantidad de agua captada. Experimentalmente se puede determinar por una diferencia de pesos, según las ecuaciones 2.1 y 2.2 que describen el hinchamiento en el tiempo.

$$Q_t = \frac{m_t - m_0}{m_0} \quad (2.1)$$

$$Q_\infty = \frac{m_\infty - m_0}{m_0} \quad (2.2)$$

donde Q_t es el índice de hinchamiento en el tiempo, Q_∞ índice de hinchamiento en equilibrio, m_0 es el peso inicial del hidrogel seco, m_t es el peso del hidrogel en el tiempo y m_∞ es el peso del hidrogel en equilibrio.

El grado de hinchamiento en equilibrio influye en la fuerza mecánica del hidrogel y la permeabilidad a los solutos. Aumentando el grado de entrecruzamiento se reduce el hinchamiento del hidrogel y el tamaño de poro, lo que limita la movilidad de los fármacos; por tanto, modificando el grado de entrecruzamiento se puede controlar la liberación del fármaco[85].

2.3.2.2 Liberación

Dado que el hinchamiento es la característica principal de los hidrogeles, es muy útil conocer la cinética que rige este comportamiento para mejorar el diseño de los sistemas de liberación. Existen distintos modelos matemáticos para describir el hinchamiento de los hidrogeles, entre ellos la cinética de orden uno y de orden dos. La cinética de orden uno puede describirse mediante la siguiente ecuación (2.3 y 2.4):

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = 1 - e^{-K_1 t} \quad (2.3)$$

O lo que es lo mismo:

$$\frac{Q_\infty}{Q_\infty - Q_t} = e^{K_1 t} \quad (2.4)$$

donde Q_t es el hinchamiento a un tiempo t , Q_∞ es el hinchamiento en equilibrio y K_1 es la constante de velocidad de hinchamiento de orden uno [85].

Otro de los modelos estudiados es la cinética de orden dos, que tiene en cuenta la superficie interior del hidrogel que aún no ha interactuado con el agua a tiempo t pero que se hidratará

a medida que pasa el tiempo; esta cinética puede calcularse mediante la ecuación de Schott, visto en la ecuación 2.5:

$$\frac{t}{Q_t} = \frac{1}{KQ_\infty^2} + \frac{1}{Q_\infty} \quad (2.5)$$

donde Q_t es el hinchamiento a un tiempo t , al graficar $\frac{t}{Q_t}$ versus t , del intercepto de la línea recta se puede calcular la constante de hinchamiento K y el hinchamiento en equilibrio Q_∞ [85].

2.3.2.3 Propiedades mecánicas

Los hidrogeles deben cumplir ciertos requisitos mecánicos para aplicaciones, como electrónica extensible, sensores, actuadores y cartílago artificial. Por lo tanto, es importante caracterizar cuidadosamente sus propiedades mecánicas. Las propiedades mecánicas de los hidrogeles incluyen resistencia a la tracción/compresión, deformación por tracción/compresión, módulo de Young y tenacidad. El método que se usa comúnmente para caracterizar las propiedades mecánicas de los hidrogeles es la prueba de tracción/compresión uniaxial con un probador de tracción universal. Las muestras de hidrogel con dimensiones definidas (largo, ancho, grosor, altura y diámetro) deben prepararse antes de la caracterización mecánica. Durante la prueba, la muestra de hidrogel se estira o comprime uniaxialmente a una velocidad predeterminada para determinar la tenacidad mecánica y la resistencia máxima a la tracción[86].

La prueba de resistencia a la compresión del hidrogel miden la tensión máxima y el alargamiento que podrían alcanzar. Generalmente se coloca la muestra entre placas paralelas seguido de un prensado vertical. La aplicación de presión externa con respecto a la deformación proporciona el gráfico de tensión-deformación por compresión, que infiere la resistencia típica a la rotura por compresión y por soporte de carga de los materiales blandos. El módulo de Young mide la rigidez de los hidrogeles, que se define como la pendiente de la región lineal inicial de la curva tensión-deformación (cuando se aplica una pequeña deformación)[87].

2.3.2.4 Propiedades reológicas

Las 4 propiedades reológicas más importantes son: (i) la viscosidad aparente (relación entre esfuerzo de corte y velocidad de corte), (ii) los coeficientes de esfuerzos normales, (iii) la viscosidad compleja (respuesta ante esfuerzos de corte oscilatorio) y (iv) el módulo de almacenamiento (G') y el módulo de pérdida (G'') (miden la respuesta elástica y viscosa del hidrogel y es un comportamiento viscoelástico lineal) [88]. Mediante el reómetro se caracteriza los comportamientos viscoelásticos de los hidrogeles. La prueba reológica de los hidrogeles se lleva a cabo normalmente en un estado hinchado. En una prueba típica, se coloca un trozo de hidrogel entre discos paralelos o un cono y un disco; luego se aplica una oscilación con parámetros de prueba preestablecidos (por ejemplo, frecuencia, amplitud de deformación, tensión, etc.) al hidrogel.

2.3.3. Aplicaciones de los hidrogeles

Las principales aplicaciones del hidrogel son eliminación de tintes y iones de metales pesados, en agricultura, pañales sanitarios, sensores de pH, biosensores y supercondensadores. A continuación nos centramos en aplicaciones biomédicas como administración de fármacos, ingeniería de tejidos, apósitos para heridas y lentes de contacto[89].

2.3.3.1 Sistema de liberación de fármacos

El proceso de administrar un fármaco al cuerpo humano o animal para lograr un efecto terapéutico deseado se conoce como administración de fármacos[90]. Las aplicaciones de hidrogeles en sistemas controlados de administración de fármacos se han vuelto muy populares en los últimos años debido a su red estructural tridimensional con alta capacidad de retención de agua[81].

Características como el hinchamiento del hidrogel ayuda a retener los fármacos y liberarlos de forma controlada. La gran cantidad de agua presente en el hidrogel ayuda a encapsular fármacos hidrófilos[91]. El fármaco se carga en el hidrogel mediante dos métodos: en el primer método, el polímero se mezcla con el fármaco seguido de la polimerización junto con el reticulante y el segundo método, el hidrogel formado se sumerge en la solución del fármaco[92].

Las principales desventajas del sistema de administración de fármacos de hidrogel son su baja resistencia a la tracción y la dificultad para cargar fármacos hidrófobos. Por consiguiente, para aumentar la eficiencia de carga de los fármacos hidrófobos en la matriz de hidrogel se realiza la incorporación de moléculas que tienen la capacidad de formar complejos de inclusión y la incorporación de restos hidrófobos[93].

El sistema de administración de fármacos de hidrogel se puede utilizar para aplicaciones oftálmicas, vaginales, transdérmicas, subcutáneas, orales, rectales, etc. [91], [92], [93].

2.3.3.2 Ingeniería Tisular

Los hidrogeles han ganado un gran interés en la ingeniería de tejidos puesto se requiere de la implantación de materiales porosos que proporcionen el soporte necesario para aprovechar la proliferación de las células en el tejido. Hay varios enfoques para la fabricación de andamios de hidrogel que incluyen liofilización, emulsificación, fundición con solvente - lixiviación, espumación de gas - lixiviación, fotolitografía, microfluidos, micromoldeo e impresión 3D. Los andamios de hidrogeles se utilizan en la regeneración de tejidos cardíacos, cartílagos y huesos. Actualmente, los hidrogeles inyectables son más ventajosos que los andamios de hidrogel normales debido a su fácil llenado de defectos irregulares y no requieren procedimientos quirúrgicos complejos [94].

2.3.3.3 Apósitos de heridas

Los apósitos para heridas son materiales principalmente polímeros en forma de gasas, geles, hidrogeles, hidrocoloides, etc. Los hidrogeles actúan como un apósito ideal para heridas, debido a que proporciona un ambiente húmedo en el sitio de la herida, ayudan a eliminar los exudados de la herida, previenen infecciones y brindan un ambiente adecuado para la regeneración de tejidos [90].

2.3.3.4 Lentes de contacto

Las lentes de contacto son utilizadas para corregir la visión, la administración de fármacos para afecciones oftálmicas y el uso cosmético. Hay dos tipos principales de lentes de contacto, lentes de contacto rígidos y suaves. Las lentes de contacto rígidas están fabricadas con polimetilmetacrilato (PMMA), tienen propiedades como humectabilidad superficial, alto módulo de elasticidad con excelente durabilidad. Sin embargo, no tiene permeabilidad al oxígeno y

también causa efectos nocivos en los ojos. Una lente de contacto blanda o de hidrogel debe tener propiedades como alto contenido de agua, su capacidad para transferir agua y permeabilidad al oxígeno. La permeabilidad al oxígeno es una característica muy importante del buen funcionamiento de la córnea. Puesto que, la córnea usa oxígeno del aire para mantener su estructura, función y claridad. Las lentes de contacto de hidrogel a base de silicona son uno de los materiales de hidrogel más utilizados en la actualidad [90].

2.3.4. Síntesis de hidrogeles

El método de preparación del hidrogel juega un papel vital en la modificación de sus propiedades físicas y químicas. Las propiedades de los productos de hidrogel producidos pueden reformarse mediante la selección adecuada de los materiales de partida para el hidrogel [15]. Sin embargo, uno de los desafíos en la síntesis de hidrogeles mediante el uso de polímeros está relacionado con el control de la distribución del tamaño de partícula, que necesita un ajuste exacto de las concentraciones de polímero [95].

Los hidrogeles se pueden sintetizar mediante diversas técnicas (figura 2.5). Tradicionalmente, la reticulación física, la reticulación química, el injerto de polimerización y la reticulación por radiación se han utilizado para la preparación de hidrogeles [96].

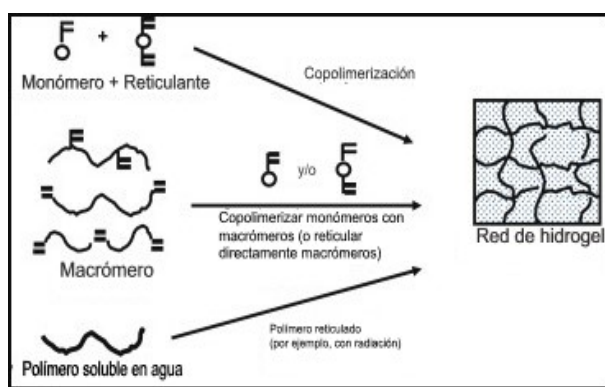


Figura 2.5: Síntesis de hidrogeles mediante reacciones de polimerización de radicales libres y reacciones de reticulación. Tomado de [81].

La polimerización a granel es el método utilizado para producir hidrogeles a partir de uno o más tipos de monómeros. Para la formulación se debe agregar una pequeña cantidad de reticulante. Luego se aplica el iniciador. El iniciador utilizado depende de la estructura del polímero y la naturaleza del disolvente [81].

Por otro lado, el principio de la copolimerización por injerto consiste en polimerizar un monómero, (monómero B), en presencia de un polímero, (polímero A), de manera tal que los centros iniciadores de las reacciones de la polimerización estén situados todos en el polímero original [96]. En la polimerización por radiación es una fuente de radiación es la causante de la formación de radicales polímeros en el sistema [97].

En la polimerización en solución, los monómeros iónicos o neutros se mezclan con agentes de reticulación. La polimerización puede iniciarse térmicamente por irradiación UV o por un sistema-redox. En este método, el disolvente (etanol, agua-etanol o alcohol bencílico) sirve como disipador de calor. Los hidrogeles obtenidos deben lavarse en agua para eliminar el

iniciador, los monómeros, oligómeros, reticulantes y otras impurezas que no han reaccionado [81].

2.4 Hidrogeles inteligentes

Los hidrogeles inteligentes o sensibles a estímulos son diseñados para tener una respuesta controlable a estímulos externos como se muestra en la figura 2.6. Estos hidrogeles presentan una alteración de hinchazón o desinflamación según un estímulo específico. Los estímulos utilizados para activar los hidrogeles se pueden clasificar en dos grupos: estímulos físicos (temperatura, presión, sonido, campo eléctrico, campo magnético) y estímulos químicos (pH, especies moleculares, fuerza tónica, composición del solvente) [98]. Recientemente se ha desarrollado otra categoría mediante estímulos bioquímicos que incluyen respuestas a antígenos, enzimas, ligandos y otros agentes bioquímicos [99].

La innovación de nuevos sistemas de administración de fármacos sensible a los estímulos se ha desarrollado en los últimos años. El estímulo externo envía señales al sistema para que libere su carga útil bioactiva, logrando las concentraciones locales deseadas necesarias para producir efectos terapéuticos. Estos sistemas presentan ventajas como la capacidad de definir la ubicación de administración de fármacos y poder alcanzar los requisitos de dosificación necesarios para satisfacer una variedad de necesidades terapéuticas [100].

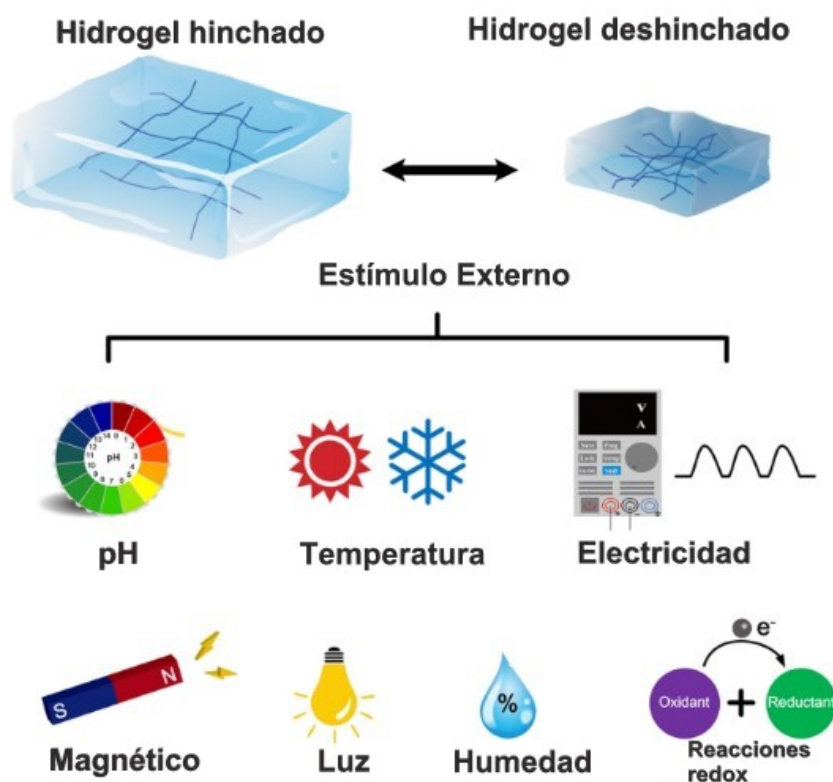


Figura 2.6: Hidrogeles sensibles a estímulos. Tomado de [101].

2.4.1. Estímulos físicos

Entre los estímulos físicos encontramos los cambios de temperatura, de luz, los cambios eléctricos. Los polímeros sensibles muestran cambios drásticos en sus propiedades frente a ligeros cambios dados por estos estímulos.

2.4.1.1 Hidrogeles sensibles a la temperatura

Los materiales termosensibles para uso médico han sido de gran interés debido a la temperatura fisiológica relativamente universal de 37°C y al desarrollo de una serie de mecanismos para manipular y controlar la temperatura *in vivo*. Los hidrogeles termosensibles experimentan una transición sol-gel con el cambio de temperatura, debido a la alteración del equilibrio hidrófilo / hidrófobo dentro de las redes. Los mecanismos de termogelificación incluyen interacción hidrofóbica, transición de espiral-hélice y empaquetamiento y entrelazamiento micelar. Varios eventos de interacción están implicados en la sensibilidad térmica de los hidrogeles: interacciones polímero-polímero, agua-agua y agua-polímero [96].

Los hidrogeles sensibles a la temperatura se pueden dividir en tres grupos: hidrogeles sensibles a la temperatura negativa, los hidrogeles sensibles a la temperatura positiva y los hidrogeles térmicamente reversibles [96]. Los geles termosensibles positivos sufren un colapso de la red al enfriarse por debajo de la temperatura de solución crítica superior (UCST), mientras que los geles termosensibles negativos muestran gelificación al calentarse por encima de la temperatura de solución crítica más baja (LCST) [102], [103]. Los hidrogeles sensibles a la temperatura se han estudiado ampliamente porque los agentes de liberación para la administración controlada de fármacos son sensibles a los cambios de temperatura, también como mecanismo de limpieza de membranas y, recientemente, andamios de gelificación *in situ* para la regeneración de tejidos [102].

2.4.1.2 Hidrogeles fotosensibles

Los hidrogeles sensibles a la luz se clasifican en dos clases: hidrogeles sensibles a la luz ultravioleta e hidrogeles sensibles a la luz visible [102]. La incorporación de restos fotoactivadores dentro de las cadenas de polímeros formadores de hidrogel hace que los geles sean fotosensibles, lo que permite aplicaciones en la manipulación del microambiente celular. Existen diferentes modos de acción que pueden ser estimulados por la luz, como la fotoisomerización, la fotoescisión, la fotodimerización, la fotorreorganización y la fotoconjugación [16], [96]. Los hidrogeles sensibles a la luz se preparan basándose principalmente en hidrogeles sensibles a la temperatura mediante la incorporación de un grupo sensible a la luz en la estructura del hidrogel. Hay tres posibles mecanismos de funcionamiento de los hidrogeles fotosensibles. El primer mecanismo se basa en la conversión de luz en calor a través de moléculas específicas sensibles a la luz involucradas en materiales sensibles al calor. Cuando la temperatura aumenta hasta la temperatura de transición de la fase de gel, el hidrogel responde a este cambio de temperatura y provoca la gelificación del sistema [96].

El segundo mecanismo se basa en la ionización de moléculas fotosensibles que responden a la luz incidente. Cuando son expuestos a la luz los geles producen una gran cantidad de iones. Un gradiente de concentración de iones agudo resultante dentro y fuera del gel, conduce a una diferencia de presión osmótica y finalmente a la expansión del gel [104]. El tercer mecanismo radica en la incorporación de grupos cromofóricos a la matriz de hidrogel, en cuyo

caso sus propiedades físicas y químicas (como el momento dipolar y la geometría) cambiarán en respuesta a la luz. Estos cambios inducen una alteración estructural en la cadena del polímero. Una reacción de fotoisomerización incluye la transición entre isómeros trans y cis que contienen grupos azo [105].

2.4.1.3 Hidrogeles eléctricamente sensibles

Los hidrogeles eléctricamente sensibles muestran hinchamiento / deshinchamiento o flexión al aplicar un campo eléctrico, debido a la generación de potencial opuesto como resultado del movimiento de contraiones en solución [96]. La expansión o contracción de un hidrogel en respuesta a un estímulo eléctrico ocurre en un mecanismo muy similar al que se rige para los hidrogeles sensibles al pH. La principal diferencia entre la estimulación eléctrica y la de pH es que el campo eléctrico mueve iones móviles para regular el gradiente de concentración de iones a través del hidrogel y la solución [33].

Los hidrogeles de respuesta eléctrica se han estudiado ampliamente para controlar de forma remota la liberación de carga terapéutica utilizando un campo eléctrico [106]. Los estímulos eléctricos son particularmente atractivos porque las señales precisas se pueden generar de manera fácil, remota y repetida sin la necesidad de instrumentos grandes y complejos, y los dispositivos eléctricos pueden miniaturizarse y desarrollarse en un implante inalámbrico, mejorando la traducibilidad de esta tecnología [82].

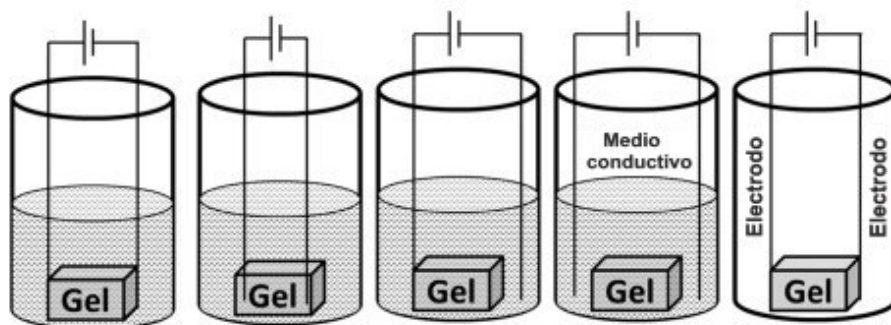


Figura 2.7: Configuraciones experimentales de varios sistemas de administración de fármacos con respuesta eléctrica. Tomado de [86].

La capacidad de respuesta eléctrica de estos hidrogeles se ha probado en diferentes configuraciones como se muestran en la figura 2.7. El sistema normalmente se coloca en un sistema tampón de fosfato o en un medio salino. El entorno de los electrodos aplicados debe estar en la región conductora de tal manera que no haya ninguna interrupción del flujo de corriente hacia los parches conductores. Los electrodos aplicados son normalmente de platino o carbono. A veces, los electrodos en modo sin contacto también se aplican cuando el entorno del dispositivo bajo prueba se ha mantenido en medios conductores, como las sales electrovalentes. Las fluctuaciones en las dimensiones del gel se han observado incluso en corrientes eléctricas de muy baja magnitud [86].

El poliacetileno (PA), el Poli(3,4-etilendioxitiofeno)(PEDOT), el politiofeno (PTh), el polipirrol (PPy), la polianilina (PAni), polifenileno (PPh) y poli (fenileno) vinileno (PPV) son

polímeros conductivos que han sido utilizados para aplicaciones agrícolas, eléctricas y biomédicas [82], [86].

2.4.2. Estímulos Químicos

Otra amplia clase de hidrogeles ha sido diseñado para exhibir hinchazón o degradación en respuesta a los estímulos químicos incluyen pH, composición del disolvente, la fuerza iónica y especie molecular. Debido a la amplia gama de productos químicos que podrían actuar como estímulos prácticos para lograr funciones útiles, enseguida se explica el mecanismo de respuesta según el estímulo químico.

2.4.2.1 Hidrogeles sensibles al pH

Los hidrogeles sensibles al pH son un subconjunto de sistemas sensibles a los estímulos capaces de responder a las perturbaciones en el pH ambiental. La respuesta inducida por pH se evidencia en el comportamiento de deshinchamiento/ hinchamiento del hidrogel [102]. El pH es uno de los estímulos que se ha explorado ampliamente para aplicaciones de liberación de fármacos inteligentes y sostenibles debido a un amplio rango de pH de fluidos corporales que se encuentran en diferentes compartimentos celulares y tisulares como se resume en la tabla 2.2 [18].

Tabla 2.2: Ubicaciones dentro del cuerpo que exhiben un rango de pH dinámico durante el funcionamiento normal o como respuesta a una enfermedad. Modificado de [102].

Localización	pH
Sangre	7.34 - 7.45
Estómago	1.0 - 3.0
Intestino delgado superior	4.8 - 8.2
Colón	7.0 - 7.5
Tumos extracelular	6.5 - 7.2
Endosoma temprano	6.0 - 6.5
Endosoma tardío	4.5 - 5.0
Vagina	3.8 - 4.5
Tejido / herida inflamados	5.4 - 7.4

Los hidrogeles sensibles al pH típicamente comprenden una red con grupos ácidos y básicos ionizables unidos a la cadena del polímero que pueden liberar protones por cambios en el pH ambiental. Cuando se cambia el pH del disolvente, se genera en consecuencia un gradiente de concentración de iones entre el interior y el exterior del gel. Este gradiente provoca la penetración de iones móviles dentro y fuera del hidrogel y, lo que es más importante, la presión osmótica en la superficie del hidrogel. La presión osmótica da como resultado un cambio de volumen deseable, evidenciando los procesos de hinchamiento y deshinchamiento dependientes del pH a medida que el agua se absorbe o se expulsa de la red de hidrogel [17], [96], [102].

Existen dos familias diferentes de hidrogel sensible al pH que difieren en su ionización de grupo lateral y comportamiento de hinchamiento posterior. En la figura 2.8 se evidencia el

comportamiento del hinchamiento de los hidrogeles sensibles al pH, en donde a valores de pH altos, los grupos ácidos del hidrogel aniónico pierden protones y los grupos básicos a pH bajo adquieren protones. Los monómeros más comunes utilizados para introducir un comportamiento sensible al pH incluyen ácido acrílico (AA), ácido metacrónico (MAA), metacrilato de dimetilaminoetilo (DMAEMA), metacrilato de dietilaminoetilo (DEAEMA) y acrilamida (AAm). Los polímeros naturales como la albúmina, la gelatina, el alginato y el quitosano también pueden mostrar un comportamiento sensible al pH [96], [102].

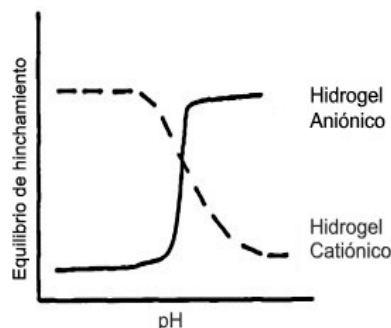


Figura 2.8: Comportamiento de hinchamiento de equilibrio de hidrogeles aniónicos y catiónicos. Tomado de [107]

2.4.2.2 Hidrogeles sensibles a la glucosa

Estos hidrogeles responden a diferentes concentraciones de glucosa. Son particularmente adecuados para la fabricación de sensores de azúcar en sangre y sistemas de administración de fármacos autorregulados. Se estudian tres clases de hidrogeles sensibles a la glucosa basados en glucosa oxidasa (GOx), concanavalina A (Con A) y ácido fenilborónico (PBA) [108], [109]. Sin embargo, estos hidrogeles aún estaban lejos de la aplicación clínica debido a su no biodegradabilidad y toxicidad de la estructura poliacrílica hacia los tejidos circundantes [110]. En la figura 2.9, la glucosa puede difundirse hacia el interior de la cápsula (condiciones de desequilibrio) y desplazar el GEMA reticulado con ConA.

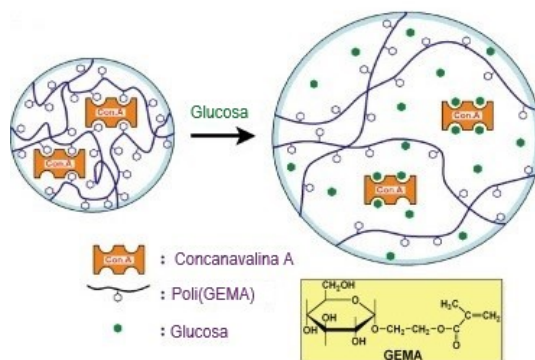


Figura 2.9: Hidrogel responsivo a la glucosa. Tomado de [108].

2.4.2.3 Hidrogeles sensibles a enzimas

Los hidrogeles sensibles a enzimas son un nuevo tipo de materiales inteligentes que experimentan transiciones macroscópicas cuando se activan por la catálisis selectiva de ciertas enzimas. Por lo tanto, las funciones de las enzimas incluyen catalizar la síntesis y la hidrólisis, lo que conduce a transiciones de fase de sol a gel y de gel a sol. La mayor parte de la investigación se ha centrado en los hidrogeles poliméricos que responden a proteasas y glicosidasas durante los últimos cinco años [111].

2.4.3. Hidrogeles y puntos de carbono

Existen principalmente dos tipos de métodos para preparar los hidrogeles y los puntos de carbono, dependiendo de las interacciones entre las nanopartículas y la red de polímeros. Los puntos de carbono unidos a las redes de polímeros mediante interacciones supramoleculares y los puntos de carbono unidos a las redes de polímeros mediante interacciones covalentes [112].

Los hidrogeles se pueden preparar fácilmente mediante la gelificación de una mezcla de puntos de carbono y polímeros. Las interacciones supramoleculares entre los puntos de carbono y las cadenas de polímeros en los hidrogeles incluyen principalmente interacciones electrostáticas y enlaces de hidrógeno [14]. El enlace de hidrógeno juega un papel importante en la preparación de hidrogeles/puntos de carbono [113].

Los hidrogeles/puntos de carbono exhiben en su mayoría propiedades mecánicas deficientes, lo que dificulta sus aplicaciones prácticas. Para mejorar las propiedades mecánicas, se han preparado hidrogeles nanocompuestos incorporando puntos de carbono en hidrogel químicamente reticulado [114]. La absorción de los puntos de carbono en la red de hidrogel químico es una forma fácil de preparar los hidrogeles nanocompuestos [115]. Las interacciones supramoleculares entre las nanopartículas y los hidrogeles, como los enlaces de hidrógeno y las interacciones electrostáticas, permiten que los puntos de carbono se retengan en las redes de hidrogel químico [116].

2.5 Alginato de Sodio

Los alginatos son polisacáridos lineales naturales obtenidos principalmente a partir de algas marrones, es decir, *Laminaria hyperborean*, *Macrocystis pyrifera* y *textit* *Ascophyllum nodosum*. Son biopolímeros aniónicos compuestos por dos monosacáridos de ácido urónico, ácido d-manurónico [M] y ácido l- gulurónico [G], que están unidos por enlaces glicosídicos β -1,4 y α -1,4, respectivamente, y la sal más comúnmente disponible es el alginato de sodio (SA) que se muestran en la figura 2.10 [117].

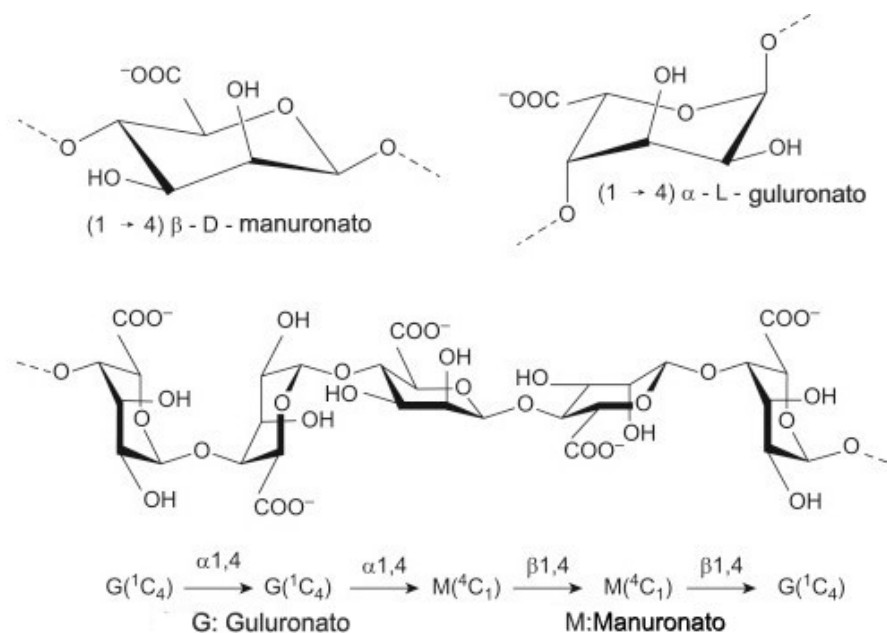


Figura 2.10: Estructura química del alginato y sus componentes β -1,4D-manuronato y α -1,4 y l- guluronato. Tomado de [117].

Los alginatos se utilizan como polímeros de control de la velocidad en la administración de fármacos, que pueden formar un gel al hidratarse con agua en condiciones suaves sin el uso de disolventes orgánicos. Por lo tanto, el hidrogel formado contiene solo agua destilada o solución de sacarosa y es ideal para atrapar macromoléculas biológicas como ADN, células, proteínas o incluso fármacos de bajo peso molecular, mientras conserva su actividad natural. Después de la administración, estas moléculas pueden difundirse a través de los poros del hidrogel en el sitio terapéutico. El recubrimiento o reticulación de estos hidrogeles puede alterar adecuadamente la velocidad de difusión de las moléculas atrapadas [118].

El alginato de sodio (SA) es uno de los polímeros naturales más utilizados en el campo de la administración de fármacos y las aplicaciones biomédicas. Es un polisacárido económico, se encuentra fácilmente, biocompatible, biodegradable y no tóxico que tiene innumerables aplicaciones en la industria farmacéutica y alimentaria. El método general de extracción de alginato de las algas es tratándolo con hidróxido de sodio, convirtiendo así el alginato natural en una sal de sodio soluble en agua. Posteriormente, el alginato de sodio así formado en solución se precipita añadiendo cloruro de calcio, se purifica y se trata más para dar SA en polvo [117]. La solubilidad acuosa, la mucoadhesividad, la transición sol-gel, la afinidad con iones divalentes y la facilidad de modificación química para adaptar sus propiedades lo convierten en un polímero prometedor para diversas aplicaciones de liberación controlada. Usado convencionalmente como agente gelificante, espesante y desintegrante de tabletas, ha ganado diversas aplicaciones como reticulante y en administración de pH controlado [22].

La propiedad de gelificación de los alginatos depende de la afinidad de los alginatos hacia la unión con varios cationes metálicos divalentes (ej. Ca^{2+} , Zn^{2+} , Ba^{2+}) y trivalentes cationes metálicos (ej. Fe^{3+} , Al^{3+}) de forma selectiva y cooperativa. Esta naturaleza de unión a

iones de los alginatos está conectada selectivamente a los residuos de ácido gulurónico (G) o, particularmente, al peso molecular, la longitud de los bloques G y la relación M / G en la estructura molecular del alginato. Cuando se alinean dos cadenas de bloques G, se generan los sitios de coordenadas que son cavidades entre estos cationes metálicos divalentes y trivalentes que se alojan. Después de la adición de estos cationes metálicos, los alginatos sufren los cambios conformacionales descritos por el llamado modelo Egg-Box (figura 2.11) [22].

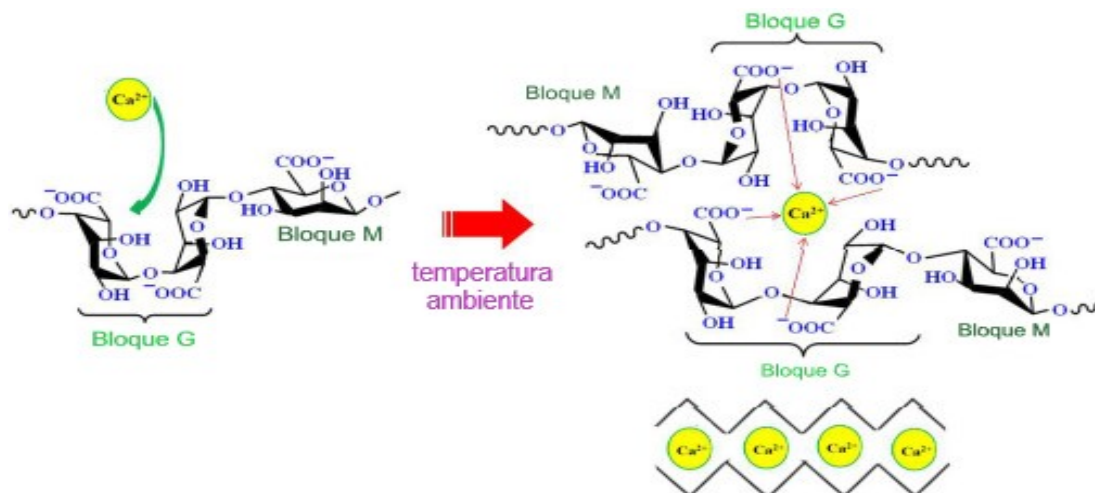


Figura 2.11: Modelo “Egg-Box” de gelificación de alginato por interacción iónica de iones Ca^{2+} de residuos de guluronato de moléculas de alginato e iones Ca^{2+} . Tomado de [22].

La presencia de grupos de ácido carboxílico en el resto de alginato hace que el polímero sea sensible al pH. Estos grupos -COO^- ionizables hacen del polímero un componente atractivo de los sistemas de administración sensibles a los estímulos. Cuando el pH externo es inferior a 3,4, el polímero permanece insoluble porque los grupos carboxílicos no están ionizados. Sin embargo, cuando el pH es superior a 4,4, los grupos de ácido carboxílico se ionizan y se produce la repulsión electrostática de la carga negativa, lo que provoca la expansión de la cadena del polímero y el hinchamiento de la matriz. Este efecto es mayor con un valor de pH de alrededor de 7,4 [119].

Capítulo 3

METODOLOGÍA

En este capítulo se describe las etapas (figura 3.1) que se siguieron para llevar a cabo el desarrollo del proyecto. La primera etapa explica la metodología utilizada para la síntesis y caracterización de puntos de carbono como nanopartícula de interés biomédico. Luego se describe la síntesis de hidrogel alginato como vehículo encapsulador y modelo de hidrogel responsivo al pH. Posteriormente, se tiene el procedimiento para encapsular los puntos de carbono en el hidrogel y la prueba de liberación controlada. Finalmente, se realizó una revisión literaria de protocolos de síntesis de polímeros conductivos que se encuentra en el capítulo 5.

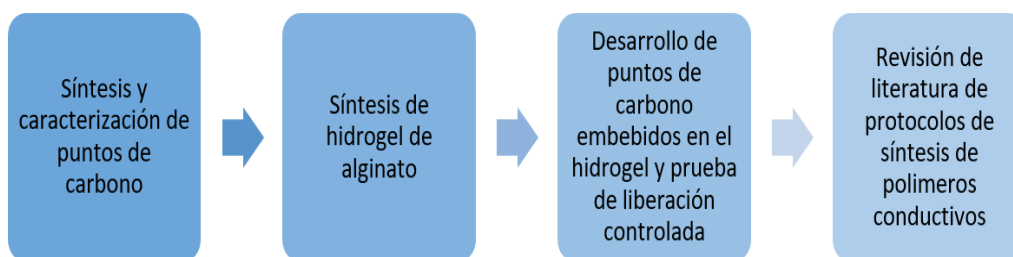


Figura 3.1: Etapas de la metodología desarrollada en la investigación.

3.1 Síntesis de puntos de carbono y caracterización de las propiedades ópticas

La figura 3.2 representa de manera esquemática el proceso para la síntesis de puntos de carbono y su caracterización. En este procedimiento, 0.5 g de ácido cítrico se dispersó en 3mL de etanol y 3 mL N,N-dimetilformamida (1:1 V/V), seguido de un proceso de sonicación (ELMASONIC E PLUS - EP 30 H) por 3 minutos. La solución resultante se transfirió a tubo para reactor microondas (Anton Paar Monowave 50) durante 5 minutos con diferentes temperaturas. La temperatura de reacción fue variada de acuerdo con lo indicado en la tabla 3.1 [120].

Tabla 3.1: Temperaturas empleadas en la elaboración de la síntesis de los puntos de carbono a partir de ácido cítrico, etanol y dimetilformamida.

Temperatura	100°C	125°C	150°C	175°C	200°C
Tiempo (min)	5				
Solvente	Etanol 99 %, Dimetilformamida 99 % (1:1 V/V)				
Fuente de calentamiento	Reactor microondas				

La solución obtenida del proceso de síntesis se centrifugó a 10.000 rpm durante 10 minutos con el fin de separar el material de tamaño mayor no estable en dispersión acuosa. El sobrenadante se recolecta y se filtra a través de un filtro de 0.22 μm . Luego se realizó una diálisis por 24 h para remover las especies moleculares que no reaccionaron. Finalmente, el producto purificado se secó en un horno a 80°C durante 24 horas.



Figura 3.2: Esquema del proceso de la síntesis de puntos de carbono.

Los espectros de absorción UV-Vis de los puntos de carbono sintetizados dispersos en agua destilada (5mg/mL), se midieron en un espectrofotómetro FLAME MODELO FLAMES-S-XR1-ES OCEAN OPTICS a temperatura ambiente. Las mediciones se tomaron en un rango de longitud de onda desde 200 nm a 900 nm en intervalos de 0.47nm usando una celda de cuarzo de 1 cm de paso óptico. Los espectros de fluorescencia se midieron en un Cytation 3, en rangos de longitud de onda de excitación des 260 nm hasta 500 nm en intervalos de 20 nm, el cual permite la lectura de múltiples espectros a través del uso de placas. Las mediciones del espectro de fluorescencia se realizaron sobre las mismas soluciones empleadas en la obtención de los espectros de absorción [120].

3.2 Síntesis de hidrogel de alginato

La figura 3.3 muestra de manera esquemática el proceso para la obtención de hidrogeles de alginato. Primero, se elaboró la solución de alginato 1.5 % (P/V), se pesó 0.3 g alginato de sodio y se disolvió en 20 mL de agua destilada. Luego se realizó la solución reticulante CaCl_2 –

NaCl, 0.05 M CaCl₂ – 0.2 M NaCl en 20 mL de agua destilada. La solución del alginato se agitó mediante sonicación (ELMASONIC E PLUS - EP30H) por 15 minutos [121]. Posteriormente, con el fin de evaluar la densidad de la red de hidrogel de alginato se realizaron 2 hidrogeles, HA contenía 500 μ L de la solución de alginato, 500 μ L de agente reticulante y HB contenía 500 μ L de la solución de alginato, 750 μ L de agente reticulante. Se transfirió la solución de alginato a una cubeta de hielo de forma cilíndrica ($\varnothing$ 3cm) y posterior la solución de agente reticulante. Se dejó en reposo a temperatura ambiente por 15 minutos y luego se pesaron los hidrogeles.

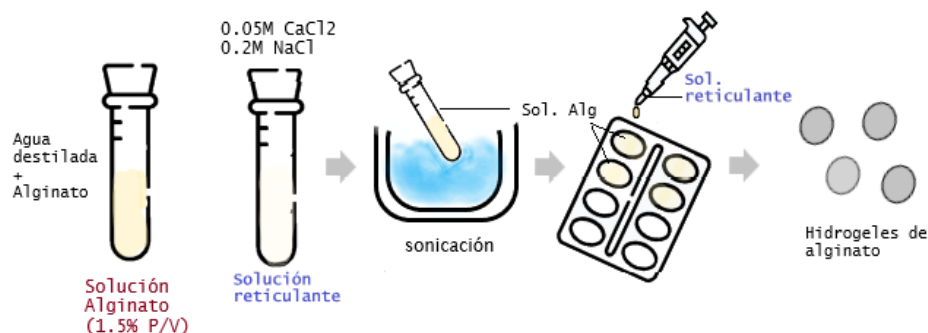


Figura 3.3: Esquema del proceso de la síntesis de hidrogel de alginato.

Para simular el efecto del pH sobre la velocidad de liberación del fármaco se evaluó la degradación de los hidrogeles inmediatamente después de la preparación. Se realizó un prueba de degradación en soluciones a diferentes pH (ácido = 3.2 y básico = 8.5 [102]). Los hidrogeles se pesaron después de la preparación y se adicionaron a la solución que simulaba en pH fisiológico. Cada 5 minutos se sustrajo el hidrogel para medir su masa hasta su desintegración total. Finalmente, mediante la ecuación 3.1 se determinó el % de degradación para cada hidrogel en el tiempo.

$$\% \text{ de degradación} = 100 - \frac{m_t * 100}{m_i} \quad (3.1)$$

En donde m_i es la masa inicial y m_t es la masa en el tiempo.

3.3 Desarrollo de puntos de carbono embebidos en el hidrogel y prueba de liberación controlada

La figura 3.4 exhibe el proceso del desarrollo del hidrogel con puntos de carbono encapsulados y la prueba de liberación. Los puntos de carbono sintetizados se dispersaron en 2 mL de agua destilada obteniendo una concentración de 67.3mg/mL. Primero, se realizaron 4 hidrogeles con diferentes volúmenes de la solución de puntos de carbono, sin embargo, los tiempos de toma de alícuotas fueron demasiado dispersos entre cada toma y los resultados de la fluorescencia no proporcionaron información relevante. Por consiguiente se realizaron los cálculos para obtener 8 hidrogeles (4 hidrogeles para toma de alícuotas y 4 hidrogeles para registro de pérdida de masa). En donde, H1 esta conformado por 450 μ L de solución de alginato, 50 μ L de solución de puntos de carbono (1.682 mg de puntos de carbono). En H2 se adicionó 400 μ L de solución de alginato, 100 μ L de solución puntos de carbono (3.365 mg

de puntos de carbono). Cada solución se homogenizó mediante vórtex. Luego, se traspasó a la cubeta de hielo. Se adicionó $750\mu\text{L}$ de la solución reticulante a temperatura ambiente. Se dejó en reposo a temperatura ambiente por 15 minutos y finalmente se obtuvo el hidrogel con puntos de carbono encapsulados.

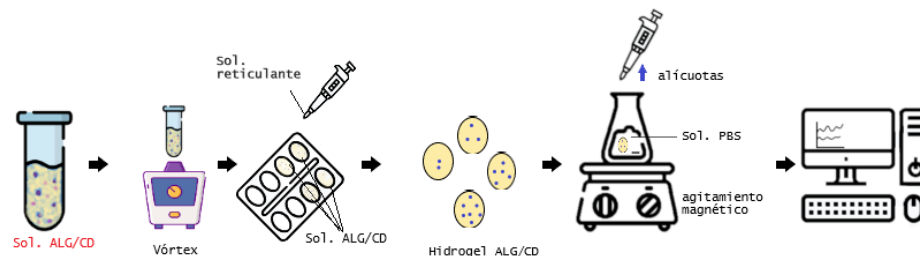


Figura 3.4: Esquema del desarrollo de puntos de carbono embebidos en el hidrogel y prueba de liberación controlada.

Se realizaron dos soluciones con pH a condiciones fisiológicas normales, la solución ácida ($\text{pH} = 3.2$) se adicionó $500\mu\text{L}$ de $\text{HCl}(1\text{M})$ en 240 mL de agua destilada y la solución básica ($\text{pH} = 8.5$) se adicionó $10\mu\text{L}$ de $\text{NaOH}(1\text{M})$ en 240 mL de agua destilada. La prueba de liberación controlada utilizó los hidrogeles H1 y H2 inmediatamente después de la preparación. Para cada hidrogel, se tomó alícuotas en intervalos de tiempo para la medición de espectros de fluorescencia en un Cytation 3 a una 360nm .

3.4 Revisión literaria de protocolo de síntesis de polímeros conductivos

En la figura 3.5 se enseña las fases de la revisión bibliográfica. Se partió de una investigación acerca de cuáles son los polímeros conductivos utilizados para aplicaciones biomédicas como la administración de fármacos. Luego se realizó un filtrado con respecto a los polímeros más utilizados en aplicaciones biomédicas, los cuales son la polianilina (PAni), el polipirrol (PPy) y el poli(3,4-etilendioxitiofeno) (PEDOT), agente reticulante o técnica utilizada para la síntesis.

Los resultados fueron orientados a esclarecer interrogantes cómo: *¿Cuáles son los polímeros conductivos más empleados en aplicaciones biomédicas?*, *¿Cuáles son las técnicas utilizadas para sintetizar los polímeros conductivos?* *¿Existe un proceso en común para sintetizar los polímeros conductivos?*.

A continuación, se empleó la estrategia PICO, que permitió determinar ciertos factores (problema de interés, intervención, comparación y salidas). El problema de interés fue la síntesis de la polianilina, el polipirrol y el poli(3,4-etilendioxitiofeno) como polímeros conductivos. La intervención planteada fue la siguiente *¿Qué protocolo se ha realizado para sintetizar la polianilina, el polipirrol y el poli(3,4-etilendioxitiofeno) como polímeros conductivos utilizados en aplicaciones biomédicas?*. Se comparó la existencia de alternativas de protocolos para sintetizar los polímeros conductivos como la polianilina, el polipirrol y el poli(3,4-etilendioxitiofeno). Obteniendo como salidas la estandarización de protocolos de síntesis de estos polímeros. Los criterios de inclusión y exclusión de artículos para la revisión bibliográfica permiten un filtrado de los documentos encontrados en las bases de datos, con base en el tema o enfoque de cada investigación. Estos son:

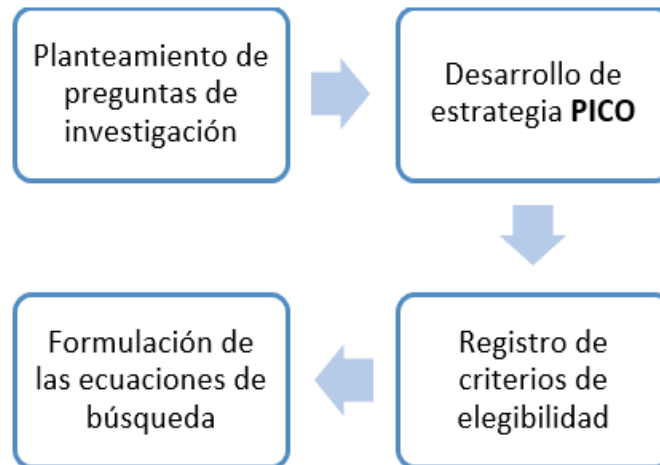


Figura 3.5: Etapas desarrolladas durante la selección de un correcto enfoque en la búsqueda de literatura.

1. Criterios de inclusión

- Artículos relacionados con polímeros conductivos.
- Artículos relacionados con hidrogeles eléctricamente sensibles.
- Artículos que desarrollaron híbrido de hidrogel de polímero conductor.
- Artículos relacionados con el pirrol y hidrogeles responsivos.
- Artículos relacionados con el anilina y hidrogeles responsivos.
- Artículos en inglés y español.

2. Criterios de exclusión

- Artículos que no proveen la información suficiente en el proceso de síntesis.
- Artículos que no estén enfocados a aplicaciones biomédicas.
- Artículos que no cumplen con el tiempo límite de fecha de publicación del artículo (solo artículos desde el 2010)

Finalmente se expone las ecuaciones de búsqueda que permitieron encontrar un aproximado de 320 artículos referente a los temas destinados por las dos etapas anteriores, a través de bases de datos como *Springer*, *PubMed*, *Science Direct*, *Wiley*, entre otras.

- Conductive polymer AND Hydrogel
- Conductive polymer AND Drug Delivery System or DDS
- Conductive polymer AND Biomedical Applications
- Hydrogel AND ElectroResponsive AND Drug Delivery System or DDS

- Hydrogel AND Electrically AND Responsive AND Drug Delivery System or DDS
- Hydrogel and PPY or Pyrole and Synthesis and Stimulus
- Hydrogel and PANI or Aniline and Synthesis and Stimulus
- Hydrogel and PEDOT or Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) and Synthesis and Stimulus

De la búsqueda realizada en las bases de datos se obtuvieron 70 artículos que en un principio se seleccionaron por su título, se eliminaron 12 de ellos al encontrarse repetidos, quedando 64 estudios. Con la lectura del resumen y teniendo en cuenta los criterios de inclusión, el número se redujo a 37 artículos. La extracción de datos se realizó con estos artículos y a causa de la información que se iba separando, se eliminaron 10 estudios porque no cumplían con los temas principales o porque no había claridad en su metodología y resultados. Se adicionó 3 artículos por referencias. Al final del procedimiento se seleccionaron 30 artículos en total.

Capítulo 4

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Esta sección presenta los resultados obtenidos y discusión de cada etapa experimental, esto con el fin de demostrar como cada resultado se constituía como la base para el paso a la siguiente etapa.

4.1 Síntesis de puntos de carbono y caracterización de las propiedades ópticas

Los puntos de carbono se sintetizaron por reactor microondas con éxito a partir de ácido cítrico como precursor de carbono, pueden presentar derivados fluorescentes por el solvente utilizado. Las soluciones acuosas de puntos de carbono (5mg/ml) preparados en agua destilada mostraron un color amarillo pálido débil en luz visible (figura 4.1a) y emitieron fluorescencia azul bajo luz UV de 365 nm (figura 4.1b).

Se estudiaron las propiedades ópticas de los puntos de carbono resultantes a través de la técnica UV-Vis y los comportamientos de fotoluminiscencia (PL). En la figura 4.2, los puntos de carbono mostraron una fuerte absorción óptica en la región UV (200 nm – 320 nm), con una cola que se extiende hacia el rango visible. Los máximos en los espectros de absorción en función de la temperatura son 262 nm (100°C), 255 nm (125°C), 265 nm (150°C), 266 nm (175°C) y 251 nm (200°C). En donde, un pico máximo entre 230 nm y 275 nm se atribuye a la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ del enlace C = C [122].

La aparición de hombros en la banda principal de absorción para un cromóforo se ha atribuido a las transiciones electrónicas entre los diferentes niveles de energía vibratoria posibles para cada estado electrónico. Las muestras a 175°C y 200 °C evidencian un hombro que exhibe una banda de absorción UV-Vis con un pico entre 330 nm y 380 nm (ver figura 4.2). Los picos de hombro alrededor de 350 nm se asignan a la transición $n \rightarrow \pi^*$ de C = O u otros grupos conectados [62], [123]. El espectrofotómetro no presentaba un filtro, por lo cual los espectros de absorbancia de las muestras de los puntos de carbono en el rango de longitud de onda de 500 nm a 700 nm presentan un rizado que no tiene relación con los cromóforos presentes, por consiguiente no confiere propiedades a los puntos de carbono sintetizados.

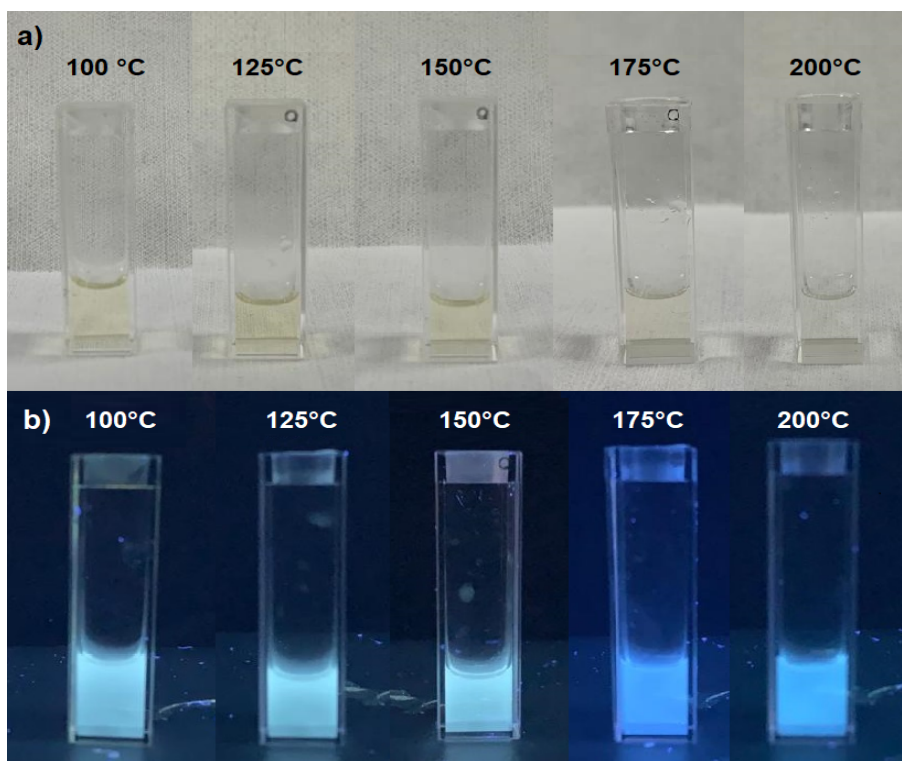


Figura 4.1: Soluciones de puntos de carbono (5mg/ml) según temperatura de reacción (a. en luz visible y b. bajo irradiación UV , respectivamente)

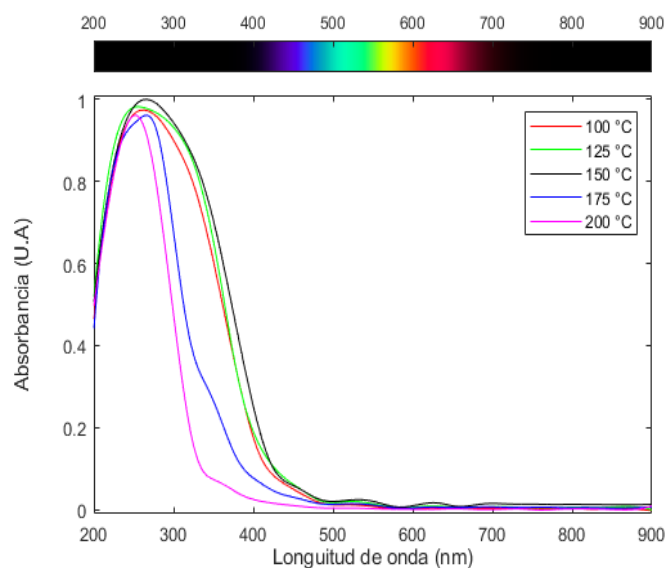


Figura 4.2: Espectro de absorbancia de los puntos de carbono según la temperatura de reacción.

Las propiedades PL de puntos de carbono según la temperatura de reacción se muestran en la figura 4.3a-e, donde el ancho de la banda emisión esta en el rango del azul al cian (410–520 nm). La respuesta de los puntos de carbono a la excitación de 365 nm de la lampara UV (figura 4.1b) concuerdan con la respuesta en rango del azul de la figura 4.3.

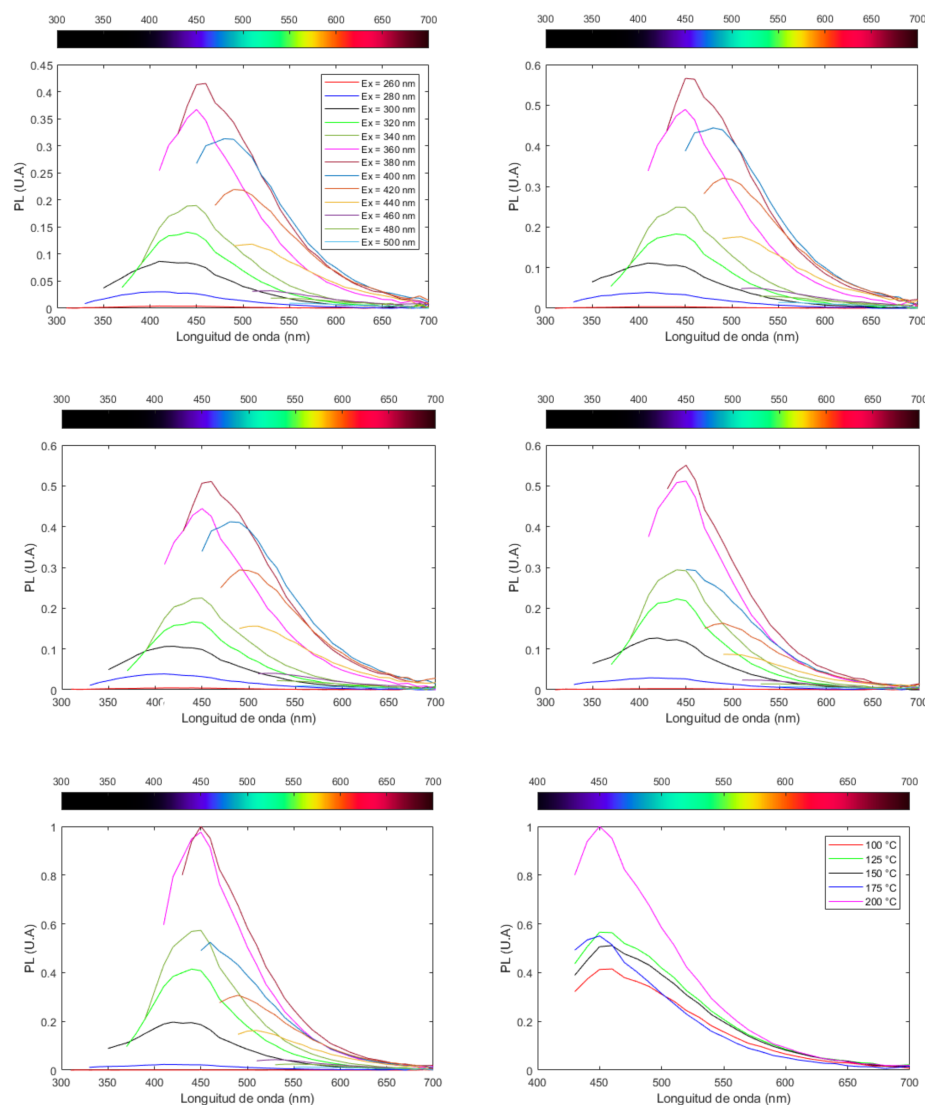


Figura 4.3: Espectros de emisión de los puntos de carbono según temperatura de reacción a) 100°C, b) 125°C, c) 150°C, d) 175°C y e) 200°C. f) Espectro de emisión de los puntos de carbono según temperatura a longitud de excitación de 380 nm.

Los espectros PL presentaron una emisión dependiente de la excitación que disminuye gradualmente, acompañada de un evidente desplazamiento hacia el rojo del espectro de emisión (ver figura 4.3a-e). Las longitudes de onda de excitación con mayor intensidad fueron de 360 nm / 380 nm y la longitud de onda de emisión fue entre 440 nm a 460 nm para todos los

puntos de carbono. La figura 4.3f muestra los máximos de PL a longitud de excitación de 380 nm en función de la temperatura, los máximos son 0.42 u.a. (100°C), 0.57 u.a. (125°C), 0.51 u.a. (150°C), 0.55 u.a. (175°C) y 1 u.a. (200°C). Debido a que los puntos de carbono a 200°C presentaron mayor intensidad se decidió trabajar con estos en la siguiente etapa.

4.2 Síntesis de hidrogel de alginato

La gelificación y reticulación de los polímeros de alginato se logró mediante el intercambio de iones sodio de los ácidos gulurónicos con los cationes divalentes Ca^{2+} (ver figura 4.4). La unión cooperativa de Ca^{2+} entre bloques gulurónicos alineados y el apilamiento de estos grupos gulurónicos, formó la estructura característica de caja de huevos dando como resultado una red de hidrogel estable [22]. El tamaño del hidrogel, la concentración de alginato y las moléculas de reticulación, son importantes para una comprensión fundamental de las propiedades de los hidrogeles de alginato y sus aplicaciones. Los hidrogeles HA y HB presentan concentración de alginato y entrecruzante en relación 1:1 y 1:1.5, respectivamente, presentaron la siguiente masa, HA = 0.358g y 0.367g, es decir una masa promedio de $0,3625\text{g} \pm 4,05\text{E-}05\text{g}$; HB = 0.394g y 0.425g, es decir una masa promedio de $0,4095\text{g} \pm 0,0004805\text{g}$.

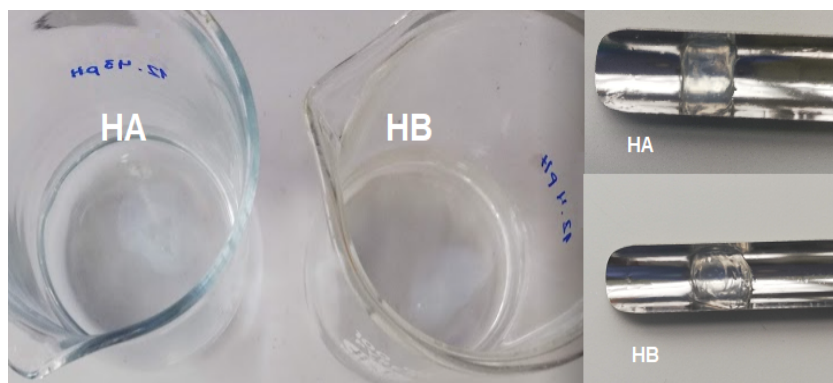


Figura 4.4: Hidrogeles de alginato (HA, HB) en solución de pH básico (izquierda), HA y HB inmediatamente después de la preparación (derecha).

La concentración de alginato determina la densidad de la red de hidrogel de alginato resultante, es uno de los factores clave para controlar las propiedades mecánicas de estos hidrogeles [124]. En estudios previos, las propiedades mecánicas de los hidrogeles de alginato aumentan proporcionalmente con la concentración de polímero, debido a la disminución de tamaño de poro de hidrogel [125].

Para simular el posible efecto del pH sobre la velocidad de liberación del fármaco se evaluó la degradación de los hidrogeles inmediatamente después de la preparación. Los perfiles de degradación de los hidrogeles según el pH se observa en la figura 4.5. Los hidrogeles fueron pesados después de la preparación y en el transcurso del tiempo hasta su desintegración total. Finalmente, mediante la ecuación 3.1 se determinó el % de degradación para cada hidrogel en el tiempo.

Se comparó la respuesta de degradación de los hidrogeles HA y HB en pH ácido(pH = 3.2) y básico (pH = 8.5), en donde, las muestras de hidrogel HB llegaron al 60 % de degradación a la mitad del tiempo que las muestras del hidrogel HA (figura 4.5). Los resultados observados

pueden atribuirse al hecho de que la mayoría de los grupos carboxilo ($-\text{COOH}$) presente en las estructuras de las moléculas de alginato confiere al polímero sensibilidad a los estímulos de pH. El grupo carboxilo ($-\text{COOH}$) presente en la estructura del alginato es insoluble en el medio con un pH menor que su constante de disociación ácida (pK_a) ($\text{pH} < 3,4$). A un pH inferior a 4,4, el grupo carboxilo ($-\text{COOH}$) se ioniza, lo que provoca la repulsión electrostática de estas cargas eléctricas negativas. El enlace de hidrógeno entre los grupos carboxilato en alginato de sodio conduce a las interacciones polímero-polímero y predominan sobre las interacciones polímero-agua y, por lo tanto, la repulsión electrostática entre estos grupos disminuye y se favorece la contracción[126],[127].

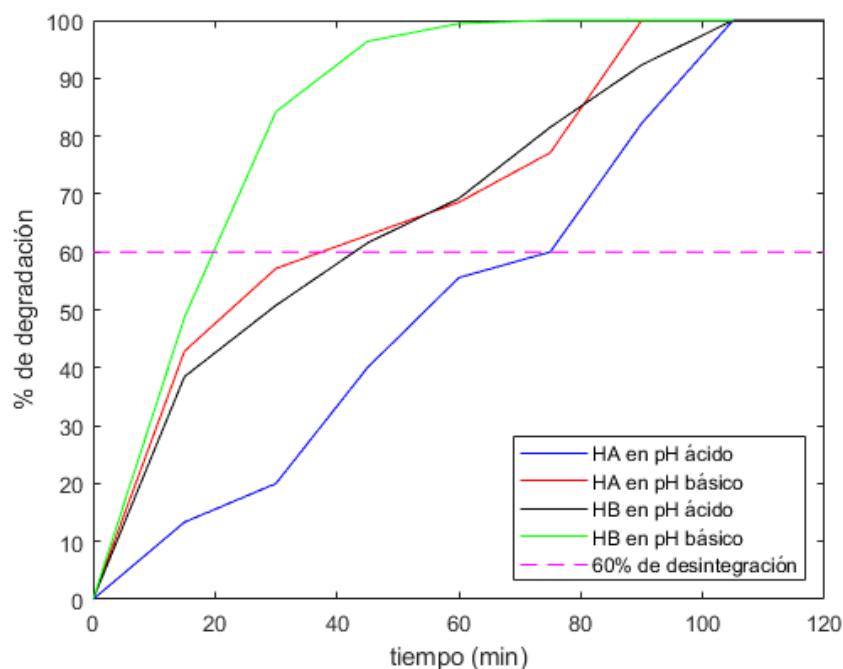


Figura 4.5: Perfil de degradación del hidrogel de alginato (HA, HB) a pH ácido y básico.

Estos resultados también pueden ser a causa de una mayor concentración del reticulante en las muestras de hidrogel HB en comparación al hidrogel HA. Las moléculas de reticulación afectan las propiedades de los hidrogeles por encima de una cierta cantidad de estas moléculas, por consiguiente, los módulos de los geles comienzan a disminuir[128]. De acuerdo con lo anterior, se decidió trabajar con la relación 1:1.5 (HB) para elaborar los hidrogeles que encapsularan los puntos de carbono en la siguiente etapa.

4.3 Desarrollo de puntos de carbono embebidos en el hidrogel y prueba de liberación controlada

Según los resultados obtenidos en las etapas anteriores, se determinó trabajar con los puntos de carbono a 200°C por sus propiedades de PL y con el hidrogel HB que tiene relación 1:1.5 de alginato y agente reticulante. Los puntos de carbono se encapsularon en la red de alginato donde el ión calcio interactúa con sus grupos carboxílicos, obteniendo los hidrogeles

H1 y H2. La figura 4.6 presenta un esquema de captura de puntos de carbono en una red de hidrogel tridimensional.

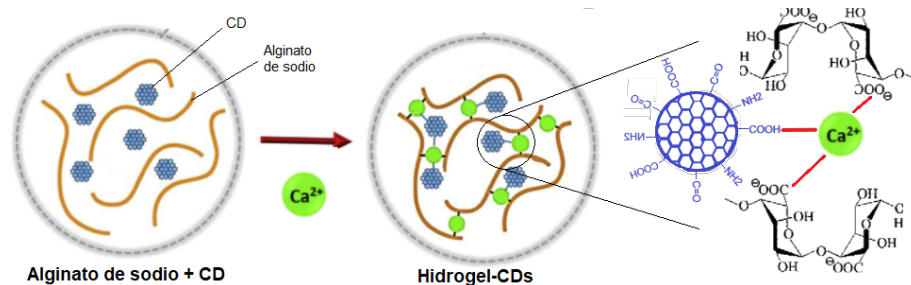


Figura 4.6: Esquema de captura de puntos de carbono en la red de hidrogel.

La figura 4.7 muestra los hidrogeles con puntos de carbono embebidos inmediatamente después de la preparación. En la parte superior, los hidrogeles H1 y H2 en ausencia de irradiación UV y en la parte inferior, los hidrogeles en presencia de irradiación con luz UV ($\lambda_{exc} = 365\text{nm}$) en donde, se evidencia que la muestra con mayor concentración de puntos de carbono embebidos en el hidrogel (H2) presenta mayor intensidad de fluorescencia.

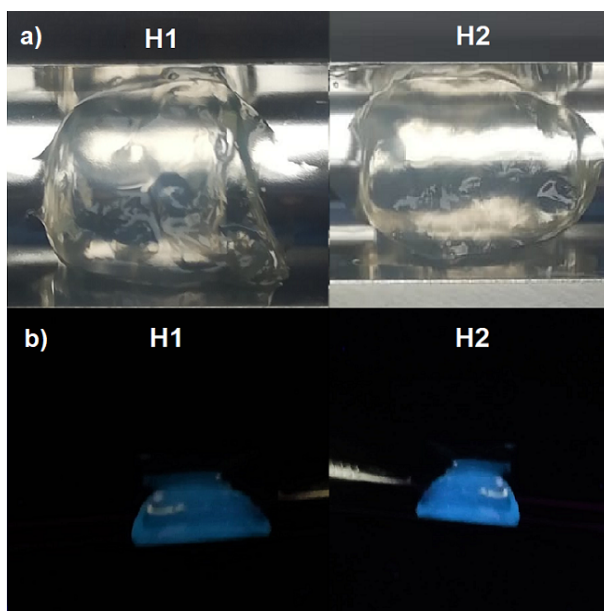


Figura 4.7: Hidrogeles con puntos de carbono embebidos (a. en ausencia y b. bajo irradiación UV, respectivamente).

La figura 4.8a muestra los perfiles de liberación de los puntos de carbono embebidos en los hidrogeles en medio acuoso con pH ácido y básico por fotoluminiscencia (PL). Se evidencia que los hidrogeles en presencia de pH básico presentan mayor PL en contraste a pH ácido. Para el H1, la intensidad máxima en pH básico ($t = 540$ segundos) fue el doble en comparación en pH ácido ($t = 4620$ segundos). En el H2, la intensidad máxima en pH ácido ($t = 1560$ segundos)

fue una tercera parte en comparación con la intensidad máxima registrada en pH básico ($t = 660$ segundos). Yang et al. [129], atribuye el aumento en la intensidad de PL con el aumento del pH a la desprotonación de los grupos carboxilo en la superficie de los N-CDs, lo que puede causar dopaje / carga electrostática en el DMF-CDs y cambiar el nivel de Fermi, que también puede entenderse como que la desprotonación del grupo carboxilo en el DMF-CDs.

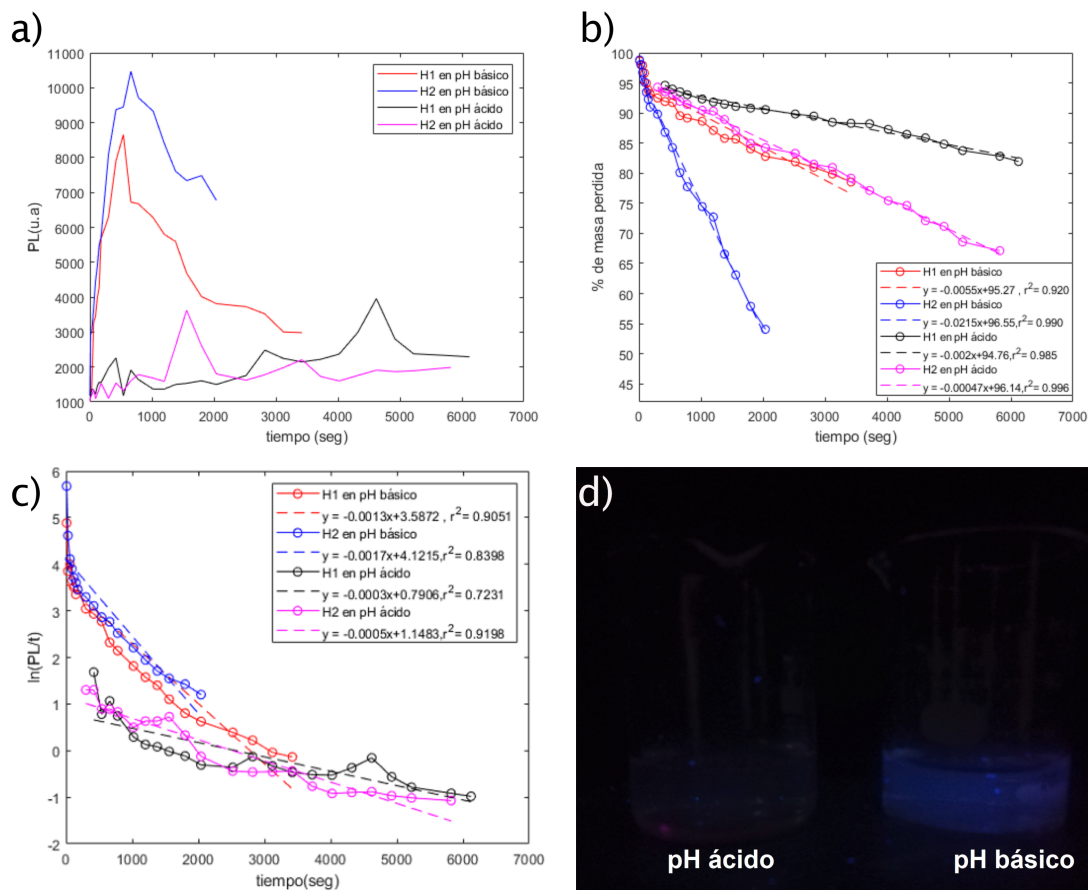


Figura 4.8: a) Cambio en los espectros de Fluorescencia de puntos de carbono embedidos en H1 y H2 en presencia de medio ácido-básico a través del tiempo. b) Cinética de liberación de H1 y H2 en pH ácido y básico. c) Cambio de masa de H1 y H2 en presencia medio ácido-básico a través del tiempo. d) Soluciones ácida (izquierda) y básica (derecha) al finalizar la liberación de H2 en presencia de lampara UV ($\lambda_{exc} = 365\text{nm}$).

Los modelos matemáticos permiten determinar los mecanismos de liberación de un fármaco desde el hidrogel y los parámetros que rigen esos modelos, lo que resulta útil para caracterizar y comparar diferentes perfiles de liberación, y facilita el diseño de nuevas matrices poliméricas como sistemas de liberación controlada. Mediante el ajuste de los datos experimentales del perfil de liberación, es posible determinar el mecanismo (o combinación de mecanismos) predominante en la cinética de liberación de un fármaco.

Existen modelos para predecir los perfiles de liberación desde hidrogeles como la cinética de orden uno (liberación proporcional a la cantidad de fármaco remanente en la matriz),

modelo de Hixson-Crowell o de la raíz cúbica (cuando la forma farmacéutica disminuye proporcionalmente conservando la misma geometría inicial), el de Weibull (modelo empírico sin fundamento cinético), el de Baker-Lonsdale (liberación del fármaco a partir de una matriz esférica)[130],[131]. Sin embargo, la cinética de liberación de los puntos de carbono no presentó un comportamiento definido por los anteriores modelos, presentando $r^2 < 0.54$. Por consiguiente, se realizó la linealización de los patrones de la cinética de liberación de puntos de carbono para cada hidrogel por fluorescencia (figura 4.8b) mediante la ecuación 4.1, en esta se hace un cambio de variable como se estable en la ecuación 4.2 y se obtiene la función mostrada en la ecuación 4.3.

$$Y = AX + B; \quad (4.1)$$

$$X = x; Y = \ln \frac{y}{x}; C = e^B; \quad (4.2)$$

$$y = Cxe^{-xA}, \quad (4.3)$$

donde, x es el tiempo t(seg), y es la fluorescencia de puntos de carbono en el tiempo, $\ln \frac{y}{x}$ es el logaritmo natural de la fluorescencia de puntos de carbono en el tiempo t(seg) dividida en tiempo t(seg), A y B se obtienen de la recta linealizada.

De la anterior linealización se obtuvo las ecuaciones que relacionan el modelo de liberación de los puntos de carbono embebidos en los hidrogeles según el medio acuoso con pH ácido y básico. La forma linealizada en pH ácido se observa en las ecuaciones 4.4 y 4.5:

$$H1 : Y = -0,0003X + 0,7906; r^2 = 0,7231 \quad (4.4)$$

$$H2 : Y = -0,0005X + 1,1483; r^2 = 0,9198 \quad (4.5)$$

y para el pH básico se observa en las ecuaciones 4.6 y 4.7:

$$H1 : Y = -0,0013X + 3,5872; r^2 = 0,9051 \quad (4.6)$$

$$H2 : Y = -0,0017X + 4,1215; r^2 = 0,8398 \quad (4.7)$$

La masa de los hidrogeles H1 y H2 fue: H1=0,3995g y 0,4084g, es decir una masa promedio de 0,40395g $\pm$ 3,9605E-05g; H2 = 0,4327g y 0,4223g, es decir una masa promedio de 0,4275g $\pm$ 5,408E-05g. El porcentaje de masa perdida de los hidrogeles a través de tiempo (ver 4.8c) tiene un comportamiento lineal, donde, el hidrogel H2 en pH básico presenta una pendiente más inclinada en comparación a las demás muestras. No obstante, ningún hidrogel presenta un % de perdida de masa total debido a que se registro la masa total del sistema, es decir, la solución de pH ácido-básico con los puntos de carbono embebidos en el hidrogel. Una causal de esto, es que durante el registro de la perdida de masa del hidrogel hasta su degradación, a medida que el tiempo transcurría los puntos de carbono liberados adicionan cierta masa a la sistema. También es importante recalcar el posible error humano presente durante el registro de la masa del sistema por intervalos de tiempo.

La figura 4.8d muestra la fluorescencia final de las soluciones ácido (pH=3.2) y básico (pH=8.5) de H2, donde se evidencia una menor PL en pH ácido, presentando correlación con los resultados de la figura 4.8a. También, se evidencia una menor fluorescencia en comparación con el hidrogel (H2) al inició de la prueba de liberación (figura 4.7b). La muestra de DMF-CDs de Yang et al.[129] en solución ácida presentaron fue incolora, lo que sugiere que las variaciones de pH pueden causar cambios de transición electrónica en $\pi \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \pi^*$ en los nanodominios de grafito de DMF-CDs rellenando o agotando sus bandas de valencia.

Capítulo 5

REVISIÓN DE LITERATURA: SÍNTESIS DE HIDROGELES ELECTRORESPONSIVOS

Los hidrogeles electroresponsivos han demostrado tener mayor control de respuesta de hinchamiento / deshinchamiento al aplicar un campo eléctrico, atrayendo la atención para su uso en el campo de la farmacología. El proyecto marco tiene como objetivo desarrollar un hidrogel electroresponsivo por esta razón se presenta la siguiente revisión literaria como primer acercamiento a estos sistemas. Este capítulo describe la revisión literaria sobre la síntesis de estos hidrogeles, se detalla la definición de hidrogeles electroresponsivos, su importancia y los procesos de síntesis de la polianilina (PAni), el polipirrol (PPY) y el poli(3,4-etilendioxitiofeno) (PEDOT).

Estos hidrogeles están constituidos por un hidrogel conductor y un polímero conductor (CP), también son denominados como híbrido de hidrogel de polímero conductor (CPH) [132]. Hidrogel conductor es el nombre empleado para definir una red híbrida hecha de hidrogeles reticulados acoplados con CP [133]. Los CPH son geles que se hinchan con agua y contienen un polímero conductor junto con un polímero de soporte como constituyentes [134].

Las propiedades valiosas de los hidrogeles conductores son: (1) alta conductividad iónica y electrónica mixta, (2) cambio electroquímico entre formas redox de polímero conductor, (3) la transición entre formas sal-base en polímeros conductores, (4) no toxicidad y biocompatibilidad, (5) porosidad y alta área de superficie específica, y (6) morfología controlada y homogeneidad macroscópica. La importancia de las características individuales depende de la aplicación concreta y dotan a los CPH de grandes potenciales en el dispositivo de almacenamiento de energía, de ingeniería de tejidos y diferentes tipos de sensores [133], [134], [135], [136].

A continuación, se recopila la información de los polímeros conductivos, sus propiedades y los procesos de síntesis utilizados. Se enfatizará en los procesos de síntesis de la polianilina (PAni), el polipirrol (PPY) y el poli(3,4-etilendioxitiofeno) (PEDOT). Finalmente, se encuentra la discusión en perspectiva de los procesos de síntesis de estos polímeros conductivos para sus desarrollos futuros.

5.1 Polímeros conductivos (PC)

La mayoría de los sistemas de administración de fármacos que responden eléctricamente hasta la fecha se basan en polímeros conductores (CP) dentro de un andamio de hidrogel, los cuales se denominan híbrido de hidrogel de polímero conductor (CPH). Los CP son semiconductores orgánicos que muestran conductividad electrónica y pueden exhibir una contribución iónica cuando se encuentran en medios acuosos. Adicionalmente, presentan las propiedades sobresalientes de polímeros convencionales como la flexibilidad en el procesamiento, la ligereza de peso, y facilidad de síntesis [132], [136], [137], [138].

La figura 5.1 ilustra un hidrogel de polímero conductor (CPH). En donde, el componente de hidrogel del CPH actúa como un depósito del fármaco, debido a que este tiene un mayor contenido de agua en comparación con el CP solo [139], [140]. La combinación de la conductividad eléctrica de los PC y la capacidad de hinchamiento / deshinchamiento de los hidrogeles los convierte en biomateriales dinámicos y versátiles para aplicaciones de administración de fármacos sintonizables eléctricamente [141].

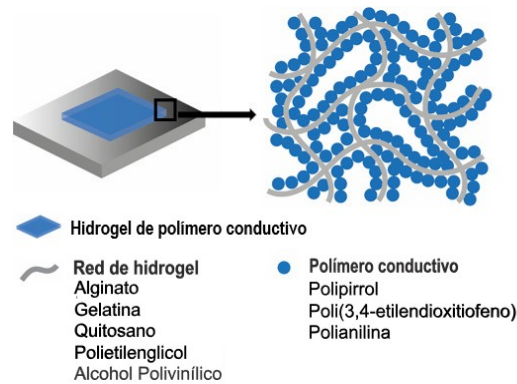


Figura 5.1: Ilustración esquemática de un hidrogel de polímero conductor. Tomado de [132].

Se sabe que propiedades mecánicas de los CPH son pobres, esto se debe principalmente a la falta de homogeneidad estructural intrínseca y a la falta de un mecanismo de disipación de energía adecuado [142]. Los métodos de doble red reticulada (DN) han mostrado grandes ventajas en el tratamiento de las propiedades mecánicas pobres de los CPH mediante la introducción de reticulación reversible. El DN se refiere a una red interconectada compuesta por dos polímeros con propiedades físicas opuestas: estructura rígida (primera red) y sustancia dúctil (segunda red) [143], [135].

La porosidad es una característica destacada de los CPH, que puede afectar sus propiedades mecánicas de diferentes formas (ej. contenido de volumen libre, tamaño, conectividad y propiedades de la superficie) [144]. El diseño de nanoesferas huecas de CPH es una estrategia eficaz para lograr buenas propiedades mecánicas porque las nanoestructuras porosas de CPH son capaces de soportar una mayor deformación cuando se doblan. Al formar una geometría de concha esférica, el frágil material nanoestructurado puede exhibir un módulo elástico efectivo ajustable [145].

La conductividad es la característica principal de los hidrogeles que contienen polímeros conductores. La conductividad, se refiere principalmente a la conductividad iónica de la solución de electrolito que hincha el hidrogel, y la contribución del polímero conductor a la

conductividad total es relativamente pequeña [134]. La conductividad reportada para la polianilina (PAni) esta en el orden de 10^{-2} mScm⁻¹ [146], [147]. La conductividad de los hidrogeles con polipirrol y los basados en polianilina, se encuentran en el rango de 4.3 a 21 mScm⁻¹ [148], [149]. La conductividad de PEDOT / poli (ácido acrílico) fue de 0,7 a 1,2 mScm⁻¹ [150].

La capacitancia específica de los compuestos tiene su origen en dos mecanismos de almacenamiento de carga: la química redox de los polímeros conductores y la formación de doble capa eléctrica [134]. La capacitancia específica del hidrogel de polianilina fue 315 Fg⁻¹ a 750 Fg⁻¹ [151], [152]. La capacitancia en hidrogel de polipirrol se investigó en menor medida. Esto se debe en parte a la menor capacitancia teórica a 620 Fg⁻¹ esperada para este polímero en comparación con la polianilina y el límite teórico de la capacitancia del PEDOT se estableció en 485 Fg⁻¹ [153].

Los ensayos de viabilidad celular son utilizados como pruebas de rutina con el fin de estudiar el efecto que puede tener un determinado compuesto sobre la proliferación celular, así como los efectos citotóxicos directos que eventualmente conducen a la muerte celular. Se encontró que la citotoxicidad, la proliferación celular, la respuesta inflamatoria *in vivo* del hidrogel que contiene polianilina y polipirrol satisfacen las condiciones para aplicaciones biomédicas. Las plataformas con polianilina han detectado metabolitos como el ácido úrico, el colesterol y los triglicéridos, está estimación en sangre es de vital importancia en el diagnóstico clínico; la respuesta inflamatoria *in vivo* los sugiere como candidatos para biosensores de alto rendimiento [139]. Los hidrogeles de polipirrol poseían una buena biocompatibilidad y proliferación celular con células neuronales, demostrada por el cultivo celular *in vitro* [154]. La caracterización de hidrogeles con polipirrol demostró ser no tóxico, permitiendo el crecimiento y metabolismo celular, conduce a una función cardíaca significativamente mejorada cuando se inyecta en corazones de ratas después de un infarto de miocardio [155]. Hoy en día, hay aproximadamente 25 CP reportados, que pueden sintetizarse mediante polimerización química oxidativa, electroquímica o radiación. Sin embargo, la polianilina (PAni), el polipirrol (PPy), el PEDOT (ver la figura 5.2), son los más empleados debido a su biocompatibilidad, buenas propiedades eléctricas y electroquímicas [136].

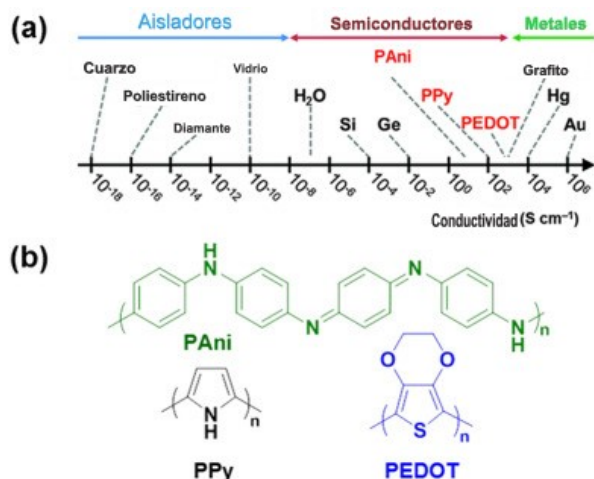


Figura 5.2: (a) Escala de conductividad del material. (b) Estructura química de los ICP más empleados (PAni, PPy y PEDOT). Tomado de [136].

A continuación se expondrán las técnicas de síntesis utilizadas en los CP, seguido de los protocolos de síntesis para los polímeros conductivos como la polianilina (PANI), el polipirrol (PPy) y el poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT).

5.2 Síntesis de polímeros conductivos

La polianilina (PAni), el polipirrol (PPy) y el poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT) han sido los polímeros conductores más utilizados y reportados para aplicaciones biomédicas. En la figura 5.3 se muestra una ilustración esquemática de las rutas sintéticas generalizadas a los hidrogeles electroconductores. En la electropolimerización, un hidrogel prefabricado alrededor de un electrodo de trabajo se sumerge en una solución de monómero como pirrol o anilina. Al aplicar un voltaje o una corriente, el polímero conductor crece en los poros de la red de hidrogel [156], [157]. La polimerización química se puede lograr de dos formas; (i) los precursores de monómeros tanto del aislante como del CP se mezclan, luego la polimerización ocurre simultáneamente o por etapas mediante la adición de los iniciadores / oxidantes apropiados como el persulfato de amonio o el cloruro férrico; (ii) se empapa un hidrogel prefabricado en una solución del precursor monomérico del CP. El monómero se difunde en los poros del hidrogel. Tras la adición de un oxidante, el CP crece químicamente y queda atrapado físicamente dentro de la red [157], [158]. Otro método de síntesis es la reticulación basado en radiación, la cual se basa en el uso de radiaciones de alta energía, como rayos gamma, UV y haces de electrones. Se ha empleado como iniciador para sintetizar los hidrogeles de compuestos insaturados. La irradiación de la solución acuosa de polímero conduce a la generación de portadores de carga libre en las cadenas de polímero [133], [159]. La tabla 5.1 muestra en resumen las ventajas y limitantes de las técnicas de química oxidativa, electroquímica y radiación utilizadas en la PANi, el PPy y el PEDOT. Luego, se encuentra la información de los procesos de síntesis empleados.

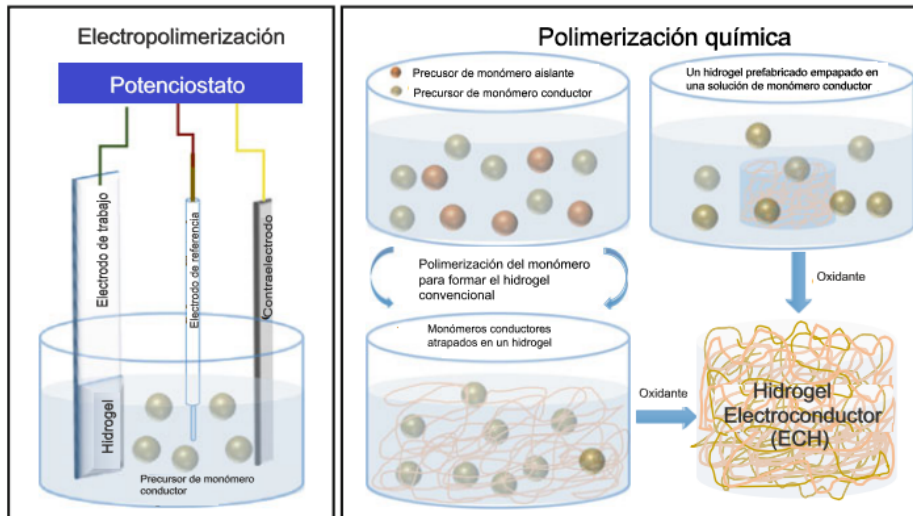


Figura 5.3: Ilustración esquemática de las rutas sintéticas generalizadas a hidrogeles electroconductores. Tomado de [157].

Tabla 5.1: Técnicas utilizadas para la síntesis de polímeros conductivos (PAni, PPy y PEDOT). En donde, APS: persulfato de amonio, FeCl_3 : cloruro férrico, Ag/AgCl: Electrodo de referencia de plata/cloruro de plata y UV: radiación ultravioleta

Técnica	Ventajas	Limitantes	Polímero	Referencia
Química oxidativa	Preparación a gran escala del polímero Polimerización homogénea	Requisito de diseñar el proceso de síntesis química, mayor control en los procesos y reactivos a utilizar Tiempo de producción más largos	PAni	APS : [160], [161], [162], [163], [164], [141], [165], [166]
				FeCl₃ : [167]
			PPy	APS : [168], [169], [170], [171]
				FeCl₃ : [172], [173], [174], [175], [176]
			PEDOT	APS : [177], [178], [179], [180]
				FeCl₃ : [181]
Electroquímica	Conductividad controlable	Se utiliza para la síntesis a pequeña escala	PPy	Ag/AgCl : [156], [182], [183]
	Sin oxidantes y monómeros no reactivos citotóxicos potenciales			
Radiación	Preparar polímeros con características específicas y en menor tiempo	Se utiliza para la síntesis a pequeña escala Proceso más costoso	PEDOT	UV : [184], [185], [186], [187]

5.2.1. PoliAnilina (PAni)

La anilina, a la que también se conoce como aminobenceno o fenilamina, es un compuesto orgánico caracterizado por ser un líquido con cierta tonalidad amarillenta específica que lo hace fácilmente identificable [188]. La anilina se oxida a oligómeros de anilina cortos y la reacción continúa hasta oligómeros de anilina a $\text{pH} > 4$ o polianilina a $\text{pH} < 2,5$, o se detiene en la etapa de oligómero corto en el intervalo de pH intermedio 2,5–4 [188].

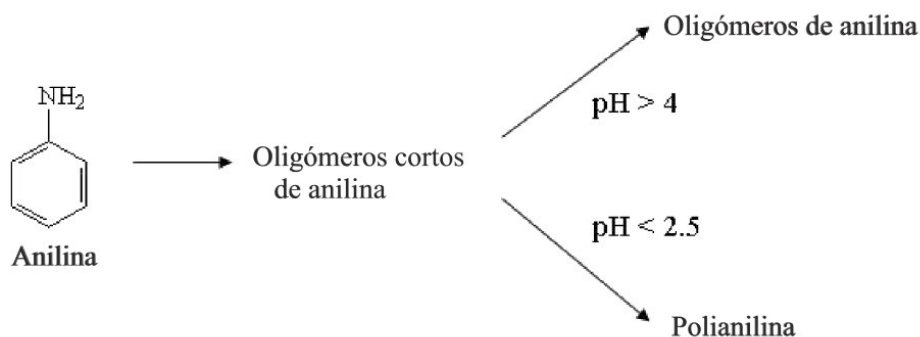


Figura 5.4: Oxidación de la anilina. Tomado de [188].

La polianilina (PAni) se ha convertido en uno de los polímeros conductores más promete-

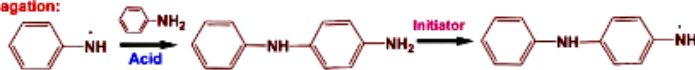
La oxidación de la anilina (figura 5.4) procede al principio a oligómeros cortos de anilina, es decir, se producen aproximadamente dímeros a tetrámeros. Se propone que los oligómeros cortos actúen como centros de iniciación para el crecimiento de cadenas de PANi. Su capacidad para autoensamblarse y guiar el crecimiento a estructuras supramoleculares unidimensionales, además, sirven como una plantilla para el crecimiento nanotubular de PANi o se auto-ensamblan y guían el crecimiento de otras morfologías, tales como nanofibras o nanoestructuras jerárquicas [188], [189].

(A)

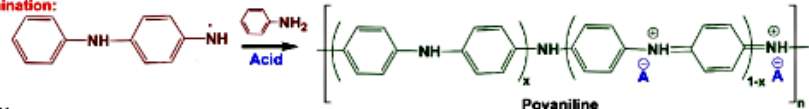
Initiation:



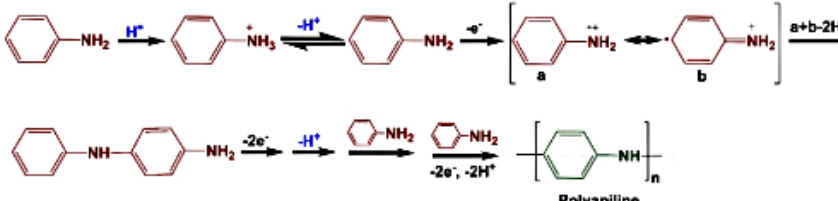
Propagation:



Termination:



(B)



Guo et al.[161] y Tsai et al.[141] reportaron lavados con agua destilada y ácido clorhídrico (HCl), posteriormente hidróxido de amonio (NH_4OH) para desdopar el triamero de anilina. Por otro lado, Dai et al.[160], realizaron un lavado durante 1 semana con agua destilada para eliminar los componentes de bajo peso molecular.

En la oxidación química, en común se reporta que la suspensión se filtró mediante filtración al vacío o presión y luego se seca. Hu et al.[162], Tsai et al.[141] y Zhao et al. [166] informaron que el proceso de secado a horno de vacío en donde los intervalos de temperatura van de 40°C a 50°C durante 24 h a 72 h para eliminar las trazas restantes de disolvente.

Song et al.[164] reportó la síntesis continua de polianilina mediante microrreactores capilares dentro del flujo líquido-líquido a través del método de polimerización oxidativa química. El sistema de microrreactor capilar se sumergió dentro del baño de agua para controlar la temperatura de reacción. La fase orgánica con anilina disuelta en tetracloruro de carbono (fase continua) y la solución acuosa con persulfato de amonio como iniciador disuelto en ácido clorhídrico (fase dispersa) se introdujeron en el sistema de microrreactor capilar mediante dos bombas de jeringa. La anilina se transportó gradualmente desde la fase orgánica a la interfaz orgánico-acuosa y finalmente a la fase acuosa para mantener el equilibrio de disolución a medida que avanzaba la polimerización. Al salir del microrreactor capilar, la mezcla de reacción se recogió en un matraz cónico que contenía la solución acuosa de hidróxido de amonio con la terminación completa de la polimerización. Se realizaron lavados durante 30 minutos con agua desionizada bajo filtración al vacío y se secaron a 80°C por 24 h eliminando las trazas restantes de disolvente a un horno de vacío. El rendimiento de PANi se incrementó a una temperatura de reacción más alta.

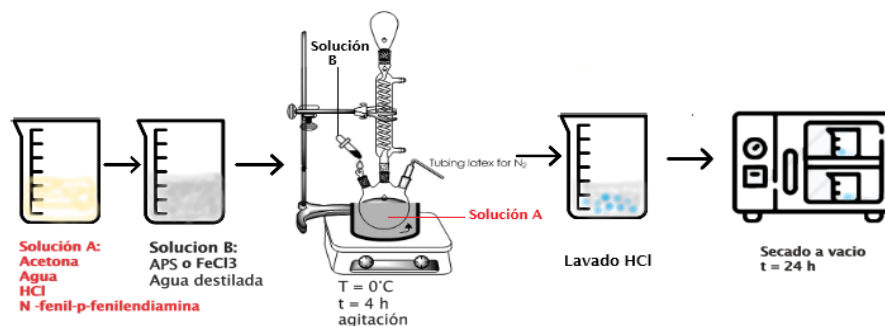


Figura 5.6: Esquema de polimerización química de polianilina.

Adicionalmente se reportó que la conductividad de los hidrogeles se ajustó con la concentración de PANi. La relación de hinchazón de los hidrogeles se alteró por el contenido de PANi y enlace cruzado. Los hidrogeles sufrieron una degradación lenta en una solución de PBS [188], [189], [161]. Además, los hidrogeles que contienen polianilina mostraron una mayor actividad antibacteriana en comparación con un hidrogel de quitosano [166].

La optimización de las condiciones de síntesis de PANi incluye diferentes parámetros y procesos como son el iniciador u oxidante, el pH, la temperatura, el disolvente, los aditivos químicos y el proceso de oxidación química. El método más utilizado en aplicaciones biomédicas para obtener la PANi es la oxidación química (ver figura 5.6) ya que permite una preparación a gran escala del polímero[155],[167],[189].

5.2.2. PolyPirrol (PPy)

El polipirrol se forma por la oxidación del pirrol (figura 5.7), un compuesto heterocíclico de cinco miembros, cuyo anillo está formado por cuatro átomos de carbono y uno de nitrógeno. El polipirrol es uno de los polímeros más utilizado para la síntesis de polímeros conductores, ya que presenta una alta conductividad eléctrica, estabilidad térmica, resistencia a la oxidación y relativas propiedades mecánicas, es de fácil obtención y puede formarse a partir de soluciones acuosas y en solventes orgánicos.

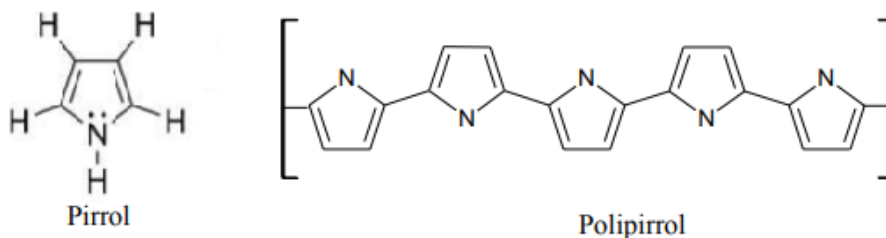


Figura 5.7: Configuración química de pirrol y polipirrol. Tomado de [191].

El polipirrol (PPy) se prepara habitualmente mediante la polimerización oxidativa (ver figura 5.8a). Como agentes oxidantes se utilizan (Cloruro férrico (FeCl_3) [172], [173], [174], [175], [176] o Persulfato de Amonio (APS) o $((\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8)$ [168], [169], [170], [171]). Las temperaturas de polimerización reportadas van desde los 5°C hasta temperatura ambiente [173], [175], [176]. Los hidrogeles se lavan con agua destilada o mezcla de etanol-agua (50:50 en volumen) durante un período de tiempo para eliminar cualquier impureza y participar en la reacción si estaba presente algún monómero sin reaccionar [168], [169], [174]. Rong et al.[170] purificaron mediante diálisis (corte de 8000-14000 Mw) durante 3 días para eliminar los subproductos de la polimerización. En el proceso de secado las muestras de hidrogel se dejaron secar en una placa de Petri durante varios días a temperatura ambiente antes de los estudios de caracterización o se secaron en un horno a $45\text{--}60^\circ\text{C}$ [170], [174], [171], [176]. Luego, se almacenaron a 4°C [171].

La polimerización electroquímica (figura 5.8b) es actualmente el método más utilizado en los estudios biomédicos de PPy porque permite el control del potencial de oxidación y, por tanto, se puede conservar la integridad del bioagente incorporado[183], a partir de medios neutros a ácidos que poseen un electrolito de soporte apropiado. La oxidación potenciostática (cronoamperometría) puede iniciarse a $0,65\text{ V Ag/AgCl}$ y se puede ejercer cierta influencia sobre la cinética mediante la aplicación de potenciales de hasta $0,8\text{ V Ag/AgCl}$ [156]. Gutiérrez et al.[182] realizaron el procedimiento dentro de la película formada por las nanopartículas depositadas aplicando un potencial constante de $+0.8\text{ V}$ frente al electrodo de referencia Ag / AgCl hasta que pasó una carga de 0.0435 C . La solución de polimerización fue una mezcla de Py 0.25 M y KClO_4 0.1 M como agente de dopaje.

Sarkaya et al.[171] presenta un método de síntesis fácil para la preparación de hidrogeles compuestos de poli (NIPAM/PPy) que no requiere otro reticulante u otro paso para el proceso de polimerización. La síntesis de hidrogel electroconductor compuesto de poli (NIPAM/PPy) se completa polimerizando NIPAM y pirrol juntos en la misma matriz de polímero. En presencia de N, N-metilenbisacrilamida como reticulante, actúa virtualmente como un puente entre

las cadenas poliméricas lineales que forman una red polimérica.

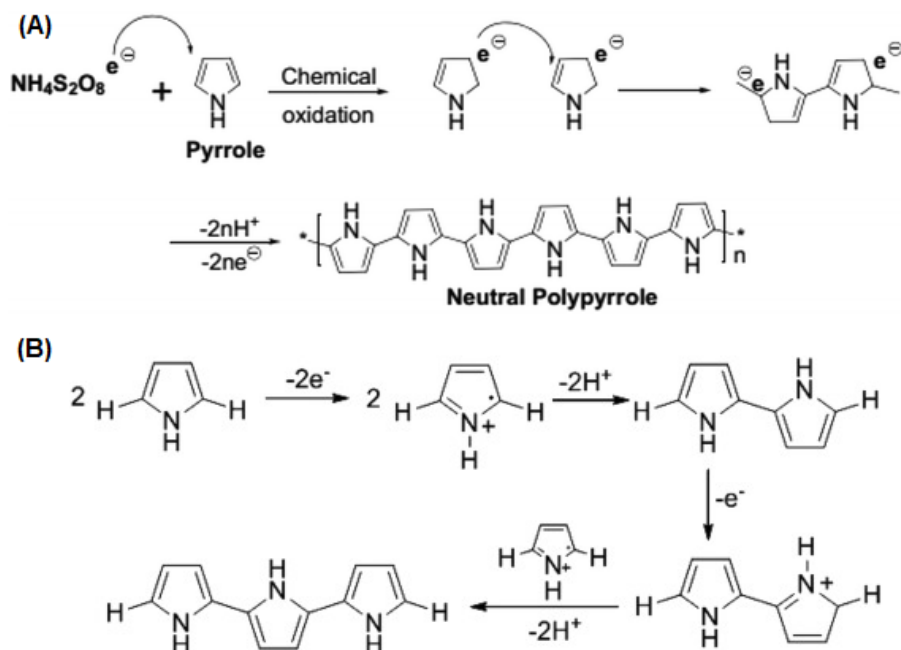


Figura 5.8: Mecanismos de polimerización química (a) y electroquímica (b) de polipirrol. Tomado de [191], [192].

La cantidad de polímero producido por una técnica electroquímica está restringida a la superficie del electrodo[156], [182], lo que limita la versatilidad de sus aplicaciones. La formación de una matriz de PPy interpenetrante en la matriz de hidrogel aumenta la conductividad y rigidez de los hidrogeles, manteniendo la capacidad de los geles para promover la adhesión celular y la proliferación[159],[161]. Sin embargo, la adición de nanopartículas mejoró la conductividad eléctrica del hidrogel de PPy preparado[163]. Por el contrario, el método químico basado en el inicio de la polimerización por compuestos oxidativos permite la producción a gran escala y de bajo costo de PPy [168], [170]. La figura 5.9 esquematiza el proceso de síntesis del polipirrol mediante polimerización química.

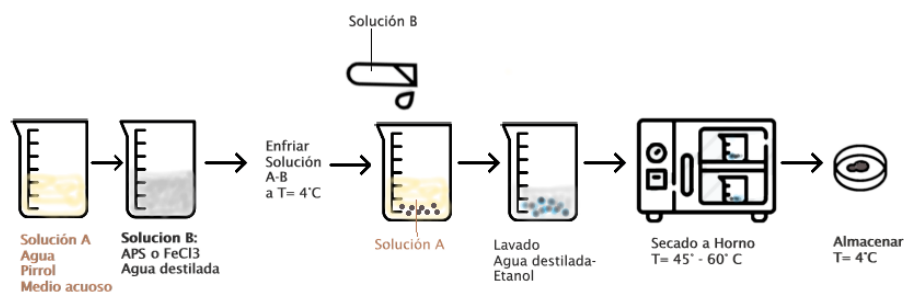


Figura 5.9: Esquema de polimerización química de polipirrol.

5.2.3. Poli(3,4-etilendioxitiofeno) (PEDOT)

PEDOT es un polímero insoluble y generalmente se emulsiona para dispersión en agua usando un polielectrolito como poli (4-estireno sulfonato) (PSS) (como se muestra en la figura 5.10). EL coeficiente de Seebeck y la conductividad eléctrica del prístino PEDOT:PSS está cerca de $12\text{-}16\ \mu\text{VK}^{-1}$, $0.2\text{-}1\ \text{Scm}^{-1}$. El dopante ionizado PEDOT y PSS interactúan fuertemente entre sí, y la cadena PEDOT tiene una forma retorcida. El PSS alrededor de las cadenas PEDOT puede bloquear o distribuir el transporte de polarones-bipolares en una banda particular de energía o con un patrón específico de deformidades de la red [193].

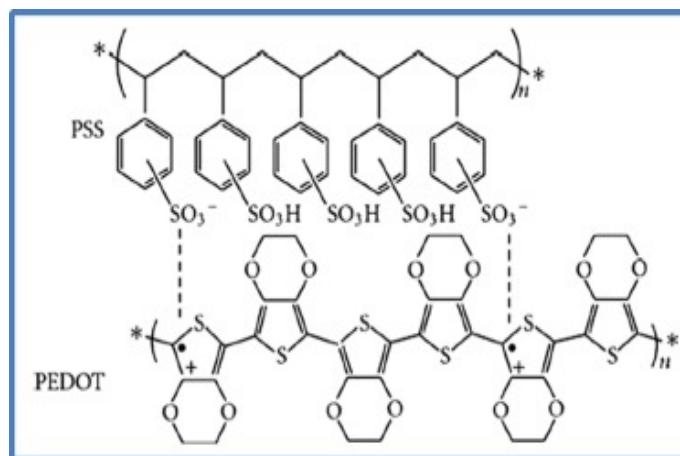


Figura 5.10: Configuración química de PEDOT:PSS. Tomado de [193].

Heo et al.[184], Kebler et al.[185], Lim et al.[186] y Spencer et al. [187] reportaron la síntesis de PEDOT con la técnica reticulación mediante fotopolimerización utilizando una lámpara UV de laboratorio de 4 W que proporciona una iluminación espacialmente homogénea en el rango espectral de 365 nm. El tiempo de irradiación UV se utilizó para controlar el grado de reticulación. Los fotoiniciadores reportados fueron (bis (2,4,6-trimetilbenzoil) - fenilfosfinaóxido)(BAPO) utilizado por Kebler et al.[185] y Spencer et al.[187] utilizó PBS modificado de Dulbecco (DPBS) sin calcio ni magnesio. Para eliminar los iones e impurezas adicionales se realizaron lavados mediante abundante agua destilada. El proceso de secado Lim et al.[186] utilizó un horno a 80°C al vacío. Kebler et al.[185] realizó este proceso mediante bajo un flujo de nitrógeno.

También se reportó la técnica de química oxidativa (figura 5.11) para la síntesis de este polímero conductivo, la polimerización presentó cambios de color a través del tiempo, la dispersión primero se vuelve más amarillenta, luego a grisácea para luego adquirir el color azul brillante característico de las cadenas PEDOT [177], [178], [180], [179], [181]. Como agentes oxidante se utilizaron persulfato de amonio ($(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$) (Paradee et al.[178], Wu et al.[179] y Xu et al [180]) y cloruro de hierro (III) (FeCl_3) (Zamora-Sequeira et al.[181]).

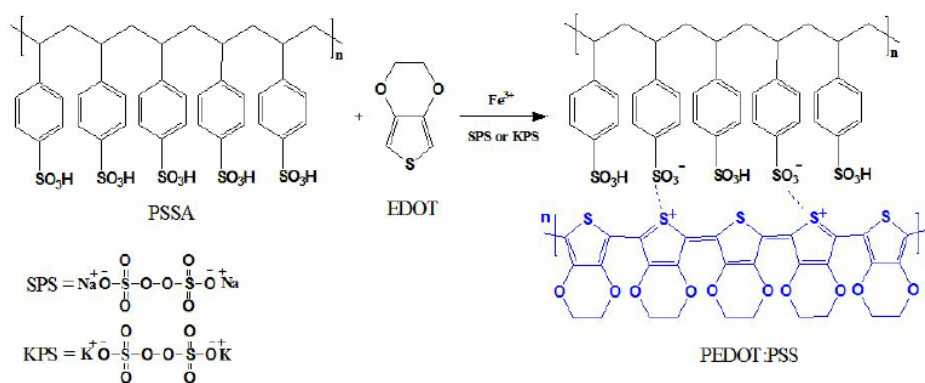


Figura 5.11: Mecanismo de polimerización química de PEDOT. Tomado de [190].

Paradee et al.[178] realizó la polimerización bajo una atmósfera de nitrógeno y luego la solución se colocó en un baño de hielo durante 5 minutos. Wu et al.[179] sumergió los hidrogeles en la solución neutra de PBS (pH = 7,4) o agua desionizada para eliminar las impurezas a temperatura ambiente. Xu et al [180] y Zamora-Sequeira et al.[181] realizaron lavados completamente con etanol al 70 % y bastante agua destilada varias veces, con el fin de eliminar por lavado los componentes de bajo peso molecular.

La incorporación del componente PEDOT conductor en los hidrogeles dotó una mayor resistencia mecánica, conductividad y mantuvo la biocompatibilidad [178], [179], [180], ofreciendo una atractiva aplicación de ingeniería de tejidos neuronales y cardiacos [177], [179], [184], [185]. Sin embargo, los autores sugieren seguir estudiando este polímero conductor. En resumen, la síntesis del PEDOT ha realizado mediante las tres técnicas y la utilización de la técnica depende de factores del diseño de las nanoestructuras del PEDOT. La figura 5.12 esquematiza el proceso de síntesis del PEDOT mediante polimerización química.

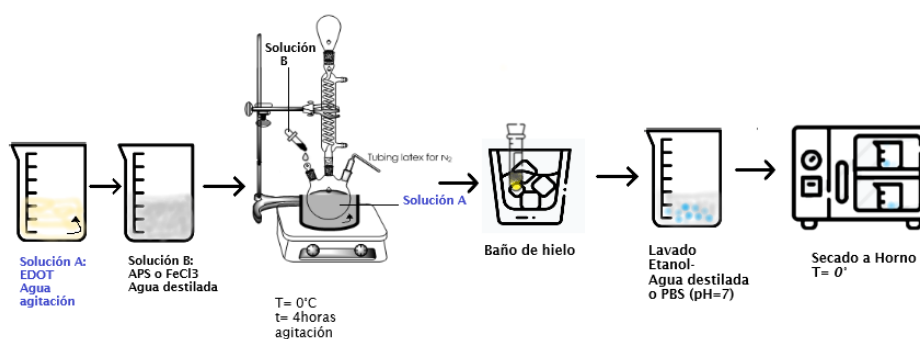


Figura 5.12: Esquema de polimerización química de PEDOT.

5.3 Conclusiones

Los hidrogeles poliméricos conductores representan una clase emergente de materiales con un alto potencial de aplicaciones, especialmente en biomedicina, conversión y almacenamiento

de energía. La selección de la técnica de polimerización tiene un papel importante en el control de las condiciones finales de estos sistemas y tiene relación con las respectivas aplicaciones. La polimerización química oxidativa es la técnica más utilizada para sintetizar estos polímeros, debido a la cantidad de producción final obtenido, presenta polimerización homogénea, su producción es más económica. Sin embargo, presenta limitaciones para controlar los procesos y los reactivos implícitos en contraste con la polimerización electroquímica y radiación.

La PANi es el polímero más reportado debido a su versatilidad, sus propiedades conductoras y resultados favorables en actividad celular. Además, las propiedades de los hidrogel de polímero conductor (CPH) de PANi son ajustables mediante la concentración y rendimiento de esta.

Capítulo 6

CONCLUSIONES

Mediante el método de reacción por microondas se obtuvo con éxito puntos de carbono variando la temperatura de reacción (100°C, 125°C, 150°C, 175°C y 200°C) y utilizando ácido cítrico, N-N,dimetilformamida y etanol como materiales de partida. Los puntos de carbono presentaron un ancho de banda de absorción en la región UV (200–320 nm) y de fluorescencia en la región azul al cian (427-520 nm). Los picos de emisión más fuertes se evidenciaron en los puntos de carbono a 200°C a excitación de 360/380 nm.

La gelificación y reticulación del hidrogel de alginato de sodio se logró mediante el intercambio de iones sodio de los ácidos gúlicos con los cationes divalentes Ca^{2+} . La relación del alginato y el reticulante presentaron un papel importante en la velocidad de degradación del hidrogel, los hidrogeles con mayor concentración de reticulante (HB) presentaron un tiempo de degradación menor. Adicionalmente, los hidrogeles en presencia de pH básico presentaron una mayor velocidad de degradación en comparación a pH ácido.

Los modelos matemáticos permiten determinar los mecanismos de liberación de un fármaco desde el hidrogel. La comparación de diferentes perfiles de liberación facilita el diseño de nuevas matrices poliméricas como sistemas de liberación controlada. El comportamiento de los perfiles de liberación de puntos de carbono en medio ácido y básico no presentó tendencias descritas en los modelos matemáticos dado por literatura. Se evidenció una menor fotoluminiscencia a pH ácido en comparación a pH básico, esto proporciona una base experimental para probar la fotoluminiscencia de los puntos de carbono en otros medios acuosos con pH en el rango de ácido (>3.2) y básico(<8.5) y su posible aplicación en otros campos.

Los hidrogeles electroresponsivos son sistemas dinámicos y versátiles para aplicaciones de administración de fármacos eléctricamente. Se componen de polímeros conductores (CP) y un andamio de hidrogel, el andamio de hidrogel actúa como depósito de fármaco y los polímeros conductores les confiere propiedades conductivas a estos sistemas. La polianilina (PAni), el polipirrol (PPy) y el PEDOT son polímeros conductivos más empleados debido a su biocompatibilidad y buenas propiedades eléctricas y electroquímicas. El control de las condiciones de síntesis de los polímeros conductivos tiene un papel importante para las respectivas aplicaciones. Las técnicas de síntesis son polimerización química oxidativa, electroquímica o irradiación. La polimerización química oxidativa es la técnica más utilizada para sintetizar estos polímeros, debido a la cantidad de producción final obtenido, presenta polimerización homogénea sin embargo presenta limitaciones para controlar los procesos y los reactivos implícitos.

Capítulo 7

RECOMENDACIONES Y TRABAJOS FUTUROS

7.1 Recomendaciones

Los alcances de esta investigación se vieron afectados por el esquema 4X3 y el cierre del laboratorio producto del tercer pico del COVID-19, debido a esto no fue posible realizar réplicas de cada etapa. Por esta razón, se recomienda realizar las respectivas replicas, llevar a cabo la prueba de liberación en medio ácido sin agitación. Las pruebas realizadas a altas tasas de agitación pueden afectar la biodisponibilidad del producto[194]. Además, realizar un evaluación de la fluorescencia del hidrogel-puntos de carbono inmediatamente después de la preparación en pro de saber cual es la fotoluminiscencia total de puntos de carbono embebidos en la matriz para la comparación con la fotoluminiscencia liberada en la prueba a través del tiempo.

7.2 Trabajos futuros

En esta sección se describe el paso a seguir, posterior a la ejecución de la metodología planteada. Se propone continuar la evaluación de la cinética de liberación de los puntos de carbono embebidos en el hidrogel de alginato en diferentes entornos ácido-básico con el fin de obtener más información sobre la velocidad de liberación mediante la evaluación del comportamiento de la fotoluminiscencia en función del pH, la capacidad de respuesta, ya que podría emplearse en aplicaciones biomédicas, agrícolas y electrónicas.

A mediano plazo, se espera desarrollar el hidrogel electroresponsivo conformado por dextrano como andamio y PANi como polimero conductivo vinculado al proyecto marco ***‘Desarrollo de los componentes de un sistema de liberación controlada de medicamentos basado en un hidrogel electroresponsivo integrado por puntos de carbono funcionalizados con curcumina’***. Finalmente se debe realizar la evaluación de la cinética de liberación de los puntos de carbono embebidos en el hidrogel electroresponsivo. Esto permitirá una comparación de los dos sistemas de liberación.

A largo plazo, se espera realizar una caracterización a las estructuras químicas, morfologías, relación de hinchazón, propiedad reológica, biodegradación *in vitro* de los hidrogeles con puntos de carbono embebidos en alginato, adicionalmente, las propiedades electroquímicas, conductividad en el hidrogel electroresponsivo (DEX-AT). Asimismo, iniciar la evaluación

de la cinética de la liberación de los puntos de carbono funcionalizados con cúrcumina en los hidrogeles.

Bibliografía

- [1] K. M. Shakesheff, *Drug delivery systems*, 2011. DOI: 10.1002/9783527635818.ch15. dirección: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/science-education/science-topics/drug-delivery-systems-getting-drugs-their-targets-controlled-manner> (visitado 17-03-2021).
- [2] N. J. Kohrs, T. Liyanage, N. Venkatesan, A. Najarzadeh y D. A. Puleo, «Drug delivery systems and controlled release,» en *Encyclopedia of Biomedical Engineering*, vol. 1-3, Elsevier, ene. de 2019, págs. 316-329, ISBN: 9780128051443. DOI: 10.1016/B978-0-12-801238-3.11037-2.
- [3] H. Wen, H. Jung y X. Li, «Drug Delivery Approaches in Addressing Clinical Pharmacology-Related Issues: Opportunities and Challenges,» *AAPS Journal*, vol. 17, n.º 6, págs. 1327-1340, nov. de 2015, ISSN: 15507416. DOI: 10.1208/s12248-015-9814-9.
- [4] V. Peña Blaque y V. Peña Blaque, «Sistemas de liberación controlada de medicamentos. Aplicaciones biomédicas,» 2016.
- [5] J. R. Weiser y W. M. Saltzman, *Controlled release for local delivery of drugs: Barriers and models*, sep. de 2014. DOI: 10.1016/j.jconrel.2014.04.048.
- [6] P. Vinchhi, S. U. Rawal y M. M. Patel, «External stimuli-responsive drug delivery systems,» en *Drug Delivery Devices and Therapeutic Systems*, Elsevier, ene. de 2021, págs. 267-288. DOI: 10.1016/b978-0-12-819838-4.00023-7.
- [7] *Los sistemas de liberación modificada de fármacos / Boletín del Conicet - Bahía Blanca.* dirección: [https://bahia blanca.conicet.gov.ar/boletin/boletin29/indexb452.html?option=com_content%5C&\\$view=article%5C&\\$id=400&Itemid=553](https://bahia blanca.conicet.gov.ar/boletin/boletin29/indexb452.html?option=com_content%5C&$view=article%5C&$id=400&Itemid=553) (visitado 11-02-2021).
- [8] X. Sun e Y. Lei, *Fluorescent carbon dots and their sensing applications*, abr. de 2017. DOI: 10.1016/j.trac.2017.02.001.
- [9] C. L. Huang, C. C. Huang, F. D. Mai, C. L. Yen, S. H. Tzing, H. T. Hsieh, Y. C. Ling y J. Y. Chang, «Application of paramagnetic graphene quantum dots as a platform for simultaneous dual-modality bioimaging and tumor-targeted drug delivery,» *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 3, n.º 4, págs. 651-664, ene. de 2015, ISSN: 2050750X. DOI: 10.1039/c4tb01650e.
- [10] Y. Shi, L. Peng y G. Yu, «Nanostructured conducting polymer hydrogels for energy storage applications,» *Nanoscale*, vol. 7, n.º 30, págs. 12 796-12 806, ago. de 2015, ISSN: 20403372. DOI: 10.1039/c5nr03403e.

- [11] H. Zhi, X. Fei, J. Tian, M. Jing, L. Xu, X. Wang, D. Liu, Y. Wang y J. Liu, «A novel transparent luminous hydrogel with self-healing property,» *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 5, n.º 29, págs. 5738-5744, jul. de 2017, ISSN: 2050750X. DOI: 10.1039/c7tb00975e.
- [12] F. Yuan, S. Li, Z. Fan, X. Meng, L. Fan y S. Yang, *Shining carbon dots: Synthesis and biomedical and optoelectronic applications*, oct. de 2016. DOI: 10.1016/j.nantod.2016.08.006.
- [13] J. F. Fong, Y. H. Ng y S. M. Ng, «Carbon dots as a new class of light emitters for biomedical diagnostics and therapeutic applications,» en *Fullerenes, Graphenes and Nanotubes: A Pharmaceutical Approach*, Elsevier, ene. de 2018, págs. 227-295, ISBN: 9780128136911. DOI: 10.1016/B978-0-12-813691-1.00007-5.
- [14] C. Ruiz-Palomero, M. L. Soriano, S. Benítez-Martínez y M. Valcárcel, «Photoluminescent sensing hydrogel platform based on the combination of nanocellulose and S,N-codoped graphene quantum dots,» *Sensors and Actuators, B: Chemical*, vol. 245, págs. 946-953, jun. de 2017, ISSN: 09254005. DOI: 10.1016/j.snb.2017.02.006.
- [15] K. Sudhakar, V. Mishra, B. Riyaz, A. Jain, R. N. Charyulu y S. Jain, «Hydrogel-Based Drug Delivery for Lung Cancer,» en *Nanotechnology-Based Targeted Drug Delivery Systems for Lung Cancer*, Elsevier, ene. de 2019, págs. 293-310. DOI: 10.1016/b978-0-12-815720-6.00012-5.
- [16] M. Dong e Y. Chen, «The stimuli-responsive properties of hydrogels based on natural polymers,» en *Hydrogels Based on Natural Polymers*, Elsevier, ene. de 2019, págs. 173-222, ISBN: 9780128164211. DOI: 10.1016/B978-0-12-816421-1.00007-0.
- [17] P. Gupta, K. Vermani y S. Garg, *Hydrogels: From controlled release to pH-responsive drug delivery*, mayo de 2002. DOI: 10.1016/S1359-6446(02)02255-9.
- [18] M. K. Meher y K. M. Poluri, «pH-Sensitive Nanomaterials for Smart Release of Drugs,» en *Intelligent Nanomaterials for Drug Delivery Applications*, Elsevier, ene. de 2020, págs. 17-41. DOI: 10.1016/b978-0-12-817830-0.00002-3.
- [19] Z. Ajji, M. Maarouf, A. Khattab y H. Ghazal, «Synthesis of pH-responsive hydrogel based on PVP grafted with crotonic acid for controlled drug delivery,» *Radiation Physics and Chemistry*, vol. 170, mayo de 2020, ISSN: 18790895. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2019.108612.
- [20] N. N. Ferreira, T. A. Perez, L. N. Pedreiro, F. G. Prezotti, F. I. Boni, V. M. d. O. Cardoso, T. Venâncio y M. P. D. Gremião, «A novel pH-responsive hydrogel-based on calcium alginate engineered by the previous formation of polyelectrolyte complexes (PECs) intended to vaginal administration,» *Drug Development and Industrial Pharmacy*, vol. 43, n.º 10, págs. 1656-1668, oct. de 2017, ISSN: 15205762. DOI: 10.1080/03639045.2017.1328434.
- [21] D. S. Lima, E. T. Tenório-Neto, M. K. Lima-Tenório, M. R. Guilherme, D. B. Scariot, C. V. Nakamura, E. C. Muniz y A. F. Rubira, «pH-responsive alginate-based hydrogels for protein delivery,» *Journal of Molecular Liquids*, vol. 262, págs. 29-36, jul. de 2018, ISSN: 01677322. DOI: 10.1016/j.molliq.2018.04.002.

- [22] M. S. Hasnain, E. Jameel, B. Mohanta, A. K. Dhara, S. Alkahtani y A. K. Nayak, «Alginates: sources, structure, and properties,» en *Alginates in Drug Delivery*, Elsevier, ene. de 2020, págs. 1-17. DOI: 10.1016/b978-0-12-817640-5.00001-7.
- [23] H. Ding, F. Du, P. Liu, Z. Chen y J. Shen, «DNA-carbon dots function as fluorescent vehicles for drug delivery,» *ACS Applied Materials and Interfaces*, vol. 7, n.º 12, págs. 6889-6897, abr. de 2015, ISSN: 19448252. DOI: 10.1021/acsami.5b00628.
- [24] Y. Q. Wang, Y. N. Xue, S. R. Li, X. H. Zhang, H. X. Fei, X. G. Wu, S. B. Sang, X. N. Li, M. Wei y W. Y. Chen, «Nanocomposite carbon dots/PAM fluorescent hydrogels and their mechanical properties,» *Journal of Polymer Research*, vol. 24, n.º 12, 2017, ISSN: 15728935. DOI: 10.1007/s10965-017-1389-y.
- [25] X. Cui, J. Wang, B. Liu, S. Ling, R. Long e Y. Xiong, «Turning Au Nanoclusters Catalytically Active for Visible-Light-Driven CO₂ Reduction through Bridging Ligands,» *Journal of the American Chemical Society*, vol. 140, n.º 48, págs. 16 514-16 520, dic. de 2018, ISSN: 15205126. DOI: 10.1021/jacs.8b06723.
- [26] V. Mishra, A. Patil, S. Thakur y P. Kesharwani, *Carbon dots: emerging theranostic nanoarchitectures*, jun. de 2018. DOI: 10.1016/j.drudis.2018.01.006.
- [27] N. Sarkar, G. Sahoo, R. Das, G. Prusty y S. K. Swain, «Carbon quantum dot tailored calcium alginate hydrogel for pH responsive controlled delivery of vancomycin,» *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 109, págs. 359-371, nov. de 2017, ISSN: 18790720. DOI: 10.1016/j.ejps.2017.08.015.
- [28] F. Cui, J. Sun, J. Ji, X. Yang, K. Wei, H. Xu, Q. Gu, Y. Zhang y X. Sun, «Carbon dots-releasing hydrogels with antibacterial activity, high biocompatibility, and fluorescence performance as candidate materials for wound healing,» *Journal of Hazardous Materials*, vol. 406, pág. 124330, mar. de 2021, ISSN: 18733336. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.124330.
- [29] P. Date, A. Tanwar, P. Ladage, K. M. Kodam y D. Ottoor, «Carbon dots-incorporated pH-responsive agarose-PVA hydrogel nanocomposites for the controlled release of norfloxacin drug,» *Polymer Bulletin*, vol. 77, n.º 10, págs. 5323-5344, oct. de 2020, ISSN: 14362449. DOI: 10.1007/s00289-019-03015-3.
- [30] V. Roshni, S. Misra, M. K. Santra y D. Ottoor, «One pot green synthesis of C-dots from groundnuts and its application as Cr(VI) sensor and in vitro bioimaging agent,» *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, vol. 373, págs. 28-36, mar. de 2019, ISSN: 10106030. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2018.12.028.
- [31] G. Jahanmir e Y. Chau, «Mathematical models of drug release from degradable hydrogels,» en *Biomedical Applications of Nanoparticles*, Elsevier, ene. de 2019, págs. 233-269. DOI: 10.1016/b978-0-12-816506-5.00002-4.
- [32] Bruschi Marcos Luciano, «Mathematical models of drug release,» en *Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems*, Elsevier, ene. de 2015, págs. 63-86. DOI: 10.1016/b978-0-08-100092-2.00005-9.
- [33] X. Shi, Y. Zheng, G. Wang, Q. Lin y J. Fan, «PH- and electro-response characteristics of bacterial cellulose nanofiber/sodium alginate hybrid hydrogels for dual controlled drug delivery,» *RSC Advances*, vol. 4, n.º 87, págs. 47 056-47 065, sep. de 2014, ISSN: 20462069. DOI: 10.1039/c4ra09640a.

- [34] A. Seyfoddin, S. M. Dezfooli y C. A. Greene, *Engineering drug delivery systems*. Elsevier, ene. de 2019, págs. 1-238, ISBN: 9780081025482. DOI: 10.1016/C2017-0-01844-X.
- [35] A. S. Hoffman, «The origins and evolution of controlled drug delivery systems,» vol. 132, n.º 3, págs. 153-163, dic. de 2008, ISSN: 01683659. DOI: 10.1016/j.jconrel.2008.08.012.
- [36] S. Talebian y J. Foroughi, «Intelligent drug delivery systems,» en *Engineering Drug Delivery Systems*, Elsevier, ene. de 2019, págs. 163-184, ISBN: 9780081025482. DOI: 10.1016/B978-0-08-102548-2.00007-X.
- [37] S. Pattnaik, K. Swain, S. P. Singh y A. K. Sirbaiya, «Lipid vesicles: Potentials as drug delivery systems,» en *Nanoengineered Biomaterials for Advanced Drug Delivery*, Elsevier, ene. de 2020, págs. 163-180. DOI: 10.1016/b978-0-08-102985-5.00008-5.
- [38] A. S. Hoffman, *The origins and evolution of controlled drug delivery systems*, dic. de 2008. DOI: 10.1016/j.jconrel.2008.08.012.
- [39] A. Gupta, R. Maheshwari, K. Kuche, G. A. Hutcheon y R. K. Tekade, «Regulatory assessment for controlled drug delivery products,» en *Drug Delivery Systems*, Elsevier, oct. de 2019, págs. 721-741, ISBN: 9780128145081. DOI: 10.1016/B978-0-12-814487-9.00015-6.
- [40] M. Rahman, K. Alam, S. Beg, F. Anwar y V. Kumar, «Liposomes as topical drug delivery systems: State of the arts,» en *Biomedical Applications of Nanoparticles*, Elsevier, ene. de 2019, págs. 149-161. DOI: 10.1016/b978-0-12-816506-5.00004-8.
- [41] A. Kapse, N. Anup, V. Patel, G. K. Saraogi, D. K. Mishra y R. K. Tekade, «Polymeric micelles: A ray of hope among new drug delivery systems,» en *Drug Delivery Systems*, Elsevier, oct. de 2019, págs. 235-289, ISBN: 9780128145081. DOI: 10.1016/B978-0-12-814487-9.00006-5.
- [42] D. F. Argenta, T. C. dos Santos, A. M. Campos y T. Caon, «Chapter 3 - Hydrogel Nanocomposite Systems: Physico-Chemical Characterization and Application for Drug-Delivery Systems Dedicated to Professor Claudia Maria Oliveira Simões on the occasion of her retirement.,» en *Nanocarriers for Drug Delivery*, 2019, págs. 81-131, ISBN: 978-0-12-814033-8.
- [43] S. Sagbas y N. Sahiner, «Carbon dots: Preparation, properties, and application,» en *Nanocarbon and its Composites: Preparation, Properties and Applications*, Elsevier, ene. de 2018, págs. 651-676, ISBN: 9780081025093. DOI: 10.1016/B978-0-08-102509-3.00022-5.
- [44] Y. P. Sun, B. Zhou, Y. Lin, W. Wang, K. A. Fernando, P. Pathak, M. J. Mezzani, B. A. Harruff, X. Wang, H. Wang, P. G. Luo, H. Yang, M. E. Kose, B. Chen, L. M. Veca y S. Y. Xie, «Quantum-sized carbon dots for bright and colorful photoluminescence,» *Journal of the American Chemical Society*, vol. 128, n.º 24, págs. 7756-7757, jun. de 2006, ISSN: 00027863. DOI: 10.1021/ja062677d.
- [45] W. Liu, H. Diao, H. Chang, H. Wang, T. Li y W. Wei, «Green synthesis of carbon dots from rose-heart radish and application for Fe³⁺ detection and cell imaging,» *Sensors and Actuators, B: Chemical*, vol. 241, págs. 190-198, mar. de 2017, ISSN: 09254005. DOI: 10.1016/j.snb.2016.10.068.

- [46] R. Kandra y S. Bajpai, «Synthesis, mechanical properties of fluorescent carbon dots loaded nanocomposites chitosan film for wound healing and drug delivery,» *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 13, n.º 4, págs. 4882-4894, abr. de 2020, ISSN: 18785352. DOI: 10.1016/j.arabjc.2019.12.010.
- [47] R. Liu, D. Wu, S. Liu, K. Koynov, W. Knoll y Q. Li, «An Aqueous Route to Multicolor Photoluminescent Carbon Dots Using Silica Spheres as Carriers,» *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 48, n.º 25, págs. 4598-4601, jun. de 2009, ISSN: 14337851. DOI: 10.1002/anie.200900652.
- [48] G. Tong, J. Wang, R. Wang, X. Guo, L. He, F. Qiu, G. Wang, B. Zhu, X. Zhu y T. Liu, «Amorphous carbon dots with high two-photon fluorescence for cellular imaging passivated by hyperbranched poly(amino amine),» *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 3, n.º 4, págs. 700-706, ene. de 2015, ISSN: 2050750X. DOI: 10.1039/c4tb01643b.
- [49] N. Ilaiyaraja, S. J. Fathima y F. Khanum, «Quantum dots: A novel fluorescent probe for bioimaging and drug delivery applications,» en *Inorganic Frameworks as Smart Nanomedicines*, William Andrew, ene. de 2018, págs. 529-563, ISBN: 9780128136621. DOI: 10.1016/B978-0-12-813661-4.00012-2.
- [50] M. Langer, M. Palonciová, M. Medved, M. Pykal, D. Nachtigallova, B. Shi, A. J. Aquino, H. Lischka y M. Otyepka, *Progress and challenges in understanding of photoluminescence properties of carbon dots based on theoretical computations*, mar. de 2021. DOI: 10.1016/j.apmt.2020.100924.
- [51] N. Arora y N. N. Sharma, «Arc discharge synthesis of carbon nanotubes: Comprehensive review,» vol. 50, págs. 135-150, nov. de 2014, ISSN: 09259635. DOI: 10.1016/j.diamond.2014.10.001.
- [52] J. Xiao, P. Liu, C. X. Wang y G. W. Yang, *External field-assisted laser ablation in liquid: An efficient strategy for nanocrystal synthesis and nanostructure assembly*, 2017. DOI: 10.1016/j.pmatsci.2017.02.004. dirección: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079642517300269>.
- [53] S. Hu, Z. Wei, Q. Chang, A. Trinchin y J. Yang, «A facile and green method towards coal-based fluorescent carbon dots with photocatalytic activity,» *Applied Surface Science*, vol. 378, págs. 402-407, ago. de 2016, ISSN: 01694332. DOI: 10.1016/j.apsusc.2016.04.038.
- [54] S. Zhu, Q. Meng, L. Wang, J. Zhang, Y. Song, H. Jin, K. Zhang, H. Sun, H. Wang y B. Yang, «Highly Photoluminescent Carbon Dots for Multicolor Patterning, Sensors, and Bioimaging,» *Angewandte Chemie*, vol. 125, n.º 14, págs. 4045-4049, 2013, ISSN: 1521-3757. DOI: 10.1002/ange.201300519.
- [55] G. He, M. Shu, Z. Yang, Y. Ma, D. Huang, S. Xu, Y. Wang, N. Hu, Y. Zhang y L. Xu, «Microwave formation and photoluminescence mechanisms of multi-states nitrogen doped carbon dots,» *Applied Surface Science*, vol. 422, págs. 257-265, nov. de 2017, ISSN: 01694332. DOI: 10.1016/j.apsusc.2017.05.036.
- [56] *Natural carbon-based quantum dots and their applications in drug delivery: A review*, dic. de 2020. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110834.

- [57] X. Qin, W. Lu, A. M. Asiri, A. O. Al-Youbi y X. Sun, «Microwave-assisted rapid green synthesis of photoluminescent carbon nanodots from flour and their applications for sensitive and selective detection of mercury(II) ions,» *Sensors and Actuators, B: Chemical*, vol. 184, págs. 156-162, jul. de 2013, ISSN: 09254005. DOI: 10.1016/j.snb.2013.04.079.
- [58] Z. Wang, H. Liao, H. Wu, B. Wang, H. Zhao y M. Tan, «Fluorescent carbon dots from beer for breast cancer cell imaging and drug delivery,» *Analytical Methods*, vol. 7, n.º 20, págs. 8911-8917, oct. de 2015, ISSN: 17599679. DOI: 10.1039/c5ay01978h.
- [59] S. Qu, X. Wang, Q. Lu, X. Liu y L. Wang, «A Biocompatible Fluorescent Ink Based on Water-Soluble Luminescent Carbon Nanodots,» *Angewandte Chemie*, vol. 124, n.º 49, págs. 12 381-12 384, dic. de 2012, ISSN: 00448249. DOI: 10.1002/ange.201206791.
- [60] G. M. Pavia, Donald L; Lampman, G. S. Kriz y J. R. Vyvyan, «Ultraviolet spectroscopy,» en *Introduction to spectroscopy*, L. Lockwood, ed., 4th, Belmont, USA: Brooks/Cole Cengage learning, 2010, cap. 7, págs. 381-383, ISBN: 9780495114789.
- [61] S. S. Ray, R. Gusain y N. Kumar, «Carbon nanomaterials: synthesis, functionalization, and properties,» en *Carbon Nanomaterial-Based Adsorbents for Water Purification*, Elsevier, ene. de 2020, págs. 137-179. DOI: 10.1016/b978-0-12-821959-1.00007-6.
- [62] S. Wei, X. Yin, H. Li, X. Du, L. Zhang, Q. Yang y R. Yang, «Multi-Color Fluorescent Carbon Dots: Graphitized sp² Conjugated Domains and Surface State Energy Level Co-Modulate Band Gap Rather Than Size Effects,» *Chemistry - A European Journal*, vol. 26, n.º 36, págs. 8129-8136, jun. de 2020, ISSN: 15213765. DOI: 10.1002/chem.202000763.
- [63] H. Huang, Y. Xu, C. J. Tang, J. R. Chen, A. J. Wang y J. J. Feng, «Facile and green synthesis of photoluminescent carbon nanoparticles for cellular imaging,» *New Journal of Chemistry*, vol. 38, n.º 2, págs. 784-789, ene. de 2014, ISSN: 13699261. DOI: 10.1039/c3nj01185b.
- [64] Y. Dong, N. Zhou, X. Lin, J. Lin, Y. Chi y G. Chen, «Extraction of electrochemiluminescent oxidized carbon quantum dots from activated carbon,» *Chemistry of Materials*, vol. 22, n.º 21, págs. 5895-5899, nov. de 2010, ISSN: 08974756. DOI: 10.1021/cm1018844.
- [65] J. Wei y J. Qiu, «Unveil the Fluorescence of Carbon Quantum Dots,» *Advanced Engineering Materials*, vol. 17, n.º 2, págs. 138-142, feb. de 2015, ISSN: 14381656. DOI: 10.1002/adem.201400146.
- [66] G. Chen, F. Song, X. Xiong y X. Peng, *Fluorescent nanosensors based on fluorescence resonance energy transfer (FRET)*, ago. de 2013. DOI: 10.1021/ie303485n.
- [67] S. Mohammadi y A. Salimi, «Fluorometric determination of microRNA-155 in cancer cells based on carbon dots and MnO₂ nanosheets as a donor-acceptor pair,» *Microchimica Acta*, vol. 185, 8 ago. de 2018, ISSN: 14365073. DOI: 10.1007/s00604-018-2868-5.

- [68] S. Hamd-Ghadareh, A. Salimi, S. Parsa y F. Fathi, «Simultaneous biosensing of CA125 and CA15-3 tumor markers and imaging of OVCAR-3 and MCF-7 cells lines via bi-color FRET phenomenon using dual blue-green luminescent carbon dots with single excitation wavelength,» *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 118, págs. 617-628, oct. de 2018, ISSN: 18790003. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.06.116.
- [69] S. Hamd-Ghadareh, A. Salimi, F. Fathi y S. Bahrami, «An amplified comparative fluorescence resonance energy transfer immunosensing of CA125 tumor marker and ovarian cancer cells using green and economic carbon dots for bio-applications in labeling, imaging and sensing,» *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 96, págs. 308-316, oct. de 2017, ISSN: 18734235. DOI: 10.1016/j.bios.2017.05.003.
- [70] G. C. Parker, M. Anastassova-Kristeva, L. M. Eisenberg, M. S. Rao, M. A. Williams, P. R. Sanberg y D. English, *Stem cells: Shibboleths of development, part II: Toward a functional definition*, oct. de 2005. DOI: 10.1089/scd.2005.14.463. dirección: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/scd.2005.14.463>.
- [71] H. K. Sadhanala y K. K. Nanda, «Boron-doped carbon nanoparticles: Size-independent color tunability from red to blue and bioimaging applications,» *Carbon*, vol. 96, págs. 166-173, ene. de 2016, ISSN: 00086223. DOI: 10.1016/j.carbon.2015.08.096.
- [72] W. Dong, S. Zhou, Y. Dong, J. Wang, X. Ge y L. Sui, «The preparation of ethylenediamine-modified fluorescent carbon dots and their use in imaging of cells,» *Luminescence*, vol. 30, n.º 6, págs. 867-871, sep. de 2015, ISSN: 15227243. DOI: 10.1002/bio.2834.
- [73] J. H. Liu, L. Cao, G. E. LeCroy, P. Wang, M. J. Meziani, Y. Dong, Y. Liu, P. G. Luo e Y. P. Sun, «Carbon "Quantum"Dots for Fluorescence Labeling of Cells,» *ACS Applied Materials and Interfaces*, vol. 7, n.º 34, págs. 19439-19445, ago. de 2015, ISSN: 19448252. DOI: 10.1021/acsami.5b05665.
- [74] C. Li, Y. Liu, Y. Wu, Y. Sun y F. Li, «The cellular uptake and localization of non-emissive iridium(III) complexes as cellular reaction-based luminescence probes,» *Bio-materials*, vol. 34, n.º 4, págs. 1223-1234, ene. de 2013, ISSN: 01429612. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.09.014.
- [75] Y. F. Kang, Y. W. Fang, Y. H. Li, W. Li y X. B. Yin, «Nucleus-staining with biomolecule-mimicking nitrogen-doped carbon dots prepared by a fast neutralization heat strategy,» *Chemical Communications*, vol. 51, n.º 95, págs. 16956-16959, sep. de 2015, ISSN: 1364548X. DOI: 10.1039/c5cc06304c.
- [76] J. Ge, Q. Jia, W. Liu, L. Guo, Q. Liu, M. Lan, H. Zhang, X. Meng y P. Wang, «Red-Emissive Carbon Dots for Fluorescent, Photoacoustic, and Thermal Theranostics in Living Mice,» *Advanced Materials*, vol. 27, n.º 28, págs. 4169-4177, jul. de 2015, ISSN: 15214095. DOI: 10.1002/adma.201500323.
- [77] S. A. Varghese, S. M. Rangappa, S. Siengchin y J. Parameswaranpillai, «Natural polymers and the hydrogels prepared from them,» en *Hydrogels Based on Natural Polymers*, Elsevier, ene. de 2019, págs. 17-47, ISBN: 9780128164211. DOI: 10.1016/B978-0-12-816421-1.00002-1.
- [78] W. Wang, R. Narain y H. Zeng, «Hydrogels,» en *Polymer Science and Nanotechnology*, Elsevier, ene. de 2020, págs. 203-244. DOI: 10.1016/B978-0-12-816806-6.00010-8.

- [79] F. Redaelli, M. Sorbona y F. Rossi, «Synthesis and processing of hydrogels for medical applications,» en *Bioresorbable Polymers for Biomedical Applications: From Fundamentals to Translational Medicine*, Elsevier, ene. de 2017, págs. 205-228, ISBN: 9780081002667. DOI: 10.1016/B978-0-08-100262-9.00010-0.
- [80] J. K. Oh, R. Drumright, D. J. Siegwart y K. Matyjaszewski, *The development of microgels/nanogels for drug delivery applications*, abr. de 2008. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2008.01.002. dirección: <https://utsouthwestern.pure.elsevier.com/en/publications/the-development-of-microgelsnanogels-for-drug-delivery-applicatio>.
- [81] N. A. Peppas y A. S. Hoffman, «Hydrogels,» en *Biomaterials Science*, Elsevier, ene. de 2020, págs. 153-166. DOI: 10.1016/B978-0-12-816137-1.00014-3.
- [82] S. Zhao, M. Cao, H. Li, L. Li y W. Xu, «Synthesis and characterization of thermo-sensitive semi-IPN hydrogels based on poly(ethylene glycol)-co-poly(ϵ -caprolactone) macromer, N-isopropylacrylamide, and sodium alginate,» *Carbohydrate Research*, vol. 345, n.º 3, págs. 425-431, feb. de 2010, ISSN: 00086215. DOI: 10.1016/j.carres.2009.11.014.
- [83] E. M. Ahmed, *Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review*, mar. de 2015. DOI: 10.1016/j.jare.2013.07.006.
- [84] H. Omidian y K. Park, *Swelling agents and devices in oral drug delivery*, ene. de 2008. DOI: 10.1016/S1773-2247(08)50016-5.
- [85] H. Holback, Y. Yeo y K. Park, «Hydrogel swelling behavior and its biomedical applications,» en *Biomedical Hydrogels*, Elsevier, ene. de 2011, págs. 3-24. DOI: 10.1533/9780857091383.1.3.
- [86] S. Ganguly, P. Das y N. C. Das, «Characterization tools and techniques of hydrogels,» en *Hydrogels Based on Natural Polymers*, Elsevier, ene. de 2019, págs. 481-517, ISBN: 9780128164211. DOI: 10.1016/B978-0-12-816421-1.00016-1.
- [87] R. Conte, A. De Luise, A. Valentino, F. Di Cristo, O. Petillo, F. Riccitiello, A. Di Salle, A. Calarco y G. Peluso, «Hydrogel Nanocomposite Systems,» en *Nanocarriers for Drug Delivery*, Elsevier, ene. de 2019, págs. 319-349. DOI: 10.1016/b978-0-12-814033-8.00010-2.
- [88] D. K. Baby, «Rheology of hydrogels,» en *Rheology of Polymer Blends and Nanocomposites: Theory, Modelling and Applications*, Elsevier, jun. de 2019, págs. 193-204, ISBN: 9780128169575. DOI: 10.1016/B978-0-12-816957-5.00009-4.
- [89] Y. Li, H. Y. Yang y D. S. Lee, «Advances in biodegradable and injectable hydrogels for biomedical applications,» *Journal of Controlled Release*, vol. 330, págs. 151-160, feb. de 2021, ISSN: 18734995. DOI: 10.1016/j.jconrel.2020.12.008.
- [90] S. H. Aswathy, U. Narendrakumar e I. Manjubala, *Commercial hydrogels for biomedical applications*, abr. de 2020. DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e03719.
- [91] A. Onaciu, R. A. Munteanu, A. I. Moldovan, C. S. Moldovan e I. Berindan-Neagoe, «Hydrogels based drug delivery synthesis, characterization and administration,» *Pharmaceutics*, vol. 11, n.º 9, pág. 432, sep. de 2019, ISSN: 19994923. DOI: 10.3390/pharmaceutics11090432.

- [92] J. Li y D. J. Mooney, *Designing hydrogels for controlled drug delivery*, oct. de 2016. DOI: 10.1038/natrevmats.2016.71. dirección: /pmc/articles/PMC5898614/%20/pmc/articles/PMC5898614/?report=abstract%20https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5898614/.
- [93] D. Juric, N. A. Rohner y H. A. von Recum, «Molecular Imprinting of Cyclodextrin Supramolecular Hydrogels Improves Drug Loading and Delivery,» *Macromolecular Bioscience*, vol. 19, n.º 1, pág. 1800246, ene. de 2019, ISSN: 16165195. DOI: 10.1002/mabi.201800246.
- [94] I. M. El-Sherbiny y M. H. Yacoub, «Hydrogel scaffolds for tissue engineering: Progress and challenges,» *Global Cardiology Science and Practice*, vol. 2013, n.º 3, pág. 38, sep. de 2013, ISSN: 2305-7823. DOI: 10.5339/gcsp.2013.38.
- [95] B. Kaczmarek, K. Nadolna y A. Owczarek, «The physical and chemical properties of hydrogels based on natural polymers,» en *Hydrogels Based on Natural Polymers*, Elsevier, ene. de 2019, págs. 151-172, ISBN: 9780128164211. DOI: 10.1016/B978-0-12-816421-1.00006-9.
- [96] M. Mahinroosta, Z. Jomeh Farsangi, A. Allahverdi y Z. Shakoory, *Hydrogels as intelligent materials: A brief review of synthesis, properties and applications*, jun. de 2018. DOI: 10.1016/j.mtchem.2018.02.004.
- [97] P. Liu, M. Zhai, J. Li, J. Peng y J. Wu, «Radiation preparation and swelling behavior of sodium carboxymethyl cellulose hydrogels,» *Radiation Physics and Chemistry*, vol. 63, n.º 3-6, págs. 525-528, mar. de 2002, ISSN: 0969806X. DOI: 10.1016/S0969-806X(01)00649-1.
- [98] S. Haider, S. Y. Park, K. Saeed y B. L. Farmer, «Swelling and electroresponsive characteristics of gelatin immobilized onto multi-walled carbon nanotubes,» *Sensors and Actuators, B: Chemical*, vol. 124, n.º 2, págs. 517-528, jun. de 2007, ISSN: 09254005. DOI: 10.1016/j.snb.2007.01.024.
- [99] M. Ebara, Y. Kotsuchibashi, K. Uto, T. Aoyagi, Y.-J. Kim, R. Narain, N. Idota y J. M. Hoffman, «Smart Nanoassemblies and Nanoparticles,» en Springer, Tokyo, 2014, págs. 67-113. DOI: 10.1007/978-4-431-54400-5_3.
- [100] K. S. Soppimath, T. M. Aminabhavi, A. M. Dave, S. G. Kumbar y W. E. Rudzinski, «Stimulus-responsive "smart"hydrogels as novel drug delivery systems,» *Drug Development and Industrial Pharmacy*, vol. 28, n.º 8, págs. 957-974, 2002, ISSN: 03639045. DOI: 10.1081/DDC-120006428.
- [101] Q. Shi, H. Liu, D. Tang, Y. Li, X. J. Li y F. Xu, *Bioactuators based on stimulus-responsive hydrogels and their emerging biomedical applications*, nov. de 2019. DOI: 10.1038/s41427-019-0165-3. dirección: <https://doi.org/10.1038/s41427-019-0165-3>.
- [102] M. C. Koetting, J. T. Peters, S. D. Steichen y N. A. Peppas, *Stimulus-responsive hydrogels: Theory, modern advances, and applications*, jun. de 2015. DOI: 10.1016/j.mser.2015.04.001.

- [103] M. A. Mohamed, A. Fallahi, A. M. El-Sokkary, S. Salehi, M. A. Akl, A. Jafari, A. Tamayol, H. Fenniri, A. Khademhosseini, S. T. Andreadis y C. Cheng, *Stimuli-responsive hydrogels for manipulation of cell microenvironment: From chemistry to biofabrication technology*, nov. de 2019. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2019.101147.
- [104] H. Huang, X. Qi, Y. Chen y Z. Wu, *Thermo-sensitive hydrogels for delivering biotherapeutic molecules: A review*, nov. de 2019. DOI: 10.1016/j.jsps.2019.08.001.
- [105] A. B. Lugao y S. M. Malmonge, «Use of radiation in the production of hydrogels,» *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, vol. 185, n.º 1-4, págs. 37-42, 2001, ISSN: 0168583X. DOI: 10.1016/S0168-583X(01)00807-2.
- [106] S. H. Takahashi, L. M. Lira y S. I. Córdoba de Torresi, «Zero-Order Release Profiles from A Multistimuli Responsive Electro-Conductive Hydrogel,» *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, vol. 03, n.º 02, págs. 262-268, mayo de 2012, ISSN: 2158-7027. DOI: 10.4236/jbnb.2012.322032.
- [107] R. Wang, X. Wang e Y. Sun, «One-step synthesis of self-doped carbon dots with highly photoluminescence as multifunctional biosensors for detection of iron ions and pH,» *Sensors and Actuators, B: Chemical*, vol. 241, págs. 73-79, mar. de 2017, ISSN: 09254005. DOI: 10.1016/j.snb.2016.10.043.
- [108] T. Miyata, A. Jikihara, K. Nakamae, T. Uragami, A. S. Hoffman, K. Kinomura y M. Okumura, «Preparation of Glucose-Sensitive Hydrogels by Entrapment or Copolymerization of Concanavalin a in a Glucosyloxyethyl Methacrylate Hydrogel,» en *Advanced Biomaterials in Biomedical Engineering and Drug Delivery Systems*, Springer Japan, 1996, págs. 237-238. DOI: 10.1007/978-4-431-65883-2_55.
- [109] D. Shen, H. Yu, L. Wang, X. Chen, J. Feng, C. Li, W. Xiong y Q. Zhang, «Glucose-responsive hydrogel-based microneedles containing phenylborate ester bonds and N-isopropylacrylamide moieties and their transdermal drug delivery properties,» *European Polymer Journal*, vol. 148, pág. 110348, abr. de 2021, ISSN: 00143057. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2021.110348.
- [110] M. Q. Tong, L. Z. Luo, P. P. Xue, Y. H. Han, L. F. Wang, D. L. Zhuge, Q. Yao, B. Chen, Y. Z. Zhao y H. L. Xu, «Glucose-responsive hydrogel enhances the preventive effect of insulin and liraglutide on diabetic nephropathy of rats,» *Acta Biomaterialia*, vol. 122, págs. 111-132, mar. de 2021, ISSN: 18787568. DOI: 10.1016/j.actbio.2021.01.007.
- [111] R. Chandrawati, «Enzyme-responsive polymer hydrogels for therapeutic delivery,» *Experimental Biology and Medicine*, vol. 241, n.º 9, págs. 972-979, mayo de 2016, ISSN: 15353699. DOI: 10.1177/1535370216647186.
- [112] B. Sui, Y. Li y B. Yang, «Nanocomposite hydrogels based on carbon dots and polymers,» *Chinese Chemical Letters*, vol. 31, n.º 6, págs. 1443-1447, jun. de 2020, ISSN: 10018417. DOI: 10.1016/j.cclet.2019.08.023.
- [113] M. Hu, X. Gu, Y. Hu, T. Wang, J. Huang y C. Wang, «Low Chemically Cross-Linked PAM/C-Dot Hydrogel with Robustness and Superstretchability in Both As-Prepared and Swelling Equilibrium States,» *Macromolecules*, vol. 49, n.º 8, págs. 3174-3183, mayo de 2016, ISSN: 15205835. DOI: 10.1021/acs.macromol.5b02352.

- [114] M. Hu, Y. Yang, X. Gu, Y. Hu, Z. Du y C. Wang, «Novel Nanocomposite Hydrogels Consisting of C-Dots with Excellent Mechanical Properties,» *Macromolecular Materials and Engineering*, vol. 300, n.º 11, págs. 1043-1048, nov. de 2015, ISSN: 14387492. DOI: 10.1002/mame.201500141.
- [115] C. Martín, A. Martín-Pacheco, A. Naranjo, A. Criado, S. Merino, E. Díez-Barra, M. A. Herrero y E. Vázquez, «Graphene hybrid materials? the role of graphene materials in the final structure of hydrogels,» *Nanoscale*, vol. 11, n.º 11, págs. 4822-4830, mar. de 2019, ISSN: 20403372. DOI: 10.1039/c8nr09728c.
- [116] S. Javanbakht y H. Namazi, «Doxorubicin loaded carboxymethyl cellulose/graphene quantum dot nanocomposite hydrogel films as a potential anticancer drug delivery system,» *Materials Science and Engineering C*, vol. 87, págs. 50-59, jun. de 2018, ISSN: 09284931. DOI: 10.1016/j.msec.2018.02.010.
- [117] K. Chaturvedi, K. Ganguly, U. A. More, K. R. Reddy, T. Dugge, B. Naik, T. M. Aminabhavi y M. N. Noolvi, «Sodium alginate in drug delivery and biomedical areas,» en *Natural Polysaccharides in Drug Delivery and Biomedical Applications*, Elsevier, ene. de 2019, págs. 59-100, ISBN: 9780128170557. DOI: 10.1016/B978-0-12-817055-7.00003-0.
- [118] K. Nahar, M. K. Hossain y T. A. Khan, «Alginate and its versatile application in drug delivery,» *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, vol. 9, n.º 5, págs. 606-617, 2017, ISSN: 09751459.
- [119] L. Agüero, D. Zaldivar-Silva, L. Peña y M. Dias, *Alginate microparticles as oral colon drug delivery device: A review*, jul. de 2017. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.03.033.
- [120] S. M. Barrera Holguin, D. C. Rodríguez Burbano y S. R. Ramírez Clavijo, «SÍNTESIS DE PUNTOS DE CARBONO Y REVISIÓN DE SU CITOTOXICIDAD EN TUMORES DE MAMA,» Tesis doct., UNIVERSIDAD DEL ROSARIO ESCUELA COLOMBIANA DE INGENIERÍA JULIO GARAVITO, Bogotá, 2020, págs. 13-14.
- [121] A. C. Friedli, I. R. Schlager y S. W. Wright, «Demonstrating encapsulation and release: A new take on alginate complexation and the nylon rope trick,» *Journal of Chemical Education*, vol. 82, n.º 7, págs. 1017-1020, 2005, ISSN: 00219584. DOI: 10.1021/ed082p1017.
- [122] N. Li, F. Lei, D. Xu, Y. Li, J. Liu e Y. Shi, «One-step synthesis of N, P Co-doped orange carbon quantum dots with novel optical properties for bio-imaging,» *Optical Materials*, vol. 111, pág. 110618, ene. de 2021, ISSN: 09253467. DOI: 10.1016/j.optmat.2020.110618.
- [123] C. J. Reckmeier, Y. Wang, R. Zboril y A. L. Rogach, «Influence of Doping and Temperature on Solvatochromic Shifts in Optical Spectra of Carbon Dots,» *Journal of Physical Chemistry C*, vol. 120, n.º 19, págs. 10 591-10 604, mayo de 2016, ISSN: 19327455. DOI: 10.1021/acs.jpcc.5b12294.
- [124] B. Y. Shin y J. Kim, «Controlled Remodeling of Hydrogel Networks and Subsequent Crosslinking: A Strategy for Preparation of Alginate Hydrogels with Ultrahigh Density and Enhanced Mechanical Properties,» *Macromolecular Chemistry and Physics*, vol. 216, n.º 8, págs. 914-921, abr. de 2015, ISSN: 10221352. DOI: 10.1002/macp.201400503.

- [125] L. Mazutis, R. Vasilias y D. A. Weitz, «Microfluidic Production of Alginate Hydrogel Particles for Antibody Encapsulation and Release,» *Macromolecular Bioscience*, vol. 15, n.º 12, págs. 1641-1646, dic. de 2015, ISSN: 16165187. DOI: 10.1002/mabi.201500226.
- [126] S. Hua, H. Ma, X. Li, H. Yang y A. Wang, «pH-sensitive sodium alginate/poly(vinyl alcohol) hydrogel beads prepared by combined Ca²⁺ crosslinking and freeze-thawing cycles for controlled release of diclofenac sodium,» *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 46, n.º 5, págs. 517-523, jun. de 2010, ISSN: 01418130. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2010.03.004.
- [127] M. A. Abd El-Ghaffar, M. S. Hashem, M. K. El-Awady y A. M. Rabie, «PH-sensitive sodium alginate hydrogels for riboflavin controlled release,» *Carbohydrate Polymers*, vol. 89, n.º 2, págs. 667-675, jun. de 2012, ISSN: 01448617. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.03.074.
- [128] K. Y. Lee, J. A. Rowley, P. Eiselt, E. M. Moy, K. H. Bouhadir y D. J. Mooney, «Controlling mechanical and swelling properties of alginate hydrogels independently by cross-linker type and cross-linking density,» *Macromolecules*, vol. 33, n.º 11, págs. 4291-4294, mayo de 2000, ISSN: 00249297. DOI: 10.1021/ma9921347.
- [129] M. Yang, B. Li, K. Zhong e Y. Lu, «Photoluminescence properties of N-doped carbon dots prepared in different solvents and applications in pH sensing,» *Journal of Materials Science*, vol. 53, n.º 4, págs. 2424-2433, feb. de 2018, ISSN: 15734803. DOI: 10.1007/s10853-017-1700-7.
- [130] Y. Zhou, J. S. Chu, J. X. Li y X. Y. Wu, «Theoretical analysis of release kinetics of coated tablets containing constant and non-constant drug reservoirs,» *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 385, n.º 1-2, págs. 98-103, ene. de 2010, ISSN: 03785173. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2009.10.039.
- [131] Y. Fu y W. J. Kao, *Drug release kinetics and transport mechanisms of non-degradable and degradable polymeric delivery systems*, abr. de 2010. DOI: 10.1517/17425241003602259. dirección: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20331353/>.
- [132] M. Bansal, A. Dravid, Z. Aqrave, J. Montgomery, Z. Wu y D. Svirskis, *Conducting polymer hydrogels for electrically responsive drug delivery*, dic. de 2020. DOI: 10.1016/j.jconrel.2020.08.051.
- [133] K. Sharma, V. Kumar, B. S. Kaith, S. Kalia y H. C. Swart, «Conducting Polymer Hydrogels and Their Applications,» en, Springer, Cham, 2017, págs. 193-221. DOI: 10.1007/978-3-319-46458-9_7.
- [134] J. Stejskal, *Conducting polymer hydrogels*, dic. de 2017. DOI: 10.1007/s11696-016-0072-9. dirección: <https://link-springer-com.ez.urosario.edu.co/article/10.1007/s11696-016-0072-9>.
- [135] B. Guo, Z. Ma, L. Pan e Y. Shi, *Properties of conductive polymer hydrogels and their application in sensors*, dic. de 2019. DOI: 10.1002/polb.24899. dirección: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/polb.24899>.
- [136] A. Puiggalí-Jou, L. J. del Valle y C. Alemán, *Drug delivery systems based on intrinsically conducting polymers*, sep. de 2019. DOI: 10.1016/j.jconrel.2019.07.035.

- [137] C. I. Idumah, *Novel trends in conductive polymeric nanocomposites, and bionanocomposites*, mar. de 2021. DOI: 10.1016/j.synthmet.2020.116674.
- [138] D. Svirskis, J. Travas-Sejdic, A. Rodgers y S. Garg, *Electrochemically controlled drug delivery based on intrinsically conducting polymers*, ago. de 2010. DOI: 10.1016/j.jconrel.2010.03.023.
- [139] L. Li, Y. Shi, L. Pan, Y. Shi y G. Yu, «Rational design and applications of conducting polymer hydrogels as electrochemical biosensors,» *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 3, n.º 25, págs. 2920-2930, jul. de 2015, ISSN: 2050750X. DOI: 10.1039/c5tb00090d.
- [140] H. Yuk, B. Lu y X. Zhao, *Hydrogel bioelectronics*, mar. de 2019. DOI: 10.1039/c8cs00595h. dirección: <http://zhao.mit.edu/>.
- [141] T.-S. Tsai, V. Pillay, Y. E. Choonara, L. C. Du Toit, G. Modi, D. Naidoo y P. Kumar, «A Polyvinyl Alcohol-Polyaniline Based Electro-Conductive Hydrogel for Controlled Stimuli-Actuable Release of Indomethacin,» *Polymers*, vol. 3, n.º 1, págs. 150-172, ene. de 2011, ISSN: 2073-4360. DOI: 10.3390/polym3010150.
- [142] Q. Chen, H. Chen, L. Zhu y J. Zheng, *Fundamentals of double network hydrogels*, mayo de 2015. DOI: 10.1039/c5tb00123d. dirección: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2015/tb/c5tb00123d> <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2015/tb/c5tb00123d>.
- [143] L. Li, J. Ge, P. X. Ma y B. Guo, «Injectable conducting interpenetrating polymer network hydrogels from gelatin-graft-polyaniline and oxidized dextran with enhanced mechanical properties,» *RSC Advances*, vol. 5, n.º 112, págs. 92 490-92 498, oct. de 2015, ISSN: 20462069. DOI: 10.1039/c5ra19467a.
- [144] A. Vedadghavami, F. Minooei, M. H. Mohammadi, S. Khetani, A. Rezaei Kolahchi, S. Mashayekhan y A. Sanati-Nezhad, *Manufacturing of hydrogel biomaterials with controlled mechanical properties for tissue engineering applications*, oct. de 2017. DOI: 10.1016/j.actbio.2017.07.028.
- [145] Y. Shi, L. Pan, B. Liu, Y. Wang, Y. Cui, Z. Bao y G. Yu, «Nanostructured conductive polypyrrole hydrogels as high-performance, flexible supercapacitor electrodes,» *Journal of Materials Chemistry A*, vol. 2, n.º 17, págs. 6086-6091, mayo de 2014, ISSN: 20507496. DOI: 10.1039/c4ta00484a.
- [146] X. Shi, Y. Hu, K. Tu, L. Zhang, H. Wang, J. Xu, H. Zhang, J. Li, X. Wang y M. Xu, «Electromechanical polyaniline-cellulose hydrogels with high compressive strength,» *Soft Matter*, vol. 9, n.º 42, págs. 10 129-10 134, nov. de 2013, ISSN: 1744683X. DOI: 10.1039/c3sm51490k.
- [147] R. Prabhakar y D. Kumar, «Influence of Dopant Ions on the Properties of Conducting Polyacrylamide/Polyaniline Hydrogels,» *Polymer - Plastics Technology and Engineering*, vol. 55, n.º 1, págs. 46-53, ene. de 2016, ISSN: 15256111. DOI: 10.1080/03602559.2015.1055501.
- [148] X. M. Sun, Q. W. Tang, J. H. Wu, K. Q. Xu, X. Zhong, J. M. Lin y M. L. Huang, «Two-step synthesis of superabsorbent conducting hydrogel based on poly(acrylamide-pyrrole) with interpenetrating network structure,» *Materials Research Innovations*, vol. 15, n.º 1, págs. 70-74, feb. de 2011, ISSN: 14328917. DOI: 10.1179/143307511X12922272564021.

- [149] Y. Xiao, L. He y J. Che, «An effective approach for the fabrication of reinforced composite hydrogel engineered with SWNTs, polypyrrole and PEGDA hydrogel,» *Journal of Materials Chemistry*, vol. 22, n.º 16, págs. 8076-8082, abr. de 2012, ISSN: 09599428. DOI: 10.1039/c2jm30601h.
- [150] R. Kishi, K. Kubota, T. Miura, T. Yamaguchi, H. Okuzaki e Y. Osada, «Mechanically tough double-network hydrogels with high electronic conductivity,» *Journal of Materials Chemistry C*, vol. 2, n.º 4, págs. 736-743, ene. de 2014, ISSN: 20507534. DOI: 10.1039/c3tc31999g.
- [151] H. Guo, W. He, Y. Lu y X. Zhang, «Self-crosslinked polyaniline hydrogel electrodes for electrochemical energy storage,» *Carbon*, vol. 92, págs. 133-141, jul. de 2015, ISSN: 00086223. DOI: 10.1016/j.carbon.2015.03.062.
- [152] G. P. Hao, F. Hippauf, M. Oschatz, F. M. Wisser, A. Leifert, W. Nickel, N. Mohamed-Noriega, Z. Zheng y S. Kaskel, «Stretchable and semitransparent conductive hybrid hydrogels for flexible supercapacitors,» *ACS Nano*, vol. 8, n.º 7, págs. 7138-7146, jul. de 2014, ISSN: 1936086X. DOI: 10.1021/nn502065u.
- [153] B. C. Kim, J. Y. Hong, G. G. Wallace y H. S. Park, «Recent Progress in Flexible Electrochemical Capacitors: Electrode Materials, Device Configuration, and Functions,» *Advanced Energy Materials*, vol. 5, n.º 22, pág. 1 500 959, nov. de 2015, ISSN: 16146840. DOI: 10.1002/aenm.201500959.
- [154] D. Zhang, F. Di, Y. Zhu, Y. Xiao y J. Che, «Electroactive hybrid hydrogel: Toward a smart coating for neural electrodes,» *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, vol. 30, n.º 6, págs. 600-616, nov. de 2015, ISSN: 15308030. DOI: 10.1177/0883911515591647.
- [155] A. Mihic, Z. Cui, J. Wu, G. Vlacic, Y. Miyagi, S. H. Li, S. Lu, H. W. Sung, R. D. Weisel y R. K. Li, «A conductive polymer hydrogel supports cell electrical signaling and improves cardiac function after implantation into myocardial infarct,» *Circulation*, vol. 132, n.º 8, págs. 772-784, ago. de 2015, ISSN: 15244539. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.014937.
- [156] A. Guiseppi-Elie, *Electroconductive hydrogels: Synthesis, characterization and biomedical applications*, abr. de 2010. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2009.12.052.
- [157] D. Mawad, A. Lauto y G. G. Wallace, «Conductive Polymer Hydrogels,» en *Polymeric Hydrogels as Smart Biomaterials*, Springer, Cham, 2016, págs. 19-44. DOI: 10.1007/978-3-319-25322-0_2.
- [158] D. N. Nguyen y H. Yoon, *Recent advances in nanostructured conducting polymers: From synthesis to practical applications*, 2016. DOI: 10.3390/polym8040118.
- [159] G. M. Tomboc y H. Kim, «Derivation of both EDLC and pseudocapacitance characteristics based on synergistic mixture of NiCo2O4 and hollow carbon nanofiber: An efficient electrode towards high energy density supercapacitor,» *Electrochimica Acta*, vol. 318, págs. 392-404, sep. de 2019, ISSN: 00134686. DOI: 10.1016/j.electacta.2019.06.112.
- [160] T. Dai e Y. Jia, «Supramolecular hydrogels of polyaniline-poly(styrene sulfonate) prepared in concentrated solutions,» *Polymer*, vol. 52, n.º 12, págs. 2550-2558, mayo de 2011, ISSN: 00323861. DOI: 10.1016/j.polymer.2011.04.006.

- [161] B. Guo, A. Finne-Wistrand y A. C. Albertsson, «Facile synthesis of degradable and electrically conductive polysaccharide hydrogels,» *Biomacromolecules*, vol. 12, n.º 7, págs. 2601-2609, jul. de 2011, ISSN: 15257797. DOI: 10.1021/bm200389t.
- [162] T. Hu, Y. Wu, X. Zhao, L. Wang, L. Bi, P. X. Ma y B. Guo, «Micropatterned, electroactive, and biodegradable poly(glycerol sebacate)-aniline trimer elastomer for cardiac tissue engineering,» *Chemical Engineering Journal*, vol. 366, págs. 208-222, jun. de 2019, ISSN: 13858947. DOI: 10.1016/j.cej.2019.02.072.
- [163] J. Qu, Y. Liang, M. Shi, B. Guo, Y. Gao y Z. Yin, «Biocompatible conductive hydrogels based on dextran and aniline trimer as electro-responsive drug delivery system for localized drug release,» *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 140, págs. 255-264, nov. de 2019, ISSN: 18790003. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.08.120.
- [164] Y. Song, J. Song, M. Shang, W. Xu, S. Liu, B. Wang, Q. Lu e Y. Su, «Hydrodynamics and mass transfer performance during the chemical oxidative polymerization of aniline in microreactors,» *Chemical Engineering Journal*, vol. 353, págs. 769-780, dic. de 2018, ISSN: 13858947. DOI: 10.1016/j.cej.2018.07.166.
- [165] L. Zhang, Y. Li, L. Li, B. Guo y P. X. Ma, «Non-cytotoxic conductive carboxymethyl-chitosan/aniline pentamer hydrogels,» *Reactive and Functional Polymers*, vol. 82, págs. 81-88, sep. de 2014, ISSN: 13815148. DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2014.06.003.
- [166] X. Zhao, P. Li, B. Guo y P. X. Ma, «Antibacterial and conductive injectable hydrogels based on quaternized chitosan-graft-polyaniline/oxidized dextran for tissue engineering,» *Acta Biomaterialia*, vol. 26, págs. 236-248, oct. de 2015, ISSN: 18787568. DOI: 10.1016/j.actbio.2015.08.006.
- [167] Z. Atoufi, P. Zarrintaj, G. H. Motlagh, A. Amiri, Z. Bagher y S. K. Kamrava, «A novel bio electro active alginate-aniline tetramer/ agarose scaffold for tissue engineering: synthesis, characterization, drug release and cell culture study,» *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, vol. 28, n.º 15, págs. 1617-1638, oct. de 2017, ISSN: 15685624. DOI: 10.1080/09205063.2017.1340044.
- [168] L. E. V. Castro, C. J. P. Martínez, T. Del Castillo Castro, M. M. C. Ortega y J. C. Encinas, «Chemical polymerization of pyrrole in the presence of L-serine or L-glutamic acid: Electrically controlled amoxicillin release from composite hydrogel,» *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 132, n.º 15, n/a-n/a, abr. de 2015, ISSN: 10974628. DOI: 10.1002/app.41804.
- [169] M. Kashi, F. Baghbani, F. Moztaezadeh, H. Mobasheri y E. Kowsari, «Green synthesis of degradable conductive thermosensitive oligopyrrole/chitosan hydrogel intended for cartilage tissue engineering,» *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 107, págs. 1567-1575, feb. de 2018, ISSN: 18790003. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.10.015.
- [170] Q. Rong, H. Han, F. Feng y Z. Ma, «Network nanostructured polypyrrole hydrogel/Au composites as enhanced electrochemical biosensing platform,» *Scientific Reports*, vol. 5, n.º 1, págs. 1-8, jun. de 2015, ISSN: 20452322. DOI: 10.1038/srep11440.

- [171] K. Şarkaya, M. Yildirim y A. Alli, «One-step preparation of poly(NIPAM-pyrrole) electroconductive composite hydrogel and its dielectric properties,» *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 138, n.º 22, págs. 50527, jun. de 2021, ISSN: 10974628. DOI: 10.1002/app.50527.
- [172] T. Distler, C. Polley, F. Shi, D. Schneidereit, M. D. Ashton, O. Friedrich, J. F. Kolb, J. G. Hardy, R. Detsch, H. Seitz y A. R. Boccaccini, «Electrically Conductive and 3D-Printable Oxidized Alginate-Gelatin Polypyrrole:PSS Hydrogels for Tissue Engineering,» *Advanced Healthcare Materials*, págs. 2001876, mar. de 2021, ISSN: 21922659. DOI: 10.1002/adhm.202001876.
- [173] J. Lin, Q. Tang, J. Wu y Q. Li, «A multifunctional hydrogel with high-conductivity, pH-responsive, and release properties from polyacrylate/polypyrrole,» *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 116, n.º 3, págs. 1376-1383, mayo de 2010, ISSN: 00218995. DOI: 10.1002/app.31642.
- [174] N. Sahiner y S. Demirci, «Conducting semi-interpenetrating polymeric composites via the preparation of poly(aniline), poly(thiophene), and poly(pyrrole) polymers within superporous poly(acrylic acid) cryogels,» *Reactive and Functional Polymers*, vol. 105, págs. 60-65, ago. de 2016, ISSN: 13815148. DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2016.05.017.
- [175] S. Yang, L. Jang, S. Kim, J. Yang, K. Yang, S. W. Cho y J. Y. Lee, «Polypyrrole/Alginate Hybrid Hydrogels: Electrically Conductive and Soft Biomaterials for Human Mesenchymal Stem Cell Culture and Potential Neural Tissue Engineering Applications,» *Macromolecular Bioscience*, vol. 16, n.º 11, págs. 1653-1661, nov. de 2016, ISSN: 16165195. DOI: 10.1002/mabi.201600148.
- [176] A. M. Youssef, M. E. Abdel-Aziz, E. S. El-Sayed, M. S. Abdel-Aziz, A. A. Abd El-Hakim, S. Kamel y G. Turky, «Morphological, electrical antibacterial properties of trilayered Cs/PAA/PPy bionanocomposites hydrogel based on Fe₃O₄-NPs,» *Carbohydrate Polymers*, vol. 196, págs. 483-493, sep. de 2018, ISSN: 01448617. DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.05.065.
- [177] I. Del Agua, S. Marina, C. Pitsalidis, D. Mantione, M. Ferro, D. Iandolo, A. Sanchez-Sanchez, G. G. Malliaras, R. M. Owens y D. Mecerreyes, «Conducting Polymer Scaffolds Based on Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) and Xanthan Gum for Live-Cell Monitoring,» *ACS Omega*, vol. 3, n.º 7, págs. 7424-7431, jul. de 2018, ISSN: 24701343. DOI: 10.1021/acsomega.8b00458.
- [178] N. Paradee y A. Sirivat, «Electrically controlled release of benzoic acid from poly(3,4-ethylenedioxythiophene)/alginate matrix: Effect of conductive poly(3,4-ethylenedioxythiophene) morphology,» *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 118, n.º 31, págs. 9263-9271, ago. de 2014, ISSN: 15205207. DOI: 10.1021/jp502674f.
- [179] Q. Wu, J. Wei, B. Xu, X. Liu, H. Wang, W. Wang, Q. Wang y W. Liu, «A robust, highly stretchable supramolecular polymer conductive hydrogel with self-healability and thermo-processability,» *Scientific Reports*, vol. 7, n.º 1, págs. 1-11, ene. de 2017, ISSN: 20452322. DOI: 10.1038/srep41566.

- [180] C. Xu, S. Guan, S. Wang, W. Gong, T. Liu, X. Ma y C. Sun, «Biodegradable and electroconductive poly(3,4-ethylenedioxythiophene)/carboxymethyl chitosan hydrogels for neural tissue engineering,» *Materials Science and Engineering C*, vol. 84, págs. 32-43, mar. de 2018, ISSN: 18730191. DOI: 10.1016/j.msec.2017.11.032.
- [181] R. Zamora-Sequeira, I. Ardao, R. Starbird y C. A. García-González, «Conductive nanostructured materials based on poly-(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT) and starch/ κ -carrageenan for biomedical applications,» *Carbohydrate Polymers*, vol. 189, págs. 304-312, jun. de 2018, ISSN: 01448617. DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.02.040.
- [182] E. Gutiérrez-Pineda, P. R. Cáceres-Vélez, M. J. Rodríguez-Presa, S. E. Moya, C. A. Gervasi y J. I. Amalvy, «Hybrid Conducting Composite Films Based on Polypyrrole and Poly(2-(diethylamino)ethyl methacrylate) Hydrogel Nanoparticles for Electrochemically Controlled Drug Delivery,» *Advanced Materials Interfaces*, vol. 5, n.º 21, pág. 1800968, oct. de 2018, ISSN: 21967350. DOI: 10.1002/admi.201800968.
- [183] J. Yang, G. Choe, S. Yang, H. Jo y J. Y. Lee, «Polypyrrole-incorporated conductive hyaluronic acid hydrogels,» *Biomaterials Research*, vol. 20, n.º 1, págs. 1-7, sep. de 2016, ISSN: 20557124. DOI: 10.1186/s40824-016-0078-y.
- [184] D. N. Heo, S. J. Lee, R. Timsina, X. Qiu, N. J. Castro y L. G. Zhang, «Development of 3D printable conductive hydrogel with crystallized PEDOT:PSS for neural tissue engineering,» *Materials Science and Engineering C*, vol. 99, págs. 582-590, jul. de 2019, ISSN: 18730191. DOI: 10.1016/j.msec.2019.02.008.
- [185] C. Kleber, K. Lienkamp, J. Rühe y M. Asplund, «Electrochemically Controlled Drug Release from a Conducting Polymer Hydrogel (PDMAAp/PEDOT) for Local Therapy and Bioelectronics,» *Advanced Healthcare Materials*, vol. 8, n.º 10, pág. 1801488, mayo de 2019, ISSN: 2192-2640. DOI: 10.1002/adhm.201801488.
- [186] B. C. Lim, B. S. Singu, S. E. Hong, Y. H. Na y K. R. Yoon, «Synthesis and characterization nanocomposite of polyacrylamide-rGO-Ag-PEDOT/PSS hydrogels by photo polymerization method,» *Polymers for Advanced Technologies*, vol. 27, n.º 3, págs. 366-373, mar. de 2016, ISSN: 10427147. DOI: 10.1002/pat.3648.
- [187] A. R. Spencer, A. Primbetova, A. N. Koppes, R. A. Koppes, H. Fenniri y N. Annabi, «Electroconductive Gelatin Methacryloyl-PEDOT:PSS Composite Hydrogels: Design, Synthesis, and Properties,» *ACS Biomaterials Science and Engineering*, vol. 4, n.º 5, págs. 1558-1567, mayo de 2018, ISSN: 23739878. DOI: 10.1021/acsbiomaterials.8b00135.
- [188] J. Stejskal y M. Trchová, «Aniline oligomers versus polyaniline,» *Polymer International*, vol. 61, n.º 2, págs. 240-251, feb. de 2012, ISSN: 09598103. DOI: 10.1002/pi.3179.
- [189] P. Li, D. Zhang, Y. Xu, C. Ni, G. Shi, X. Sang y H. Cong, «Hierarchical porous polyaniline supercapacitor electrode from polyaniline/silica self-aggregates,» *Polymer International*, vol. 67, n.º 12, págs. 1670-1676, dic. de 2018, ISSN: 09598103. DOI: 10.1002/pi.5692.
- [190] E. N. Zare, P. Makvandi, B. Ashtari, F. Rossi, A. Motahari y G. Perale, *Progress in Conductive Polyaniline-Based Nanocomposites for Biomedical Applications: A Review*, ene. de 2020. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.9b00803. dirección: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jmedchem.9b00803>.

- [191] M. C. B. ROJAS, «Sintesis Y Caracterizacion De Polipirrol Dopado Con Poliestireno Sulfonato De Sodio,» *Repositorio Universidad Distrital Francisco José de Caldas*, vol. 147, pág. 67, 2016.
- [192] E. Effati, B. Pourabbas y M. S. Zakerhamidi, «Continuous microfluidic fabrication of polypyrrole nanoparticles,» *RSC Advances*, vol. 9, n.º 30, págs. 16 977-16 988, mayo de 2019, ISSN: 20462069. DOI: 10.1039/c9ra00946a.
- [193] S. Panigrahy y B. Kandasubramanian, *Polymeric thermoelectric PEDOT: PSS composites: Synthesis, progress, and applications*, jun. de 2020. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2020.109726.
- [194] V. P. Shah, M. Gurbarg, A. Noory, S. Dighe y J. P. Skelly, «Influence of higher rates of agitation on release patterns of immediate-release drug products,» *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 81, n.º 6, págs. 500-503, jun. de 1992, ISSN: 15206017. DOI: 10.1002/jps.2600810604.