

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN EN POLÍMEROS Y
MATERIALES

HIDROGELES TERMOSENSIBLES BASADOS EN PNIPAA_m Y
PMVE-*alt*-MA PARA LA LIBERACIÓN DE METRONIDAZOL EN
MUCOSA VAGINAL

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el Título de:

MAESTRO EN CIENCIA DE LOS MATERIALES

Presenta:

ANA VALERIA TORRES FIGUEROA

Directora de Tesis:

Dra. TERESA DEL CASTILLO CASTRO

Co-Directora de Tesis:

Dra. CINTHIA JHOVANNA PÉREZ MARTÍNEZ

Hermosillo, Sonora.

Julio de 2020.

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"



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

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

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

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

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

Dra. Teresa del Castillo Castro

Jefe del Departamento

APROBACIÓN DE TESIS

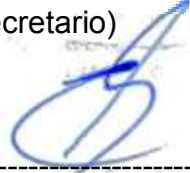
Los miembros del jurado designado para revisar la tesis de maestría de **Ana Valeria Torres Figueroa** han dictaminado que el trabajo cumple satisfactoriamente como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencia de Materiales otorgado por la Universidad de Sonora.



Dra. Teresa del Castillo Castro
(Presidente)



Dra. Cinthia Jhovanna Pérez Martínez
(Secretario)



Dr. Enrique Bolado Martínez
(Sinodal)



Dr. José Carmelo Encinas Encinas
(Sinodal)



Dra. Tania Ernestina Lara Cenicerros
(Sinodal Externo)

Para mi madre, motivo de este y todos mis logros.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Teresa del Castillo Castro, por permitirme formar parte de su equipo y por dirigir este proyecto de investigación. Gracias por su confianza y por alentarme a dar mi mayor esfuerzo. Usted es una persona de admirar, nos transmite su amor por su vocación, y la tomamos como ejemplo.

A la Dra. Jhovanna Pérez Martínez, por continuar como mi asesora durante esta etapa, en la cual ha sido parte importante. Usted ha sido mi ejemplo para seguir, ha aportado bastante de su conocimiento en mi formación y me ha alentado a continuar con mis estudios. Aprecio su amistad y sus valiosos consejos para mejorar los aspectos de mi vida tanto profesional como personal.

Al Dr. Enrique Bolado Martínez, su experiencia como investigador es de admirarse, agradezco su disposición para formar parte de este proyecto, así como su disponibilidad, por todos sus consejos y conocimiento brindado.

Al Dr. José Carmelo Encinas y a la Dra. Tania Lara Cenicerros, por su valiosa colaboración y apoyo brindado en la realización y revisión de esta tesis.

A la Dra. Dora Rodríguez, por la facilitación de equipos fundamentales para el desarrollo de este proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca y los recursos otorgados para el desarrollo de esta tesis, en el marco del proyecto aprobado en la Convocatoria Ciencia Básica 2017-2018, número A1-S-26204.

CONTENIDO

| | |
|--|-----------|
| APROBACIÓN DE TESIS..... | 3 |
| DEDICATORIA..... | 4 |
| AGRADECIMIENTOS..... | 5 |
| LISTA DE TABLAS..... | 8 |
| LISTA DE FIGURAS..... | 9 |
| RESUMEN..... | 11 |
| ABSTRACT..... | 12 |
| INTRODUCCIÓN..... | 13 |
| HIPÓTESIS..... | 16 |
| OBJETIVOS..... | 16 |
| Objetivo General..... | 16 |
| Objetivos Particulares..... | 16 |
| ANTECEDENTES..... | 17 |
| Hidrogeles..... | 17 |
| Clasificación de los Hidrogeles..... | 18 |
| Síntesis de los Hidrogeles..... | 20 |
| Propiedades de los Hidrogeles..... | 22 |
| Propiedades de Bioadhesividad..... | 22 |
| PMVE-<i>alt</i>-MA..... | 23 |
| Respuesta Sensible a Estímulo..... | 24 |
| Sensibles a pH..... | 26 |
| Sensibles a la temperatura..... | 28 |
| PNIPAAm..... | 30 |
| Aplicaciones de los Hidrogeles Bioadhesivos y Termosensibles..... | 31 |
| Liberación Controlada de Fármacos..... | 33 |
| Liberación de fármacos vía vaginal..... | 34 |
| Metronidazol..... | 36 |
| MATERIALES Y MÉTODOS..... | 38 |
| Materiales..... | 38 |
| Síntesis y Caracterización de PNIPAAm..... | 38 |
| Síntesis de Hidrogeles de PNIPAAm..... | 39 |
| Síntesis de Redes Semi-IPNs de PNIPAAm y PMVE-<i>alt</i>-MA..... | 39 |

| | |
|---|-----------|
| Caracterización de los Hidrogeles..... | 41 |
| Mediciones de Cinéticas de Hinchamiento de los Hidrogeles..... | 41 |
| Evaluación de la Reversibilidad del Comportamiento Termosensible..... | 43 |
| Estudios de la Incorporación y Liberación de Metronidazol..... | 43 |
| Estudio del Mecanismo de Liberación de Metronidazol..... | 43 |
| RESULTADOS..... | 45 |
| PNIPAAm..... | 45 |
| Hidrogeles de PNIPAAm y PNIPAAm/PMVE-<i>alt</i>-MA..... | 49 |
| Espectroscopia de Infrarrojo..... | 50 |
| Análisis Termogravimétrico..... | 52 |
| Microscopía Electrónica de Barrido..... | 54 |
| Análisis Reológico..... | 56 |
| Cinéticas de Hinchamiento de los Hidrogeles..... | 57 |
| Evaluación de la Reversibilidad del Comportamiento Termosensible..... | 63 |
| Estudios de la Incorporación y Liberación de Metronidazol..... | 68 |
| Estudio del Mecanismo de Liberación de Metronidazol..... | 71 |
| CONCLUSIONES..... | 72 |
| PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES..... | 74 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS..... | 75 |
| ANEXOS..... | 80 |

LISTA DE TABLAS

| Tabla | | Página |
|--------------|--|---------------|
| 1. | Clasificación de hidrogeles con base en diferentes parámetros..... | 18 |
| 2. | Estímulos externos que influyen en el hinchamiento de hidrogeles sensibles..... | 25 |
| 3. | Grupos funcionales sensibles a los cambios de pH..... | 27 |
| 4. | Características anatómicas de las membranas mucosas corporales..... | 31 |
| 5. | Volúmenes empleados para la elaboración de los hidrogeles de PNIPAAm y de PNIPAAm/PMVE- <i>alt</i> -MA..... | 41 |
| 6. | Composición del fluido vaginal simulado..... | 42 |
| 7. | Temperaturas de degradación máxima obtenidas para los componentes poliméricos y para cada composición de hidrogel..... | 54 |
| 8. | Grados de hinchamiento máximo obtenidos para cada composición de hidrogel a diferentes condiciones de temperatura y pH..... | 62 |
| 9. | Porcentaje de disolución de los hidrogeles compuestos después de los estudios de hinchamiento..... | 63 |
| 10. | Parámetros de ajuste de los datos de liberación de metronidazol a la ecuación de Korsmeyer-Peppas para hidrogeles los hidrogeles P/C2 y P/C3, en las condiciones de liberación estudiadas..... | 71 |

LISTA DE FIGURAS

| Figura | Página |
|--|---------------|
| 1. Representación esquemática de los hidrogeles..... | 18 |
| 2. Hidrólisis de PMVE- <i>alt</i> -MA a su forma ácida..... | 24 |
| 3. Representación esquemática del cambio reversible de los hidrogeles en presencia de un estímulo externo..... | 25 |
| 4. Respuesta de un hidrogel aniónico a las variaciones de pH..... | 27 |
| 5. Valores de pH de algunos tejidos sanos en el cuerpo humano..... | 28 |
| 6. Efecto de la temperatura sobre la estructura polimérica de PNIPAAm..... | 30 |
| 7. Polimerización de N-isoprilacrilamida para formar PNIPAAm..... | 30 |
| 8. Interacción entre los grupos funcionales libres presentes en el hidrogel y las cadenas de mucina..... | 35 |
| 9. Representación de la estructura química de MET..... | 37 |
| 10. Esquema de formación de los hidrogeles semi-IPNs de PNIPAAm/PMVE- <i>alt</i> -MA..... | 40 |
| 11. Espectro RMN-H ¹ . A) NIPAAm y B) PNIPAAm..... | 45 |
| 12. Espectros de FTIR correspondientes a NIPAAm y PNIPAAm..... | 46 |
| 13. Análisis termogravimétrico para NIPAAm y PNIPAAm..... | 47 |
| 14. Espectro de absorción UV-Vis para NIPAAm y PNIPAAm..... | 48 |
| 15. Curva de determinación del punto de nube a 550 nm para PNIPAAm en agua MilliQ (pH 6.5)..... | 49 |
| 16. Imagen de los hidrogeles de redes semi-IPN de PNIPAAm/PMVE- <i>alt</i> -MA..... | 50 |
| 17. Espectros de FTIR correspondientes a: A) PNIPAAm, B) Hidrogel PNIPAAm, C) P/C1, D) P/C2, E) P/C3 y F) PMVE- <i>alt</i> -MA..... | 52 |
| 18. Curvas termogravimétricas correspondientes a: A) PNIPAAm, B) PMVE- <i>alt</i> -MA, C) hidrogel de PNIPAAm, D) P/C1, E) P/C2 y F) P/C3.... | 53 |
| 19. Micrográficas por SEM de hidrogeles de PNIPAAm/PMVE- <i>alt</i> -MA a 500X: A) H. PNIPAAm, B) P/C1, C) P/C2 y D) P/C3; y a 2000X: E) H. PNIPAAm, F) P/C1, G) P/C2 y H) P/C3..... | 55 |
| 20. Reograma correspondiente al hidrogel P/C2 (línea negra) y P/C3 (línea roja)..... | 57 |

| | | |
|-----|--|----|
| 21. | Cinética de hinchamiento de los hidrogeles compuestos en solución buffer, pH 7.4 a 25°C..... | 58 |
| 22. | Cinética de hinchamiento de los hidrogeles compuestos en solución buffer, pH 4.5 a 25°C..... | 59 |
| 23. | Cinética de hinchamiento de los hidrogeles compuestos en solución buffer, pH 7.4 a 37°C..... | 60 |
| 24. | Cinética de hinchamiento de los hidrogeles compuestos en solución buffer, pH 4.5 a 37°C..... | 60 |
| 25. | Cinética de hinchamiento de los hidrogeles compuestos en fluido vaginal simulado (pH 4.59) a 37°C..... | 61 |
| 26. | Hidrogel P/C3 en fluido vaginal simulado (pH 4.59) a 37°C..... | 62 |
| 27. | Comportamiento termosensible en el hinchamiento correspondiente al hidrogel de PNIPAAm..... | 64 |
| 28. | Comportamiento termosensible en el hinchamiento correspondiente al hidrogel P/C1..... | 65 |
| 29. | Comportamiento termosensible en el hinchamiento correspondiente al hidrogel P/C2..... | 66 |
| 30. | Comportamiento termosensible en el hinchamiento correspondiente al hidrogel P/C3..... | 67 |
| 31. | Comparación entre un xerogel a temperatura ambiente (25°C) (izquierda) y después de llegar al equilibrio de hinchamiento a 37°C (derecha)..... | 67 |
| 32. | Porcentaje de metronidazol liberado a 37°C desde los hidrogeles P/C2 y P/C3: A) hasta llegar al equilibrio y B) durante las primeras 5 horas.... | 69 |
| 33. | Porcentaje de metronidazol liberado a 25°C desde los hidrogeles P/C2 y P/C3..... | 70 |

RESUMEN

La administración tópica de metronidazol es el tratamiento más común para la vaginosis bacteriana. El medicamento se comercializa en cremas, lavados vaginales y supositorios. Sin embargo, las presentaciones tradicionales son insuficientes para garantizar los requisitos de permanencia del portador del fármaco en la mucosa vaginal debido a factores como la postura ortostática, que pueden conducir a terapias incompletas o desperdicio innecesario del fármaco.

La poli (N-isopropilacrilamida) (PNIPAAm) es uno de los polímeros más utilizados en la producción de hidrogeles debido a su sensibilidad a la temperatura. La temperatura de transición de fase del PNIPAAm es de alrededor de 32°C, lo cual le permite mostrar una respuesta termosensible a las temperaturas fisiológicas. Por otro lado, el copolímero poli(metil vinil éter-*alt*-anhídrido maleico) (PMVE-*alt*-MA) se ha utilizado para aplicaciones biomédicas debido a su biocompatibilidad y propiedades mucoadhesivas, lo que optimiza las interacciones del material con sustratos biológicos y permite su retención en el sitio de la aplicación.

En este trabajo, se reporta la síntesis y caracterización de redes semi-interpenetradas de PNIPAAm y PMVE-*alt*-MA, como plataformas termosensibles y con propiedades de adherencia para la liberación controlada de metronidazol. Los hidrogeles se obtuvieron mediante la polimerización *in situ* de la N-isopropilacrilamida en presencia de diferentes composiciones del copolímero en solución acuosa. Los materiales resultantes se estudiaron mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier, análisis termogravimétrico, microscopía electrónica de barrido y ensayos reológicos. Adicionalmente, se realizaron mediciones de la cinética de hinchamiento a 25°C y 37°C, en soluciones búfer (pH 4.5 y pH 7.4) y fluido vaginal simulado. Se evaluó la cinética de liberación *in vitro* de metronidazol a temperatura fisiológica. Los resultados demostraron el potencial del sistema PNIPAAm/PMVE-*alt*-MA para el suministro de metronidazol en la mucosa vaginal.

ABSTRACT

The most common treatment for bacterial vaginosis is the topical administration of metronidazole. This drug is marketed in creams, vaginal washings and suppositories. However, traditional presentations fail to guarantee the permanence requirements of the drug carrier in the vaginal mucosa due to factors such as the orthostatic posture, which can lead to deficient therapies or unnecessary waste of the drug.

The poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAAm) is one of the most used polymers in the production of hydrogels due to its temperature sensitivity. The phase transition temperature of the PNIPAAm is around 32°C, which suggests its possible thermosensitive response at physiological temperatures. Furthermore, the copolymer poly(methyl vinyl ether-*alt*-maleic anhydride) (PMVE-*alt*-MA) has been used for biomedical applications due to its biocompatibility and mucoadhesive properties, which optimizes the interactions of the material with biological substrates and allows its retention at the application site.

In this work, we report the synthesis and characterization of semi-interpenetrating networks of PNIPAAm and PMVE-*alt*-MA, as thermosensitive platforms with adherent properties for the controlled delivery of metronidazole. The hydrogels were obtained by *in situ* polymerization of N-isopropylacrylamide in the presence of different concentrations of copolymer in aqueous solutions. The resulting materials were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy, thermogravimetric analysis, scanning electron microscopy and rheological assays. Additionally, the swelling kinetics were measured at 25°C and 37°C in both buffer medium (pH 4.5 and pH 7.4) and in simulated vaginal fluid. The *in vitro* release kinetics of metronidazole were obtained at physiological temperature. The PNIPAAm/PMVE-*alt*-MA system exhibits attractive features for the metronidazole delivery in the vaginal mucosa environment.

INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas, el interés sobre los materiales poliméricos ha aumentado considerablemente, principalmente en el área de la biomedicina. Esto debido a que se pueden modular las propiedades de los polímeros y desarrollar materiales biocompatibles que pueden interactuar favorablemente con el sistema biológico. El término biocompatibilidad en el caso de los materiales poliméricos se refiere a la tolerancia por parte del organismo a dicho material, además, a la estabilidad química y física durante el tiempo en que el material polimérico se encuentre en contacto con el organismo (Katime *et al.*, 2004; Pérez, 2015).

Los materiales poliméricos diseñados para ser empleados en el área biomédica pueden responder a determinados estímulos internos o externos, este tipo de materiales también son conocidos como sistemas inteligentes. Estos sistemas presentan cambios significativos en sus propiedades químicas y/o físicas en respuesta a las condiciones del medio que los rodea, como variaciones en la temperatura, pH, campo eléctrico, campo magnético, entre otros (Escobar *et al.*, 2002; Kost y Langer, 2001; Teichmann *et al.*, 2015).

Los hidrogeles se encuentran dentro de los materiales con capacidad de respuesta a estímulos. Estos sistemas son redes tridimensionales entrecruzadas de polímeros de origen sintético y/o natural, caracterizados por la capacidad de absorber agua sin perder su forma y por tener propiedades físicas similares a las de los tejidos vivos. Debido a la biodegradabilidad y biocompatibilidad de los polímeros que conformen el hidrogel, estos materiales pueden ser considerados promisorios para su implementación en sistemas de liberación controlada de fármacos, donde destacan los hidrogeles con respuesta a los cambios de temperatura (Mahinroosta *et al.*, 2018; Varaprasad *et al.*, 2017).

Dentro de los polímeros más empleados en la elaboración de hidrogeles sensibles a la temperatura se encuentra la PNIPAAm. Este polímero puede ser empleado en el diseño de materiales de interés biomédico, debido a que presenta una temperatura crítica inferior de disolución (*LCST*) de aproximadamente 32°C en solución acuosa, la cual es cercana a la temperatura corporal (37°C). Como consecuencia de la *LCST*, la PNIPAAm puede presentar cambios en su estructura en función de la temperatura. A temperaturas mayores de la *LCST*, un hidrogel de PNIPAAm colapsa por deshidratación de las cadenas poliméricas. Por el contrario, cuando la temperatura es menor a la *LCST*, el material se hidrata y las cadenas adquieren una conformación preferencial extendida (Alf *et al.*, 2011; Carrero, 2015; Patra *et al.*, 2016).

Sin embargo, los hidrogeles monocomponentes de PNIPAAm presentan pobres propiedades mecánicas, particularmente, una baja resistencia a la tensión; además, pueden presentar problemas de biocompatibilidad y biodegradabilidad dentro del organismo. En este sentido, es de interés la combinación de la PNIPAAm con otros polímeros para formar hidrogeles híbridos que conserven sus propiedades termosensibles y superen las mencionadas limitaciones (Coronado *et al.*, 2011; Soledad, 2013).

Dentro de los polímeros aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos (*FDA* por sus siglas en inglés) se encuentra el copolímero poli(metil vinil éter-*alt*-anhídrido maleico) (PMVE-*alt*-MA). Este polímero se ha utilizado en sistemas poliméricos para potenciar las propiedades de biocompatibilidad y biodegradabilidad de los materiales. Además, las formulaciones basadas en PMVE-*alt*-MA son reconocidas por presentar propiedades bioadhesivas que son activadas en presencia de humedad tras la hidrólisis del anhídrido. Lo anterior resulta útil en la elaboración de materiales adhesivos para la administración localizada de fármacos (Demir *et al.*, 2017).

En el 2015, Teichmann *et al.*, prepararon películas compuestas por PNIPAAm/PMVE-*alt*-MA/PMVE mediante irradiación con un haz de electrones, que se emplearon en el cultivo de células endoteliales de tejido córneo. Se evaluó la adhesión y viabilidad celular obteniendo resultados favorables; las células que se adhirieron a las películas mantuvieron una morfología y funcionabilidad apropiada.

El interés en el uso de polímeros bioadhesivos como componentes de sistemas de liberación controlada de fármacos ha ido en aumento debido a las ventajas que este tipo de materiales presentan; por ejemplo, la posibilidad de que el material se mantenga en contacto con las superficies de mucosas durante periodos prolongados de tiempo y de retener el fármaco en un sitio en específico. Estas características permiten superar los inconvenientes de los sistemas de administración de fármacos tradicionales, favoreciendo la biodisponibilidad de algunos fármacos en zonas específicas y evitando la degradación enzimática, así como controlando los efectos secundarios inherentes a los fármacos (Demir *et al.*, 2017). En particular, los tratamientos usados para combatir la vaginosis bacteriana se basan en la administración tópica de metronidazol mediante el uso de formulaciones basadas en cremas, geles o supositorios, los cuales no garantizan su permanencia debido a diversos factores como la postura ortostática, disminuyendo el tiempo de permanencia en el sitio aplicado y la efectividad del tratamiento. Debido a esto se propone el uso de formulaciones mucoadhesivas las cuales permitan una retención prolongada en el sitio de

aplicación, aumentando la disponibilidad del compuesto activo y mejorando la efectividad del tratamiento (Perioli *et al.*, 2009).

Con base en los reportes de la literatura que muestran que los hidrogeles de PNIPAAm son candidatos para ser empleados en aplicaciones biomédicas, debido a que pueden experimentar una transición de fase a condiciones de temperatura y pH fisiológicos; y a los estudios en los que se demuestra que el uso de PMVE-*alt*-MA proporciona características de bioadhesividad a los hidrogeles y que este material ha sido aprobado por la FDA para implementarse en dispositivos médicos, resulta promisorio la elaboración de hidrogeles compuestos por dichos polímeros con la finalidad de que puedan ser empleados como sistemas de liberación controlada de metronidazol en la mucosa vaginal (Pei *et al.*, 2003; Teichmann *et al.*, 2015). Es importante mencionar que no se han encontrado a la fecha, reportes en la literatura sobre la elaboración de hidrogeles compuestos de PNIPAAm y PMVE-*alt*-MA

En el presente trabajo se prepararon redes semi-interpenetradas (semi-IPNs) de PMVE-*alt*-MA en una matriz entrecruzada de PNIPAAm y se evaluó su potencialidad para la liberación controlada de metronidazol en condiciones simuladas de la cavidad vaginal. Se prepararon hidrogeles con diferente proporción de sus precursores poliméricos y se caracterizaron mediante espectroscopia FTIR, análisis termogravimétrico, microscopia electrónica de barrido y ensayos reológicos. El comportamiento termosensible se evaluó mediante mediciones de las cinéticas de hinchamiento a temperaturas de 25 y 37°C en soluciones búfer pH 7.4, pH 4.5 y fluido vaginal simulado (FVS). Se obtuvieron las cinéticas de liberación de metronidazol desde las semi-IPNs a 25°C y 37°C en solución búfer a pH 4.5 y en FVS, a partir del estado xerogel. Los estudios demostraron el potencial del sistema PNIPAAm/PMVE-*alt*-MA para ser aplicado en el suministro de metronidazol en mucosa vaginal para el tratamiento de la vaginosis bacteriana.

HIPÓTESIS

Los sistemas poliméricos de redes semi-interpenetradas de poli(N-isopropilacrilamida) y poli(metil vinil éter-*alt*-anhídrido maleico) presentan potencialidad como sistemas termosensibles en la liberación controlada de metronidazol en ambiente vaginal.

OBJETIVOS

Objetivo General

Sintetizar y caracterizar redes semi-interpenetradas de poli(N-isopropilacrilamida) y poli(metil vinil éter-*alt*-anhídrido maleico), así como evaluar su potencialidad en la liberación controlada de metronidazol en condiciones simuladas de la mucosa vaginal.

Objetivos Particulares

- Preparar redes semi-interpenetradas de poli(N-isopropilacrilamida) y poli(metil vinil éter-*alt*-anhídrido maleico) de diferente composición.
- Caracterizar estructuralmente los hidrogeles mediante las técnicas de FTIR, TGA, SEM y ensayos reológicos.
- Evaluar el hinchamiento de las redes poliméricas semi-interpenetradas con respuesta al pH y a la temperatura.
- Estudiar el comportamiento de los hidrogeles en la liberación de metronidazol a diferentes temperaturas en solución búfer y en fluido vaginal simulado.

ANTECEDENTES

Hidrogeles

En 1960, Wichterle y Lim informaron sobre la copolimerización del metacrilato de 2-hidroxietilo (HEMA) con dimetacrilato de etileno, desde entonces múltiples investigaciones se han centrado en el desarrollo de hidrogeles debido a sus aplicaciones en diferentes campos de estudio. Los hidrogeles son materiales blandos con una estructura de red tridimensional basada en polímeros reticulados que permiten la absorción de cantidades significativas de agua manteniendo la integridad estructural, lo que los hace ideales como biomateriales para uso clínico. (Demir *et al.*, 2017; Larrañeta *et al.*, 2018).

Dependiendo de las propiedades del polímero y las condiciones experimentales (Figura 1), las estructuras de red de los hidrogeles se pueden formar a partir de polímeros naturales, sintéticos o una mezcla de ambos, reticulados por interacciones químicas o físicas. Su capacidad para absorber líquidos se debe a la presencia de grupos de carácter hidrofílico en las cadenas de los polímeros empleados para su elaboración, como grupos amino y carboxilo. Debido a esta característica, los hidrogeles exhiben propiedades de interés como capacidad de hinchamiento, permeación, capacidad de almacenamiento, biocompatibilidad, entre otras. Por otro lado, los segmentos hidrofóbicos en las cadenas de los polímeros pueden controlar la velocidad de hinchamiento y las propiedades mecánicas de los hidrogeles (Coronado *et al.*, 2011; Ferreira *et al.*, 2018; Mahinroosta *et al.*, 2018; Maji *et al.*, 2018).

El comportamiento biocompatible de los hidrogeles se atribuye a la naturaleza de sus precursores poliméricos y a su capacidad para simular al tejido humano debido al alto contenido de agua que puede contener la estructura, su consistencia suave, baja toxicidad y estabilidad química. Estas características promueven la aplicación de estos sistemas para diversos fines biomédicos como sistemas de liberación de fármacos, ingeniería de tejidos, recubrimiento de heridas, lentes de contacto, etc. (Das *et al.*, 2015; Gao *et al.*, 2013; Haq *et al.*, 2017; Ju *et al.*, 2001; Malasquez, 2015)

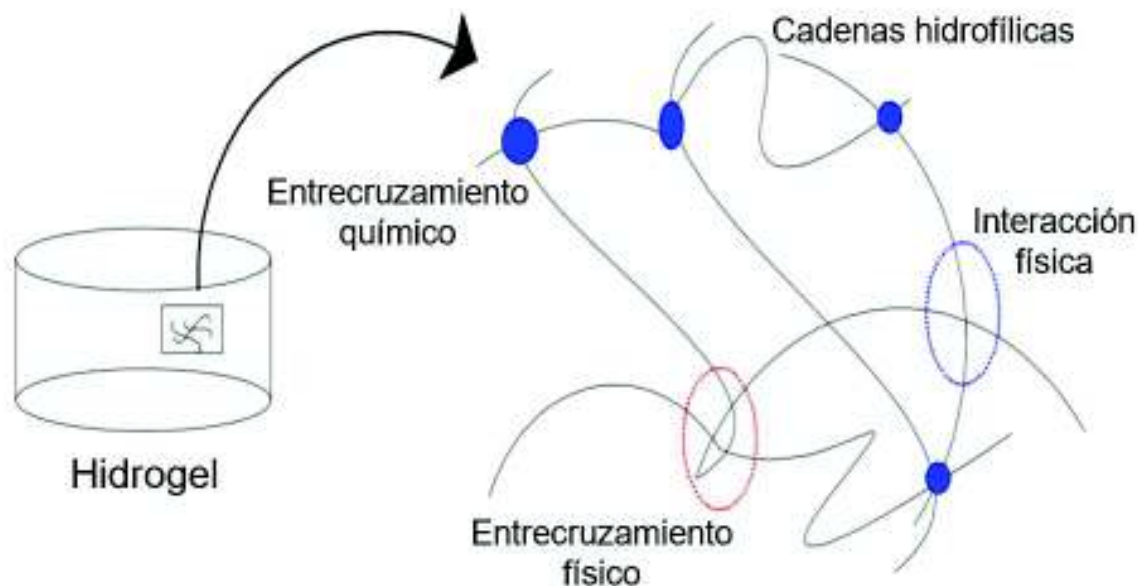


Figura 1. Representación esquemática de los hidrogeles.

Clasificación de los Hidrogeles

Los hidrogeles se pueden clasificar de acuerdo con diferentes parámetros. La Tabla 1 resume los diferentes tipos de clasificación.

Tabla 1. Clasificación de hidrogeles con base en diferentes parámetros.

| Clasificación de Hidrogeles | | | | | |
|-----------------------------|--------------------|--------------|-----------------|------------|-----------|
| Reticulación | Método de síntesis | Carga iónica | Estructura | Tamaño | Origen |
| Químico | Homopolimérico | Aniónico | Amorfo | Macrogeles | Sintético |
| Físico | Copolimérico | Catiónico | Semi-cristalino | Microgeles | Natural |
| | Multipolimérico | Neutro | | Nanogeles | Híbrido |
| | | Anfolítico | | | |

Particularmente, con base en la reticulación o unión de la red tridimensional, se pueden clasificar en dos categorías:

- **Hidrogeles físicos:** Están formados por una red tridimensional que se mantiene unida por interacciones o enlaces no covalentes reversibles, generalmente del tipo van der Waals o puentes de hidrógeno.

- **Hidrogeles químicos:** Su red polimérica está formada por enlaces covalentes cuya ruptura implica la degradación del gel. A diferencia de los hidrogeles físicos, el entrecruzamiento químico no es reversible con la temperatura (Pérez, 2015).

En lo que respecta al hinchamiento, la entrada de agua a la estructura polimérica de los hidrogeles químicos no es capaz de romper los sitios de reticulación, a diferencia de lo que ocurre en los hidrogeles físicos, donde el mecanismo de solvatación puede llegar a escindir la unión entre las cadenas a medida que se introduce el agua a la red (Pérez, 2015).

De acuerdo con el origen de los polímeros que conforman el hidrogel, estos se pueden clasificar en hidrogeles naturales, sintéticos o híbridos.

- **Hidrogeles sintéticos:** son atractivos debido a que sus propiedades mecánicas, estructurales y fisicoquímicas pueden ser fácilmente controladas y reproducidas en el laboratorio.
- **Hidrogeles naturales:** Las principales ventajas de los polímeros de origen natural son su amplia disponibilidad, biocompatibilidad, biodegradabilidad y bajo costo. La principal desventaja de los polímeros naturales es que no tienen buenas propiedades mecánicas
- **Hidrogeles híbridos:** La mezcla de polímeros naturales y sintéticos pueden formar hidrogeles con características deseables como: biocompatibilidad, mejora de sus propiedades fisicoquímicas y mecánicas comparadas con las de sus componentes individuales.

Dependiendo del método de preparación los hidrogeles pueden ser clasificados como:

- **Redes homopoliméricas:** Son redes reticuladas por un único tipo de unidad de monómero hidrofílico.
- **Redes copoliméricas:** Se producen por el entrecruzamiento de cadenas formadas por dos unidades monoméricas, al menos una de las cuales debe ser hidrofílica.
- **Redes multipoliméricas:** Se producen a partir de tres o más comonómeros que reaccionan entre sí.

Según la naturaleza de sus grupos laterales, los hidrogeles pueden ser neutros (sin carga), aniónicos (carga negativa), catiónicos (carga positiva) y anfóteros (ambas cargas). Estos pueden mostrar carga positiva, negativa o neutra según el pH en que se encuentren (Mahinroosta *et al.*, 2018; Ratner *et al.*, 2013).

En función de las características estructurales de la red, los hidrogeles pueden ser clasificados como amorfos (reticulación covalente) o semi-cristalinos (con o sin reticulación covalente). En los hidrogeles amorfos las cadenas macromoleculares están dispuestas aleatoriamente, en cambio los hidrogeles semi-cristalinos se caracterizan por regiones donde las cadenas se auto-ensamblan, formando estructuras ordenadas (Ratner *et al.*, 2013).

En función de su forma y tamaño, los hidrogeles pueden formar sistemas coloidales y según el tamaño de partícula se clasifican en:

- **Macrogeles:** Geles en el orden de milímetros a centímetros.
- **Microgeles:** Geles en el orden de micrómetros.
- **Nanogeles:** Geles en el orden de nanómetros.

Esta característica determina la ruta de administración en que pueden emplearse los hidrogeles como sistemas de liberación de fármacos (Mahinroosta *et al.*, 2018).

Síntesis de los Hidrogeles

Los hidrogeles se pueden preparar a partir de polímeros sintéticos y/o polímeros naturales. Los polímeros sintéticos por lo general son de naturaleza hidrofóbica y químicamente más estables en comparación con los polímeros naturales. Su estabilidad química da como resultado una velocidad de degradación lenta y permite conservar la resistencia mecánica e integridad física del sistema por mayor tiempo, proporcionando mayor durabilidad. Cualquier técnica que pueda usarse para generar un polímero reticulado puede ser empleada para producir un hidrogel. Las polimerizaciones de entrecruzamiento por radicales libres se usan comúnmente para producir hidrogeles haciendo reaccionar monómeros hidrófilos con entrecruzantes multifuncionales (Escobar *et al.*, 2002; Pérez, 2010).

Los hidrogeles se pueden formar mediante reacciones simultáneas de polimerización y entrecruzamiento. En estos casos, se requiere de tres componentes, monómero, iniciador y entrecruzante. Para controlar el calor de polimerización y las propiedades finales de los hidrogeles, se pueden usar diluyentes, tales como agua o mezclas acuosas, que posteriormente pueden ser retiradas de la estructura durante la formación del xerogel. Luego, el hidrogel obtenido debe lavarse para eliminar las impurezas que quedan del proceso de preparación. Estas incluyen monómero no reaccionado,

iniciadores, entrecruzantes y productos no deseados producidos mediante reacciones secundarias (Escobar *et al.*, 2002; Pérez, 2010).

Las propiedades del hidrogel dependen en gran medida de las características de los monómeros que lo forman. En dependencia del tipo de aplicación para la cual es diseñado, se puede elegir entre un gran número de monómeros. Estos monómeros se dividen en tres categorías:

- Monómeros con sustituyentes laterales no ionizables como: acrilamida, N-vinilpirrolidona, metacrilato de 2-hidroxietilo, entre otros.
- Monómeros con grupos funcionales ionizables como: los ácidos acrílicos, metacrílico, estiren-sulfónico, vinil sulfónico, e itacónico, aminas, entre otros.
- Monómeros con grupos laterales cargados zwitteriónicos o sales internas, donde el sustituyente lateral consiste en dos grupos cargados y unidos a la cadena principal (Escobar *et al.*, 2002; Pérez, 2010).

Independientemente del tipo de polimerización y monómeros a utilizar, es necesario emplear un agente iniciador que desencadene la reacción de polimerización. Entre el tipo de iniciadores empleados en la síntesis de polímeros se encuentran:

- **Iniciadores formadores de radicales libres:** producen la formación de radicales libres tras experimentar una rotura homolítica del enlace covalente que contienen. Se emplean comúnmente peróxidos y compuestos azo.
- **Iniciadores iónicos:** producen iones como centros activos propagadores de la cadena polimérica. Estos iones pueden ser carbocationes o carbaniones dependiendo del tipo de iniciador.
- **Radiación gamma:** induce la reacción de polimerización mediante el mismo mecanismo de iniciación por radicales libres, pero sin el empleo de iniciadores químicos (Seymour y Carraher, 2013).

Existen varios métodos de entrecruzamiento de la cadena polimérica, como son:

- **Entrecruzamiento por radiación:** se emplea radiación ionizante de alta energía, como los rayos gamma, rayos X, luz ultravioleta o emisión de electrones para excitar el polímero y producir la estructura entrecruzada.
- **Reacción química:** reacción de polimerización o copolimerización y entrecruzamiento, entre uno o más monómeros y un agente entrecruzante, el cual puede ser un monómero multifuncional que posee varios grupos reactivos en su estructura (usualmente se utilizan bifuncionales o tetrafuncionales). El entrecruzante

se une a la cadena principal formada por los monómeros a través de sus grupos multifuncionales (Ahmed, 2013; Pérez, 2010).

Los hidrogeles se sintetizan comúnmente mediante la polimerización de un monómero hidrofílico con entrecruzamiento simultáneo o vía post-polimerización, la modificación del carácter hidrofílico de un polímero con potencial para la formación de un hidrogel o mediante el hinchamiento de una estructura entrecruzada del primer polímero en una solución que contenga grandes cantidades del segundo polímero (Pérez, 2010).

Propiedades de los Hidrogeles

Las propiedades de los hidrogeles son consecuencia de diversos factores:

- Su carácter hidrofílico es debido a la presencia en su estructura de grupos polares (-OH, -COOH, -CONH₂, -CONH, -SO₃H).
- No se disuelven en agua debido a la red polimérica tridimensional que forma su estructura la cual proporciona integridad física y resistencia mecánica. El entrecruzamiento en los hidrogeles se puede generar mediante enlaces covalentes y fuerzas intermoleculares como puentes de hidrógeno, van der Waals, interacciones iónicas, hidrofóbicas, entre otras.
- La consistencia suave y elástica está determinada por el monómero hidrófilo y la baja densidad de entrecruzamiento del polímero.
- El estado de equilibrio del hidrogel hinchado es el resultado del balance entre las fuerzas osmóticas, originadas por el agua al entrar a la matriz polimérica y las fuerzas cohesivas, que mantienen unidas a las cadenas poliméricas y que se oponen a esta expansión (Pérez, 2015; Soppimath *et al.*, 2002).
- Pueden presentar propiedades de adhesividad dependiendo de los polímeros empleados para la síntesis (García del Rio *et al.*, 2019).

Propiedades de Bioadhesividad

La bioadhesión se refiere a la unión de macromoléculas sintéticas o naturales a un tejido biológico. La mucoadhesión se considera un caso particular de bioadhesión, cuando la adhesión ocurre entre un material y glucoproteínas mucosas (mucina) o membranas mucosas (Palmeira de Oliveira *et al.*, 2015).

El diseño de las formulaciones bioadhesivas está enfocado al desarrollo de productos con alta biocompatibilidad. Los polímeros principalmente empleados cuentan con baja toxicidad, biocompatibilidad con el tejido y alta resistencia elástica. Con referencia a las teorías de la mucoadhesión, varios grupos estructurales y funcionales de polímeros pueden tener un efecto sobre la probabilidad y el grado de interacción polímero/moco. El potencial para la modificación o el control de tales propiedades poliméricas puede permitir la adaptación específica de los sistemas mucoadhesivos de suministro. Los polímeros mucoadhesivos tienen numerosos grupos hidrofílicos, como hidroxilo, carboxilo, amida y sulfato. Estos grupos se unen al moco o la membrana celular mediante diversas interacciones, como puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas o electrostáticas. Estos grupos hidrofílicos también hacen que los polímeros se hinchen en agua y, por lo tanto, exponen el número máximo de sitios adhesivos (Andrews *et al.*, 2009; Zhu *et al.*, 2018).

El empleo de polímeros mucoadhesivos como base para la formulación de hidrogeles permite aumentar el tiempo de retención de la formulación en el sustrato biológico, así como aumentar la biodisponibilidad y promover mejores efectos locales o sistémicos para el desarrollo de nuevos sistemas de administración de fármacos. (de Souza Ferreira *et al.*, 2017, Perioli *et al.*, 2009)

Un polímero ideal para un sistema bioadhesivo de administración de fármacos debe cumplir con diferentes características. El polímero y sus productos de degradación no deben ser tóxicos ni absorbibles, debe ser no irritante, tener la capacidad de adherirse rápidamente al tejido húmedo y poseer cierta especificidad del sitio. Además, el sistema polimérico debe permitir la fácil incorporación del fármaco y no obstaculizar su liberación. El polímero no debe descomponerse en almacenamiento o durante la vida útil de la forma de dosificación. El costo del polímero no debe ser alto para que la forma de dosificación preparada siga siendo competitiva. Se ha reportado el uso de polietilenglicol, polivinilalcohol, polivinilpirrolidona, quitosano, PMVE-*alt*-MA, entre otros, como polímeros ideales para la preparación de materiales con propiedades adhesivas (Andrews *et al.*, 2015, Donnelly *et al.*, 2011; Perioli *et al.*, 2009; Teichmann *et al.*, 2015).

PMVE-*alt*-MA. El PMVE-*alt*-MA es un copolímero sintético de metilviniléter y anhídrido maleico. Cuando el anillo de anhídrido maleico se hidroliza, se genera la forma ácida con dos grupos carboxilos libres (Figura 2). De acuerdo con la teoría de la adsorción que explica el fenómeno de la adhesión, los grupos carboxílicos mejoran la capacidad del

polímero para formar enlaces por puente de hidrógeno con componentes de la mucosa, además de proporcionar características polianiónicas (Arbos, 2003; Demir *et al.*, 2017; Sachan *et al.*, 2014)

Este polímero fue aprobado por la *FDA* debido a sus características de biodegradabilidad y baja toxicidad. Dichas características han resultado en su uso generalizado en la industria farmacéutica y cosmética. Se ha utilizado como componente en implantes biomédicos donde la retención en el sitio de aplicación es importante, por ejemplo, como tabletas bucales mucoadhesivas, implantes mucoadhesivos periodontales y sistemas transdérmicos de micro-agujas. En tales aplicaciones, se ha demostrado que la mucoadhesión mejora la retención del implante en el sitio de aplicación, lo que facilita la liberación controlada del fármaco en un sitio específico (Chabra *et al.*, 2013).

En el 2017, Mira *et al.*, reportaron la elaboración de nanofibras electrohiladas de PMVE-*alt*-MA con capacidad de contener fármacos. Por otra parte, Jones *et al.*, en el 2016, describieron la formulación de redes de PMVE-*alt*-MA y polivinilpirrolidona para emplearse como implantes orales con fines farmacéuticos. Además, en 2017, Iglesias *et al.*, sintetizaron nanopartículas basadas en PMVE-*alt*-MA, las cuales fueron capaces de establecer interacciones bioadhesivas con células Caco-2 que consideraron de baja toxicidad para el organismo.

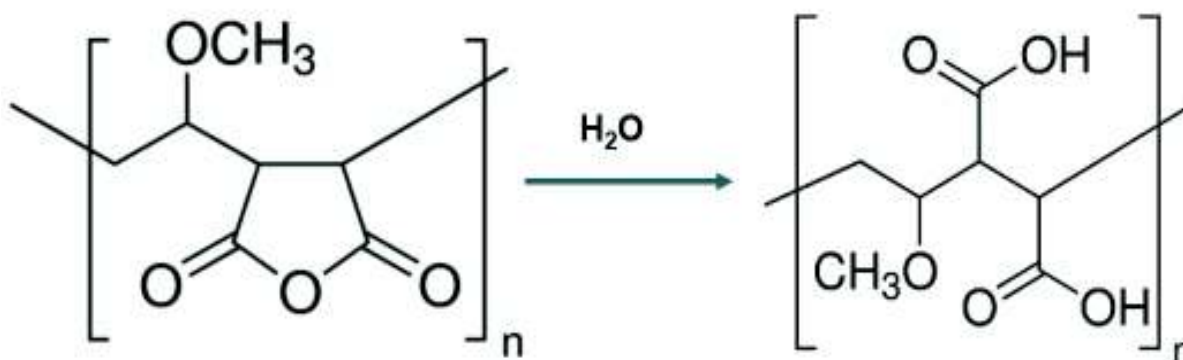


Figura 2. Hidrólisis de PMVE-*alt*-MA a su forma ácida.

Respuesta Sensible a Estímulo

Los hidrogeles pueden sufrir cambios en su estructura en respuesta a estímulos externos en un corto tiempo como resultado de la funcionalidad de los monómeros en su estructura.

Esto ha permitido que el hidrogel reaccione a dichos estímulos provocando su hinchamiento, contracción o decoloración (Figura 3) (Mahinroosta *et al.*, 2018; Qureshi *et al.*, 2019).

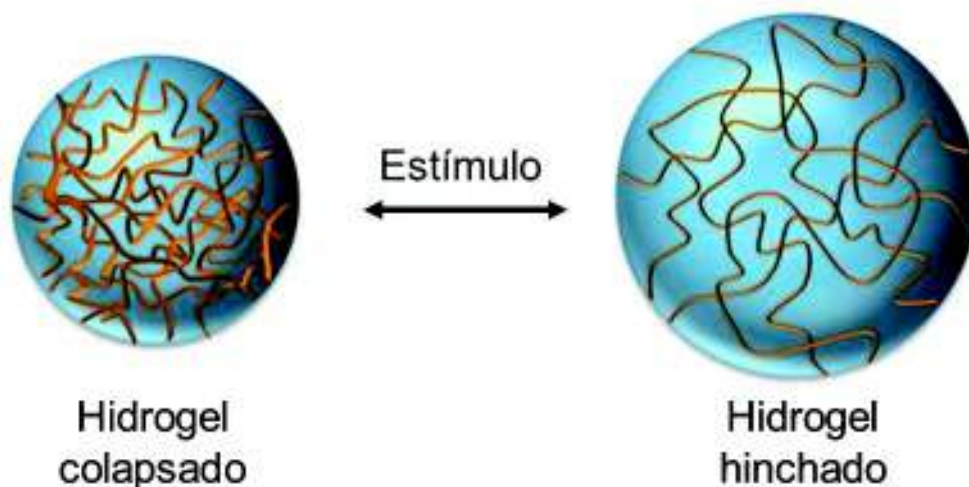


Figura 3. Representación esquemática del cambio reversible de los hidrogeles en presencia de un estímulo externo.

Esta propiedad de los hidrogeles los hace promisorios en aplicaciones farmacéuticas, así como en la agricultura, entre otros campos de la industria. Por lo general, la mayoría de los estudios realizados en hidrogeles acerca de la respuesta a estímulos se basan en los efectos de pH y temperatura ya que ambas condiciones son variables inherentes a los sistemas fisiológicos. Algunos de los estímulos externos que influyen en el hinchamiento de los hidrogeles se enlistan en la Tabla 2 (Pérez, 2010; Schmaljohann, 2006).

Tabla 2. Estímulos externos que influyen en el hinchamiento de hidrogeles sensibles.

| Estímulo | Tipo de hidrogel | Mecanismo |
|-----------------|-------------------------|---|
| pH | Ácido o básico | Cambios en el pH causa hinchamiento del hidrogel. |

| | | |
|---------------------------------------|------------------------------------|---|
| Temperatura | Termosensible | Cambio en la temperatura causa cambio en las interacciones polímero-polímero y solvente-polímero, produciendo cambio en hinchamiento. |
| Agentes químicos o bioquímicos | Con grupos aceptores de electrones | Compuestos donantes de electrones causan transferencia de carga. Esto causa un cambio en hinchamiento. |
| Fuerza iónica | Iónico | Cambio de fuerza iónica provoca cambios en concentración de iones dentro del gel, cambia el hinchamiento del hidrogel. |
| Campo eléctrico | Polielectrolito | Cuando se aplica campo magnético cambia la porosidad del gel, así como el hinchamiento y liberación del fármaco. |

Sensibles a pH. Cuando un hidrogel presenta grupos funcionales ionizables puede presentar sensibilidad a cambios de pH del medio; mientras que, si no posee algún grupo funcional ionizable, el pH no tendrá efecto significativo sobre su estructura. La variación del pH del medio induce cambios en el grado de ionización de los polímeros, y por tanto, se producen variaciones en el grado de hinchamiento del hidrogel. En general, cuando los cambios de pH producen la ionización de grupos funcionales, se incrementa la repulsión electrostática entre las cadenas y ocurren cambios en la tensión superficial, por lo que la absorción del medio acuoso se incrementa causando así la expansión del hidrogel y de esta manera la liberación del fármaco. En la Tabla 3 se enlistan algunos grupos funcionales que son sensibles a los cambios de pH.

Tabla 3. Grupos funcionales sensibles a los cambios de pH.

| | | | | | | | | | |
|-------------------|-------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Aniónicos | -COO ⁻ | -OPO ₃ ⁻ | -OSO ₃ ⁻ | -SO ₃ ⁻ | -OCS ₃ ⁻ | -OPO ₃ ²⁻ | -PO ₃ ²⁻ | -OPO ₂ ²⁻ | -SiO ₂ ²⁻ |
| Catiónicos | -N ⁺ | -NH ⁺ | -NH ₂ ⁺ | NH ₃ ⁺ | -NRNH ₂ ⁺ | -NR ₂ H ⁺ | -NR ₃ ⁺ | -S ⁺ | -P ⁺ |

Si el hidrogel presenta en su estructura grupos funcionales aniónicos, al aumentar el pH del medio a valores mayores que el pKa de sus grupos (pH más básicos), el grado de ionización se incrementará y, por lo tanto, el número de cargas será mayor al igual que la repulsión electrostática entre las cadenas, provocando de esta manera que el grado de hinchamiento e hidrofilia de la red aumenten (Figura 4). Por otro lado, si el hidrogel presenta grupos funcionales catiónicos, en medios con pH menores al pKa de sus grupos (pH más ácidos), el grado de ionización se incrementará, aumentando la repulsión electrostática entre las cadenas de polímeros y el grado de hinchamiento de la red (Arredondo & Londoño, 2009; Maji *et al.*, 2018).

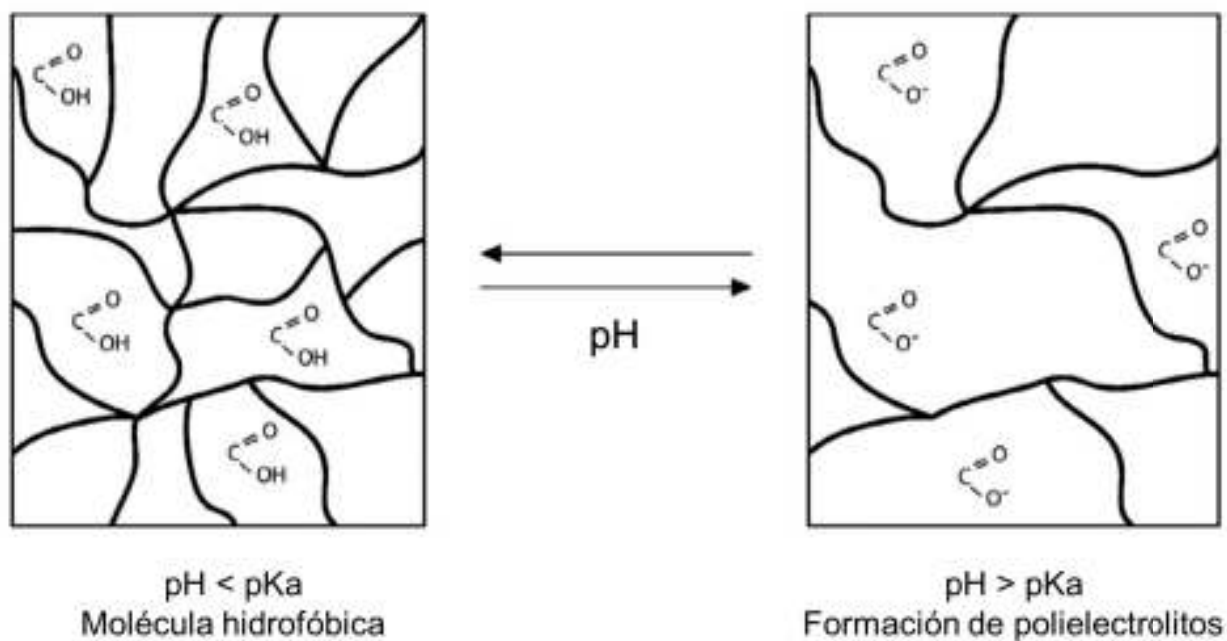


Figura 4. Respuesta de un hidrogel aniónico a las variaciones de pH.

El cuerpo humano exhibe cambios sustanciales de pH en diferentes partes del cuerpo cuando funciona normalmente (Figura 5). Algunos estados de enfermedad también

pueden causar cambios de pH en el cuerpo humano. Por ejemplo, dentro del cuerpo de las mujeres, mientras que la mucosa vaginal saludable es un ambiente ácido (pH 4-5), las infecciones vaginales pueden aumentar este valor haciéndolo más básico (pH 7-7.5). La diferencia de valores de pH entre los distintos sitios anatómicos representa una oportunidad para diseñar dispositivos “inteligentes” en el contexto de las aplicaciones biomédicas y farmacéuticas (Ferreira *et al.*, 2018; Mahinroosta *et al.*, 2018).

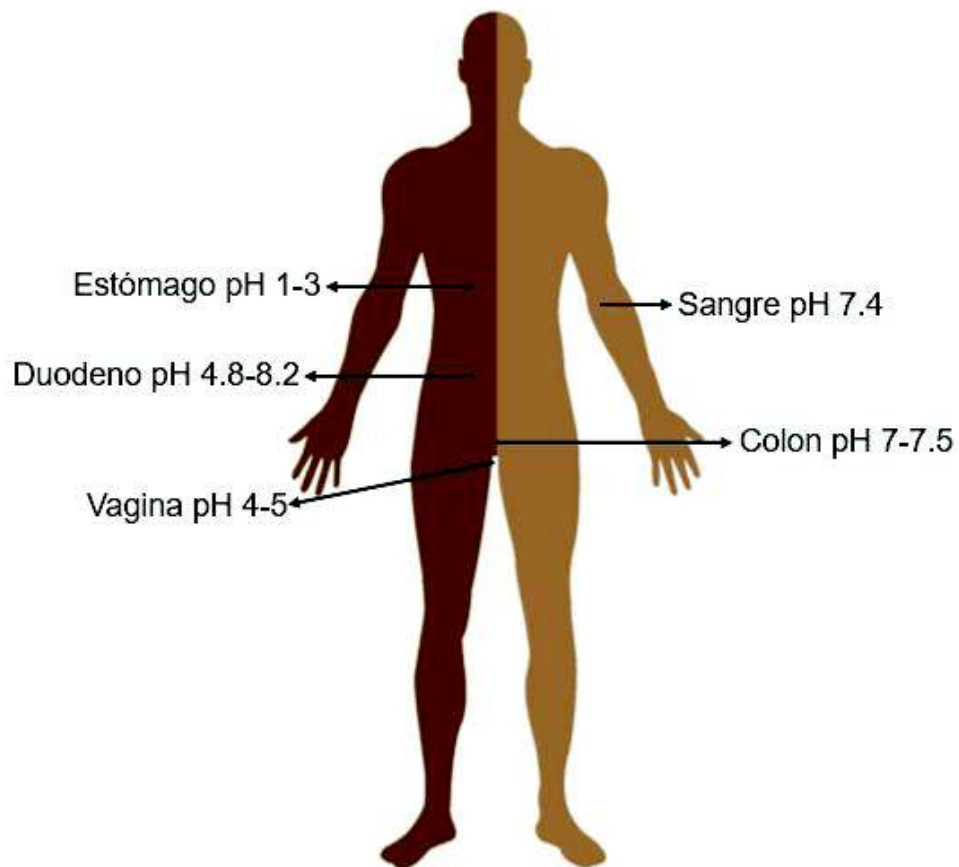


Figura 5. Valores de pH de algunos tejidos sanos en el cuerpo humano.

Sensibles a la temperatura. Si en el entorno del hidrogel se presentan cambios de temperatura, las interacciones entre polímero-polímero y polímero-solución se modificarán, ocasionando cambios en el hinchamiento del hidrogel, lo que se verá reflejado en la cinética de liberación del fármaco (Mahinroosta *et al.*, 2018).

Los sistemas termosensibles son ampliamente estudiados debido a su gran utilidad en la liberación controlada de fármacos. Existen transiciones en los hidrogeles que dependen de la temperatura (transformaciones sol-gel, transiciones de volumen de fase). Las transiciones de volumen de fase provocan que el hidrogel presente variaciones en el hinchamiento, el cual es posible regular controlando las fuerzas hidrófobas e hidrófilas (Mahinroosta *et al.*, 2018).

Algunos polímeros presentan separación de fases al superar un valor crítico de temperatura denominado “temperatura crítica inferior de disolución” (*LCST* por sus siglas en inglés). Se ha reportado que este proceso está controlado termodinámicamente por el efecto entrópico e involucra la pérdida de moléculas de agua ordenada en dominios alrededor de los grupos hidrófobos a lo largo de la estructura del polímero, aumentando la interacción polímero-polímero durante la separación de fase (Maji *et al.*, 2018). Los hidrogeles basados en PNIPAAm están dentro de los materiales que muestran cambios en su estructura debido a las variaciones de temperatura (Saez *et al.*, 2003)

En este tipo de hidrogeles cuando la temperatura del medio está por debajo de la *LCST*, las moléculas de agua están dispuestas alrededor del polímero, estableciendo enlaces por puente de hidrógeno con los grupos hidrófilos de la estructura, lo que resulta en un pequeño cambio en la entalpía, en consecuencia, una baja entropía. Por otro lado, al incrementar la temperatura por encima de la *LCST* se reduce la energía asociada a la interacción agua-polímero, permitiendo un aumento en la energía asociada a la interacción polímero-polímero. En consecuencia, el cambio en la entalpía aumenta (ΔH). Para mantener bajo el cambio en la energía libre de Gibbs y compensar este aumento en el término de ΔH , las moléculas de agua se disocian del polímero y aumenta la entropía. Por lo tanto, el polímero se deshidrata, transformándose en una estructura más hidrofóbica y, por último, provocando la separación de fases (Figura 6) (Ferrerira, 2018; Maji *et al.*, 2018).

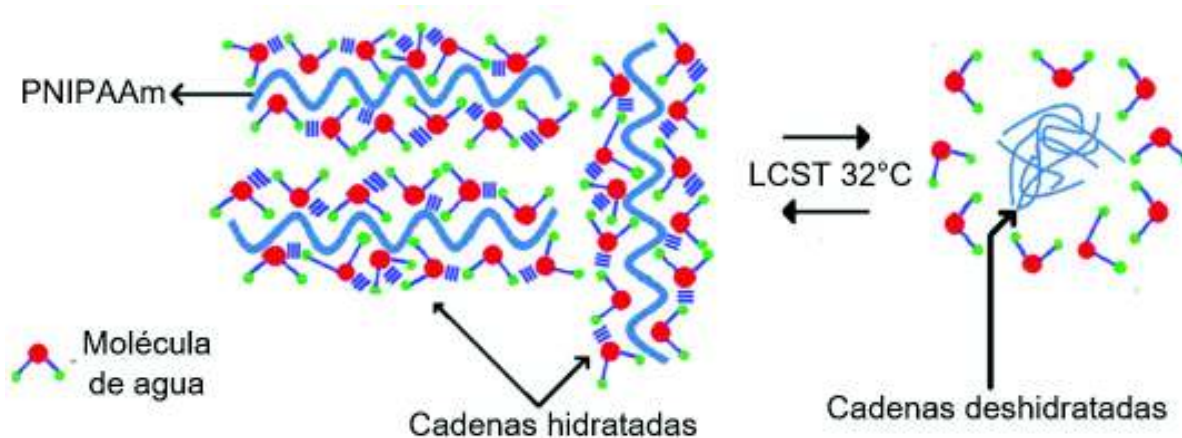


Figura 6. Efecto de la temperatura sobre la estructura polimérica de PNIPAAm.

PNIPAAm. El polímero PNIPAAm se obtiene tras una polimerización en solución acuosa por radicales libres a partir del grupo vinilo del monómero N-isopropilacrilamida utilizando iniciadores como el persulfato de potasio (Figura 7) (Ju *et al.*, 2001)

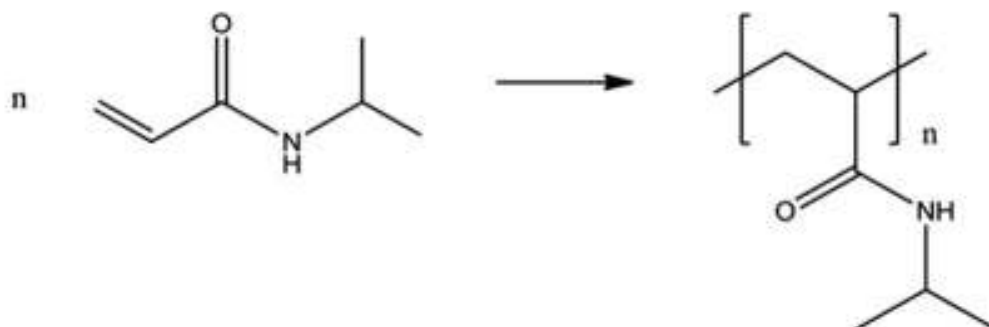


Figura 7. Polimerización de N-isopropilacrilamida para formar PNIPAAm.

Los hidrogeles basados en la PNIPAAm se encuentran entre los hidrogeles sensibles a la temperatura más estudiados. Este hidrogel exhibe una *LCST* alrededor de 32°C. Dado que la *LCST* de estos hidrogeles está cerca de la temperatura corporal, se ha propuesto su aplicación en el área biomédica y farmacéutica.

En general, la estructura de la PNIPAAm contiene grupos -NHCO- como segmentos hidrofílicos y grupos -CH(CH₃)₂- como segmentos hidrofóbicos. Cuando la temperatura del medio está por debajo de *LCST*, la hidrofiliidad del polímero aumenta, causando que sus

cadena adquieran una conformación más extendida y el hidrogel aumente su hinchamiento. Cuando la temperatura aumenta, las interacciones entre las moléculas de agua y la cadena polimérica se debilitan, mientras que la hidrofobicidad de la cadena se fortalece, lo que lleva a una contracción del hidrogel (Dimitrov *et al.*, 2007; Mahinroosta *et al.*, 2018).

Aplicaciones de los Hidrogeles Bioadhesivos y Termosensibles

En las últimas décadas, la administración de medicamentos sobre mucosas ha recibido mayor atención de la comunidad científica. El uso de hidrogeles mucoadhesivos ha sido ampliamente estudiado para ser aplicados en la administración de fármacos. Estas formulaciones pueden diseñarse para permitir una retención prolongada en el sitio de aplicación, proporcionando una tasa controlada de liberación del fármaco para un mejor resultado terapéutico. La aplicación de medicamentos a través de las mucosas puede ser una ventaja para la administración de fármacos que no son factibles de suministrarse por vía oral, debido a que puede evitarse la degradación ácida y el metabolismo de primer paso hepático. Además, el contacto entre el hidrogel mucoadhesivo y la membrana mucosa, mejora la biodisponibilidad del fármaco (Andrews *et al.*, 2009; Donnelly *et al.*, 2011; Helliwell, 1993).

La membrana mucosa es el tejido húmedo que recubre los órganos y las cavidades corporales, como la boca, el intestino, el recto, el área genital, la nariz y los párpados. Las diferencias anatómicas de la membrana mucosa en diferentes ubicaciones corporales se resumen en la Tabla 4 (Donnelly *et al.*, 2011).

Tabla 4. Características anatómicas de las membranas mucosas corporales.

| Membrana mucosa | Características anatómicas relevantes |
|------------------------|--|
| Bucal | Superficie de la mucosa bucal aproximadamente 30 cm ² . Compuesto por tres capas distintas: epitelio, membrana basal y tejidos conectivos. La mucosa bucal, sublingual, es un tejido no queratinizado del paladar blando, y la gingival es un tejido queratinizado del paladar duro. El grosor del epitelio bucal está en el intervalo de 500–800 μm, 40–50 células de grosor. Moco secretado por las glándulas salivales, como componente de la saliva, formando una capa de 0.1 a 0.7 mm de espesor. Tiempo |

de rotación del epitelio bucal de 5 a 6 días. Propiedad de barrera de permeabilidad de la mucosa oral debido a materiales intercelulares derivados de gránulos de recubrimiento de membrana.

Nasal

Superficie de la cavidad nasal 160 cm². Forrado con membrana mucosa que contiene células columnares, células calciformes y células basales. Las células columnares están cubiertas de cilios, aparte de la parte anterior de la cavidad nasal. Las células epiteliales queratinizadas y no queratinizadas están presentes dependiendo de la ubicación dentro de la cavidad nasal. Los cilios son los responsables del aclaramiento mucociliar. Moco secretado por las glándulas submucosas y las células calciformes, formando una capa de moco de aproximadamente 5–20 µm de espesor. Longitud de la cavidad nasal de aproximadamente 60 mm. Volumen de la cavidad nasal de aproximadamente 20 mL. El tiempo de rotación del moco suele ser de 10 a 15 min.

Ocular

La córnea se compone de cinco capas: epitelio, capa de Bowman, estroma, membrana de Descemet y endotelio. En el margen corneal, la conjuntiva es estructuralmente continua con el epitelio corneal. El tejido conjuntival es permeable a moléculas de hasta 20,000 Da, mientras que la córnea es impermeable a moléculas mayores de 5000 Da. La conjuntiva contiene alrededor de 1,5 millones de células calciformes, que sintetizan mucinas secretoras y péptidos. Un volumen de alrededor de 2-3 µL de mucosidad secretada diariamente. Se produce un recambio de la capa mucosa en aproximadamente 15-20 h. La parte expuesta del ojo está cubierta por una fina capa de fluido: película lagrimal precorneal.

| | |
|----------------|--|
| Rectal | Longitud de aproximadamente 15-20 cm. Superficie de aproximadamente 300 cm ² . El epitelio consta de una sola capa de células cilíndricas y células caliciformes que secretan moco. Superficie plana, sin vellosidades, y con tres pliegues principales. Aproximadamente 3 mL de moco con un pH neutro extendido sobre la superficie. |
| Vaginal | La longitud de la vagina varía de 6 a 10 cm. La capa epitelial consiste en la lámina propia y el epitelio escamoso estratificado. Se estima que un recambio celular de aproximadamente 10-15 capas es del orden de 7 días. Aunque no hay glándulas en la mucosa de la vagina, la superficie generalmente está cubierta de líquido vaginal. Los componentes principales del fluido vaginal son el moco cervical y el fluido vaginal de la mucosa bien vascularizada. El volumen, la viscosidad y el pH del moco cervical varían con la edad y durante el ciclo menstrual. |

Liberación Controlada de Fármacos

La administración de fármacos es el método o proceso de administrar un compuesto farmacéutico para lograr un efecto terapéutico. Los factores clave son administrar el fármaco en el área correcta, en el momento correcto y a la concentración adecuada (Gandhi *et al.*, 2015).

Los métodos tradicionales de administración de determinados fármacos exhiben múltiples desventajas ya que estos al distribuirse en el organismo según sus propiedades físicas, tales como solubilidad, coeficiente de partición y carga, pueden alcanzar una gran variedad de sitios en los cuales pueden encontrarse fuera de su intervalo terapéutico, ser inactivos, o que su acción sea indeseada o nociva y, por tanto, producir efectos secundarios negativos. Este tipo de administración pueden conducir a concentraciones tóxicas o ineficaces del fármaco en plasma (Pérez, 2015; Sáez *et al.*, 2003).

La investigación sobre los sistemas de administración controlada de fármacos se ha centrado principalmente en hidrogeles, debido a que no solo reducen los problemas comunes asociados con la dosificación de fármacos, sino que también proporcionan una

liberación estable y características de biocompatibilidad. La capacidad de las moléculas de diferentes tamaños para penetrar al hidrogel (cargado del fármaco) y liberarse del hidrogel (administración del fármaco) hace posible su uso como sistemas de liberación de fármacos para el uso oral, nasal, bucal, intestinal, vaginal, ocular, entre otros (Mahinroosta *et al.*, 2018).

Los sistemas de liberación controlada surgen con el objetivo de poder controlar la administración y liberación de fármacos activos, en la cantidad correcta, en el momento y lugar preciso, durante un periodo de tiempo prolongado. Un enfoque novedoso de estos sistemas persigue que el fármaco sea liberado solamente en respuesta a un cambio en el medio ambiente o estímulo externo con efectos secundarios mínimos, respuesta óptima y eficacia prolongada. Dirigir una molécula de fármaco al sitio de acción seleccionado puede disminuir la exposición de este en otros órganos y tejidos donde su acción no es necesaria (Jaiswal *et al.*, 2010; Ward y Georgiou, 2011).

Liberación de fármacos vía vaginal. La cavidad vaginal se ha empleado para el suministro de fármacos localmente activos, como antibióticos, antifúngicos, antiprotozoarios, antivirales, agentes espermicidas (anticoncepción), entre otros, debido a múltiples ventajas que ofrece sobre otras vías de aplicación. Mediante esta forma de dosificación se evita el metabolismo de primer paso hepático, se puede reducir la incidencia y gravedad de los efectos secundarios gastrointestinales, además de disminuir los efectos secundarios y evitar daño tisular (Andrews *et al.*, 2009).

Si bien la cavidad vaginal proporciona un sitio prometedor para la administración de fármacos debido a su gran área superficial, su abundante suministro de sangre y su alta permeabilidad, la retención debido a la acción de autolimpieza del tracto vaginal a menudo es problemática. Sin embargo, los tiempos de residencia dentro de la vagina tienden a ser mucho más altos que en otros sitios de absorción, como el recto o la mucosa intestinal. Otra consideración importante es el cambio en la membrana vaginal durante el ciclo menstrual y el período posmenopáusico. Además, algunas variables como la edad, los cambios hormonales, la sensibilidad cultural, la higiene personal, la especificidad de género, la irritación local y la influencia de las relaciones sexuales son importantes para determinar el rendimiento y el éxito de la forma de dosificación aplicada (Andrews *et al.*, 2009; Perioli *et al.*, 2009).

Sistemas convencionales de administración de fármacos como cremas, espumas, supositorios vaginales y geles, permanecen poco tiempo en el sitio de la aplicación y es

necesaria la administración repetida para obtener niveles efectivos del fármaco. En los últimos años, ha ido en aumento la investigación para la resolución de esta problemática enfocándose en el desarrollo de formulaciones mucoadhesivas. La principal ventaja de la aplicación de formulaciones mucoadhesivas radica en la posibilidad de mantener en la cavidad vaginal el fármaco durante periodos prolongados de tiempo, reduciendo la frecuencia de administración y, por ende, el número de dosis (Perioli *et al.*, 2009)

El mecanismo de mucoadhesión implica una etapa de contacto, en la que se producen simultáneamente tres fenómenos: hidratación, humectación y difusión. Luego, una etapa de consolidación, que implica el fortalecimiento de las interacciones polímero-mucina debido principalmente a fuerzas de van der Waals, puentes de hidrógeno o interacciones electrostáticas entre las cadenas de polímero y la capa de moco, (Figura 8) (Cascone y Lamberti, 2019).

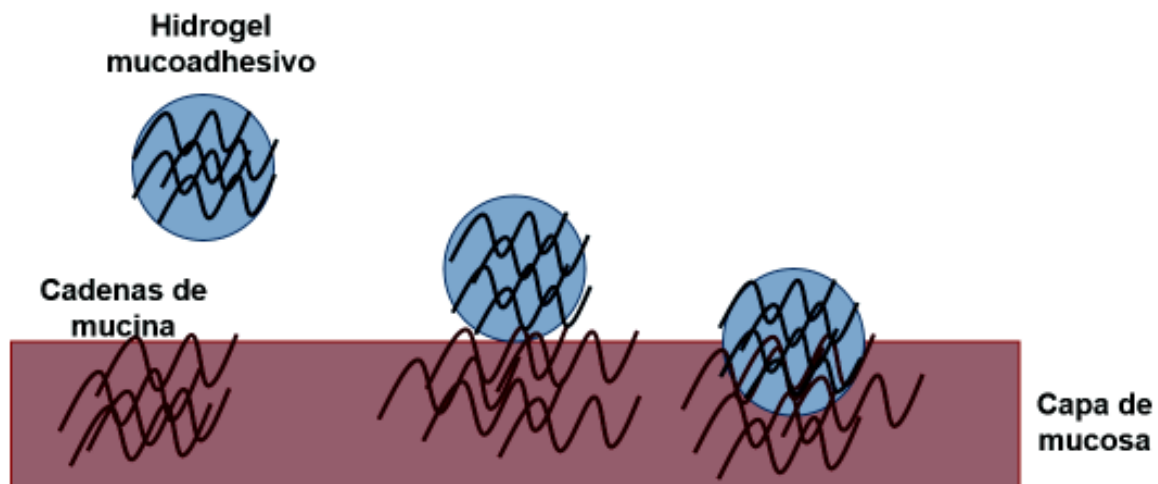


Figura 8. Interacción entre los grupos funcionales libres presentes en el hidrogel y las cadenas de mucina.

Las bacterias, hongos o virus pueden colonizar fácilmente el epitelio vaginal, causando diversas patologías, entre ellas la vaginosis bacteriana, la cual es una infección vaginal que afecta a mujeres cuyo equilibrio de microbiota normal se ve alterado y reemplazado por la colonización de bacterias anaerobias. En presencia de esta patología, la bacteria fisiológica *Lactobacillus* es prevenida por otros organismos como *Bacteroides*, *Gardnerella vaginalis*,

Peptostreptococos, *Mobiluncus*, *Ureaplasma urealyticum* y en ocasiones, *Mycoplasma hominis*. Más del 50% de las mujeres que presentan esta patología no presentan síntomas y cuando se presentan, incluyen:

- Excesivo flujo vaginal.
- Secreción vaginal con olor desagradable.
- Picazón vaginal e irritación o ardor.

Estas condiciones, a menudo confundidas con vaginitis aguda por *Candida sp*, pueden alterar el equilibrio del pH vaginal (3.8–4.5) haciéndolo más alcalino. El riesgo de contraer vaginosis bacteriana aumenta con múltiples parejas sexuales, duchas vaginales, dispositivos intrauterinos (DIU) y, en general, la infección puede transmitirse de persona a persona por contacto, con ropa, utensilios, piscinas o inodoros.

El fármaco de elección principal para la terapia de la vaginosis bacteriana es el metronidazol, administrado por vía oral o vaginal (Perioli *et al.*, 2009)

Metronidazol. El metronidazol (MET), de nombre químico: 1-(2-hidroxietil) -2-metil-5-nitroimidazol (Figura 9), es uno de los medicamentos más utilizados en todo el mundo. Se encuentra entre los 100 medicamentos más recetados en los EE. UU y es uno de los 10 medicamentos más utilizados durante el embarazo. Esta molécula se encuentra en la lista de medicamentos esenciales de la Organización Mundial de la Salud (Dobias *et al.*, 1994; Robbie y Sweet, 1983).

El MET fue introducido como tricomonocida en Europa en 1959 por Cosar y Julou. Desde entonces, sus aplicaciones clínicas han ido creciendo y ahora es el tratamiento principal para las infecciones por *Helicobacter pylori*, la amebiasis, la giardiasis, la tricomoniasis y la enfermedad de Crohn. También se ha utilizado ampliamente para tratar la vaginosis bacteriana y varias otras infecciones bacterianas anaerobias y como antibiótico profiláctico previo a intervenciones quirúrgicas (Dobias *et al.*, 1994; Robbie y Sweet, 1983).

Las dosis orales de MET se absorben rápidamente y casi por completo en el organismo humano. El MET se difunde adecuadamente en casi todos los tejidos corporales, incluido el sistema nervioso central, y se extiende ampliamente por todo el cuerpo. Los niveles séricos máximos generalmente se alcanzan en aproximadamente 1 h después de la ingestión. Su vida media es de aproximadamente 8 h y dentro de las 24 h posteriores a la ingesta, el nivel de MET en sangre es marcadamente bajo. El MET se une a las proteínas plasmáticas en un grado inferior al 20%, penetra la barrera hematoencefálica y se puede

encontrar en los órganos reproductores femeninos humanos, en los humos acuosos, glándula prostática y vesícula seminal (Dobias *et al.*, 1994).

Los valores de semivida de eliminación varían entre 6 y 12 h, con un promedio de aproximadamente 7 h. Alrededor del 80% de los compuestos se eliminan después de la hidroxilación a hidroximetronidazol y alrededor del 6-15% se excreta en las heces, en parte en forma del metabolito activo 1-(2-hidroxiethyl)-2-carboxil-5-nitroimidazol. También es detectable en otros fluidos corporales, incluidas las secreciones vaginales y los fluidos seminales, la bilis, la saliva y sudor. También se excreta a través de la leche materna, con una vida media de aproximadamente 9 h (Dobias *et al.*, 1994).

El MET es un profármaco y su forma activa, obtenida después de la reducción química de su grupo nitro por organismos anaerobios, interrumpe la estructura helicoidal del ADN, inhibiendo así la síntesis de ácido nucleico. En infecciones vaginales se recomienda un tratamiento con 500 mg dos veces al día durante 7 días; sin embargo, una sola dosis oral de MET de 2 g durante 5-7 días ha demostrado ser más efectiva (Perioli *et al.*, 2009).

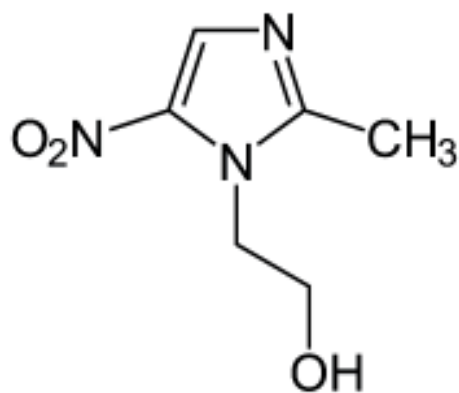


Figura 9. Representación de la estructura química de MET.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Todos los componentes se obtuvieron de Sigma-Aldrich, salvo que se indique lo contrario. N-isopropilacrilamida ($C_6H_{11}NO$) al 97%, N,N'-Metilen-bis(acrilamida) ($C_7H_{10}N_2O_2$) al 99%, N,N,N',N'-Tetrametiletilendiamina ($C_6H_{16}N_2$) al 99%, persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$) al 99%, poli(metil vinil éter-*alt*-anhídrido maleico) ($C_4H_2O_3 \cdot C_3H_6O$)_n, 216,000 g/mol, fosfato de sodio monobásico (NaH_2PO_4) al 99%, fosfato de sodio dibásico (Na_2HPO_4) al 99%, ácido cítrico ($C_6H_8O_7$) al 99.5%, óxido de deuterio (D_2O) al 99%, bromuro de potasio (KBr) al 99%, hidróxido de potasio (KOH) al 85%, hidróxido de calcio ($Ca(OH)_2$) al 95%, albúmina de suero bovino al 96%, ácido láctico ($CH_3CH(OH)COOH$) al 85%, ácido acético (CH_3CO_2H) al 99.7%, glicerol ($HOCH_2CH(OH)CH_2OH$) al 86%, urea (NH_2CONH_2), glucosa ($C_6H_{12}O_6$) anhídrida al 96%, metronidazol ($C_6H_9N_3O_3$) estándar analítico, cloruro de sodio (NaCl) al 99%, de Meyer.

Síntesis y Caracterización de PNIPAAm

Se llevó a cabo la síntesis del polímero PNIPAAm como material de referencia para evaluar el comportamiento de los sistemas reticulados. En un matraz de tres bocas se vertieron 10 mL de una solución de monomérica de N-isopropilacrilamida (NIPAAm) al 10% y se mantuvo en atmósfera de nitrógeno durante 30 min en agitación magnética constante. Seguidamente, se adicionó 10 mL de una solución de persulfato de potasio (PSK) al 2% a la solución monomérica y se continuó con la agitación durante 10 min. Por último, se añadieron 0.1 mmol de N, N, N', N'-tetrametiletilendiamina (TEMED) al matraz de reacción y se mantuvo la agitación durante 4 h a 40°C. La solución obtenida se dializó en una membrana de diálisis con porosidad de 14 kDa durante 24 h y después se liofilizó en un equipo LABCONCO, FreeZone 4.5 Liter Benchtop Freeze Dry System (Ju *et al.*, 2001; Patra *et al.*, 2016).

El polímero obtenido fue caracterizado mediante la técnica de resonancia magnética nuclear de protón (RMN- H^1) en un espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) avance III 400 MHz Bruker, empleando D_2O como disolvente (Ju *et al.*, 2001). Se llevó a cabo espectroscopía de infrarrojo de transformada de Fourier (FTIR) en un equipo Frontier de Perkin Elmer. Los espectros se obtuvieron en el intervalo de 4000 a 500 cm^{-1} , usando la

técnica de pastilla de KBr. El análisis termogravimétrico se llevó a cabo en un analizador termogravimétrico Pyris de Perkin Elmer en atmósfera de nitrógeno con una razón de calentamiento de 10°C/min, desde temperatura ambiente hasta 800°C (Gutiérrez, 2018). Se analizó la muestra mediante espectroscopía de absorción UV-vis empleando un espectrofotómetro de Agilent Technologies en el intervalo de 190 a 400 nm y utilizando agua MilliQ como disolvente. Adicionalmente, se determinó la *LCST* mediante la determinación del punto de nube. Para determinar el punto de nube se empleó un espectrofotómetro UV-Vis de Agilent Technologies con un baño de circulación que permitió variar la temperatura. Se utilizó una solución al 1% en peso de PNIPAAm, se midió el porcentaje de transmitancia a una longitud de onda constante de 550 nm variando la temperatura desde 24°C hasta 60°C. (Patra *et al.*, 2016).

Síntesis de Hidrogeles de PNIPAAm

Se prepararon hidrogeles de PNIPAAm a partir de una solución monomérica de NIPAAm al 10% con bisacrilamida (BIS) (relación molar BIS/NIPAAm de 1/50), la cual se mantuvo en agitación magnética constante en atmósfera de nitrógeno a 4°C. Posteriormente, continuando con la agitación, se añadió una solución de PSK al 2% y TEMED. La mezcla obtenida se colocó en moldes cilíndricos para el proceso de gelación, conservando la temperatura a 4°C. Una vez formados los hidrogeles, estos fueron extraídos del molde y sometidos a lavados en agua desionizada durante 24 h para eliminar los compuestos que no reaccionaron. Por último, se secaron al vacío mediante liofilización (Patra *et al.*, 2016).

Síntesis de Redes Semi-IPNs de PNIPAAm y PMVE-*alt*-MA

La elaboración de las semi-IPNs compuestas de PNIPAAm/PMVE-*alt*-MA se llevó a cabo mediante la polimerización de la NIPAAm y reticulación del polímero en presencia de PMVE-*alt*-MA, siguiendo una metodología similar a la descrita para la formación de los hidrogeles monocomponentes de PNIPAAm. Se utilizó una solución monomérica NIPAAm al 10% con BIS, una solución de PMVE-*alt*-MA al 10% previamente hidrolizada a 60°C durante 6 h, la solución de PSK al 2% (iniciador) y el TEMED como catalizador. Se adicionaron las soluciones de NIPAAm y PMVE-*alt*-MA en un matraz de tres bocas con atmósfera de nitrógeno manteniéndose en agitación constante a 4°C. Posteriormente, continuando con la agitación, se adicionó la solución del iniciador y el catalizador. La mezcla

obtenida se colocó en moldes para el proceso de gelación a 4°C. Los hidrogeles se lavaron en agua desionizada durante 24 h para eliminar los compuestos que no reaccionaron y por último, se secaron al vacío mediante liofilización (Patra *et al.*, 2016; Teichmann *et al.*, 2015). La Figura 10 muestra un esquema de la formación de las semi-IPNs de PNIPAAm/PMVE-*alt*-MA. Se prepararon hidrogeles híbridos de tres composiciones diferentes (P/C1, P/C2 y P/C3), variando la proporción de las soluciones precursoras. Los volúmenes usados en la preparación de los diferentes tipos de hidrogeles se resumen en la Tabla 5.

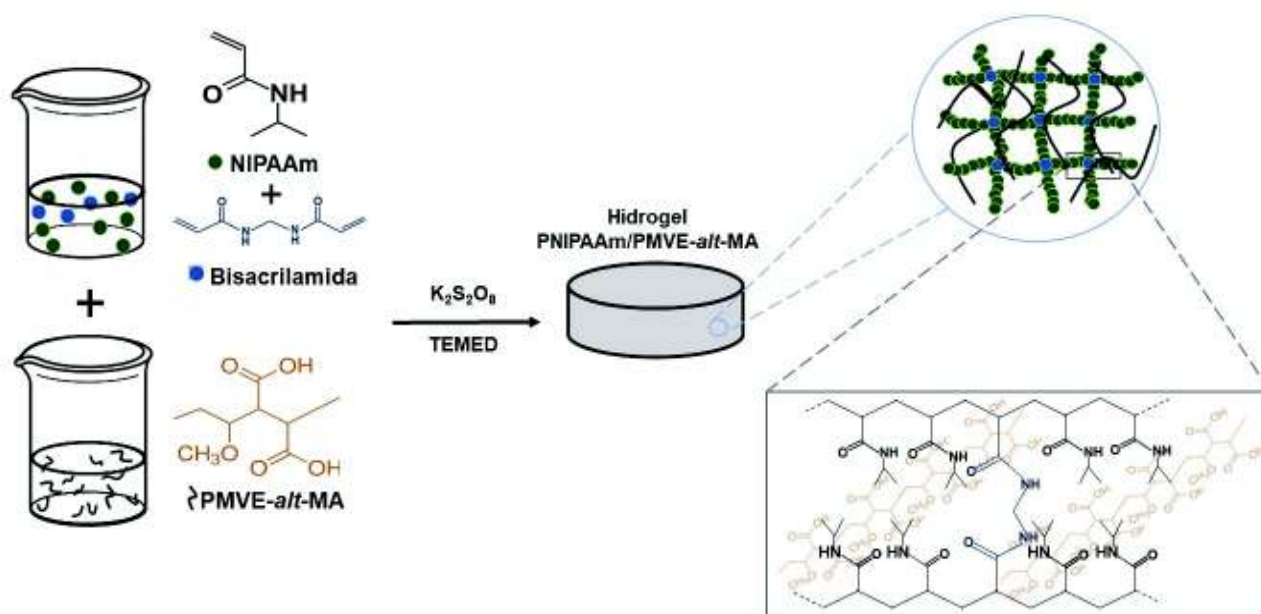


Figura 10. Esquema de formación de los hidrogeles semi-IPNs de PNIPAAm/PMVE-*alt*-MA.

Tabla 5. Volúmenes empleados para la elaboración de los hidrogeles de PNIPAAm y de PNIPAAm/PMVE-*alt*-MA.

| Hidrogel | NIPAAm/BIS (mL) | PMVE- <i>alt</i> -MA (mL) | PSK (mL) | TEMED (μ L) |
|----------------|-----------------|---------------------------|----------|------------------|
| PNIPAAm | 2 | -- | 1 | 25 |
| P/C1 | 1.6 | 0.4 | 1 | 25 |
| P/C2 | 1.46 | 0.54 | 1 | 25 |
| P/C3 | 1.34 | 0.66 | 1 | 25 |

Caracterización de los Hidrogeles

La espectroscopía de infrarrojo (FTIR) se llevó a cabo en un equipo Frontier de Perkin Elmer. Los espectros se obtuvieron en el intervalo de 4000 a 500 cm^{-1} , usando la técnica de pastilla de KBr (Gutiérrez, 2018).

El análisis termogravimétrico (TGA) se llevó a cabo en un analizador termogravimétrico Pyris de Perkin Elmer en atmósfera de nitrógeno con una razón de calentamiento de 10°C/min desde temperatura ambiente hasta 800°C (Gutiérrez, 2018).

La morfología de los hidrogeles se analizó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) en un equipo JEOL 5410V. Se cortaron secciones transversales de los hidrogeles sintetizados, después se congelaron en nitrógeno y se secaron mediante liofilización. Las muestras se colocaron sobre una cinta de carbono y fueron recubiertas con una película de oro antes de ser examinadas (Gutiérrez, 2018).

Las propiedades viscoelásticas de los hidrogeles fueron estudiadas a esfuerzo cortante en un reómetro AtonPaar MCR 502 equipado con una geometría de plato Peltier de 50 mm de diámetro. Se prepararon hidrogeles cilíndricos con las medidas requeridas para el análisis, los hidrogeles se mantuvieron hidratados previo al estudio y se realizó la medición por triplicado. El estudio se llevó a cabo variando la frecuencia desde 0.1 hasta 100 Hz a temperatura ambiente. En estas condiciones se midió el módulo elástico (G') y viscoso (G'') (Gutiérrez, 2018).

Mediciones de Cinéticas de Hinchamiento de los Hidrogeles

Se obtuvieron las cinéticas de hinchamiento de los distintos tipos de hidrogeles mediante gravimetría. El estudio se realizó en soluciones búfer pH 7.4 (fosfato) y pH 4.5 (citrato-

fosfato), y en fluido vaginal simulado (Tabla 6) a temperaturas de 25°C y 37°C. Los xerogeles se pesaron y fueron colocados en la solución de hinchamiento. Se monitoreó el cambio de masa de los hidrogeles con respecto al tiempo hasta llegar al equilibrio (Gutiérrez, 2018). El estudio se realizó por triplicado y los datos obtenidos se emplearon para determinar el porcentaje de hinchamiento mediante la siguiente ecuación:

$$\%H = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100$$

Donde W_t es el peso del hidrogel en determinado tiempo y W_0 es el peso del xerogel.

Adicionalmente, se determinó el porcentaje de disolución de la matriz (%DS) después de los estudios de hinchamiento. Una vez que los hidrogeles alcanzaron el porcentaje de hinchamiento máximo, estos fueron secados al vacío mediante liofilización. El %DS se obtuvo mediante la siguiente ecuación:

$$\%DS = \frac{W_0 - W_f}{W_0} \times 100$$

Donde W_0 es el peso del xerogel antes de llevarse a cabo los estudios de hinchamiento y W_f corresponde al peso del xerogel después de llevarse a cabo el ensayo (Perioli *et al.*, 2009).

Tabla 6. Composición del fluido vaginal simulado.

| Compuesto | g/L |
|---------------------|-------|
| NaCl | 3.51 |
| KOH | 1.4 |
| Ca(OH) ₂ | 0.222 |
| Albumina | 0.018 |
| Ácido láctico | 2 |
| Ácido acético | 1 |
| Glicerol | 0.160 |
| Urea | 0.4 |
| Glucosa | 5 |

(Owen y Katz, 1999)

Evaluación de la Reversibilidad del Comportamiento Termosensible

Se llevó a cabo la evaluación de la reversibilidad de la termosensibilidad de los hidrogeles mediante el monitoreo de su hinchamiento en intervalos variables de temperatura entre 25°C y 37°C, a pH fisiológico (7.4) y pH 4.5 (Ju *et al.*, 2001).

Estudios de la Incorporación y Liberación de Metronidazol

Para la incorporación de metronidazol en la matriz polimérica se seleccionaron los hidrogeles que mostraron mayor capacidad de hinchamiento (P/C2 y P/C3). Se realizó el cargado del fármaco mediante la inmersión de los xerogeles en 2 mL de una solución de metronidazol al 0.75% en peso. Una vez que el sistema llegó al equilibrio de hinchamiento, los hidrogeles cargados se congelaron y se secaron por liofilización (Perioli *et al.*, 2009).

Para los estudios de liberación de metronidazol, los xerogeles cargados con el fármaco fueron sumergidos en 50 mL de una solución búfer de pH 4.5 y pH 7.4, y en fluido vaginal simulado (pH 4.5). Los sistemas de liberación se colocaron en un baño de inmersión (Shaking Water Bath LSB-030S de LabTech) con agitación de 80 rpm a temperatura controlada (25°C y 37°C). Se tomaron alícuotas del medio de liberación en diferentes intervalos de tiempo. La concentración de amoxicilina en el medio de liberación se cuantificó mediante espectroscopía de absorción UV-Vis, empleando un espectrofotómetro Agilent Technologies. Se midió la absorción a 320 nm y se determinó la concentración del fármaco frente a curvas de calibración previamente establecidas para cada medio de liberación (Anexo 1). Las condiciones iniciales de inmersión del hidrogel se mantuvieron constantes mediante la adición de un volumen igual de búfer o fluido vaginal simulado al medio de liberación (Rodríguez *et al.*, 2011).

Estudio del Mecanismo de Liberación de Metronidazol

Para examinar más a fondo el mecanismo de liberación de metronidazol de los hidrogeles en cada condición, se determinaron los parámetros de ajuste del modelo de Korsmeyer-Peppas a los datos experimentales de la tasa de liberación del fármaco (Kumar *et al.*, 2012):

$$\frac{Mt}{M_{\infty}} = kt^n$$

Donde Mt y M_{∞} son la masa liberada del fármaco en el tiempo t y en el equilibrio, respectivamente; k es el coeficiente de velocidad de liberación y n es el exponente de difusión que puede relacionarse con el mecanismo de transporte del fármaco. Según el modelo aplicado en geles cilíndricos, el mecanismo de liberación del fármaco puede ser de tres tipos dependiendo de la velocidad relativa de difusión del agua en la matriz polimérica y la velocidad de relajación de la cadena polimérica. Cuando n es inferior a 0.45, el mecanismo de transporte se rige por difusión Fickiana (el mecanismo de liberación está controlado por difusión). Cuando n está entre 0.45 y 0.89, el proceso sigue un mecanismo de transporte anómalo, mezcla de difusión Fickiana y relajación de la cadena de polímero. Para n igual a 0.89, se produce un transporte de Caso II (el mecanismo de liberación está controlado por la relajación) (Orduño *et al.*, 2019).

RESULTADOS

PNIPAAm

Se obtuvo un material de color blanquecino y de aspecto esponjoso después de la liofilización de la solución obtenida. La Figura 11 muestra los espectros de RMN- H^1 para el monómero NIPAAm y el polímero PNIPAAm. Ambos espectros exhiben una señal (a) debido a la presencia de grupos metilo ($-CH_3$). En el espectro de NIPAAm se observaron las señales correspondientes a los protones vinilo (c y d), mientras que en el espectro de PNIPAAm, estas señales desaparecen y se observan dos nuevas señales que corresponden al grupo metileno y metino (e y f). Estos resultados son similares a los obtenidos por Ju *et al.*, 2002 y Patra *et al.*, 2016 y corroboran la formación del polímero.

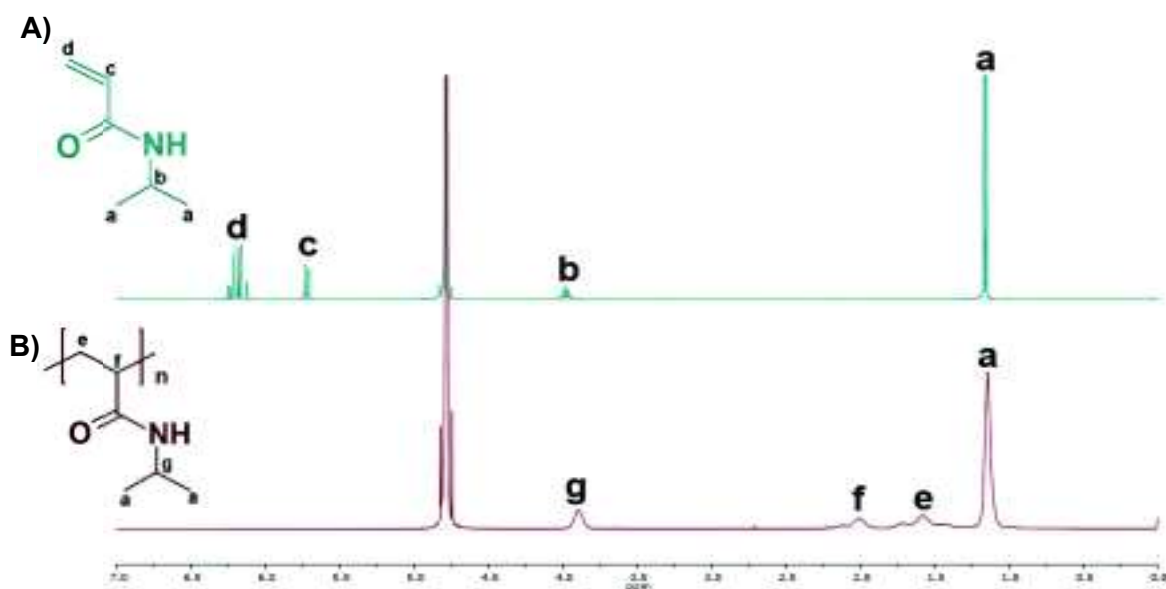


Figura 11. Espectro RMN- H^1 . A) NIPAAm y B) PNIPAAm.

En la Figura 12, se muestran los espectros FTIR correspondientes a la NIPAAm y la PNIPAAm. Para la NIPAAm se observaron los siguientes picos: a 3293 cm^{-1} del estiramiento N-H, a 3074 cm^{-1} característico para $=C-H$, a 2972 cm^{-1} del estiramiento asimétrico C-H, a 2950 cm^{-1} del estiramiento simétrico C-H, a $1619-1660\text{ cm}^{-1}$ del doble enlace alifático $C=C$, en el intervalo $965-989\text{ cm}^{-1}$ de estiramiento dobles enlaces de vinilo y a 716 cm^{-1} característico de los grupos cis-trans y sustituidos con dobles enlaces.

Por otro lado, el espectro de la PNIPAAm muestra los siguientes picos: a 3305 cm^{-1} del estiramiento N-H, a 2975 cm^{-1} del estiramiento asimétrico C-H, a 2940 cm^{-1} del estiramiento simétrico C-H, a 1665 cm^{-1} del estiramiento C=O del grupo amida, a 1634 cm^{-1} de la flexión N-H, vibraciones de flexión de $-\text{CH}_2-$ y $-\text{CH}_3$ a 1461 cm^{-1} y 1382 cm^{-1} , respectivamente, y a 1370 cm^{-1} del estiramiento C-N. Particularmente, se observó que en este espectro disminuyen las intensidades relativas de los picos que corresponden a señales de C=C ($3074, 965, 989$ y 716 cm^{-1}) que se presentan en el espectro de la NIPAAm (Shah *et al.*, 2013), lo que concuerda con la estructura esperada para el polímero.

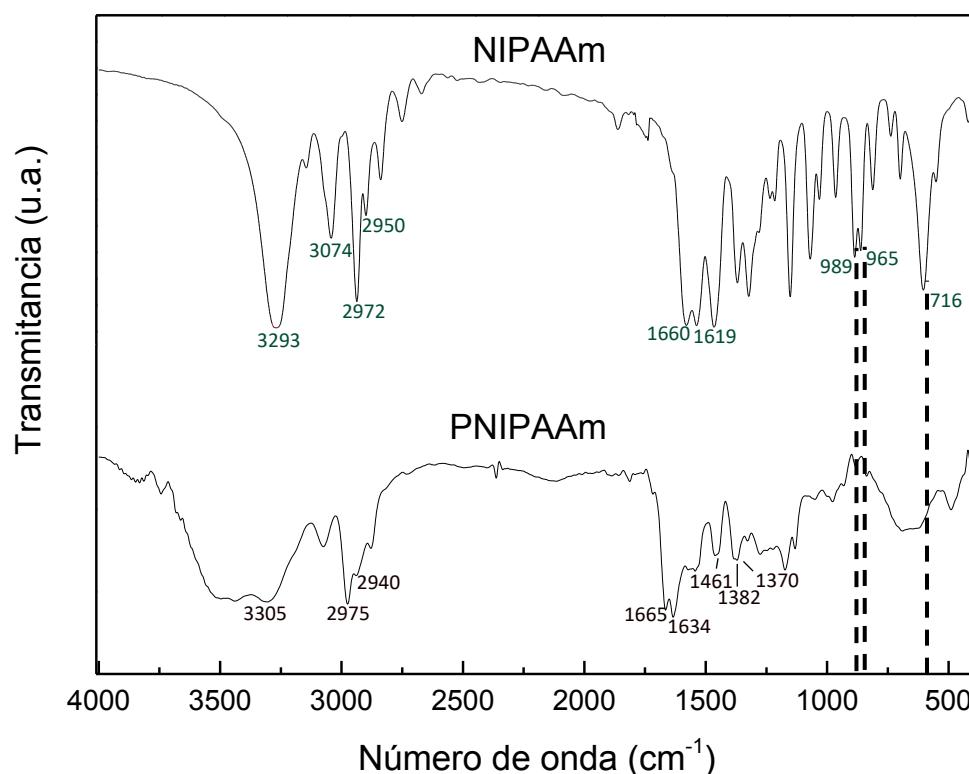


Figura 12. Espectros de FTIR correspondientes a NIPAAm y PNIPAAm.

En la Figura 13 se presentan los termogramas para la NIPAAm y la PNIPAAm. En el caso del termograma del monómero se observa una única pérdida de masa con una

temperatura de velocidad máxima de degradación ($T_{m\acute{a}x}$) de 131.8°C (línea azul). El termograma para PNIPAAm (línea negra) muestra un aumento significativo de la estabilidad térmica con respecto al monómero, presentando dos caídas de pérdida de masa por encima de los 100°C, la primera a $T_{m\acute{a}x}$ de 395.32°C y la segunda a $T_{m\acute{a}x}$ de 552.45 °C, que pueden atribuirse a la degradación de la cadena polimérica. Estos resultados son similares a los obtenidos por Patra *et al.*, 2016.

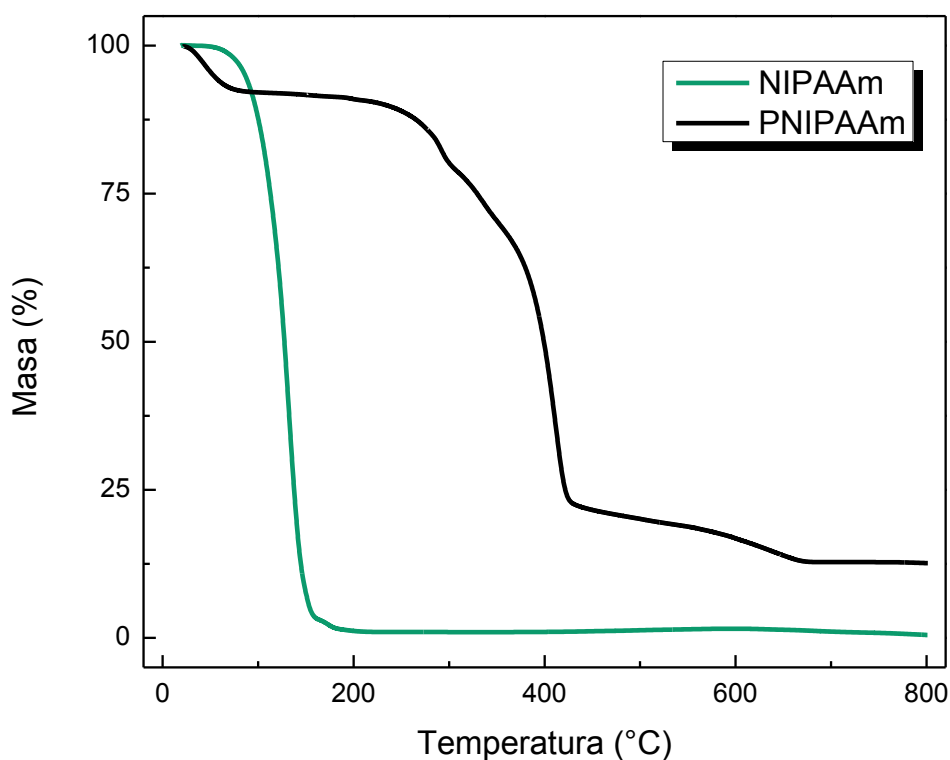


Figura 13. Análisis termogravimétrico para NIPAAm y PNIPAAm.

La Figura 14 muestra los espectros de absorción de la NIPAAm y la PNIPAAm. En el espectro de la NIPAAm se observan dos bandas de absorción; la primera centrada a 198 nm que se atribuye a la transición electrónica $\pi-\pi^*$ del grupo carbonilo y la segunda centrada en 220 nm que se atribuye a la transición de los carbonos vinílicos. En concordancia con lo esperado, la muestra de PNIPAAm no mostró bandas de absorción

debido a la ruptura del doble enlace carbono-carbono del monómero NIPAAm durante el proceso de polimerización (Chen *et al.*, 2014).

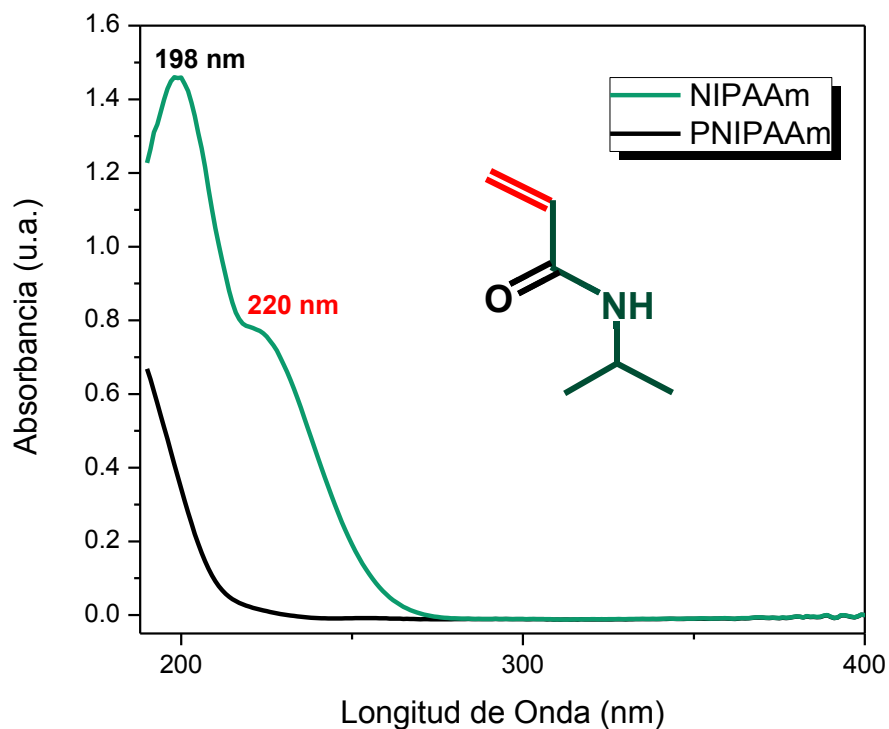


Figura 14. Espectro de absorción UV-Vis para NIPAAm y PNIPAAm.

La Figura 15 muestra la determinación del punto de nube para la PNIPAAm, que se determinó en el punto correspondiente a una caída del 50% de la transmitancia. La temperatura correspondiente al punto de nube fue de 34.84°C, valor cercano al reportado por otros autores (Durand y Hourdet, 1999; Lencina, 2013).

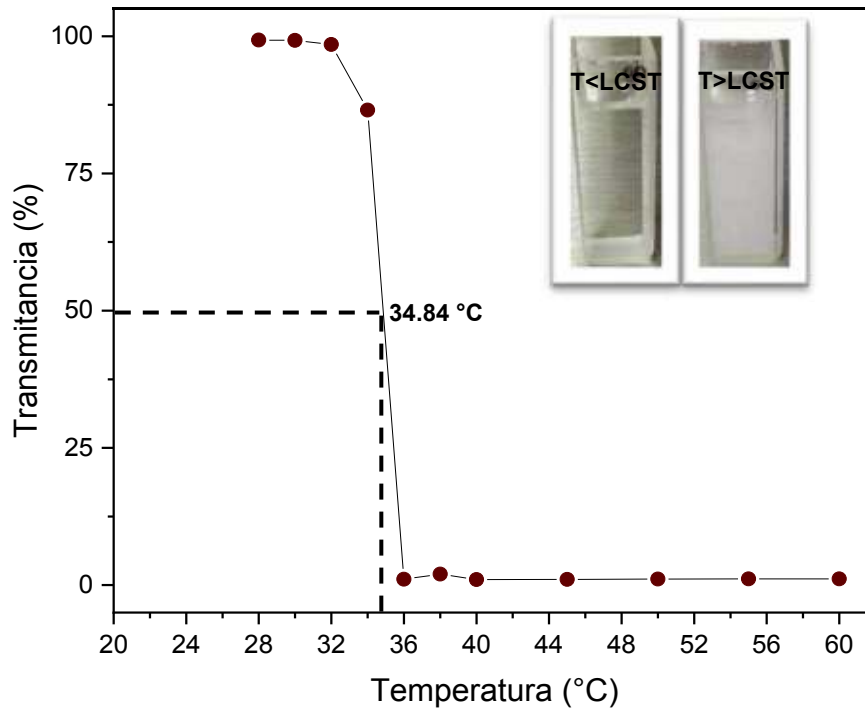


Figura 15. Curva de determinación del punto de nube a 550 nm para PNIPAAm en agua MilliQ (pH 6.5).

Los resultados obtenidos en la caracterización de la PNIPAAm mostraron que las condiciones de reacción y las concentraciones de los precursores son adecuadas para obtener el polímero termosensible, lo cual fue utilizado como base para la formación de los hidrogeles. Estos resultados también fueron usados de referencia en el análisis de los hidrogeles.

Hidrogeles de PNIPAAm y PNIPAAm/PMVE-*alt*-MA

Se obtuvieron satisfactoriamente hidrogeles de PNIPAAm y redes semi-IPN de PNIPAAm/PMVE-*alt*-MA en diferentes composiciones. El proceso de formación de las redes semi-IPN se representa de manera gráfica en la Figura 10. En este esquema se puede observar que para la formación de las redes semi-IPN, la adición del persulfato de potasio (iniciador) y TEMED (catalizador) es esencial. El iniciador actúa atacando los dobles

enlaces de la NIPAAm y de la BIS para dar origen a la formación de la red de PNIPAAm en presencia de las cadenas de PMVE-*alt*-MA.

En general, los hidrogeles presentaron una apariencia blanda, de coloración translúcida que va cambiando su opacidad con el aumento del contenido de PMVE-*alt*-MA. Adquirieron la forma circular del molde en que se llevó a cabo el proceso de gelación con un diámetro de 25 mm y un espesor de 4 mm (Figura 16).

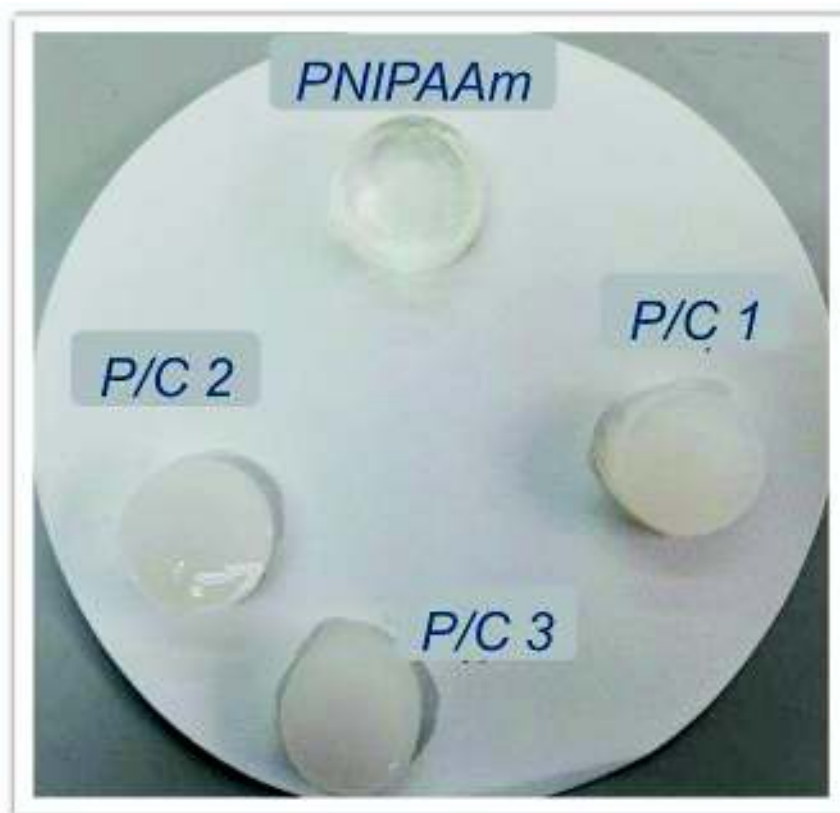


Figura 16. Imagen de los hidrogeles de redes semi-IPN de PNIPAAm/PMVE-*alt*-MA.

Espectroscopia de Infrarrojo

En la Figura 17, se muestra el espectro FTIR obtenido para los componentes poliméricos, así como para los hidrogeles preparados de PNIPAAm y PNIPAAm/PMVE-*alt*-MA. El espectro de la PNIPAAm muestra los siguientes picos: a 3305 cm^{-1} del estiramiento N-H, a 1665 cm^{-1} del C=O del grupo amida, a 1634 cm^{-1} correspondiente a la flexión N-H y a 1370 cm^{-1} del estiramiento C-N. En el espectro del hidrogel de PNIPAAm, se observa una

disminución de la intensidad relativa de la señal del estiramiento N-H con respecto al espectro del polímero sin entrecruzar. Además, se aprecia que los picos se recorren hacia números de onda menores, esto por la reticulación de las cadenas poliméricas (Ju *et al.*, 2001).

En el espectro del PMVE-*alt*-MA se observó un pico a 3184 cm^{-1} correspondiente a la tensión del grupo hidroxilo (OH), un pico a 1728 cm^{-1} de la tensión del grupo carbonilo (C=O) y a 1196 cm^{-1} , un pico que corresponde a la tensión del enlace éter (C-O).

Los espectros correspondientes a los diferentes hidrogeles compuestos por PNIPAAm/PMVE-*alt*-MA presentan los picos correspondientes a ambos componentes poliméricos desplazados a menor número de onda, lo que se atribuye a la existencia de interacciones físicas entre ambos polímeros. La banda ancha en el intervalo de 3365 a 3250 cm^{-1} se atribuye al traslape de las señales correspondientes al estiramiento N-H de la PNIPAAm y del grupo OH del PMVE-*alt*-MA. Se distingue una única banda ancha intensa del grupo C=O en el intervalo de 1680 a 1620 cm^{-1} debido a la contribución de esta funcionalidad presente en ambos polímeros. Se observa también el pico correspondiente al estiramiento C-N de la PNIPAAm aproximadamente a 1368 cm^{-1} , así como la señal de la tensión del enlace C-O de la cadena de PMVE-*alt*-MA cercana a 1173 cm^{-1} . Las señales del espectro confirmaron la presencia de ambos polímeros en el material preparado.

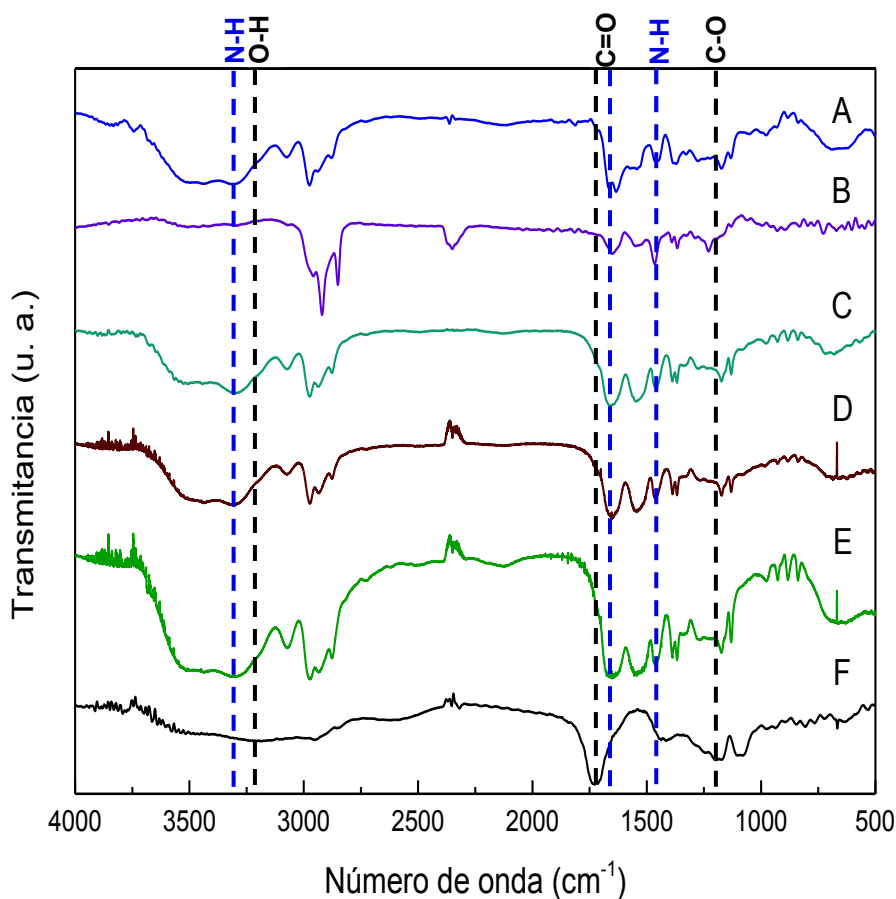


Figura 17. Espectros de FTIR correspondientes a: A) PNIPAAm, B) Hidrogel PNIPAAm, C) P/C1, D) P/C2, E) P/C3 y F) PMVE-alt-MA.

Análisis Termogravimétrico

En la Figura 18, se muestra el TGA para los componentes poliméricos y para los hidrogeles preparados. En el inciso A, el termograma correspondiente a la PNIPAAm presenta dos caídas de pérdida de masa por encima de los 100°C, la primera con una $T_{m\acute{a}x}$ de 395.32°C y la segunda a $T_{m\acute{a}x}$ de 552.45 °C, que se atribuyen a la degradación de la cadena polimérica. Resultados similares fueron obtenidos por Patra *et al.*, 2016.

El inciso B muestra el termograma correspondiente a PMVE-*alt*-MA, en el cual se presentan tres caídas de pérdida de masa. La primera pérdida ocurre a $T_{m\acute{a}x}$ de 170.31°C y se asocia a la deshidratación de las unidades carboxílicas para formar grupos anhídridos.

La segunda y la tercera caída presentan $T_{m\acute{a}x}$ de 280.86°C y 444.85°C , respectivamente. Ambas pérdidas se asocian a la descomposición de la cadena polimérica.

El inciso C corresponde al termograma del hidrogel de PNIPAAm en el cual se presenta una única pérdida de masa a $T_{m\acute{a}x}$ de 410.29°C , asociada con la descomposición de la cadena. Se aprecia una mayor termoestabilidad comparado con la PNIPAAm sin reticular.

El termograma que corresponde al hidrogel P/C1 (inciso D) presenta una única pérdida de masa a $T_{m\acute{a}x}$ de 409.44°C , lo cual podría indicar que la incorporación de esa cantidad de PMVE-*alt*-MA a la matriz de PNIPAAm no altera la termoestabilidad del hidrogel.

Por otro lado, en los termogramas correspondientes a los hidrogeles P/C2 y P/C3 (inciso E y F, respectivamente) se distinguen las pérdidas de masa de sus componentes poliméricos, estas desplazadas a mayor temperatura. La Tabla 7 resume las pérdidas de masa de cada muestra.

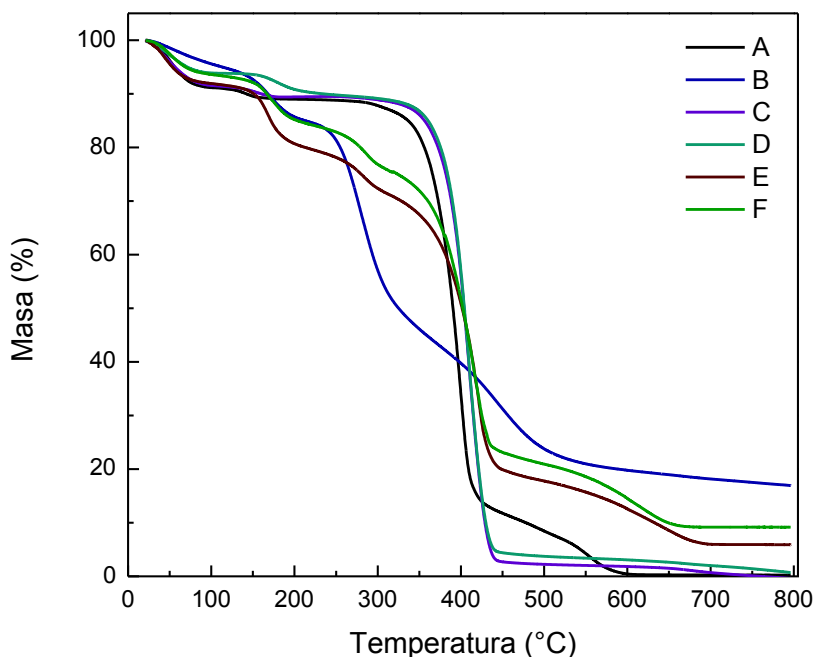


Figura 18. Curvas termogravimétricas correspondientes a: A) PNIPAAm, B) PMVE-*alt*-MA, C) hidrogel de PNIPAAm, D) P/C1, E) P/C2 y F) P/C3.

Tabla 7. Temperaturas de degradación máxima obtenidas para los componentes poliméricos y para cada composición de hidrogel.

| Muestra | T_{máx} (°C) |
|----------------------|--------------------------------|
| PNIPAAm | 395.32, 552.45 |
| PMVE- <i>alt</i> -MA | 170.31, 280.86, 444.85 |
| Hidrogel de PNIPAAm | 410.29 |
| Hidrogel P/C 1 | 409.44 |
| Hidrogel P/C 2 | 168.35, 282.6, 419.63, 622.56 |
| Hidrogel P/C 3 | 173.59, 284.69, 415.24, 612.47 |

Microscopía Electrónica de Barrido

La Figura 19 muestra las micrografías de SEM obtenidas para los hidrogeles de PNIPAAm y las redes semi-IPN de PNIPAAm/PMVE-*alt*-MA. En todos los casos se observa una estructura porosa en forma de red bien definida formada por el entrecruzamiento de las cadenas de la PNIPAAm por la BIS. Además, se observa que a medida que aumenta la proporción de PMVE-*alt*-MA en el hidrogel, el diámetro de los poros tiende a disminuir. Esto puede ser atribuido a que con el aumento la concentración de PMVE-*alt*-MA aumenta el volumen de cadenas lineales semi-IPNs en la red de PNIPAAm, disminuyendo el volumen libre de la red polimérica. Resultados similares fueron obtenidos por Chhabra *et al.*, en el 2014.

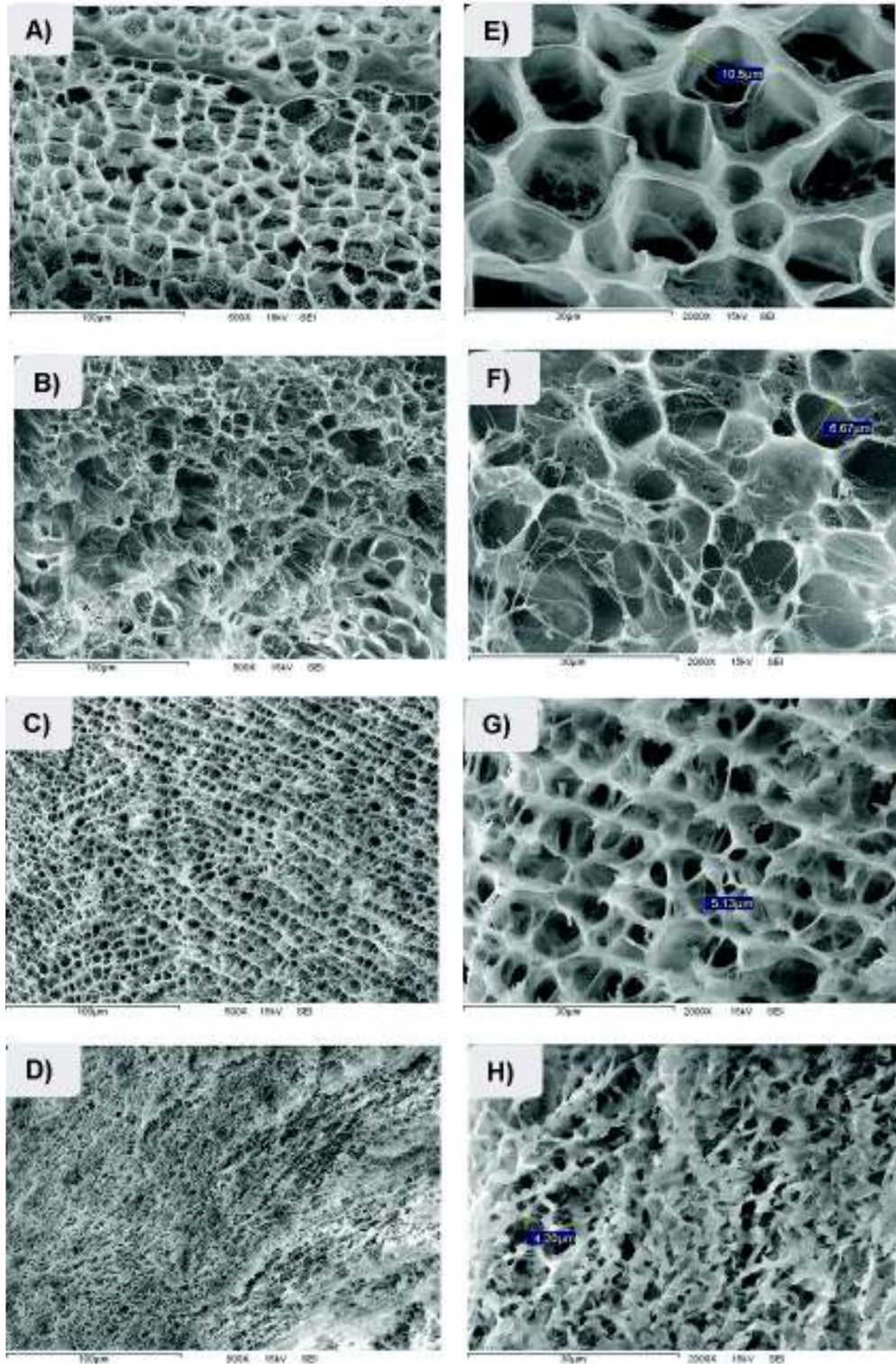


Figura 19. Micrografías por SEM de hidrogeles de PNIPAAm/PMVE-*alt*-MA a 500X: A) H. PNIPAAm, B) P/C1, C) P/C2 y D) P/C3; y a 2000X: E) H. PNIPAAm, F) P/C1, G) P/C2 y H) P/C3.

Análisis Reológico

La Figura 20 muestra los reogramas correspondientes a los hidrogeles P/C2 y P/C3. En ambos hidrogeles se observa que el módulo de almacenamiento tiene un ligero aumento cuando la frecuencia aumenta y además, es notablemente mayor en el hidrogel P/C2. Estos resultados demuestran que la proporción de PMVE-*alt*-MA en la matriz de PNIPAAm influye en las propiedades viscoelásticas del material. Estudios realizados por Andrews *et al.* en el 2015 mostraron resultados similares al evaluar la reología de membranas compuestas por PVA y PMVE-MA, donde demostraron que el cambio de proporciones de ambos componentes puede afectar las propiedades viscoelásticas del material.

Por otro lado, en ambos casos se observa que el módulo elástico (almacenamiento (G')) es mayor al módulo viscoso (pérdida (G'')), lo que indica un comportamiento predominantemente elástico durante todo el intervalo de frecuencia empleada en el barrido. Cabe mencionar que este comportamiento no corresponde con las características identificadas en la literatura para un “gel verdadero”, las cuáles incluyen la independencia de los módulos dinámicos con la frecuencia y un valor de G' superior a G'' en varios ordenes de magnitud (Garzón *et al.*, 2009).

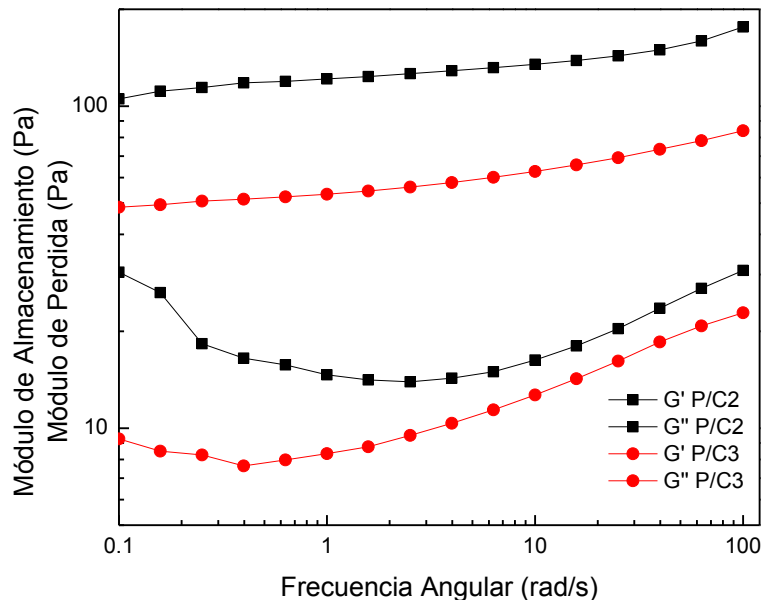


Figura 20. Reograma correspondiente al hidrogel P/C2 (línea negra) y P/C3 (línea roja).

Cinéticas de Hinchamiento de los Hidrogeles

En la Figura 21, se muestra la gráfica de la cinética de hinchamiento de los hidrogeles sintetizados de PNIPAAm y de PNIPAAm/PMVE-*alt*-MA en sus diferentes proporciones, en medio buffer (pH 7.4) a 25°C. Se observa que el porcentaje de hinchamiento llega al equilibrio después de dos días, además, es mayor a medida que aumenta la proporción de PMVE-*alt*-MA en la matriz del hidrogel. Lo anterior se atribuye al carácter hidrofílico del copolímero, el cual favorece la retención de líquidos en la matriz.

Por otro lado, cuando el hinchamiento se lleva a cabo en medio buffer de pH 4.5, manteniendo la temperatura a 25°C (Figura 22), el hinchamiento en el equilibrio aumenta con respecto al comportamiento a pH 7.4, para todos los hidrogeles. En el caso particular del hidrogel P/C3, el hinchamiento se incrementa en aproximadamente 400% (de 1963 a 2335 %). Los grupos carboxílicos del PMVE-*alt*-MA presentan valores de pKa de 3.47 y 6.47, por lo que a pH 4.5 los grupos carboxílicos se encuentran parcialmente desprotonados, mientras que a pH 7.4 ambos grupos se encuentran desprotonados (Zong *et al.*, 2013). Basados en el único efecto de la repulsión electrostática de los grupos carboxilatos, se esperaría que el porcentaje de hinchamiento fuese mayor en el medio de

pH 7.4 con respecto al de pH 4.5 y que este efecto aumentara con el incremento de la cantidad de PMVE-*alt*-MA en la matriz de PNIPAAm. Sin embargo, el comportamiento experimental no concuerda con lo esperado, dado que todas las formulaciones evaluadas presentan un hinchamiento mayor a pH 4.5 con respecto al obtenido en pH 7.4.

Tomando en cuenta lo anterior, se infiere que los cambios de hinchamiento de los hidrogeles con respecto al pH están determinados por el comportamiento de la red de PNIPAAm y/o por la naturaleza de las interacciones PNIPAAm- PMVE-*alt*-MA en cada pH. A pH 7.4, los hidrógenos del grupo carboxílico protonado del PMVE-*alt*-MA pueden participar en interacciones por puente de hidrógeno con el grupo amida de la PNIPAAm (grupo no ionizable), lo que puede contribuir a la compactación del material y desfavorecer el hinchamiento. Cabe mencionar que la sensibilidad del hinchamiento al pH fue observada también para el hidrogel monocomponente de PNIPAAm, lo que sugiere un efecto del pH sobre las temperaturas de transición del polímero entrecruzado. Se requieren mediciones de las temperaturas de transición de fase de la PNIPAAm entrecruzada a las diferentes condiciones de pH y de contenido de copolímero para elucidar el comportamiento del hinchamiento observado.

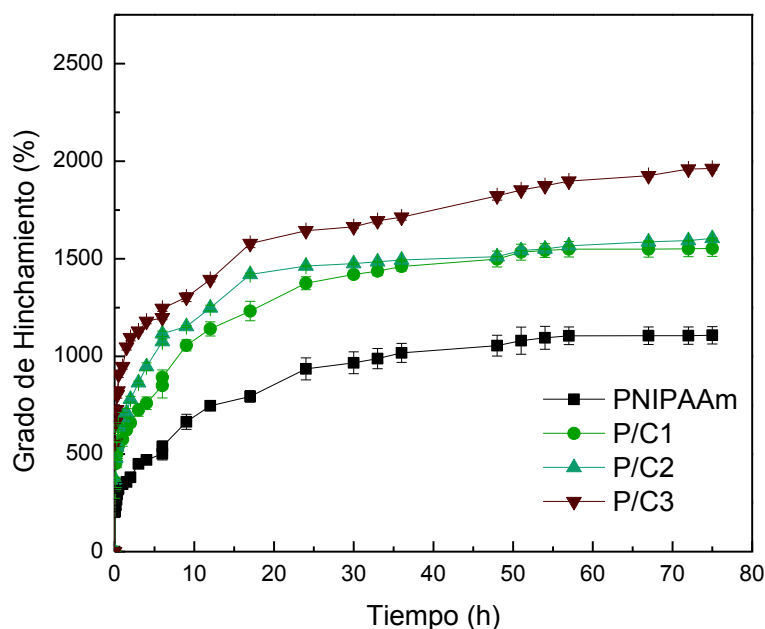


Figura 21. Cinética de hinchamiento de los hidrogeles compuestos en solución buffer, pH 7.4 a 25°C.

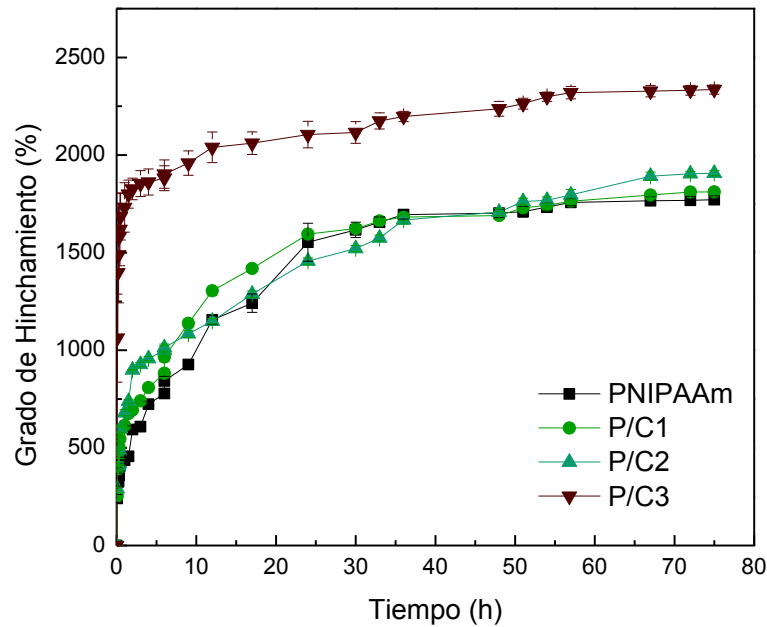


Figura 22. Cinética de hinchamiento de los hidrogeles compuestos en solución buffer, pH 4.5 a 25°C.

Las Figuras 23 y 24 muestran la gráfica de cinética de hinchamiento de los hidrogeles a 37°C en soluciones buffer a pH 7.4 y pH 4.5, respectivamente. Cuando la temperatura del medio de hinchamiento aumenta, el porcentaje de hinchamiento en el equilibrio disminuye significativamente comparado con los resultados de hinchamiento obtenidos a 25°C. Este comportamiento es debido al colapso de la estructura polimérica de la PNIPAAm. Al contraerse la estructura, el tamaño de los poros de la matriz del hidrogel disminuye, por lo que la capacidad de retención de la solución fue menor. Además, se observó que, en ambas condiciones de pH, los hidrogeles llegaron al equilibrio de hinchamiento después de 1 h.

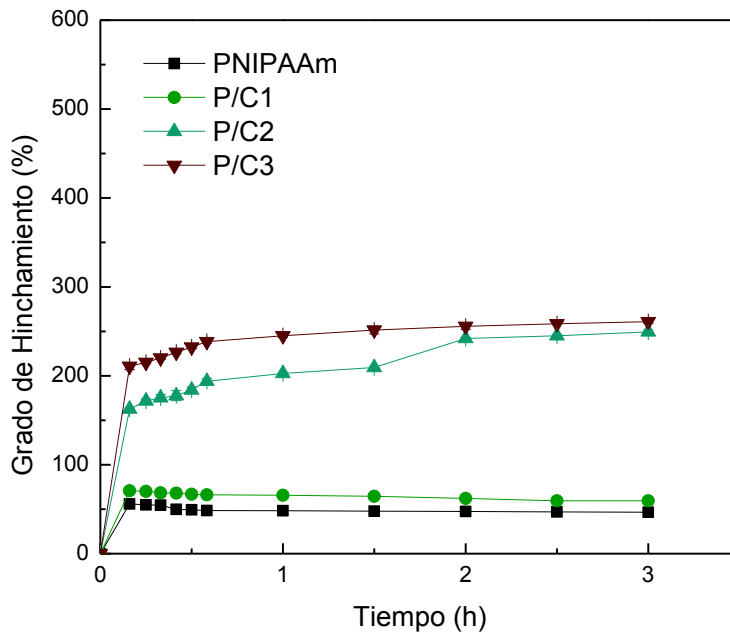


Figura 23. Cinética de hinchamiento de los hidrogeles compuestos en solución buffer, pH 7.4 a 37°C.

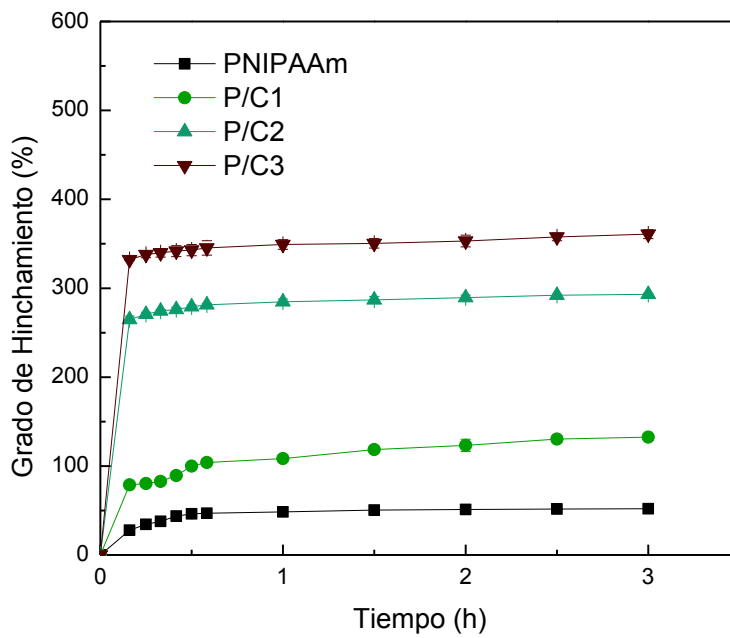


Figura 24. Cinética de hinchamiento de los hidrogeles compuestos en solución buffer, pH 4.5 a 37°C.

La Figura 25 muestra la gráfica de porcentaje de hinchamiento de los hidrogeles en FVS a 37°C, en esta gráfica se observa que la capacidad de hinchamiento en dichas condiciones es comparable con el observado en la Figura 24. Cabe resaltar, que el FVS presenta un pH de 4.59. Durante el estudio de hinchamiento se observó cualitativamente que el hidrogel P/C3 presenta características adhesivas (Figura 26). La Tabla 8 resume los grados de hinchamiento máximo obtenidos para cada hidrogel a diferentes condiciones de temperatura y pH.

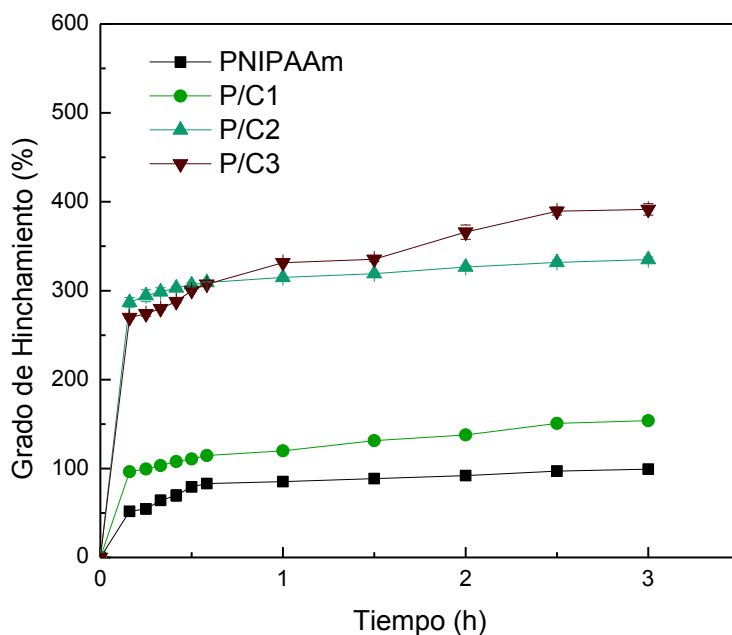


Figura 25. Cinética de hinchamiento de los hidrogeles compuestos en fluido vaginal simulado (pH 4.59) a 37°C.



Figura 26. Hidrogel P/C3 en fluido vaginal simulado (pH 4.59) a 37°C.

Tabla 8. Grados de hinchamiento máximo obtenidos para cada composición de hidrogel a diferentes condiciones de temperatura y pH.

| Hidrogel | Hinchamiento máximo (%) | | | | |
|----------|-------------------------|-------------|-----------|-----------|-----------|
| | 25°C | | 37°C | | FVS |
| | pH 7.4 | pH 4.5 | pH 7.4 | pH 4.5 | |
| PNIPAAm | 1108 ± 44.4 | 1771 ± 19.9 | 46 ± 2.9 | 52 ± 0.5 | 99 ± 5.0 |
| P/C1 | 1553 ± 41.0 | 1811 ± 7.5 | 59 ± 0.3 | 132 ± 3.5 | 154 ± 1.3 |
| P/C2 | 1604 ± 1.9 | 1907 ± 12.7 | 249 ± 2.0 | 293 ± 1.2 | 335 ± 3.0 |
| P/C3 | 1963 ± 8.3 | 2335 ± 23.4 | 261 ± 1.9 | 361 ± 4.9 | 392 ± 6.4 |

La Tabla 9 muestra los resultados obtenidos para el porcentaje de disolución de los hidrogeles después de los estudios de hinchamiento. Se observa que a medida que aumenta la cantidad de PMVE-*alt*-MA en la matriz de PNIPAAm, el porcentaje de disolución aumenta considerablemente. Por otro lado, se observa que el porcentaje de disolución es menor en FVS.

Tabla 9. Porcentaje de disolución de los hidrogeles compuestos después de los estudios de hinchamiento.

| Hidrogel | Hinchamiento | Disolución (%) | DS (\pm) |
|----------|--------------|----------------|--------------|
| PNIPAAm | pH 7.4 | -37.13231 | 0.66677 |
| | pH 4.5 | -21.66066 | 0.66526 |
| | FVS | -5.30846 | 0.51919 |
| P/C 1 | pH 7.4 | -12.34744 | 0.31594 |
| | pH 4.5 | -8.81908 | 0.28161 |
| | FVS | -3.92942 | 0.48335 |
| P/C 2 | pH 7.4 | 21.28024 | 0.86162 |
| | pH 4.5 | 13.46188 | 0.4128 |
| | FVS | 3.21857 | 0.6777 |
| P/C 3 | pH 7.4 | 27.50682 | 1.22679 |
| | pH 4.5 | 17.76586 | 0.28205 |
| | FVS | 9.97614 | 0.54483 |

Evaluación de la Reversibilidad del Comportamiento Termosensible

El estudio de hinchamiento reversible con respuesta a la temperatura se llevó a cabo en medios búfer (pH 4.5 y 7.4) alternando la temperatura entre 25°C y 37°C en diferentes intervalos de tiempo (tiempo requerido para el hinchamiento máximo observado en los estudios de hinchamiento). Se observó que todas las formulaciones de hidrogel mostraron procesos de hinchamiento reproducibles con los cambios de temperatura, al menos durante tres ciclos (Figura 27-30). En el 2001, Ju *et al.*, evaluaron el efecto de la temperatura en hidrogeles semi-IPNs de alginato y PNIPAAm, donde observaron cambios de hinchamiento al alternar la temperatura entre 25°C y 40°C. La Figura 31 muestra el cambio de tamaño entre un xerogel a temperatura ambiente y después de llegar al equilibrio de hinchamiento a 37°C.

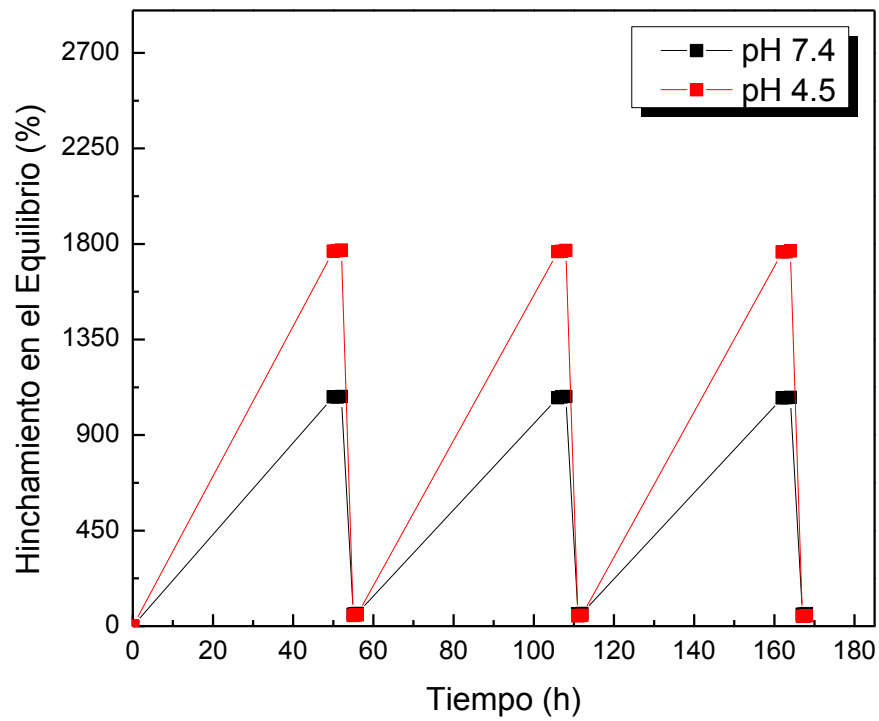


Figura 27. Comportamiento termosensible en el hinchamiento correspondiente al hidrogel de PNIPAAm.

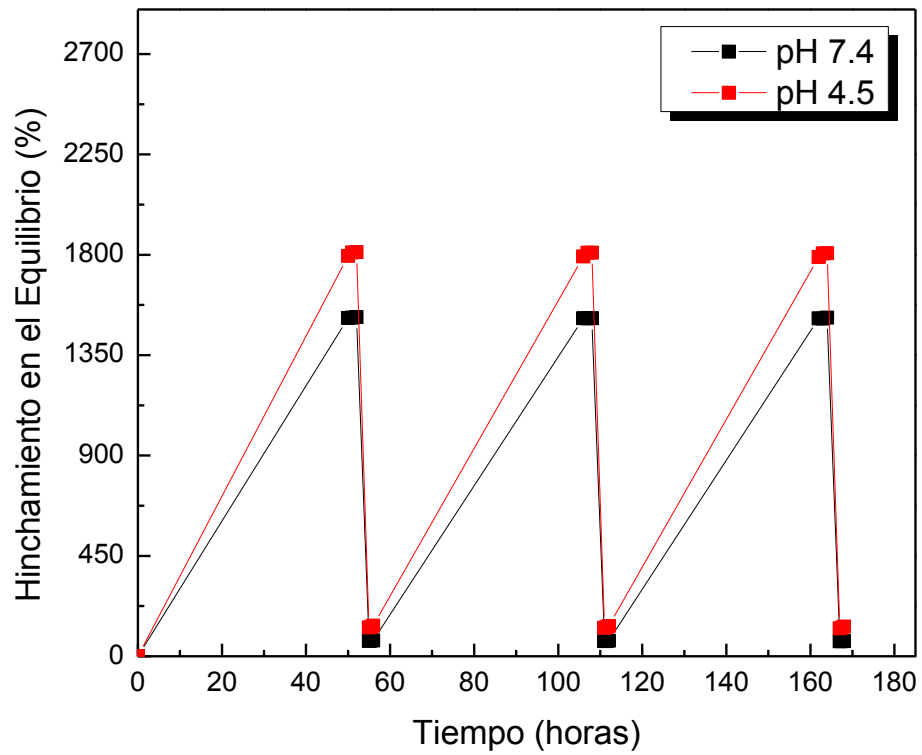


Figura 28. Comportamiento termosensible en el hinchamiento correspondiente al hidrogel P/C1.

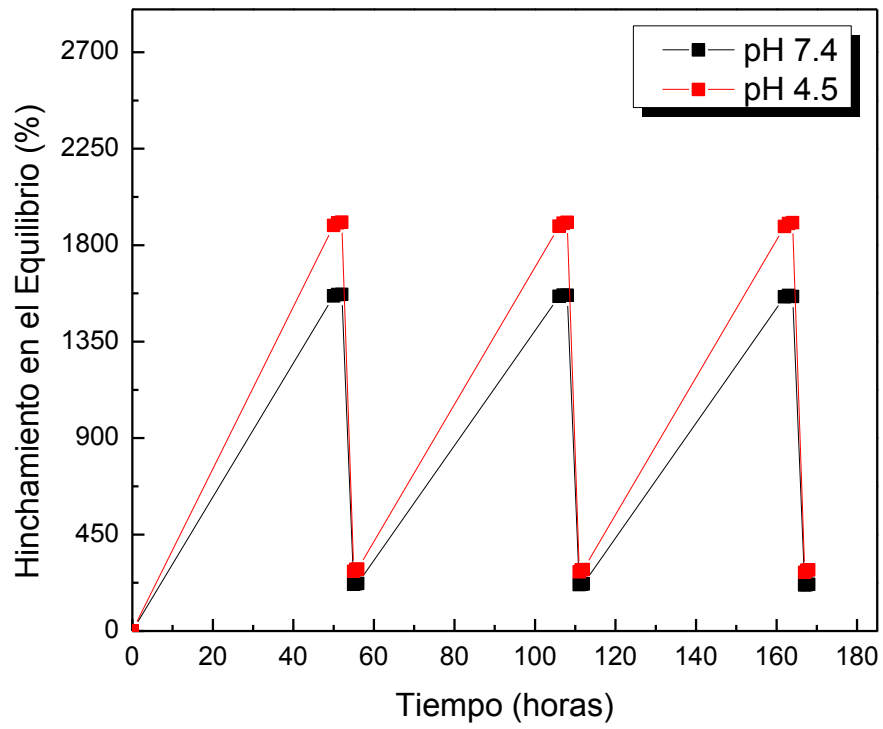


Figura 29. Comportamiento termosensible en el hinchamiento correspondiente al hidrogel P/C2.

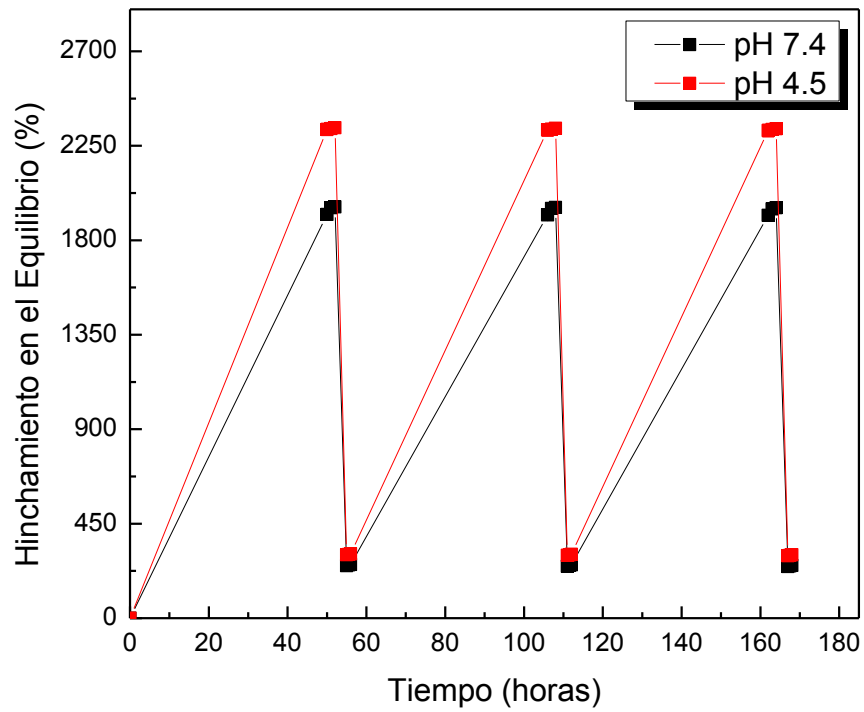


Figura 30. Comportamiento termosensible en el hinchamiento correspondiente al hidrogel P/C3.



Figura 31. Comparación entre xerogel a temperatura ambiente (25°C) (izquierda) y después de llegar al equilibrio de hinchamiento a 37°C (derecha).

Estudios de la Incorporación y Liberación de Metronidazol

Los estudios de incorporación y liberación de metronidazol se llevaron a cabo usando los hidrogeles de P/C2 y P/C3 considerando su mayor capacidad de hinchamiento y propiedades de adherencia cualitativamente más favorables.

Los perfiles de liberación de metronidazol a 37°C en buffer pH 4.5 y en FVS se muestran en la Figura 32A. Se observa que ambos hidrogeles alcanzan el equilibrio de liberación después de 22 h. La Figura 32B muestra la cinética de liberación en las primeras 5 h. Si bien en los estudios de hinchamiento llevados a cabo a 37°C se observa que los hidrogeles exhiben muy poco hinchamiento comparado a 25°C, y estos alcanzan el equilibrio dentro de las primeras 3 h, la liberación del fármaco prolongada más allá de este tiempo podría indicar que las moléculas de metronidazol interactúan fuertemente con la red polimérica tras el colapso del hidrogel de PNIPAAm/PMVE-*alt*-MA a dicha temperatura, por lo tanto, las moléculas se liberan de manera gradual en el tiempo. Este comportamiento se considera favorable para la aplicación del sistema en el tratamiento de la vaginosis bacteriana, es deseable que el metronidazol se libere sostenidamente en el tiempo con la finalidad de mantener la concentración del fármaco en el intervalo terapéutico requerido (Perioli *et al.*, 2009).

Los productos vaginales deben diseñarse para la conveniencia de las mujeres y cumplir algunos requisitos como: evitar fugas del producto, que no produzcan irritación y que sean inodoros e incoloros (Perioli *et al.*, 2008). En la literatura se han descrito varios sistemas para la liberación de metronidazol vía vaginal como cremas, supositorios, geles, duchas vaginales, entre otros. Sin embargo, estas formulaciones no son adecuadas para asegurar la permanencia del fármaco en la superficie de la mucosa vaginal durante el tiempo adecuado por lo que se requiere de aplicaciones repetidas para garantizar la erradicación de la patología (Perioli *et al.*, 2009). En el 2008, Perioli *et al.*, compararon la liberación de metronidazol desde un gel mucoadhesivo compuesto de 5-metil-pirrolidona-quitosano (MPCS) y una formulación comercial de tipo gel llamada Zidoval® compuesto de carbopol 934P. Los autores reportan mejores resultados de liberación a partir del gel mucoadhesivo (86%) comparado con la liberación obtenida desde la formulación comercial (64%) bajo las mismas condiciones (pH 5 a 37°C). Además, realizaron pruebas de fuerza de mucoadhesión *ex vivo* en condiciones similares a la mucosa vaginal, donde observaron que Zidoval® muestra menor fuerza de mucoadhesión comparado con los geles de MPCS. El resultado de esta comparación es promisorio ya que nos indica que la aplicación de

formulaciones con características mucoadhesivas para la liberación de metronidazol puede ser más exitosa sobre las formulaciones comerciales que carecen de esta propiedad.

La aplicación de formulaciones de tipo mucoadhesivas como los hidrogeles de PNIPAAm/PMVE-*alt*-MA podrían extender el tiempo de residencia de metronidazol en la mucosa vaginal.

El hidrogel P/C2 exhibió un mayor porcentaje de liberación en FVS ($94.25 \pm 1.23\%$), comparado con el medio buffer pH 4.5 ($88.5 \pm 0.76\%$). Por otro lado, el hidrogel P/C3 liberó $83.15 \pm 1.56\%$ en pH 4.5 y $83.55 \pm 2.24\%$ en FVS.

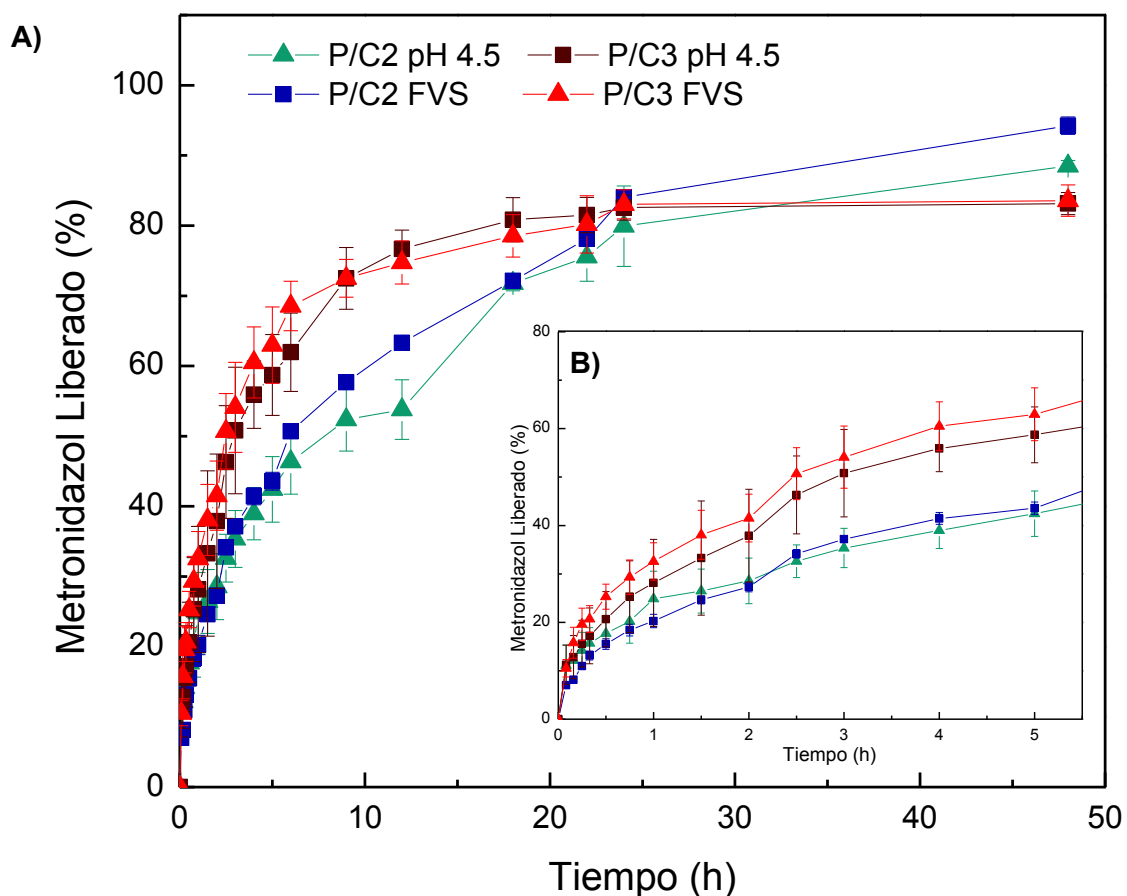


Figura 32. Porcentaje de metronidazol liberado a 37°C desde los hidrogeles P/C2 y P/C3:

A) hasta llegar al equilibrio y B) durante las primeras 5 horas.

La Figura 33 muestra los perfiles de liberación de metronidazol a 25°C desde los hidrogeles P/C2 y P/C3. Se observa que la liberación alcanza el equilibrio más rápido que a 37°C, después de las primeras 2 h en ambos hidrogeles, siendo la composición P/C3 la que libera un mayor porcentaje de metronidazol (98.49±1.18%) en búfer pH 4.5, mientras que en FVS libera 92.65±1.55%. El hidrogel P/C2 libera 94.5±4.31% y 78.13±2.42% en medio búfer pH 4.5 y en FVS, respectivamente. El proceso de difusión del fármaco en los estudios de liberación a 25°C es más rápido comparado con los estudios llevados a 37°C, esto podría atribuirse a la relajación y expansión de las cadenas a 25°C.

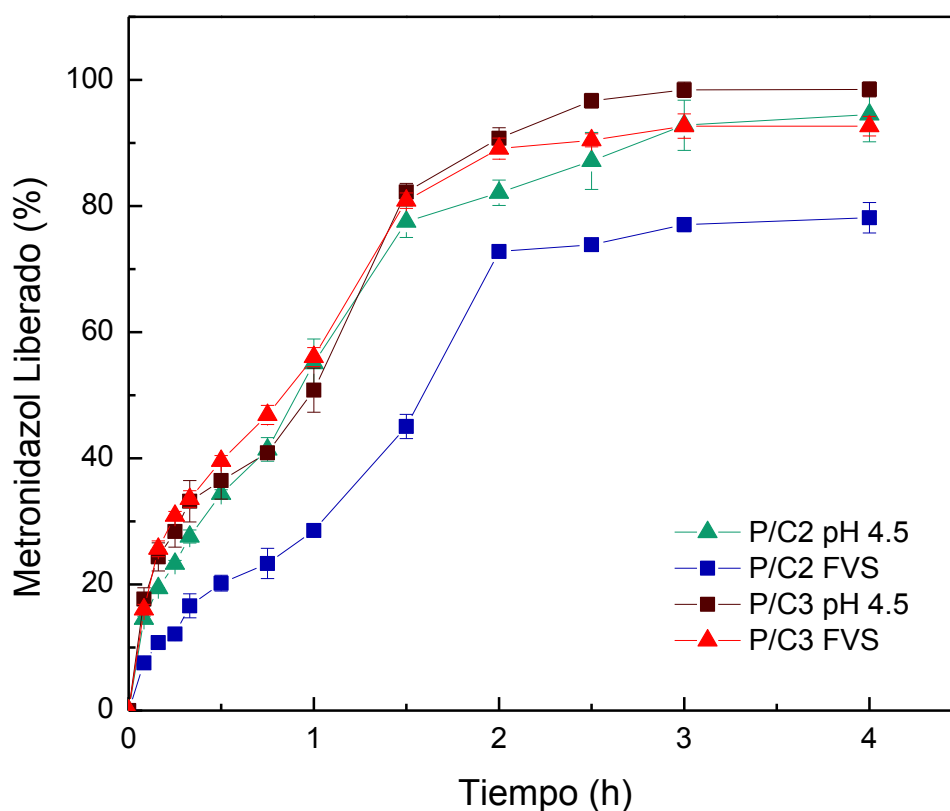


Figura 33. Porcentaje de metronidazol liberado a 25°C desde los hidrogeles P/C2 y P/C3.

Estudio del Mecanismo de Liberación de Metronidazol

La Tabla 10 muestra parámetros de ajuste de los datos de liberación desde los hidrogeles P/C2 y P/C3 según la ecuación de Korsmeyer-Peppas. Bajo las mismas condiciones (FVS y 37°C), la liberación de metronidazol desde el hidrogel P/C2 estuvo gobernada por transporte anómalo, mientras que en la muestra P/C3 ocurrió por un proceso de difusión Fickiana (Orduño *et al.*, 2019). Este resultado indicó que, bajo esas condiciones, el mecanismo de transporte de metronidazol estaba fuertemente influenciado por la composición de los hidrogeles.

Por otro lado, no se observó efecto del pH o el cambio de temperatura sobre el mecanismo de transporte de metronidazol en cada tipo de hidrogel.

Tabla 10. Parámetros de ajuste de los datos de liberación de metronidazol a la ecuación de Korsmeyer-Peppas para los hidrogeles P/C2 y P/C3, en las condiciones de liberación estudiadas.

| Hidrogel | Condiciones | Parámetros de ajuste | | | Mecanismo de liberación |
|----------|-------------|----------------------|---------------|--------|-------------------------|
| | | n | $k (10^{-3})$ | r^2 | |
| P/C2 | pH 4.5 25°C | 0.522 | 1.7 | 0.9865 | Transporte anómalo |
| | FVS 25°C | 0.589 | 0.44 | 0.9764 | Transporte anómalo |
| | pH 4.5 37°C | 0.349 | 1.5 | 0.9919 | Difusión Fickiana |
| | FVS 37°C | 0.466 | 0.37 | 0.9947 | Transporte anómalo |
| P/C3 | pH 4.5 25°C | 0.400 | 4.63 | 0.9869 | Difusión Fickiana |
| | FVS 25°C | 0.473 | 3.6 | 0.9843 | Transporte anómalo |
| | pH 4.5 37°C | 0.433 | 1.5 | 0.9857 | Difusión Fickiana |
| | FVS 37°C | 0.427 | 2.0 | 0.9902 | Difusión Fickiana |

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se sintetizó PNIPAAm por medio de una reacción de polimerización por radicales libres. Se evidenció la formación del polímero a partir de los resultados obtenidos de las caracterizaciones. En el espectro RMN del polímero se observó la eliminación de las señales de los protones vinilo (c y d) y la aparición de las correspondientes a los protones metileno y metino (e y f). En el espectro de FTIR se observó la disminución de intensidades de los picos que corresponden a C=C (965, 989 y 716 cm^{-1}). En el TGA se observó que aumenta la $T_{\text{máx}}$ cuando el polímero se forma. En el espectro UV-Vis de la muestra PNIPAAm no se presenta la absorbancia correspondiente al C=C de la NIPAAm. Se determinó, además, la LCST de la PNIPAAm sintetizada, obteniendo un valor cercano al reportado (Ju *et al*, 2001).

Se prepararon satisfactoriamente redes semi-interpenetradas compuestas por PNIPAAm y PMVE-*alt*-MA en diferentes composiciones. En el espectro FTIR correspondiente a los hidrogeles compuestos, todas las formulaciones presentan los picos correspondientes a ambos componentes poliméricos desplazados a menor número de onda por posibles interacciones entre las cadenas de los polímeros. En el análisis termogravimétrico, las formulaciones con mayor concentración de PMVE-*alt*-MA mostraron T_{max} similares a los componentes poliméricos. Se evidenció mediante SEM que al aumentar la concentración de copolímero el tamaño de poro de la matriz polimérica disminuye. El análisis reológico mostró que los hidrogeles P/C2 y P/C3 presentan un comportamiento más elástico que viscoso.

Todas las formulaciones de hidrogeles se hinchan más a 25°C y a pH 4.5, por otro lado, a 37°C el hinchamiento es mínimo, presentando el mayor hinchamiento en FVS. Además, la incorporación de PMVE-*alt*-MA a la matriz de PNIPAAm favorece el hinchamiento, siendo la composición con mayor cantidad de PMVE-*alt*-MA la que muestra mayor capacidad de hinchamiento.

A medida que aumenta la cantidad de PMVE-*alt*-MA en los hidrogeles, estos tienen mayor pérdida de masa; sin embargo, en todos los casos, las pérdidas son menores en FVS.

Los hidrogeles de PNIPAAm/PMVE-*alt*-MA mostraron un comportamiento termosensible reversible durante al menos tres ciclos de alternar la temperatura entre 25 y 37°C, lo cual se correlaciona con el comportamiento LCST de la PNIPAAm.

La liberación de metronidazol desde las semi-IPNs mostro una cinética más lenta a 37°C, comparada con lo ocurrido a 25°C. Además, los hidrogeles de composición P/C2

fueron los que liberaron en mayor proporción bajo condiciones fisiológicas a 37°C en FVS, lo que, aunado a las características adherentes cualitativamente observadas, los hace promisorios para ser aplicados como dispositivos de liberación prolongada de metronidazol en mucosa vaginal para el tratamiento de la vaginosis bacteriana.

PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES

Para estudios posteriores se recomienda:

- Realizar la determinación del punto de nube para los hidrogeles de PNIPAAm y PMVE-*alt*-MA en diferentes medios de pH y en FVS.
- Realizar estudios de liberación de metronidazol desde los hidrogeles en estado relajado bajo condiciones fisiológicas de temperatura en FVS.
- Evaluar la efectividad de la liberación del fármaco mediante estudios de inhibición bacteriana.
- Evaluar la toxicidad del hidrogel mediante pruebas de hemocompatibilidad.
- Evaluar la bioadhesividad de los hidrogeles para determinar la efectividad como dispositivos de liberación de fármacos en mucosa vaginal.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ahmed EM. 2015. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications. *Journal of Advanced Research*. 6(2):105-121.
2. Alf ME, Hatton TA, Gleason KK. 2011. Novel N-isopropylacrylamide based polymer architecture for faster LCST transition kinetics. *Polymer*. 52(20):4429–4434.
3. Andrews GP, Laverty TP, Jones DS. 2015. Rheological Analysis of Polymer Interactions and Ageing of Poly(Methylvinylether-Co-Maleic Anhydride)/Poly(Vinyl Alcohol) Binary Networks and Their Effects on Mucoadhesion. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 104(12):4329–4338.
4. Arbós P. 2003. Influence of the surface characteristics of PVM/MA nanoparticles on their bioadhesive properties. *Journal of Controlled Release*. 89(1):19–30.
5. Arredondo PA, Londoño LME. 2009. Hidrogeles. Potenciales biomateriales para la liberación controlada de medicamentos. *Revista Ingeniería Biomédica*. 3(5):83-94.
6. Carrero GMG. 2015. Obtención y caracterización de copolímeros de injerto termosensibles PNIPA-f-ácido hialurónico. Tesis de grado. Universidad Simón Bolívar.
7. Cascone S, Lamberti G. 2019. Hydrogel-based commercial products for biomedical applications: a review. *International Journal of Pharmaceutics*. 118803.
8. Coronado R, Pekerar S, Lorenzo AT, Sabino MA. 2011. Characterization of thermo-sensitive hydrogels based on poly(N-isopropylacrylamide)/hyaluronic acid. *Polymer Bulletin*. 67(1):101-124.
9. Das D, Ghosh P, Ghosh A, Haldar C, Dhara S, Panda AB, Pal S. 2015. Stimulus-Responsive, Biodegradable, Biocompatible, Covalently Cross-Linked Hydrogel Based on Dextrin and Poly(N-isopropylacrylamide) for in Vitro/in Vivo Controlled Drug Release. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 7(26):14338–14351.
10. De Souza Ferreira SB, Da Silva JB, Volpato Junqueira M, Belincanta Borghi-Pangoni F, Guttierrez Gomes R, Luciano Bruschi M. 2017. The importance of the relationship between mechanical analyses and rheometry of mucoadhesive thermoresponsive polymeric materials for biomedical applications. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 74:142–153.
11. Demir YK, Metin AU, Satiroglu B, Solmaz ME, Kayser V, Mader K. 2017. Poly (methyl vinyl ether-co-maleic acid) - Pectin based hydrogel-forming systems: Gel, film, and microneedles. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 117:182-194.

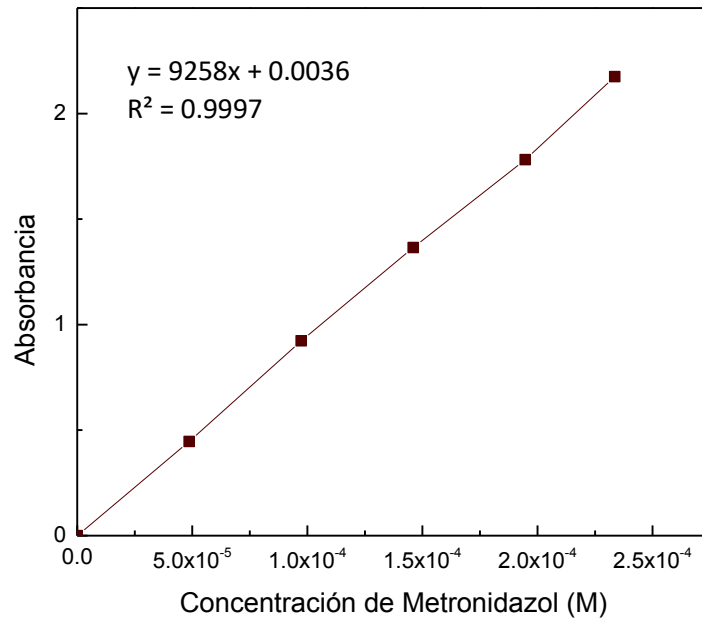
12. Dimitrov I, Trzebicka B, Müller AHE, Dworak A, Tsvetanov CB. 2007. Thermosensitive water-soluble copolymers with doubly responsive reversibly interacting entities. *Progress in Polymer Science*, 32(11):1275–1343.
13. Dobiáš L, Černá M, Rössner P, Šrám R. 1994. Genotoxicity and carcinogenicity of metronidazole. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 317(3):177–194.
14. Donnelly R, Shaikh R, Raj Singh T, Garland M, Woolfson A. 2011. Mucoadhesive drug delivery systems. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. 3(1):89-100.
15. Durand A, Hourdet D. (1999). Synthesis and thermoassociative properties in aqueous solution of graft copolymers containing poly(N-isopropylacrylamide) side chains. *Polymer*. 40(17):4941–4951.
16. Escobar JL, García DM, Zaldivar D, Katime I. 2002. Hidrogeles. Principales características en el diseño de sistemas de liberación controlada de fármacos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 3(3):1-25.
17. Ferreira NN, Ferreira LMB, Cardoso VMO, Boni FI, Souza ALR, Gremião MPD. 2018. Recent advances in smart hydrogels for biomedical applications: From self-assembly to functional approaches. *European Polymer Journal*. 99:117–133.
18. Gandhi A, Paul A, Sen SO, Sen KK. 2015. Studies on thermoresponsive polymers: Phase behaviour, drug delivery and biomedical applications. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 10(2):99–107.
19. Gao X, Cao Y, Song X, Zhang Z, Xiao C, He C, Chen X. 2013. pH- and thermo-responsive poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylic acid derivative) copolymers and hydrogels with LCST dependent on pH and alkyl side groups. *Journal of Materials Chemistry B*. 1(41):5578.
20. Garzón ML, Tecante A, Ramírez-Gilly M, Palacios J. (2009). Comportamiento viscoelástico de disoluciones y tabletas hidratadas de hidroxipropilmetil celulosa, carboximetil celulosa sódica y sus mezclas. *Revista mexicana de ingeniería química*. 8(3):307-318.
21. Gutiérrez PM. 2018. Preparación y Caracterización de Hidrogeles Compuestos de Alginato, Polivinilpirrolidona y Nanotubos de Carbono. Tesis de maestría. Universidad de Sonora.
22. Haq MA, Su Y, Wang D. 2017. Mechanical properties of PNIPAM based hydrogels: A review. *Materials Science and Engineering: C*. 70:842–855.
23. Helliwell M. 1993. The use of bioadhesives in targeted delivery within the gastrointestinal tract. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 11(3):221–251.

24. Jaiswal M, Dinda AK, Gupta A, Koul V. 2010. Polycaprolactone diacrylate crosslinked biodegradable semi-interpenetrating networks of polyacrylamide and gelatin for controlled drug delivery. *Biomedical Materials*. 5(6):1-14.
25. Jones DS, Laverty TP, Morris C, Andrews GP. 2016. Statistical modelling of the rheological and mucoadhesive properties of aqueous poly(methylvinylether-co-maleic acid) networks: Redefining biomedical applications and the relationship between viscoelasticity and mucoadhesion. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 144:125–134.
26. Ju HK, Kim SY, Kim SJ, Lee YM. 2001. pH/temperature-responsive semi-IPN hydrogels composed of alginate and poly(N-isopropylacrylamide). *Journal of Applied Polymer Science*. 83(5):1128–1139.
27. Katime TD, Katime TO, Katime A, Issa A. 2004. Los materiales inteligentes de este milenio. Los hidrogeles macromoleculares: Síntesis, propiedades y aplicaciones. España: Universidad del País Vasco. 336 p.
28. Kost J, Langer R. 2001. Responsive polymeric delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 48:125-148.
29. Kumar S, Singh AK, Prajapati SK, Singh VK. 2012. Formulation and Evaluation of once daily sustained release matrix tablets of Aceclofenac using natural gums. *J. Drug Deliv. Ther.* 2:16–24.
30. Larrañeta E, Barturen L, Ervine M, Donnelly RF. 2018. Hydrogels based on poly(methyl vinyl ether-co-maleic acid) and Tween 85 for sustained delivery of hydrophobic drugs. *International Journal of Pharmaceutics*. 538(1-2):147–158.
31. Lencina MMS. (2013). Síntesis y caracterización de hidrogeles de alginato y N-isopropilacrilamida para aplicaciones biomédicas. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.
32. Mahinroosta M, Farsangi ZJ, Allahverdi A, Shakoori Z. 2018. Hydrogels as intelligent materials: A brief review of synthesis, properties and applications. *Materials Today Chemistry*. 8(2018):42-55.
33. Maji S, Jerca VV, Jerca FA, Hoogenboom R. 2018. Smart polymeric gels. *Polymeric Gels*. 179–230.
34. Mira A, Mateo CR, Mallavia R, Falco A. 2017. Poly(methyl vinyl ether-alt-maleic acid) and ethyl monoester as building polymers for drug-loadable electrospun nanofibers. *Scientific Reports*, 7(1).
35. Orduño Rodríguez AM, Pérez Martínez CJ, del Castillo Castro T, Castillo Ortega MM,

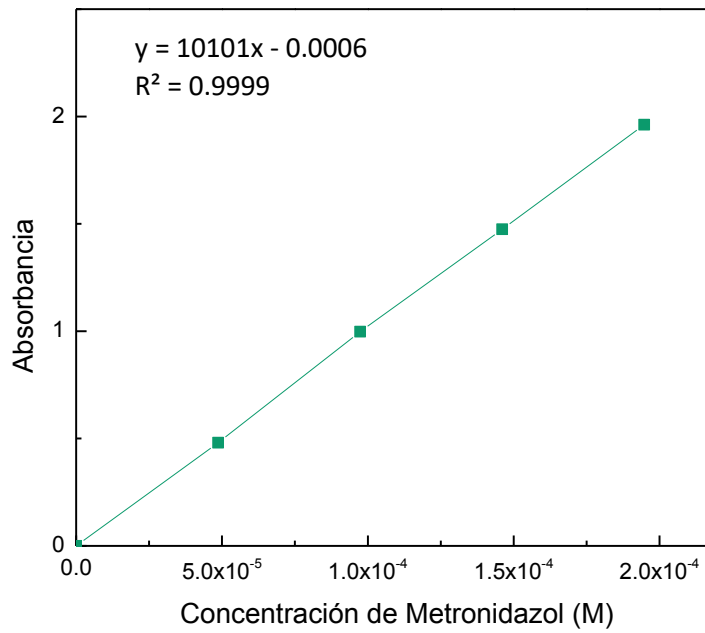
- Rodríguez Félix DE, Romero García J. 2020. Nanocomposite hydrogel of poly(vinyl alcohol) and biocatalytically synthesized polypyrrole as potential system for controlled release of metoprolol. *Polym. Bull.* 77:1217–1232.
36. Palmeira-de-Oliveira R, Palmeira-de-Oliveira A, Martinez-de-Oliveira J. 2015. New strategies for local treatment of vaginal infections. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 92:105–122.
 37. Patra P, Rameshbabu AP, Das D, Dhara S, Panda AB, Pal S. 2016. Stimuli-responsive, biocompatible hydrogel derived from glycogen and poly(N-isopropylacrylamide) for colon targeted delivery of ornidazole and 5-amino salicylic acid. *Polymer Chemistry.* (7):5426-5435.
 38. Pei Y, Chen J, Yang L, Shi L, Tao Q, Hui B, Li J. 2003. The effect of pH on the LCST of poly(N-isopropylacrylamide) and poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylicacid). *Journal of Biomaterials Science.* 15(5):585-594.
 39. Pérez MCJ. 2010. Estudio de la liberación controlada de amoxicilina, basados en sistemas de redes semi interpenetradas formadas por poli(acrilamida) y poli(ácido-γ-glutámico). Tesis de maestría. Universidad de Sonora.
 40. Pérez MCJ. 2015. Bioactivación de polianilina para aplicaciones biomédicas. Tesis doctoral. Centro de Investigación en Materiales Avanzados.
 41. Perioli L, Ambrogi V, Venezia L, Pagano C, Ricci M, Rossi C. 2008. Chitosan and a modified chitosan as agents to improve performances of mucoadhesive vaginal gels. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 66(1):141–145.
 42. Perioli L, Ambrogi V, Pagano C, Scuota S, Rossi C. 2009. FG90 chitosan as a new polymer for metronidazole mucoadhesive tablets for vaginal administration. *International Journal of Pharmaceutics.* 377(1-2):120–127.
 43. Qureshi D, Kumar Nayak S, Maji S, Anis A, Kim D, Pal K. 2019. Environment Sensitive Hydrogels for Drug Delivery Applications. *European Polymer Journal.* 120:1-39.
 44. Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, Lemons JE. 2013. Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine. 3rd ed. Academic Press. 1573p.
 45. Robbie MO, Sweet RL. 1983. Metronidazole use in obstetrics and gynecology: A review. *American Journal of Obstetrics and Gynecology,* 145(7):865–881.
 46. Sachan VK, Devi A, Katiyar RS, Nagarale RK, Bhattacharya PK. 2014. Proton transport properties of sulphanilic acid tethered poly(methyl vinyl ether-alt-maleic anhydride)-PVA blend membranes. *European Polymer Journal.* 56:45–58.
 47. Sáez V, Hernáez E, López L. 2003. Liberación controlada de fármacos. Aplicaciones

- biomédicas. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 4(2):111-122.
48. Schmaljohann D. (2006). Thermo- and pH-responsive polymers in drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 58(15):1655–1670.
 49. Seymour RB, Carraher CE. 2013. *Polymer Chemistry. An Introduction*. 3rd ed. CRC Press. 554 p.
 50. Soledad LMM. 2013. Síntesis y caracterización de hidrogeles de alginato y n-isopropilacrilamida para aplicaciones biomédicas. Tesis doctoral. Universidad Nacional del Sur.
 51. Soppimath KS, Aminabhavi TM, Dave AM, Kumbar SG, Rudzinski WE. 2002. Stimulus-Responsive “Smart” Hydrogels as Novel Drug Delivery Systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 28(8):957-974.
 52. Teichmann J, Nitschke M, Pette D, Valtink M, Gramm S, Hartel FV, Noll T, Funk RHW, Engelmann K, Werner C. 2015. Thermo-responsive cell culture carriers based on poly(vinyl methyl ether)—the effect of biomolecular ligands to balance cell adhesion and stimulated detachment. *Science and Technology of Advanced Materials*. 16(4):1-13.
 53. Varaprasad K, Raghavendra GM, Jayaramudu T, Yallapu MM, Sadiku R. 2017. A mini review on hydrogels classification and recent developments in miscellaneous applications. *Materials Science and Engineering C*. 79:958–971.
 54. Ward A, Georgiou T. 2011. Thermoresponsive Polymers for Biomedical Applications. *Polymers*. 3(3):1215-1242.
 55. Zhu W, Chuah YJ, Wang DA. 2018. Bioadhesives for internal medical applications: A review. *Acta Biomaterialia*, 74, 1–16.
 56. Zong Y, Wei Y, Morgan SE. (2013). Adsorption/Desorption Processes of pH-Responsive Copolymers on Model Dental Surfaces via QCM and AFM Analysis. *Polymers for Personal Care and Cosmetics*. 17(1148):301–318.

ANEXOS



Curva de calibración de metronidazol en búfer pH 4.5.



Curva de calibración de metronidazol en FVS.

PRESENTACIÓN DE CARTEL RELACIONADO CON EL TRABAJO DE TESIS

1. A. V. Torres-Figueroa, T. del Castillo-Castro, C. J. Pérez-Martínez, E. Bolado-Martínez. "*Hidrogeles Compuestos de PNIPAAm-NH₂ y PMVE-alt-MA con Posible Aplicación Biomédica*". XXIII Reunión Universitaria de Investigación en Materiales. 2018. Hermosillo, Sonora, México.
2. A. V. Torres-Figueroa, T. del Castillo-Castro. "*Síntesis y Caracterización de la poli(N-isopropilacrilamida) para la Elaboración de Hidrogeles Termosensibles*". XIII Coloquio Bienal en Ciencia de Materiales. 2019. Hermosillo, Sonora, México.
3. A. V. Torres-Figueroa, T. del Castillo-Castro, C. J. Pérez-Martínez, E. Bolado-Martínez, J. C. Encinas. "*Síntesis y Caracterización de Hidrogeles de PNIPAAm/PMVE-alt-MA con Potencialidad en Aplicaciones Biomédicas*". XXIV Reunión Universitaria de Investigación en Materiales. 2019. Hermosillo, Sonora, México.