

# UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE INGENIERÍA  
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN EN POLÍMEROS Y  
MATERIALES

Hidrogeles compuestos electroconductores sintetizados  
a partir de una matriz ionotrópica de alginato-calcio y  
polipirrol nanoestructurado utilizados como sistemas de  
liberación de fármacos

Presentada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIA DE MATERIALES

Presenta:

**Reina Vianey Quevedo Robles**

Hermosillo, Sonora

Diciembre 2020

# Repositorio Institucional UNISON



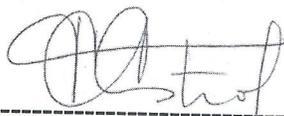
**"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"**



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

## APROBACIÓN DE TESIS

Los miembros del jurado designado para revisar la tesis doctoral de Reina Vianey Quevedo Robles, han dictaminado que el trabajo cumple satisfactoriamente como requisito parcial para obtener el grado de Doctor en Ciencia de Materiales otorgado por la Universidad de Sonora.



---

Dra. Teresa del Castillo Castro  
Presidente



---

Dra. María Mónica Castillo Ortega  
Secretaria



---

Dra. Dora Evelia Rodríguez Félix  
Sinodal



---

Dra. Hisila del Carmen Santacruz Ortega  
Sinodal



---

Dr. José Carmelo Encinas Encinas  
Sinodal



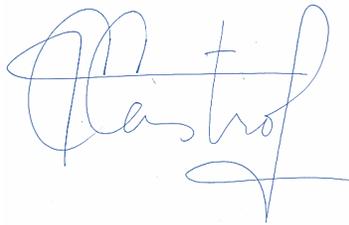
---

Dra. Tania Ernestina Lara Cenicerós  
Sinodal externo

## DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

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

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



Dra. Teresa del Castillo Castro

Jefe del Departamento

## **DEDICATORIA**

*A mi bella Angela que siempre estará en mi corazón...*

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a la Universidad de Sonora y al Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales, por mi formación académica, así como por el uso de sus instalaciones.

A CONACYT y al proyecto CONACYT A1-S-26206, “Desarrollo y estudio fisicoquímico de hidrogeles nanocompuestos electroconductores como sistemas bioactivos de estímulo-respuesta”, aprobado en la convocatoria de Ciencia Básica 2017-2018, por la beca otorgada y el financiamiento para el desarrollo de mi tesis.

A mi directora de tesis la Dra. Teresa del Castillo Castro, por la confianza, por su paciencia, por darme la oportunidad de formar parte de su grupo de trabajo y principalmente por compartir sus conocimientos e impulsarme a no darme por vencida.

A mis sinodales: Dra. Mónica Castillo, Dra. Dora E. Rodríguez, Dra. Hisila Santacruz, Dra. Tania E. Lara y Dr. Carmelo Encinas. Por sus consejos que fortalecieron mi formación y mi proyecto de tesis.

A la Dra. Lerma Chan, Dra. Judith Tanori, Dra. Silvia Burruel, Dr. Refugio Pérez, Dra. Irela Santos, Dra. Yesenia Hernández, por su ayuda y paciencia en la caracterización de los materiales realizados.

A mis padres y hermanos por su amor y su apoyo incondicional en cada una de mis metas.

A mi esposo Marcos Cota por su amor, su apoyo y paciencia en cada uno de mis objetivos. Por formar parte de mis metas y mis sueños en la construcción de un futuro juntos.

A mis amigos y compañeros de laboratorio: Mariana, Yesenia, Claudia, Moisés, Octavio, Manuel, Karla A., Damián, Adilene, Karla F., Ana, Brianda y Andya. Por su apoyo y convivencia.

## ÍNDICE

ÍNDICE .....	I
LISTA DE FIGURAS .....	IV
LISTA DE TABLAS.....	VIII
LISTA DE FIGURAS ANEXOS.....	IX
LISTA DE TABLAS ANEXOS.....	X
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XI
RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	3
1. INTRODUCCIÓN.....	4
2. OBJETIVOS.....	8
2.1 Objetivo general.....	8
2.2 Objetivos específicos .....	8
3. ANTECEDENTES.....	9
3.1 Polímeros electroconductores.....	9
3.1.1 Generalidades .....	9
3.1.2 Polipirrol.....	11
3.1.3 Método de síntesis de polipirrol por emulsión.....	16
3.2 Aplicaciones de los polímeros conductores .....	18
3.2.1 Actuadores.....	18
3.2.2 Sensores / Biosensores .....	20
3.2.3 Ingeniería de tejidos.....	21
3.2.4 Cargado y liberación de fármacos a partir del PPy.....	22
3.3 Nanotubos de carbono.....	25
3.3.1 Estructura y propiedades .....	25
3.4 Hidrogeles .....	27
3.4.1 Generalidades .....	27
3.4.2 Propiedades de los hidrogeles.....	28
3.4.2.1 Hinchamiento.....	28
3.4.2.2 Porosidad.....	29
3.4.2.3 Biocompatibilidad y biodegradabilidad.....	30

3.4.2.4 Rigidez.....	30
3.5 Clasificación de los hidrogeles.....	30
3.6 Hidrogeles de alginato de sodio.....	31
3.7 Hidrogeles nanocompuestos .....	34
3.8 Cargado de fármacos en hidrogeles compuestos electroconductores. ....	35
3.9 Liberación de fármacos a partir de hidrogeles compuestos electroconductores. ....	36
4. METODOLOGÍA.....	39
4.1 Materiales .....	39
4.2 Síntesis de polipirrol.....	39
4.2.1 Tratamiento oxidativo de p-NTCPM.....	39
4.2.2 Síntesis de polipirrol.....	40
4.2.3 Purificación de la síntesis PPy.....	41
4.2.4 Caracterización de productos de reacción.....	42
4.3 Proceso de formación de hidrogeles de alginato .....	45
4.3.1 Proceso de formación de hidrogeles Alginato-PPy.....	46
4.3.2 Proceso de formación de hidrogeles alginato-fármaco-polipirrol. ....	47
4.3.3 Caracterización de hidrogeles .....	49
4.4 Liberación de fármacos.....	51
5. RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	54
5.1 Síntesis de polipirrol.....	54
5.1.1 Determinación de la concentración crítica micelar (CMC). ....	54
5.1.2 Rendimiento, conductividad eléctrica y potencial zeta.....	56
5.1.3 Morfología.....	60
5.1.4 Análisis de espectroscopía infrarrojo (FT-IR).....	63
5.1.5 Análisis composicional por XPS .....	67
5.1.6 Propuesta del mecanismo de formación.....	69
5.2 Hidrogeles electroconductores.....	72
5.2.1 Cinéticas de hinchamiento a pH 7.4. ....	72
5.2.2 Cinética de hinchamiento a pH 1.2. ....	75
5.2.3 Morfología.....	77
5.2.3 Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier.....	78
5.2.4 Análisis termogravimétrico.....	82

5.2.5 Propiedades mecánicas de los hidrogeles.....	87
5.3 Cinética de liberación de metoprolol <i>in vitro</i> .....	89
6. CONCLUSIONES.....	103
7. RERENCIAS .....	104
8. ANEXOS .....	118
8.1. Microscopía de fuerza atómica.....	118
8.2. Análisis termogravimétrico de las síntesis de PPy.....	118
8.3. Espectroscopía ultravioleta visible de las síntesis de PPy.....	119
8.4. Estudios de viabilidad celular.....	120
8.5. Estudios de liberación de fármacos.....	121
9. ANEXOS II .....	129
9.1 Publicaciones científicas.....	129
9.2 Participación en congresos .....	132
9.3 Premios.....	135

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructuras químicas de polímeros conductores.....	11
Figura 2. Estructuras electrónicas de PPy a) neutro, b) polarón parcialmente dopado y c) bipolarón[45]. .....	12
Figura 3. Diagrama de energía para PPy a) neutro, b) polarón, c) bipolarón y d) totalmente dopado[45]. .....	14
Figura 4. Estructura electrónica de bandas con a) p-dopaje y b) n-dopaje. ....	15
Figura 5. Mecanismo de electroactuación de PPy. Hinchamiento y contracción del polímero[73]. .....	19
Figura 6. Mecanismo de actuación de una película de PPy[68]. .....	20
Figura 7. Ilustración esquemática de los pasos de reacción para la fabricación del biosensor a base de nanotubos de PPy[75]. .....	21
Figura 8. Mecanismos de cargado de fármaco, a) método de un paso (carga negativa), b) método de tres pasos (carga negativa) y c) método de tres pasos (carga positiva)[35]. .....	23
Figura 9. a) Actividad redox de PPy con la liberación/ integración de dopantes aniónicos, b) liberación de fármaco aniónica y catiónica[35]. .....	24
Figura 10. a) Esquema propuesto de la síntesis de PPy y b) diagrama esquemático de la configuración electroquímica para la liberación de Dex y DexP[81]. .....	25
Figura 11. Representación esquemática de a) nanotubos de carbono de pared simple (NTCPS) y b) nanotubos de carbono de pared múltiple (NTCPM). .....	26
Figura 12. Clasificación de los hidrogeles de acuerdo a diferentes parámetros[99]. .....	31
Figura 13. Estructura del alginato y modelo "caja de huevos"[101]. ....	32
Figura 14. Entrecruzamiento de alginato con cationes divalentes [59]. ....	33
Figura 15. Gelificación <i>in situ</i> de alginato, a) entrecruzando con CaCl <sub>2</sub> y b) entrecruzando con CaCO <sub>3</sub> y gdl[104]. .....	34
Figura 16. Cargado de fármaco en un hidrogel a) posterior a la formación del hidrogel y b) cargado <i>in situ</i> [110]. .....	36

Figura 17. Ilustración de los mecanismos de contracción en el hidrogel inducida por la aplicación de un potencial eléctrico[109].	37
Figura 18. Proceso ilustrado de la síntesis de PPy, a) síntesis 1 y b) síntesis 2-9. La reacción se realizó en solución acuosa ácida, temperatura ambiente.	41
Figura 19. Síntesis de PPy a mayor escala (cinco veces) bajo condiciones controladas de temperatura (3°C) y atmósfera de nitrógeno N <sub>2</sub> .	41
Figura 20. Proceso de purificación de la síntesis de PPy a) centrifugación y b) diálisis en agua desionizada.	42
Figura 21. Proceso de obtención de hidrogeles de alginato-Calcio.	46
Figura 22. Proceso de formación de hidrogeles compuestos alginato-PPy.	46
Figura 23. Proceso de formación de hidrogeles compuestos Alginato-fármaco-PPy.	47
Figura 24. Esquema de liberación de metoprolol bajo la aplicación de un estímulo eléctrico.	52
Figura 25. Variación de la tensión superficial en función de la concentración de SDS en medio ácido.	56
Figura 26. Estudio de morfología mediante microscopía electrónica de barrido transmisión (STEM), microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FE-SEM) y microscopía de fuerza atómica (AFM) para las síntesis a) 2, b) 6, c) 7 y d)10.	62
Figura 27. Espectros FT-IR de reactivos a) surfactante SDS, b) p-NTCPM, c) Alg y d) f-NTCPM.	63
Figura 28. Espectros infrarrojo FT-IR para los productos de la síntesis de PPy a) síntesis.1 a la síntesis 5 y b) síntesis 6 a la síntesis 10.	66
Figura 29. Espectros C1s y N1s nivel núcleo para los productos de las síntesis 2 (a y b), 6 (c y d), 7 (e y f) and 10 (g y h).	69
Figura 30. Distribución de tamaño por DLS. Las mediciones se realizaron bajo estas condiciones a) medio ácido + SDS, b) medio ácido + SDS + Py, y c) medio ácido + SDS + Py + Alg.	70

Figura 31. Mecanismo de formación de nanoestructuras de PPy y en presencia de p-NTCPM y Alg.....	71
Figura 32. Cinéticas de hinchamiento para los diferentes tipos de hidrogeles preparados, a) HgAM 1:1, HgAMP20 1:1 y HgAMP30 1:1 y b) HgAM 2:1, HgAMP0.5 2:1, HgAMP1 2:1 y HgAMP20 2:1; c) HgAM 2:2 y HgAMP20 2:2, en buffer trizma pH 7.4, T=25°C.....	73
Figura 33. Cinéticas de hinchamiento de hidrogeles de Alg a) HgAM 1:1, HgAM 2: y HgAM 2:2 con diferente relación molar de gdl:Ca y b) HgAMP20 1:1, HgAMP20 2:1 y HgAMP20 2:2 diferente relación molar gdl:Ca y 20 mg de PPy nanoestructurado, obtenidas en buffer Trizma pH 7.4, T=25°C.....	75
Figura 34. Cinéticas de hinchamiento en medio ácido (HCl pH 1.2, T=25°C) hidrogeles HgA 2:1, HgAM 2:1, HgAP0.5 2:1, HgAP1 2:1, HgAMP0.5 2:1, HgAMP1 2:1 con relación molar gdl: Ca 2:1.....	76
Figura 35. Fotografías de las cinéticas de hinchamiento en medio ácido (HCl pH 1.2, T=25°C) para los hidrogeles a) HgA 2:1, b) HgAM 2:1, c) HgAP0.5 2:1, d) HgAP1 2:1, e) HgAMP0.5 2:1 y HgAM1 2:1.....	77
Figura 36. Micrografías SEM para los diferentes hidrogeles compuestos a) HgA 2:1, b) HgAM 2:1, c) HgAP0.5 2:1, d) HgAP1 2:1, e) HgAMP0.5 2:1 y g) HgAMP1 2:1.....	78
Figura 37. a-f) Micrografías TEM para el hidrogel HgAMP1 2:1 y g) micrografía STEM para la síntesis de PPy #10.....	78
Figura 38. Espectros FT-IR para los hidrogeles HgAM 1:1, HgAMP20 1:1 y HgAMP30 1:1.....	80
Figura 39. Espectros FT-IR para los hidrogeles HgA 2:1, HgAM 2:1, HgAP0.5 2:1, HgAP1 2:1, HgAMP0.5 2:1, HgAMP1 2:1 y HgAMP20 2:1 con relación molar gdl:Ca 2:1.....	81
Figura 40. Espectros FT-IR para los hidrogeles HgAM 2:2 y HgAMP20 2:2 con relación molar gdl:Ca 2:2.....	82
Figura 41. Análisis termogravimétrico para el alginato de sodio.....	83
Figura 42. Análisis termogravimétrico para el metoprolol tartrato.....	83
Figura 43. Análisis termogravimétrico para el CaCO <sub>3</sub> .....	84

Figura 44. Análisis termogravimétrico para los hidrogeles HgAM 1:1, HgAMP20 1:1 y HgAMP30 1:1. ....	85
Figura 45. Análisis termogravimétrico para los hidrogeles HgA 2:1, HgAM 2:1, HgAP0.5 2:1, HGAP1 2:1, HgAMP0.5 2:1, HgAMP1 2:1 y HgAMP20 2:1. ....	86
Figura 46. Análisis termogravimétrico para los hidrogeles HgAM 2:2 y HgAMP20 2:2. ....	87
Figura 47. Cinética de liberación de metoprolol a partir del hidrogel HgAM 1:1 a 0V y -5V (25°C y buffer trizma pH =7.4).....	91
Figura 48. Cinética de liberación de metoprolol a partir del hidrogel HgAMP20 1:1 a 0V y -5V (25°C y buffer trizma pH= 7.4). ....	92
Figura 49. Cinética de liberación de metoprolol a partir del hidrogel HgAMP30 1:1 a 0V y -5V (25°C y buffer trizma pH= 7.4). ....	93
Figura 50. Cinética de liberación de metoprolol a partir del hidrogel HgAM 2:1 a 0V y -5V (25°C y buffer trizma pH= 7.4).....	95
Figura 51. Cinética de liberación de metoprolol a partir del hidrogel HgAMP 20 2:1 a 0V y -5V (25°C y buffer trizma pH= 7.4). ....	96
Figura 52. Cinética de liberación de metoprolol a partir del hidrogel HgAM 2:2 a 0V y -5V (25°C y buffer trizma pH= 7.4).....	98
Figura 53. Cinética de liberación de metoprolol a partir del hidrogel HgAMP 20 2:2 a 0V y -5V (25°C y buffer trizma pH= 7.4). ....	99

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición utilizada en la preparación de los diferentes hidrogeles. La concentración de Alg fue 2% (p/v) para todos los hidrogeles. ....	48
Tabla 2. Condiciones experimentales aplicadas en la liberación pasiva y por la aplicación de un pulso eléctrico. ....	53
Tabla 3. Rendimiento de reacción, conductividad eléctrica y potencial zeta de los productos de PPy bajo diferentes condiciones de reacción (Py 290 mM, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 390 mM). ....	60
Tabla 4. Composición atómica determinada por XPS para los productos de PPy. ....	67
Tabla 5. Propiedades mecánicas de compresión para los hidrogeles. ....	89
Tabla 6. Liberación a partir de los hidrogeles con relación gdl: Ca 1:1. ....	90
Tabla 7. Liberación a partir de los hidrogeles con relación gdl: Ca 2:1. ....	94
Tabla 8. Liberación a partir de los hidrogeles con relación gdl: Ca 2:2. ....	97
Tabla 9. Ajuste matemático Korsmeyer-Peppas de liberación de metoprolol (pasiva y bajo la aplicación de un potencial eléctrico) estudiados a pH 7.4 y T=25°C. ....	101
Tabla 10. Ajuste matemático Higuchi de liberación de metoprolol (pasiva y bajo la aplicación de un potencial eléctrico) estudiados a pH 7.4 y T=25°C. ....	102

## LISTA DE FIGURAS ANEXOS

Figura anexos 1. Micrografía AFM para la síntesis 3. ....	118
Figura anexos 2. Análisis termogravimétrico para las síntesis de las nanoestructuras de PPy. ....	119
Figura anexos 3. Espectroscopía Uv-Vis para las nanoestructuras de PPy.....	120
Figura anexos 4. Viabilidad celular para los hidrogeles HgA 2:1, HgAM 2:1, HgAP1 2:1 y HgAMP1 2:1. ....	121
Figura anexos 5. Liberación de metoprolol a partir de los hidrogeles HgAMP0.5 2:1. ....	123
Figura anexos 6. Liberación de metoprolol a partir de los hidrogeles HgAM 2:1 y HgAMP1 2:1. ....	128

## LISTA DE TABLAS ANEXOS

Tabla anexos 1. Liberación de fármacos a partir de los hidrogeles HgAM0.5 2:1 .....	122
Tabla anexos 2.Liberación de fármacos a partir de los hidrogeles HgAM 2:1 y HgAMP1 2:1 .....	123

## LISTA DE ABREVIATURAS

Alg	Alginato de sodio
CMC	Concentración crítica micelar
DLS	Dispersión dinámica de luz
FE-SEM	Microscopía electrónica de barrido por emisión de campo
FT-IR	Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier
f-NTCPM	Nanotubos de carbono de pared múltiple funcionalizados
gdl	Glucona- $\delta$ -lactona
H <sub>2</sub> O DI	Agua desionizada
HG	Hidrogel
HEC	Hidrogeles electroconductores
NPs	Nanopartículas
NTC	Nanotubos de carbono
PCs	Polímeros conductores
p-NTCPM	Nanotubos de carbono de pared múltiple de origen prístino
PPy	Polipirrol
Py	Pirrol
SDS	Dodecil sulfato de sodio
TGA	Análisis termogravimétrico
UV-Vis	Espectroscopía ultravioleta visible
VC	Voltametría cíclica
XPS	Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X

## RESUMEN

Los sistemas de liberación controlada de fármacos permiten liberar el agente activo, en un tiempo determinado y con un perfil de liberación predeterminado justo en el sitio de acción. El desarrollo de sistemas de liberación controlada de fármacos innovadores incluye el diseño y preparación de hidrogeles electroconductores (HEC), que pueden ser formados por matriz (hidrogel) y un polímero conductor. La matriz actúa como un reservorio altamente poroso para la incorporación de pequeñas y/o grandes moléculas en altas concentraciones, mientras que las propiedades eléctricas y electroactivas de los polímeros electroconductores, permiten el control dinámico de la liberación de fármacos, bajo la aplicación de un impulso eléctrico modificando la cinética de liberación del fármaco y favoreciendo el transporte de diferentes moléculas y iones.

En este trabajo se llevó a cabo la síntesis y caracterización HEC compuestos de una matriz de un polímero biocompatible, alginato (Alg), conteniendo nanoestructuras de polipirrol (PPy), sintetizadas mediante "química verde". Los nanomateriales de PPy y los HEC fueron caracterizados mediante diferentes técnicas con la finalidad de estudiar su estructura y propiedades, así como las interacciones entre los diferentes componentes de estos novedosos materiales compuestos. Los HEC fueron preparados modificando la densidad de entrecruzamiento y la cantidad de nanoestructuras de PPy. Las cinéticas de liberación de metoprolol, fármaco modelo cargado en los HEC, se obtuvieron de manera pasiva y con la aplicación de un potencial eléctrico. Los estudios revelaron que a relaciones de entrecruzamiento bajas, la matriz de alginato presenta una respuesta ante el estímulo eléctrico debido a fuerzas electrostáticas de repulsión entre los grupos carboxílicos. Sin embargo, al introducir el PPy nanocompuesto, se incrementó el porcentaje de liberación del metoprolol bajo impulso eléctrico influenciado por las propiedades electroactivas del PPy en sinergia con la respuesta de la matriz a la aplicación de una diferencia de potencial. Adicionalmente, al incrementar el entrecruzamiento de la matriz, se observó que la liberación del

fármaco bajo impulso eléctrico se ve activada por la reducción del PPy. Los sistemas nanocompuestos estudiados en este trabajo, pueden ser útiles en aplicaciones de liberación pulsada de fármacos mediante estímulos eléctricos.

## ABSTRACT

Controlled drug release systems are able to deliver the active agent for a period of time, and at a specific rate in the target site. Innovative developments in controlled drug release include the design and preparation of electroconductive hydrogels (ECH), which may consist of a matrix (hydrogel) and a conductive polymer. The matrix acts as a highly porous reservoir for the incorporation of small and/or large molecules in high concentrations, while electrical and electroactive properties of the electroconductive polymers, allow the dynamic control of drug release, under the application of electrical stimulus, modifying the kinetics of drug release and allowing the transport of different molecules or ions.

In this work, we carried out the synthesis and characterization of ECH, composed of a matrix of biocompatible polymer, alginate, containing a polypyrrole (PPy)-based nanostructures synthesized by "green chemistry". The PPy nanostructures and the ECH were characterized by different techniques in order to study their structures and properties, as well as, interactions between the different components of the novel composite materials. The ECH were prepared varying their cross-linking density and the amount of PPy nanostructures. The kinetics of metoprolol release, model drug loaded in ECH, were obtained in a passive mode and with the application of an electrical potential. The results revealed that at low cross-linking ratios, the alginate matrix has a response to the electrical stimuli due to repulsion electrostatic forces between carboxylic groups. However, when PPy is added to hydrogel matrix, the metoprolol release under electrical stimulus was enhanced by the electroactive PPy behavior in synergy with the response of the matrix to the electrical potential. Nevertheless, when the cross-linking density of the matrix is increased, it was observed that electrically driven drug release is activated by the electrochemical reduction of PPy. The composite systems studied in this work can be useful in applications of drug release controlled by electrical stimuli.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los agentes farmacológicamente activos no son inherentemente efectivos, sus beneficios están directamente relacionados con su administración y con las propiedades físicas del fármaco como: la solubilidad, la carga neta y su capacidad de penetrar e interactuar con células o tejidos. Debido a ello, se necesita aplicar dosis elevadas que conllevan efectos tóxicos e inmunológicos no deseados. Esto ha impulsado a la comunidad científica al diseño de sistemas de liberación controlada de fármacos que permitan liberar el agente activo, en un tiempo determinado y con un perfil de liberación predeterminado justo en el sitio de acción. En este sentido, se persigue prolongar la actividad farmacológica, reducir los efectos secundarios y minimizar la frecuencia de administración[1].

Una de las propuestas innovadoras en la liberación controlada son los hidrogeles compuestos electroconductores. Estos sistemas se diseñan para que, bajo la aplicación de un pulso eléctrico liberen el agente activo, con una respuesta en tiempo real[2] y dosificando la cantidad de fármaco según la demanda que requiera el organismo[3].

Los hidrogeles basados en polisacáridos han sido considerados sistemas ideales para liberación de fármacos. Estos son intrínsecamente biocompatibles debido a su origen natural y estructura química, así como por su capacidad de absorción de agua que permite simular los tejidos humanos. De acuerdo a ello, las formulaciones de polisacáridos se consideran seguras y no tóxicas. Sin embargo, los hidrogeles prístinos de polisacáridos presentan un rápido hinchamiento debido a su naturaleza y pueden ser degradados enzimáticamente en fluidos biológicos, por lo que, estos materiales requieren algunas modificaciones para su implementación[4]–[6]. Una de las alternativas reportada en la literatura consiste en la formación de hidrogeles compuestos, incorporando otros materiales, por ejemplo, polímeros electroconductores, permitiendo compactar y reforzar la red polimérica[7] y con ello, modificar la difusión de las moléculas bioactivas hacia el medio de liberación. Por su parte, los polímeros electroconductores poseen cargas

deslocalizadas a lo largo de sus cadenas, y bajo condiciones electroquímicas adecuadas, estos polímeros intercambian especies cargadas con el medio que lo rodea, proceso asociado con la óxido-reducción del polímero. La posibilidad de intercambio de masa de los polímeros electroconductores con el medio se ha utilizado para preparar sistemas de liberación de controlada de fármacos mediante estímulos eléctricos externos.

El polipirrol (PPy) es uno de los polímeros electroconductores más utilizado en el área biomédica. Entre las propiedades de este polímero destacan su alta conductividad eléctrica, su estabilidad química a condiciones atmosféricas, su biocompatibilidad y, además, puede ser sintetizado fácilmente por distintos métodos[8]–[11]. Sin embargo, el PPy se caracteriza por ser insoluble e infusible, lo cual complica su procesamiento y limita sus aplicaciones. Una de las estrategias para mejorar las propiedades del PPy durante su polimerización, es la incorporación *in situ* de otros materiales como biopolímeros[8] y materiales carbonáceos[12], los cuales pueden mejorar la procesabilidad, estabilidad y las propiedades de conducción eléctrica, consolidando la estructura del polímero y sosteniendo sus propiedades eléctricas y mecánicas. La combinación adecuada de PPy, polisacáridos y nanotubos de carbono (NTC) puede generar novedosos materiales compuestos que reúnan tanto las propiedades eléctricas, mecánicas y de biocompatibilidad que se requieren en numerosas aplicaciones biomédicas, incluyendo los sistemas de liberación de fármacos controlados por la aplicación de impulsos externos.

En la literatura se han descrito varios métodos para la preparación de PPy, incluyendo la polimerización electroquímica, química, por emulsión y la inducida por radiación UV. La mayoría de las síntesis que involucran la polimerización química oxidativa del pirrol se utilizan agentes oxidantes fuertes como el  $\text{FeCl}_3$ , el  $\text{KMnO}_4$  y el  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  [9], [13]–[15]. En estos procesos, el PPy incorpora aniones como balanceadores de carga derivados del oxidante, productos y otras especies que se añaden a la solución de reacción. Los dopantes podrían ser tóxicos al implementarse en sistemas biológicos. Una de las alternativas para obtener PPy mediante un proceso de síntesis “verde” consiste en la polimerización del monómero

de pirrol utilizando peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), ya que sus productos finales de degradación reportados son  $H_2O$  y  $O_2$  por lo que no introduce impurezas en el producto de la síntesis.

Al considerar tanto las propiedades de los polímeros electroconductores como las de los hidrogeles, se prevé que su combinación puede tener efectos sinérgicos positivos en la liberación controlada de fármacos, potencializando la creación de sistemas cuya cinética de liberación pueda ser modificada por estímulos eléctricos para la administración de una cantidad apropiada de fármaco en un tiempo y lugar adecuado.

En este trabajo, se llevó a cabo la síntesis en emulsión de nanoestructuras de PPy/ NTC en solución acuosa, usando,  $H_2O_2$ , oxidante amigable con el medio ambiente, y dodecil sulfato de sodio (SDS), un surfactante aniónico. Se analizó sistemáticamente el efecto de distintas condiciones de polimerización sobre el rendimiento de la reacción y las propiedades fisicoquímicas-eléctricas del producto resultante. Se evaluó también el efecto de la incorporación de alginato de sodio (Alg), así como nanotubos de carbono de pared múltiple prístinos (p-NTCPM) y funcionalizados (f-NTCPM) en el medio de reacción. Posteriormente, se trabajó en la formación de hidrogeles híbridos homogéneos de alginato de sodio entrecruzado ionotrópicamente con  $Ca^{2+}$  y las nanoestructuras de PPy sintetizadas, los cuales fueron cargados con un fármaco modelo (metoprolol). Se realizaron diversos estudios de liberación de fármaco, por difusión pasiva y bajo la aplicación de un estímulo eléctrico.

Los estudios mostraron que la presencia de los nanocompositos de PPy en la matriz del hidrogel con alta densidad de entrecruzamiento, permite la activación de la liberación del metoprolol mediante la aplicación de estímulos eléctricos influenciado por las propiedades electroactivas del polímero electroconductor. Por otra parte, se observó que, a relaciones de entrecruzamiento bajas del hidrogel, la liberación de metoprolol está relacionada con la reducción del material conductor en conjunto con la respuesta de la matriz de alginato ante un pulso eléctrico.

La liberación de metoprolol como fármaco modelo a través de los hidrogeles electroconductores es activada por la aplicación de estímulos eléctricos, los cuales podrían ser implementados en sistemas de liberación controlada de fármacos.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo general

Sintetizar y caracterizar hidrogeles compuestos electroconductores basados en una matriz de alginato y polipirrol nanocompuesto, así como estudiar la liberación controlada de metoprolol mediante la aplicación de un estímulo eléctrico.

### 2.2 Objetivos específicos

- 1) Estudiar el efecto de las condiciones de síntesis de polipirrol (concentración de surfactante, pH, temperatura, presencia de alginato y nanotubos de carbono) sobre las propiedades finales del producto, mediante mediciones de rendimiento másico, conductividad eléctrica, espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR), espectroscopía ultra violeta visible (UV-Vis), microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FE-SEM), análisis termogravimétrico (TGA), espectroscopía fotoelectrónica de rayos-X (XPS), dispersión dinámica de luz (DLS) y potencial Zeta.
- 2) Estudiar la relación estructura-propiedad para hidrogeles compuestos de alginato y nanocompositos de PPy, usando mediciones de cinéticas de hinchamiento, FT-IR, SEM, TEM, TGA y ensayos mecánicos de compresión.
- 3) Estudiar la cinética de liberación *in vitro* de metoprolol desde los hidrogeles compuestos a pH 7.4.
- 4) Estudiar la cinética de liberación *in vitro* de metoprolol desde los hidrogeles compuestos bajo la aplicación de impulsos eléctricos.
- 5) Evaluar la citotoxicidad de los hidrogeles compuestos.

### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1 Polímeros electroconductores

##### 3.1.1 Generalidades

Los polímeros intrínsecamente conductores (PCs) son materiales orgánicos basados en sistemas  $\pi$  policonjugados, que exhiben excelentes propiedades ópticas, magnéticas y eléctricas[16]–[19] similares a las presentes en los semiconductores inorgánicos y/o metales pero conservando ciertas propiedades de los polímeros convencionales. Adicionalmente, los PCs son materiales electroactivos referidos como “materiales inteligentes”, ya que, bajo condiciones adecuadas, ocurre la introducción o salida de moléculas pequeñas (o macromoléculas) de la matriz del polímero, lo cual conlleva a un preciso control de procesos de transferencia de masa por estimulación eléctrica externa.

En la actualidad, se conocen alrededor de 25 polímeros electroconductores en la Figura 1 se muestran las estructuras químicas de algunos de estos. Debido a sus características eléctricas y fisicoquímicas, los PCs son utilizados en un rango amplio de aplicaciones como: sensores[20], en el almacenamiento de energía como capacitores[21] y baterías [22] e inhibidores de corrosión[23]. Debido a su biocompatibilidad, se han estudiado para su utilización en aplicaciones biomédicas como: ingeniería de tejidos[24]–[27], estimuladores de células[28],[29], bioactuadores[30],[31], biosensores [32], electrodos cardiacos/neurales y en sistemas de liberación controlada de fármacos[33]–[35].

Los primeros trabajos realizados con PCs radican desde mediados del siglo XIX, cuando Letheby y col.[36] reportaron la primera oxidación anódica de anilina en ácido sulfúrico diluido, cuyo producto fue un polvo brillante azul-negro insoluble sobre un electrodo de platino. Tiempo después, en 1876, los experimentos realizados por Goppelsröder y col.[37] revelaron la presencia de oligómeros producidos por la oxidación de anilina. Por otra parte, a mediados del siglo XX Natta y col.[38] descubrieron el poliacetileno y, en 1968, Dall’olio sinterizó el PPy, llamándolo pirrol

negro. Sin embargo, el auge de los PCs se presentó en 1977, cuando los científicos Hideki Shirakawa, Alan MacDiarmid, y Alan Heeger[17], reportaron un incremento de siete órdenes de magnitud en la conductividad eléctrica de una película de *trans*-poliacetileno (Figura 1), al incorporar iodo. Este proceso, se produce por la extracción de un electrón de la cadena principal del polímero generando portadores de cargas (“huecos”) e incorporando el iodo simultáneamente como balanceador de carga. En el polímero conjugado, un electrón vecino ocupa la posición y genera un nuevo hueco, lo cual permite que la carga fluya a través de la cadena polimérica, propiciando la generación de la conductividad eléctrica. El fenómeno de neutralización de la carga se nombró dopaje, y es esencial para las propiedades eléctricas y electroquímicas de los PCs.

A pesar de la buena conducción eléctrica obtenida para el *trans*-poliacetileno este era difícil de sintetizar y exhibía inestabilidad en presencia de aire. Sin embargo, este evento fue una pauta importante para el estudio en los PCs, que hasta entonces eran considerados como materiales aislantes. Consecutivamente, en 1979, los investigadores Díaz y Kanazawa[39] lograron la síntesis de una película de PPy, un heterocíclico altamente conductor, con buena estabilidad bajo condiciones ambientales y que conjuntamente, podía modular sus propiedades electroquímicas. Desde entonces los polímeros de heterociclos han emergido como una familia de polímeros conductores con alta estabilidad en el ambiente y excelente conductividad eléctrica.

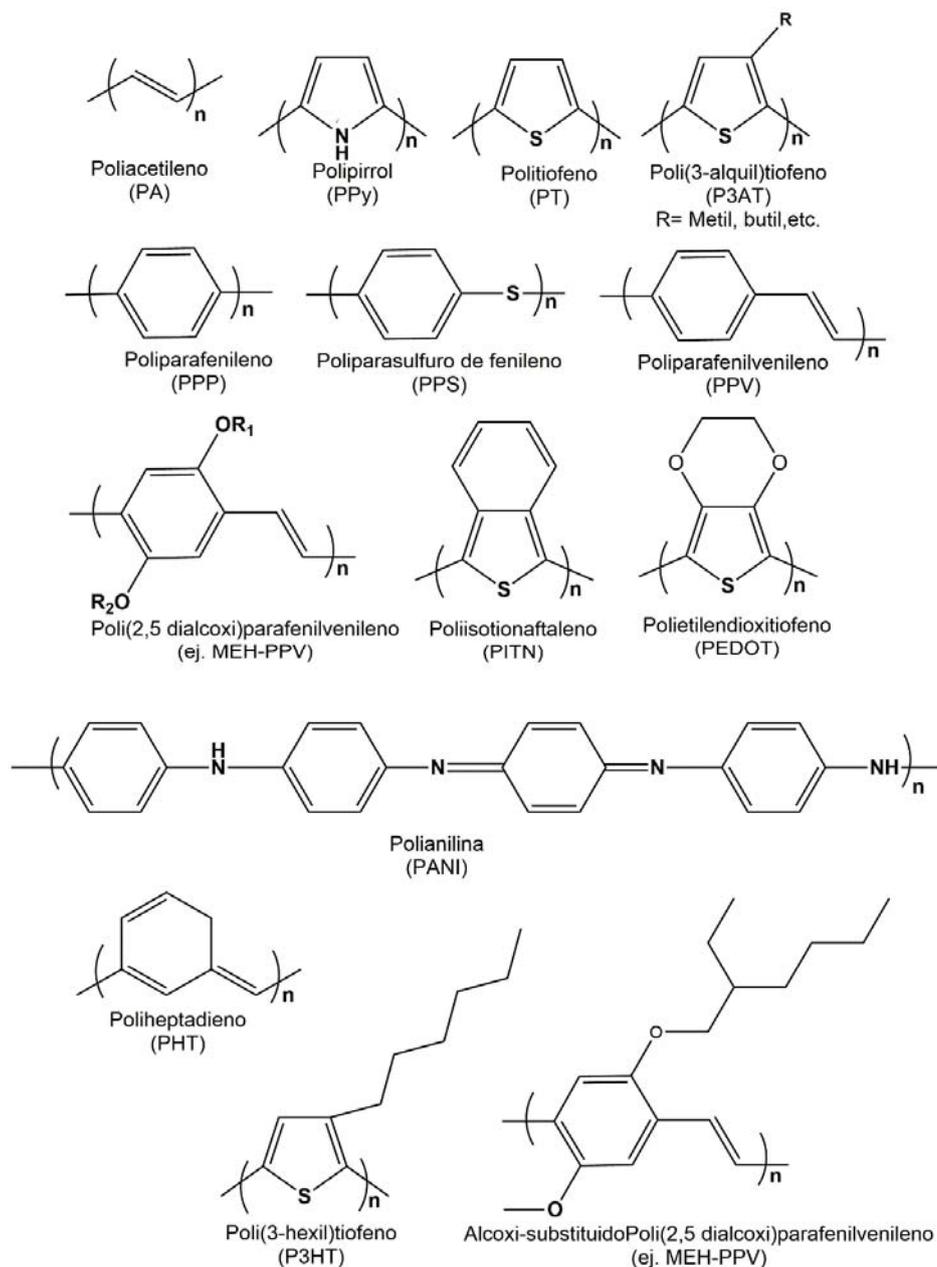


Figura 1. Estructuras químicas de polímeros conductores.

### 3.1.2 Polipirrol

El PPy, cuya estructura química se muestra en la Figura 2, es uno de los PCs heterocíclicos aromáticos más utilizado en diversas áreas de la ciencia y la tecnología, particularmente, en la electrónica y la biomédica. Se distingue por su biocompatibilidad

*in vitro* e *in vivo*[40], [41], su estabilidad química al ambiente, sus propiedades eléctricas y electroquímicas y, además, por presentar propiedades estímulo-respuesta, que permite el control dinámico de sus propiedades bajo la aplicación de un impulso eléctrico. Lo anterior permite que pueda ser utilizado en diversas aplicaciones biomédicas, incluyendo la ingeniería de tejidos y como moduladores en la liberación controlada de fármacos[42]–[44].

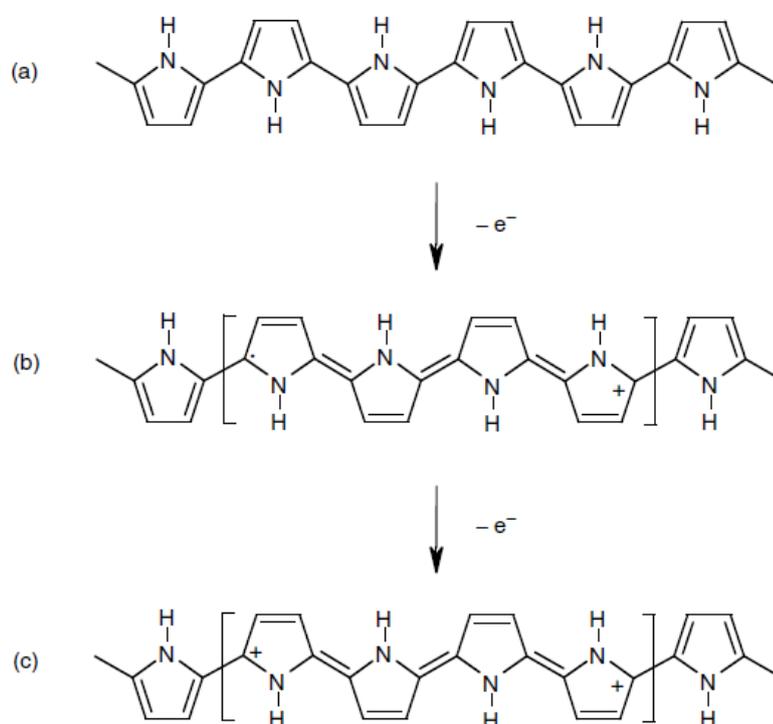


Figura 2. Estructuras electrónicas de PPy a) neutro, b) polarón parcialmente dopado y c) bipolarón[45].

La conductividad eléctrica del PPy está determinada por su estructura electrónica. La heteroaromaticidad proporciona estabilidad química al PPy mientras que su cadena  $\pi$  altamente conjugada permite la deslocalización electrónica y el movimiento libre de los electrones. No obstante, la conjugación de la cadena no es suficiente para obtener una alta conductividad eléctrica, debido a que las deslocalizaciones están limitadas por el desorden y los defectos en la cadena polimérica, así como, la interacción Coulómbica

entre electrones y huecos[46]. Al extraer electrones de la cadena principal del PPy, se generan portadores de carga que se estabilizan con especies de carga contraria (dopaje). Existen diferentes métodos de dopaje con la finalidad de incrementar la conducción eléctrica del polímero, permitiendo ir de un régimen aislante (PPy sin dopar) hasta un comportamiento metálico (PPy altamente dopado), lo cual depende del alcance del dopaje y del método de síntesis, entre otros factores.

Durante el proceso de polimerización, la estructura electrónica y de bandas del PPy es modificada de acuerdo al nivel de dopaje en la cadena. Con la estructura bencenoide (estado neutro), el PPy se comporta como aislante y su banda de energía prohibida (*band gap*) tiene un valor de 3.16 eV (Figura 3 (a)). Sin embargo, durante la polimerización, simultáneamente se asocian los contraiones a la cadena PPy (dopaje). La extracción de un electrón de un segmento neutro en la cadena provoca una deformación local en la estructura, formando una estructura quinoide energéticamente más favorable Figura 3 (b). La combinación de la estructura quinoide y el espín desapareado dan origen a un portador de carga llamado polarón, este a su vez genera dos nuevos estados intermedios (enlace y antienlace). Cuando el proceso de oxidación continúa, otro electrón es removido de la cadena principal, dando lugar a un segundo tipo de portador de carga, identificado como bipolarón (dicación) Figura 3 (c). En este estado de oxidación, la banda de energía prohibida presenta un valor de 1.4 eV. Al aplicar un campo eléctrico sobre el PPy, los electrones en la unidad repetitiva son atraídos hacia el núcleo de sus átomos vecinos, induciendo la movilidad de los portadores de carga (polarón y bipolarón) a lo largo de la cadena por la reorganización de enlaces sencillos y dobles. El transporte de la carga puede darse intracadena pero también puede presentarse intercadena, este proceso requiere mayor energía. Cuando los portadores de carga encuentran un defecto en la cadena o llegan a los grupos terminales, la carga se transfiere a las cadenas vecinas. La conductividad eléctrica total es la combinación de los componentes intra e intercadena[47].

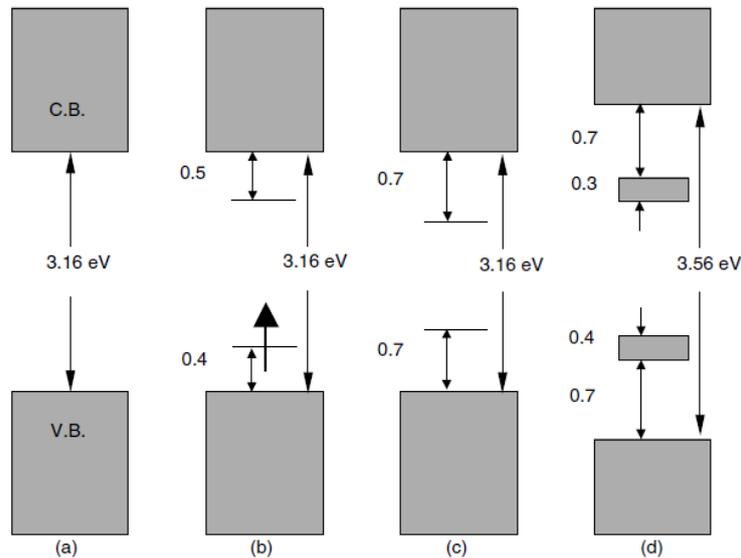


Figura 3. Diagrama de energía para PPy a) neutro, b) polarón, c) bipolarón y d) totalmente dopado[45].

Al incorporar iones dopantes en la cadena polimérica, se generan portadores de carga acompañados por cambios en la estructura electrónica del polímero. Sin embargo, la estructura prístina del PPy puede ser recuperada al reducirlo. El dopaje/desdopaje del PPy es reversible y puede realizarse mediante la carga/descarga del material por un proceso de óxido-reducción. El mecanismo de *p*-dopaje o electro-oxidación de PPy implica la extracción de los electrones del enlace  $\pi$  y la generación de cargas a lo largo de la cadena polimérica mientras los contraiones son insertados en la cadena de PPy como neutralizadores de carga (Figura 4 (a)). Por otro lado, el mecanismo *n*-dopaje o electro-reducción involucra el transporte de electrones hacia la cadena principal del polímero, además, de la intercalación de cationes desde la solución de reacción hacia el esqueleto del polímero, equilibrando la carga total (Figura 4 (b)). La técnica electroquímica más utilizada para estudiar el proceso redox es la voltametría cíclica (VC). La VC mide la corriente resultante tras la aplicación de un barrido de campo eléctrico a una velocidad determinada. Durante las reacciones redox, la reducción genera un polímero neutro mientras la oxidación produce un polímero con carga positiva.

Cuando el dopaje/desdopaje son realizados, los iones son introducidos o expulsados de la matriz del polímero.

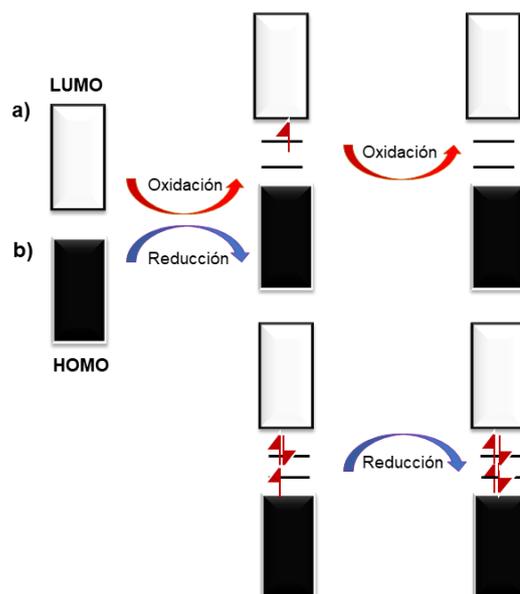


Figura 4. Estructura electrónica de bandas con a) *p*-dopaje y b) *n*-dopaje.

Por otro lado, el PPy se considera un material biocompatible con base en diferentes estudios que han reportado el crecimiento de células de hueso[48], neurales[40], [49], fibroblastos[50], [51] y células madres[33], [52] ante la presencia de partículas de PPy. Un tamaño de partícula controlado y uniforme, así como, la estabilidad de las mismas sin formación de agregados, son características necesarias para la evaluación precisa de la toxicidad del polímero[19]. Kim y col. [29] estudiaron la toxicidad de nanopartículas (NPs) de PPy de diferentes tamaños en fibroblastos de pulmón. Sus resultados indicaron una dependencia proporcional entre la toxicidad, el tamaño, y la dosis de las NPs de PPy. Zhu y col.[53] evaluaron la citotoxicidad de un electrodo híbrido de PPy y óxido de grafeno en células progenitoras neuronales. Los resultados de este estudio revelaron que la mayoría de las células tratadas con los materiales compuestos conductores fueron altamente viables, generándose un mínimo de células muertas. Wang y col.[54], evaluaron la citotoxicidad de células HepG2 (línea celular de cáncer de hígado) con PPy-

rodamina, demostrando una biocompatibilidad dependiente de la concentración del material compuesto.

### 3.1.3 Método de síntesis de polipirrol por emulsión

Una peculiaridad importante de los PCs, incluyendo al PPy, es su proceso de polimerización el cual es considerado sencillo y versátil[55]–[57]. El pirrol (Py) puede polimerizarse en grandes volúmenes bajo condiciones suaves como temperatura ambiente y en un rango amplio de solventes, incluyendo agua[49]. Además, durante su síntesis es posible modular el área superficial, la morfología, y la porosidad de las partículas, así como la electroactividad del polímero.

A pesar de la versatilidad del PPy su naturaleza insoluble, infusible y fragilidad mecánica restringe su procesabilidad y sus aplicaciones[17], [57]–[59]. Una estrategia de síntesis para mejorar las propiedades mecánicas del PPy es la de preparar mezclas o materiales compuestos añadiendo durante la polimerización biopolímeros flexibles[59], [60], que permitan mejorar la procesabilidad y que puedan formar parte de la estructura del polímero conductor como dopantes. También, se plantea la formación de PPy nanocompuestos utilizando NTC, debido a las excelentes propiedades mecánicas, ópticas y eléctricas que presentan las estructuras carbonáceas[61], [62].

Dentro de las técnicas utilizadas para mejorar la procesabilidad de los PCs se encuentra la polimerización en emulsión. A partir de 1986, esta técnica ha sido aprovechada en la síntesis de PPy con la finalidad de incrementar su dispersión debido a la formación de nanopartículas coloidales más estables. Además, la técnica permite modular el tamaño de la partícula al predefinir apropiadamente las dimensiones de las micelas y mejora el procesamiento respecto a los polímeros en bulto<sup>10,27</sup>. Paralelamente, durante la síntesis en emulsión es posible incorporar diferentes materiales que optimicen las propiedades finales del producto de PPy[63].

La técnica de polimerización consta de tres etapas; la nucleación, el crecimiento y la estabilización de partículas. Cuando la concentración del surfactante está por encima de la concentración crítica micelar (CMC), el sistema de reacción se caracteriza por la emulsificación de gotas de monómero dispersadas en la fase acuosa, micelas vacías y micelas con monómero. Solo una pequeña fracción del monómero está dentro de las micelas, parte esencial del monómero está disperso en el medio acuoso y la mayor concentración se encuentra formada en las gotas o reservorios. La polimerización ocurre vía radicales libres y es iniciada por la adición del agente oxidante (iniciador).

En el caso de la polimerización en emulsión del Py, se ha reportado que la etapa de iniciación comienza en la fase acuosa donde los radicales libres oxidan el monómero dando origen a oligómeros de Py. Cuando la hidrofobicidad de los oligómeros radicales incrementa en una longitud de cadena crítica, estos migran hacia las micelas y continúan la fase de propagación, reaccionando con las moléculas de Py presente en estas. En consecuencia, las micelas de monómero se transforman en núcleos de partículas. Estas continúan creciendo y adquieren sus reactantes a partir de los reservorios de monómero. El surfactante adsorbido sobre las gotas de monómero se difunde a través de la fase acuosa para la estabilización de las partículas de crecimiento. La etapa de nucleación finaliza después del agotamiento de monómero en las micelas[64], [65].

Lui y col.[13], sintetizaron NPs de PPy de diferente morfología y tamaños, utilizando  $H_2O_2$  como oxidante amigable, en conjunto con  $V_2O_5$  como andamio (semilla) y catalizador para la producción de NPs uniformes y estables. Los autores destacaron la importancia de la sinergia  $H_2O_2/V_2O_5$  en el control de la morfología de las nanopartículas esféricas o nanofibras. Por otro lado, Leonavicius y col.[66], reportaron la producción de NPs de PPy, donde también el  $H_2O_2$  participa como agente oxidante. En este reporte, la formación de un sistema micelar con el surfactante SDS, produce nanoreactores que favorecen la cinética de polimerización con el peróxido, logrando la formación de NPs esféricas. Kausaite-Minkstiene y col.[67], evaluaron diferentes condiciones de reacción

(concentración de monómero,  $H_2O_2$ , pH, temperatura) en la formación de partículas de PPy. Los autores destacaron la importancia del solvente y la temperatura en el crecimiento, tamaño y morfología de las partículas.

Los resultados de la literatura han demostrado que es posible lograr la síntesis de PPy utilizando agentes oxidantes amigables con el ambiente y nanoreactores (sistemas micelares). Particularmente, se ha logrado favorecer la cinética de reacción con peróxido de hidrógeno, así como controlar el tamaño y morfología del PPy mediante la técnica de emulsión. Sin embargo, a pesar de ello, aún existen retos en la preparación de partículas mediante química “verde”, entre estos se encuentra el incremento de la conductividad eléctrica y la posibilidad de incorporar de materiales flexibles (especialmente de origen natural) para obtener nanocompuestos funcionales.

## 3.2 Aplicaciones de los polímeros conductores

### 3.2.1 Actuadores

Los actuadores de PPy son dispositivos electroquímicos propuestos como músculos artificiales capaces de generar fuerza mecánica a partir de movimientos conformacionales del polímero y del transporte iónico, procesos inducidos electroquímicamente[68].[69]. El fenómeno se debe a la variación de volumen tras la aplicación de un potencial eléctrico, asociado con la inserción/salida de iones y moléculas del solvente en la matriz del PCs (Figura 5). Durante el proceso de oxidación del PPy, en la cadena del polímero se forman cargas positivas y, aniones poco voluminosos que son incorporados en la matriz del PCs para mantener la neutralidad, resultando en un incremento de volumen[30], [70], [71]. Por otra parte, al aplicar un voltaje negativo, los aniones pueden ser extraídos del polímero al reducirse, provocando una contracción del volumen del polímero [72].

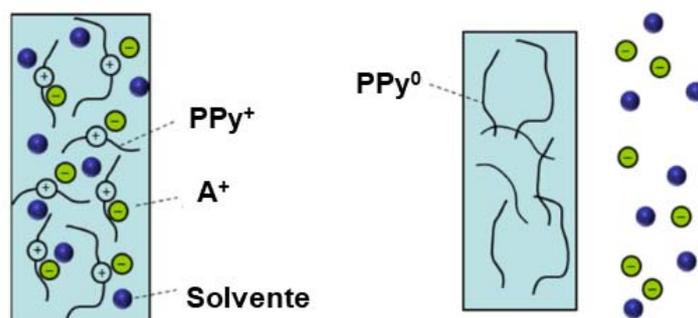


Figura 5. Mecanismo de electroactuación de PPy. Hinchamiento y contracción del polímero[73].

Cuando aniones de gran dimensión son incorporados como balanceadores de carga, estos se inmovilizan y quedan atrapados dentro de la estructura del polímero. Al realizar un proceso de reducción se produce un hinchamiento por la adición de cationes de la solución como compensadores de carga de los iones dopantes voluminosos.

Otero y col.[68] reportaron el mecanismo de actuación de una película de PPy basado en el cambio de volumen de las películas del polímero dopado con iones perclorato ( $\text{PPy}/\text{ClO}_4^-$ ) aisladas por una capa no conductora adhesiva. La Figura 6 muestra el esquema del músculo triple capa; ( $\text{PPy}/\text{ClO}_4^-$ ) /capa adhesiva/ $\text{PPy}(\text{ClO}_4^-)$ ) en una solución acuosa de  $\text{LiClO}_4$ . Se hace pasar el flujo de corriente a través de dos películas de PPy sumergidas en la solución electrolítica. Al oxidar al PPy, los aniones  $\text{ClO}_4^-$  son insertados para mantener la neutralidad, incrementando el volumen de la película, mientras simultáneamente, la otra parte de la película es reducida, entonces los iones son expulsados y el material se contrae. Como consecuencia del incremento o disminución en el volumen de la matriz polimérica, se produce un movimiento angular. La corriente experimental controla tanto la velocidad angular como la dirección del movimiento de la triple capa. El músculo de triple capa es un dispositivo electroquímico donde la reacción electroquímica controla el trabajo mecánico.

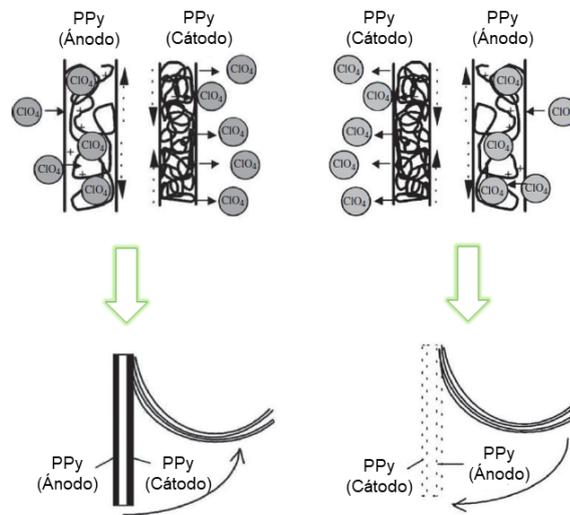


Figura 6. Mecanismo de actuación de una película de PPy[68].

### 3.2.2 Sensores / Biosensores

Un sensor convierte un parámetro inicial en una señal que puede ser medida. La señal de salida del sensor normalmente se basa en cambios en sus propiedades eléctricas o electrónicas. Los PCs muestran cambios en su conductividad eléctrica, volumen, y/o electroactividad cuando son expuestos a diferentes cambios químicos, lo cual los hace materiales adecuados para utilizarse como sensores. Know y colaboradores[74] investigaron el efecto del tamaño de NPs de PPy en la detección química de compuestos orgánicos volátiles y gases tóxicos, encontrando que la conductividad y la relación superficie/volumen se incrementan cuando disminuye el tamaño de las NPs. Las NPs de PPy de menor tamaño, mostraron una excelente sensibilidad, rápida respuesta, reversibilidad y reproducibilidad con respecto a las partículas de mayor tamaño, lo que atribuye a la alta área superficial de las NPs que promueve un contacto eficiente con el analito. El límite de detección más bajo para el gas amonio fue 10 ppm.

Por otro lado, Yoon y colaboradores[75] desarrollaron un sensor de glucosa utilizando un transistor de efecto de campo (FET por sus siglas en inglés) de iones líquidos, para lo cual funcionalizaron nanotubos de PPy (CPNTs) con la enzima de

glucosa oxidasa ( $GO_x$ ). Posteriormente, estos se unieron covalentemente a un microelectrodo y se conectaron a dos electrodos de metal. Cuando la enzima  $GO_x$  inmovilizada sobre los CPNTs interactúa específicamente con el monosacárido de glucosa, se produce un cambio en la corriente de fondo. El sensor FET mostró una alta sensibilidad en la detección de glucosa en concentraciones de 0.5 a 20 mM (Figura 7). Este tipo de dispositivo se ha aplicado para la detección de distintos analitos como proteínas[76] y hormonas[77].

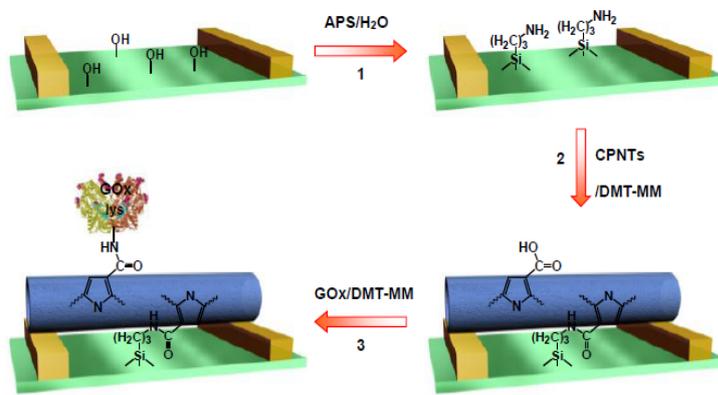


Figura 7. Ilustración esquemática de los pasos de reacción para la fabricación del biosensor a base de nanotubos de PPy[75].

### 3.2.3 Ingeniería de tejidos

Los andamios de PCs han proporcionado sitio de unión y proliferación celular. Las interacciones físicas entre las partes biológicas y los andamios conducen a la curación e integración del tejido. Además, dichos andamios pueden funcionar como reservorios y liberadores de proteínas, factores de crecimiento, fármacos, etc. El PPy fue uno de los primeros PCs evaluados para estudiar su influencia en células de mamíferos. Estudios celulares *in vitro* de partículas de PPy tras la exposición a un potencial eléctrico, mostraron una buena adhesión y crecimiento, ejerciendo un efecto positivo en la proliferación celular. Xu H. y col.[78], reportaron nanofibras compuestas de poli (D, L-ácido láctico) (PLA) y PPy que permiten la diferenciación de células de medula supra renal (PC12) y promueve la regeneración nerviosa. Los

estudios *in vivo*, indicaron que el material PLA/PPy podría postularse como un material adecuado y no tóxico, útil en ingeniería de tejidos. Un estudio realizado por Sajesh K. y col.[27] reportó la generación de un andamio conductor de alginato/PPy/quitosano. Los resultados mostraron una adecuada viabilidad y proliferación de osteoblastos (MG-63) en dicho andamio, confirmando la naturaleza biocompatible del material y promoviendo el sistema como sustrato en la ingeniería de tejido de hueso.

#### 3.2.4 Cargado y liberación de fármacos a partir del PPy

Los PCs tienen la capacidad de captar y liberar moléculas de su estructura, procesos que son generalmente controlados mediante interacciones electrostáticas y el proceso redox. Subsecuentemente, la liberación del fármaco puede ser activada mediante un estímulo externo de tipo eléctrico[34]. Sin embargo, no todos los fármacos son candidatos ideales para la liberación controlada por un estímulo eléctrico externo; se requiere que el fármaco no sea electroactivo en los potenciales de trabajo del sistema de liberación ya que su actividad biológica podría comprometerse. Otro factor importante a considerar es el pKa del fármaco, dependiendo del valor de este, la carga de molécula con respecto al pH puede variar, repercutiendo en el cargado del fármaco, así como en su posterior liberación. En general, es deseable que los agentes farmacológicamente activos presenten tiempos de vida cortos ya que, de esta manera, se minimiza el riesgo de acumulación. Los sistemas de liberación controlada pueden mejorar la eficiencia de los tratamientos clínicos, liberando dosis que mantengan los niveles terapéuticos. Además, en aquellos fármacos con biodisponibilidad baja, se requieren menores cantidades para mantener sus niveles en sangre. Un sistema de liberación permite la disminución de la administración del fármaco ya que este se encuentra en el sitio deseado y únicamente se libera la dosis necesaria[35].

El cargado de fármaco en el PPy puede realizarse de diferentes maneras. Compuestos aniónicos pequeños pueden añadirse durante su síntesis incorporándolos como balanceadores de carga[79]; sin embargo, esta vía puede

producir una baja incorporación del fármaco y la conductividad eléctrica del polímero puede verse comprometida (Figura 8 (a))[35]. Esta limitación puede corregirse mediante el método de tres pasos; primero se realiza la polimerización utilizando un dopante primario “ideal”, después de la polimerización el polímero es reducido y lavado, y finalmente, el fármaco es cargado en la estructura polimérica al aplicar un potencial inverso (Figura 8 (b)). Cuando, el dopante primario es una molécula voluminosa y queda inmovilizado en la matriz del polímero durante su síntesis, al aplicar un potencial de reducción, una especie catiónica se introduce para mantener la electroneutralidad del polímero. Este procedimiento, es utilizado para cargar fármacos positivos (Figura 8 (c)).

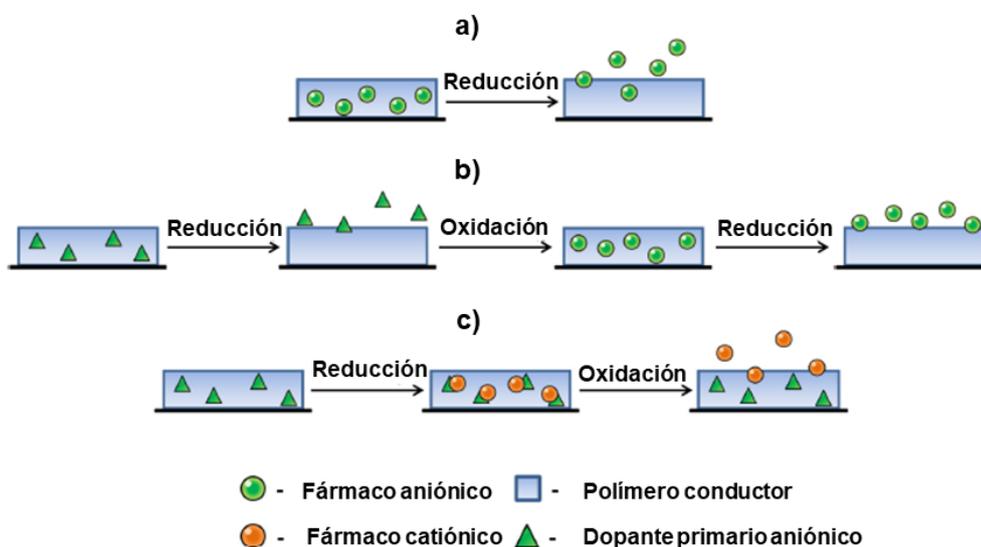


Figura 8. Mecanismos de cargado de fármaco, a) método de un paso (carga negativa), b) método de tres pasos (carga negativa) y c) método de tres pasos (carga positiva)[35].

La liberación del fármaco se activa por la polarización eléctrica de la matriz del polímero. Cuando el estado redox del PPy cambia, los electrones entran o salen del esqueleto del polímero, lo que promueve el movimiento de iones, para mantener la neutralidad. Este proceso puede controlar la salida o entrada del fármaco en la matriz. Cuando el fármaco está cargado aniónicamente, el PPy libera el agente

activo al reducirse. Este proceso también conlleva, un cambio de volumen, el polímero se contrae favoreciendo la liberación del agente activo (Figura 9 (a)). Por otra parte, los fármacos catiónicos pueden liberarse cambiando las condiciones electrostáticas. Al aplicar un potencial eléctrico, la interacción electrostática del fármaco con el dopante primario se rompe, liberando el fármaco mientras que el dopante primario permanece como balanceador de carga Figura 9 (b)[80].

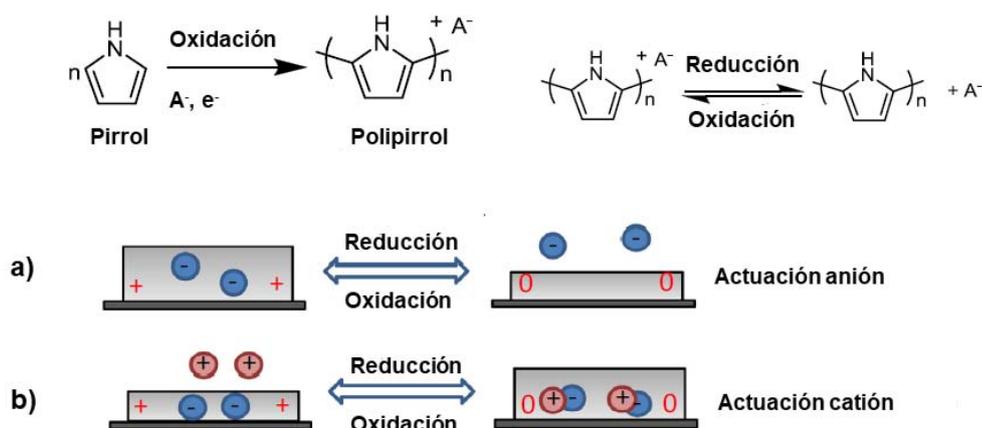


Figura 9. a) Actividad redox de PPy con la liberación/ integración de dopantes aniónicos, b) liberación de fármaco aniónica y catiónica[35].

Por otro lado, el cargado del fármaco también puede realizarse durante la síntesis en emulsión. Uppalapati y col.[81] adicionaron al medio de reacción el surfactante dodecilsulfonato de sodio (SDBS) a una concentración por encima de su CMC con la finalidad de formar micelas (Figura 9 (a)). Posteriormente, se añadió dexametasona (Dex) o sulfato de dexametasona (DexP), como fármacos de estudio. Después de un tiempo, se añadió el monómero de pirrol y el agente oxidante, la reacción se mantuvo durante 4 h a temperatura baja (4°C), y finalmente, el polvo resultante se lavó y se secó. Para realizar la liberación de los fármacos se realizó una pastilla (25 mg del PPy-fármaco) (Figura 9 (b)), esta fue firmemente adherida un sustrato de vidrio conductor ITO, utilizado como electrodo de trabajo. Además, se utilizó un electrodo de platino (Pt) y un electrodo de plata/cloruro de plata como contraelectrodo y electrodo de referencia, respectivamente. La

liberación electroestimulada se realizó variando el potencial aplicado y la polaridad. La tasa de liberación menor se obtuvo cuando el polímero se mantenía en su estado oxidado o sin estimulación eléctrica. Esto se atribuyó a las interacciones electrostáticas entre el fármaco y el PPy. Un efecto contrario se obtuvo al reducir el PPy; cuando la cadena del PPy se neutralizó, liberó las cargas opuestas de su matriz, obteniéndose la mayor liberación de DexP a -0.6 V y 2 Hz. Por otro lado, Dex es un fármaco sin carga, al alternar el estado redox del polímero se logró su liberación, atribuido a los cambios de volumen que ocurren en la matriz del PPy.

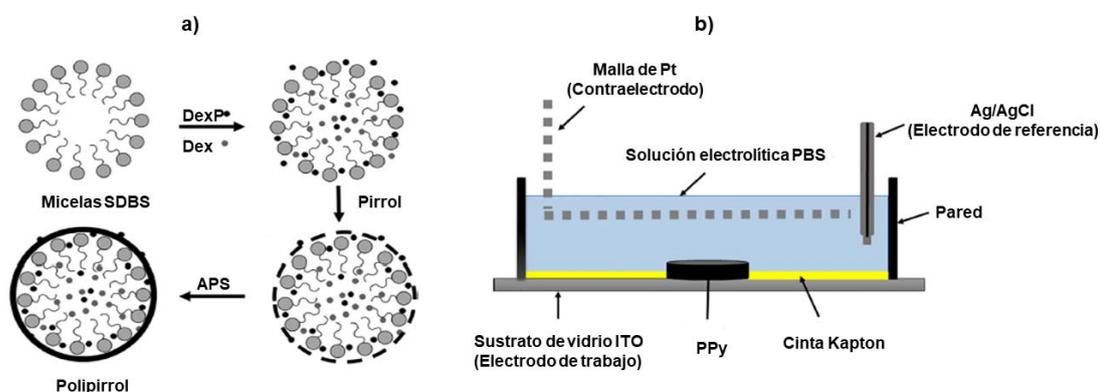


Figura 10. a) Esquema propuesto de la síntesis de PPy y b) diagrama esquemático de la configuración electroquímica para la liberación de Dex y DexP[81].

Otra manera de realizar la liberación controlada de fármacos se basa en el uso de hidrogeles compuestos electroconductores. Este tema se retomará en las siguientes secciones.

### 3.3 Nanotubos de carbono

#### 3.3.1 Estructura y propiedades

Los NTC son nanoestructuras cilíndricas que consisten en un arreglo hexagonal de átomos de carbono unidos covalentemente con una hibridación  $sp^2$ . Estos materiales se caracterizan por ser de naturaleza hidrofóbica, unidos mediante interacciones no covalentes de tipo Van der Waals,  $\pi-\pi^*$  e hidrofóbicas propias de

su estructura química carbono doble enlace carbono (C=C). Basado en su estructura y dimensiones, los NTC pueden dividirse en dos grandes grupos, los nanotubos de carbono de pared simple (NTCPS) y los nanotubos de carbono de pared múltiple (NTCPM). Un NTCPS consiste en una lámina de grafeno enrollada y cerrada en ambos extremos, con un diámetro 1-2 nm. Por otra parte, los NTCPM están compuestos de varias láminas de grafeno cuya separación entre cada capa del NTC es  $\sim 34$  nm en promedio, mientras su diámetro se encuentra entre 10-150 nm con longitudes que varían en micras incluso milímetros (Figura 11)[82], [83].

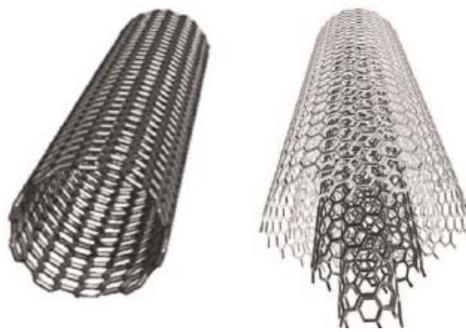


Figura 11. Representación esquemática de a) nanotubos de carbono de pared simple (NTCPS) y b) nanotubos de carbono de pared múltiple (NTCPM).

Los materiales carbonáceos se caracterizan por sus excelentes propiedades dentro de estas destacan las siguientes[84]:

- ❖ Área superficial alta  $\sim 2630 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ .
- ❖ Módulo elástico  $\sim 1 \text{ TPa}$ .
- ❖ Alta conductividad térmica  $\sim 5000 \text{ W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$ .
- ❖ Claridad óptica  $\sim 97.7\%$  transmitancia.
- ❖ Movilidad eléctrica  $\sim 2.0 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$
- ❖ Conductividad eléctrica intrínseca.

Debido a sus excelentes propiedades eléctricas, mecánicas y ópticas estos materiales han sido ampliamente utilizados en diversas áreas científicas.

### 3.2.2 Funcionalización de nanotubos de carbono

Los NTC pueden presentar una fracción de volumen alta en suspensión de solventes orgánicos, originando una gran área superficial de contacto lo cual los hace un material versátil en distintas áreas de aplicación. Sin embargo, los materiales carbonáceos se agregan fácilmente en solventes polares como el agua, resultado de la suma de sus interacciones no covalentes, precipitando y con dificultad para re-dispersarse[85].

La incorporación de los NTC a matrices de polímeros aporta importantes funcionalidades en la formación de materiales compuestos; sin embargo, optimizar la dispersión de los NTC ha sido un desafío[86]. En la literatura, se han descrito diferentes tipos de funcionalización de NTC que permiten mantener dispersos a los NTC sin perder sus propiedades distintivas. Los métodos incluyen la funcionalización química covalente y la funcionalización no covalente. La primera se basa en tratamientos oxidativos, produciendo grupos funcionales con oxígeno, principalmente carboxílicos, en las paredes y en las terminaciones del tubo[87]. En cambio, la funcionalización no covalente consiste en exponer a los NTC a diferentes tensoactivos que permiten a los nanotubos mantenerse en suspensión. Cuando la función de la molécula anfifílica se cumple, esta puede eliminarse o bien permanecer como parte activa en un proceso dado[88]. En años recientes, la funcionalización de los NTC ha atraído la atención en las áreas biomédicas y de tecnología, ya que se ha reportado que la funcionalización baja la toxicidad e inmunogenicidad. Debido a la funcionalización, los NTC se dispersan en agua produciendo compatibilidad con fluidos biológicos y permitiendo que puedan ser excretados vía renal [89].

### 3.4 Hidrogeles

#### 3.4.1 Generalidades

Los hidrogeles son redes 3D compuestas de homopolímeros o copolímeros hidrofílicos, entrecruzados física o químicamente. Estos tienen la capacidad de absorber grandes cantidades de agua y/o fluidos, conservando su estructura química. El entrecruzamiento provee a los hidrogeles integridad estructural y física,

promoviendo la resistencia a la deformación causada por la absorción de solvente, lo cual evita que el material se disuelva en el medio de hinchamiento, dando origen a un material flexible de consistencia suave similar a la de los tejidos vivos y aplicable en diversas áreas.

Los hidrogeles son sintetizados mediante un proceso conocido como gelificación. Este proceso consiste en unir macrocadenas con la finalidad de crear sistemas reticulados. En el medio de reacción, las cadenas polidispersas ramificadas son llamadas sol. Mientras, que el proceso de gelificación continúa, el tamaño de red incrementa al mismo tiempo que disminuye la solubilidad del polímero, hasta llegar a un número de cadenas ramificadas finito, cuando el proceso finaliza se genera una red estructurada. Este proceso, se conoce como transición sol-gel. Este proceso sol-gel puede separarse en dos categorías de entrecruzamiento, el físico y el químico[90]. Los hidrogeles químicos son formados por enlaces covalentes utilizando un entrecruzante orgánico que puede contener uno o dos grupos funcionales para la unión, o bien, por la irradiación con rayos gamma ( $\gamma$ ) de un polímero en solución durante su polimerización[91]. Por otro lado, en los hidrogeles físicos su reticulación se realiza mediante interacciones no covalentes como interacciones electrostáticas, puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas, entre otras, generando un hidrogel reversible dependiendo de las características del medio en que se encuentre.

### 3.4.2 Propiedades de los hidrogeles

#### 3.4.2.1 Hinchamiento

El proceso de hinchamiento permite a los hidrogeles absorber y mantener dentro de su estructura tridimensional cantidades finitas de agua o fluidos. El proceso de absorción de agua consta de tres pasos: 1) solvatación de los grupos hidrofílicos de la matriz del hidrogel por el agua, en este proceso los grupos polares son rodeados por moléculas del agua, la matriz se hincha, exhibiendo a los grupos hidrofóbicos, 2) el agua interactúa con los grupos expuestos, como agua secundaria ligada y 3) la fuerza impulsora osmótica de la red hacia la difusión es

infinita, la cual es contrarrestada por el efecto de entrecruzamiento, absorbiendo agua adicional. El agua absorbida en el estado de equilibrio es llamada agua libre, esta llena los espacios entre la red o cadenas y los poros más grandes. La porción sólida del hidrogel es la red entrecruzada (malla), esta retiene el fluido y proporciona un comportamiento elástico al sistema, por ende, son responsables de la solidez del gel. Estas propiedades proveen características similares a membranas celulares y tejidos biológicos, donde la consistencia suave y porosa permite la proliferación celular [92]–[94].

#### 3.4.2.2 Porosidad

La porosidad facilita el transporte eficiente de diversas moléculas y/o iones a través de toda la estructura 3D del hidrogel, la cual es una propiedad importante en diferentes áreas, especialmente en el área biomédica. La porosidad es un factor determinante ya que permite el flujo de moléculas como nutrientes, dióxido de carbono y oxígeno a través de la matriz[95]. Es posible modular la porosidad del material al incrementar la concentración del entrecruzante, provocando mayor reticulación y disminución del tamaño de poro, o bien por la introducción de otros polímeros que no participen en la reticulación pero que formen parte de la estructura 3D, formando redes interpenetradas, así como por la formación de materiales compuestos[96].

El tamaño de poro en la liberación de fármacos juega un papel crucial. Una estructura porosa homogénea permite el cargado eficiente del fármaco en la matriz y su subsecuente liberación. La velocidad de liberación depende de la difusión de moléculas pequeñas o macromoléculas a través de la red del hidrogel. Uno de los beneficios de los hidrogeles en la liberación de fármacos es la farmacocinética, considerando que los hidrogeles actúan como depósitos que permiten liberar gradualmente el fármaco, manteniendo una concentración elevada del fármaco alrededor del tejido durante un periodo prolongado.

### 3.4.2.3 Biocompatibilidad y biodegradabilidad

La biocompatibilidad de los hidrogeles es promovida por el alto contenido de agua y su composición fisicoquímica (generalmente en hidrogeles sintetizados a partir de carbohidratos) presentando características similares con las matrices extracelulares. Por sus propiedades no tóxicas, los hidrogeles pueden ser utilizados en diversas aplicaciones de ingeniería de tejidos y en la liberación de fármacos *in vivo*[25], [97]. Adicionalmente, los hidrogeles generalmente se caracterizan por ser biodegradables, lo cual puede ser deseable dependiendo de la finalidad del material, la escala de tiempo de biodegradación y la localización del material en el organismo. Se tienen reportes que en sistemas biológicos, la biodegradación puede presentarse por vía enzimática, así como por hidrólisis ácida o alcalina dependiendo del ambiente químico. Esta degradación puede modularse según las necesidades y el tipo de aplicación.

### 3.4.2.4 Rigidez

En aplicaciones biomédicas, la rigidez de los hidrogeles es un factor determinante para el crecimiento celular, ya que esta permite controlar la adhesión, migración y diferenciación celular a través de la matriz del material. En los hidrogeles, la rigidez puede modificarse variando la concentración del polímero y la densidad de entrecruzamiento. Sin embargo, una de las principales limitaciones mecánicas de los hidrogeles es la baja resistencia a la tracción lo que provoca la ruptura permanente del hidrogel. Esta propiedad puede ser mejorada al introducir materiales con alta resistencia mecánica como los materiales carbonáceos[98].

## 3.5 Clasificación de los hidrogeles

Los hidrogeles pueden clasificarse de diferentes maneras; en la Figura 12 se muestran las diferentes clasificaciones de los hidrogeles reportadas en la literatura[99]. Estos métodos de clasificación de los hidrogeles se basan en la composición química del polímero, la carga iónica presente, el origen del polímero, el tipo de entrecruzamiento que se lleva a cabo y el tipo de respuesta que pueden presentar.

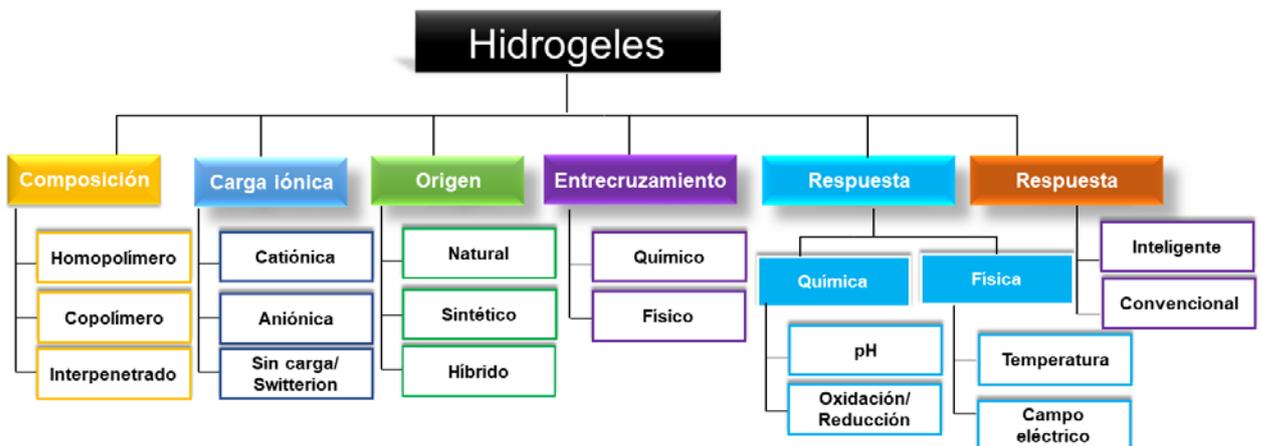


Figura 12. Clasificación de los hidrogeles de acuerdo a diferentes parámetros[99].

### 3.6 Hidrogeles de alginato de sodio

El Alg es un polisacárido de origen natural, extraído de algas marrones principalmente de *Laminaria hyperborea*, *Macrocystis pyrifera*, *Laminaria digitata*, *Ascophyllum nodosum*, *Laminaria japonica*, *Ecklonia maxima*, *Lessonia nigrescens*, *Durvillea antarctica*, y *Sargassum spp.* Este se encuentra en proporciones del 18 al 40% de la masa total de las algas. También, ha sido posible extraer Alg de bacterias como *Azotobacter vinelandii* y *Pseudomonas spp.*[100]. El proceso de aislamiento de este polisacárido de su biomasa es simple e, incluye varios procesos de pre-extracción con HCl, seguido de lavados, filtración y neutralización con buffer alcalino. Finalmente, este es precipitado con alcohol como Alg.

El Alg es un biopolímero aniónico compuesto de dos monómeros de ácido urónico distribuido como bloques de  $\alpha$ -L-ácido gulurónico (G) y  $\beta$ -D-ácido manurónico (M) unidos covalentemente por el enlace glucosídico 1→4 (Figura 13). Este polisacárido se puede encontrar en diferentes secuencias o bloques (MMMM, GGGG, MGMG, etc.) dependiendo de la fuente de extracción.

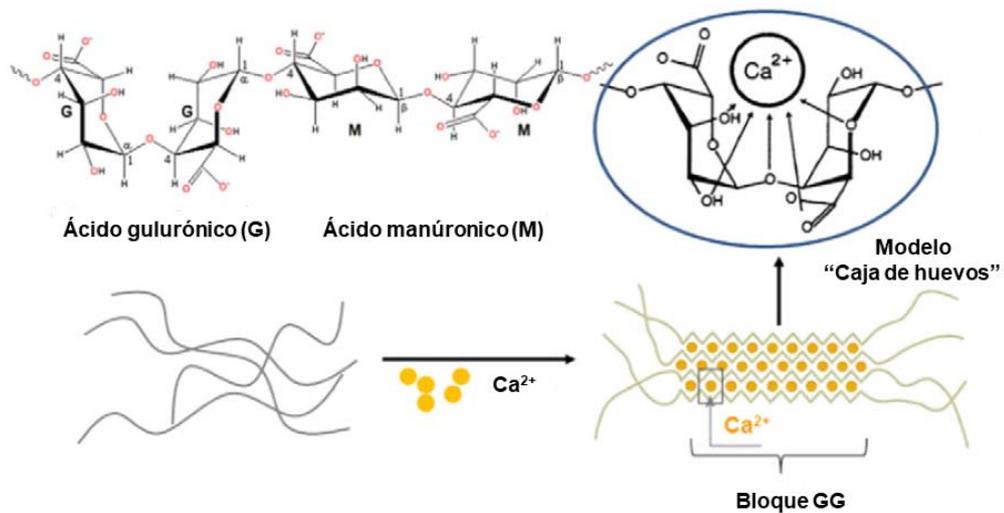


Figura 13. Estructura del alginato y modelo "caja de huevos"[101].

El Alg en solución acuosa a  $\text{pH} > 6$  y en presencia de cationes divalentes como  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  y  $\text{Sr}^{2+}$ , genera un arreglo estructural con las unidades G, formando hidrogeles. Debido a las fuertes interacciones electrostáticas entre los cationes divalentes y los grupos  $\text{COO}^-$  del ácido gulurónico residual, captan los cationes formando una red tridimensional continua, estable y uniforme, conocida típicamente como "caja de huevos"[101] (Figura 13). La unión de los iones es altamente selectiva y la afinidad depende estrictamente en la composición y secuencia del Alg. Específicamente, los iones  $\text{Ba}^{2+}$  se une a bloques GG y MM, el  $\text{Ca}^{2+}$  se une a bloques GG y GM, y el  $\text{Sr}^{2+}$  únicamente a bloques G[102] (Figura 14). Sin embargo, en aplicaciones biomédicas, el ion  $\text{Ca}^{2+}$  presenta mayor relevancia ya que se considera biocompatible y no tóxico y, además de que permite, la formación de hidrogeles bajo condiciones suaves de reacción[103].

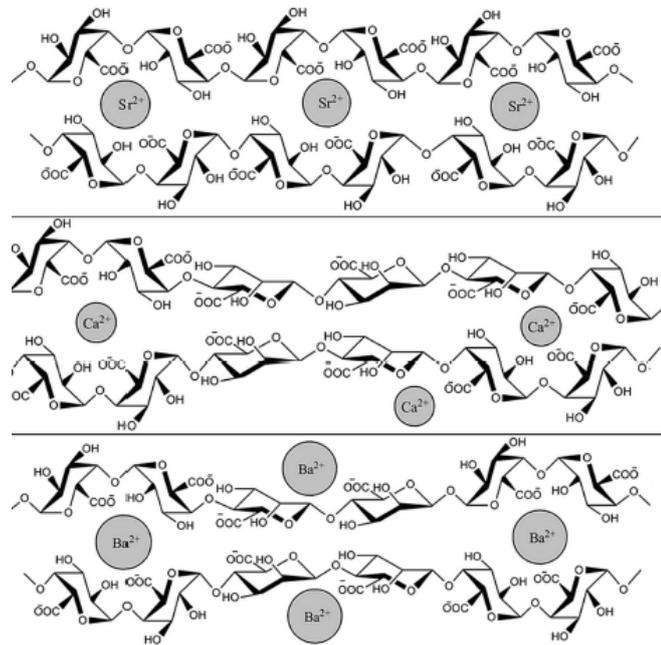


Figura 14. Entrecruzamiento de alginato con cationes divalentes [59].

Las fuentes de iones calcio para formar hidrogeles de Alg son diversas. El CaCl<sub>2</sub> es uno de los entrecruzantes iónicos más utilizado; sin embargo, el proceso de gelificación es demasiado rápido lo cual produce la formación de hidrogeles irregulares con un control pobre de la velocidad de gelificación, atribuido a la alta solubilidad de la sal de calcio. Una alternativa es utilizar CaCO<sub>3</sub>, que es poco soluble en solución acuosa. El carbonato se combina con glucona- $\delta$ -lactona (gdl), la cual se hidroliza en solución acuosa promoviendo una acidificación del medio, lo que permite la liberación gradual de los iones calcio, logrando una gelificación eficiente y la formación de hidrogeles homogéneos (Figura 15).

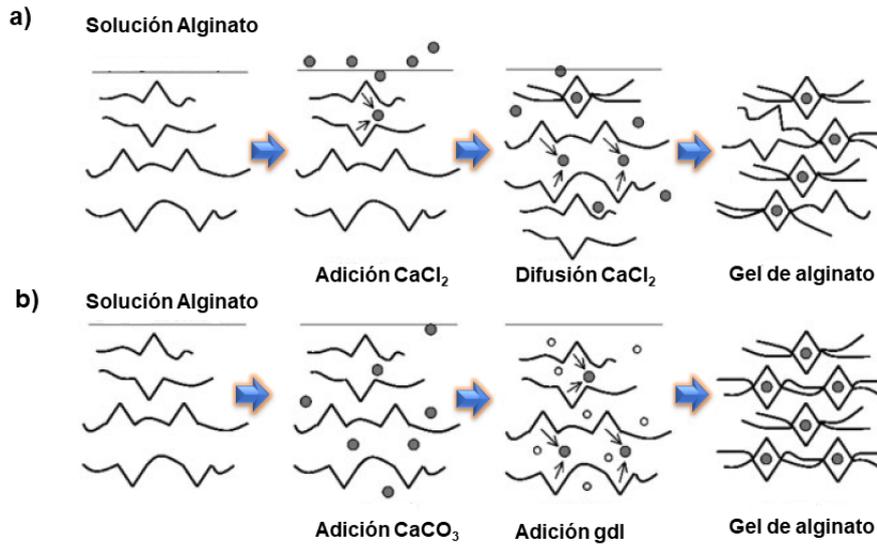


Figura 15. Gelificación *in situ* de alginato, a) entrecruzando con CaCl<sub>2</sub> y b) entrecruzando con CaCO<sub>3</sub> y gdl[104].

Los hidrogeles de Alg son prometedores en diversas aplicaciones, destacando como una alternativa en el área biomédica debido a su biocompatibilidad, y no toxicidad. En su forma soluble, el Alg puede fluir en sangre sin causar efectos adversos y es excretado vía renal[105].

### 3.7 Hidrogeles nanocompuestos

En general, los hidrogeles nanocompuestos se definen como redes tridimensionales poliméricas que contienen de NPs y/o nanoestructuras[5]. Estas nanoestructuras pueden formar parte del entrecruzamiento físico o covalente del polímero, o simplemente estar absorbidas en el material 3D. Un amplio rango de nanoestructuras han sido utilizadas para la formación de hidrogeles nanocompuestos, incluyendo las NPs a base de carbono (NTC, grafeno, óxido de grafeno), NPs poliméricas (PPy, politiofeno (PT), poliuretano (PU)), NPs inorgánicas (hidroxiapatita, silicatos, carbonatos) y NPs metal/óxido (oro, plata, óxido de hierro)[106]. Al combinar las nanoestructuras con la red polimérica se genera un reforzamiento mecánico en la red 3D. Además, se funcionaliza al nuevo hidrogel híbrido con las propiedades de las nanoestructuras, proporcionando, por ejemplo,

propiedades magnéticas, eléctricas y/o de sensibilidad a cambios de luz o pH. El tipo de nanoestructura utilizada define el tipo de estímulo a aplicar, formando hidrogeles nanocompuestos “inteligentes” que pueden responder a un estímulo externo, dependiendo de la nueva propiedad adicionada al hidrogel[107].

Dentro de los hidrogeles compuestos se encuentran los hidrogeles electroconductores (HEC), los cuales pueden utilizarse en sistemas de liberación de fármacos. Los HEC consisten en una matriz de hidrogel y un polímero conductor, en los que el componente hidrogel actúa como reservorios para la incorporación de pequeñas y/o grandes moléculas en altas concentraciones mientras que el polímero conductor permite el control electroquímico[108]. Bajo condiciones adecuadas, se puede modificar la cinética de liberación del fármaco y favorecer el transporte de diferentes moléculas o iones[109].

### 3.8 Cargado de fármacos en hidrogeles compuestos electroconductores.

Los hidrogeles debido a su estructura 3D altamente porosa permite el cargado y la difusión de moléculas, iones y/o fármacos desde su matriz. El cargado del fármaco en un hidrogel puede realizarse de dos maneras: posterior a la gelificación del hidrogel y la incorporación *in situ*. El cargado del fármaco post-gelificación se lleva a cabo una vez formado el hidrogel, el agente activo se incorpora hinchando el hidrogel en la solución concentrada de fármaco, Figura 16 (a). En cambio, el cargado de fármaco *in situ* está asociado con la incorporación del fármaco durante el proceso de formación del hidrogel Figura 16 (b)[110].

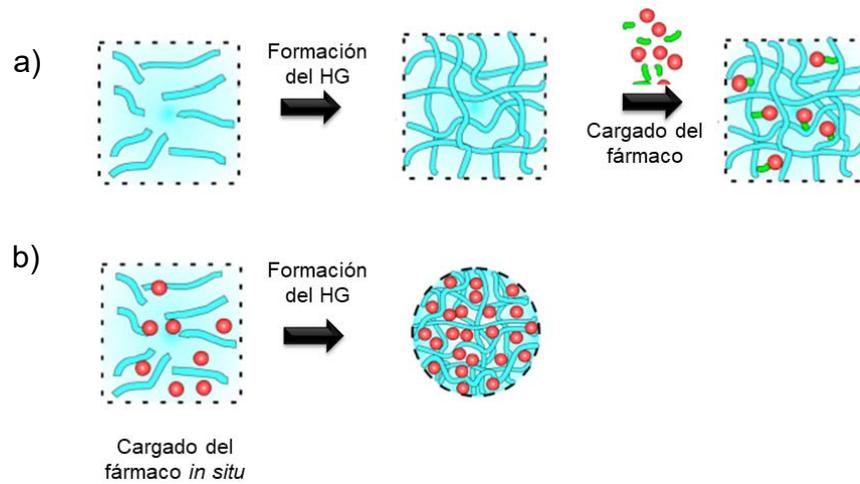


Figura 16. Cargado de fármaco en un hidrogel a) posterior a la formación del hidrogel y b) cargado *in situ*[110].

### 3.9 Liberación de fármacos a partir de hidrogeles compuestos electroconductores.

Bajo la influencia de un campo eléctrico o potencial eléctrico, los hidrogeles pueden hincharse o contraerse dependiendo de su forma y orientación. La liberación del agente farmacológicamente activo ocurre mediante diversos mecanismos; por ejemplo, los fármacos pueden migrar hacia del electrodo de carga opuesta, o bien, el hidrogel puede sufrir una contracción, lo cual promueve la salida del fármaco (Figura 17).

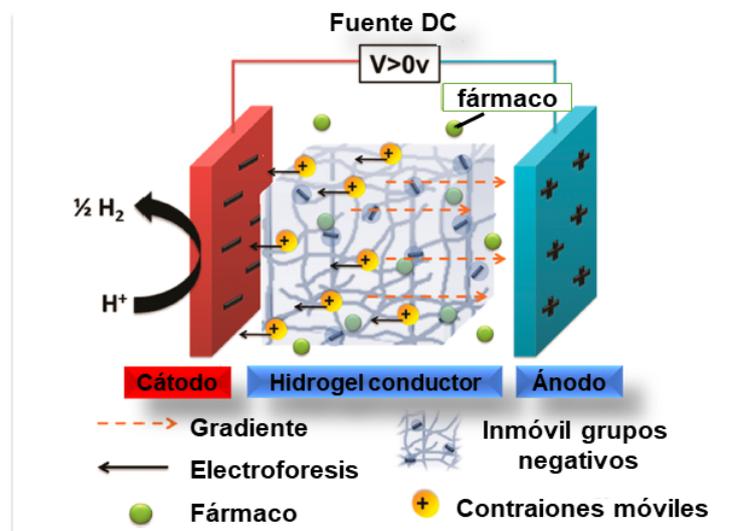


Figura 17. Ilustración de los mecanismos de contracción en el hidrogel inducida por la aplicación de un potencial eléctrico[109].

Tres mecanismos han sido propuestos para la liberación eléctricamente activa:

1. El desarrollo de un gradiente a lo largo del hidrogel.
2. Cambios en el pH local del electrodo como resultado de la electrólisis del agua (un incremento del pH en el cátodo y una disminución del pH en el ánodo)
3. Electro-ósmosis del agua acoplada por electroforesis.

Saha y col. [111], prepararon un hidrogel electroconductor compuesto de una matriz de poliacrilamina y PPy como material conductor para la liberación de risperidona mediante la aplicación de un potencial eléctrico. La variación en el hinchamiento y el estado de oxidación del material produjo cambios físicos y químicos en la red 3D conductora. La mayor liberación de risperidona fue obtenida a  $-0.4 V$ , lo que se atribuyó al cambio de volumen tras la reducción del PPy. Esta relajación en el polímero involucra el transporte de solvente a través de la matriz polimérica y un lento reordenamiento estructural, así como, el transporte iónico para compensar la carga en el PPy. Por otra parte, al aplicar un potencial positivo, el PPy modifica su estado a oxidado, observándose una menor liberación de risperidona

debido, a una compactación del polímero lo cual decrece la permeabilidad del fármaco.

Mongkolkitikul y col. [112], reportaron la liberación de ibuprofeno a partir de un hidrogel electroconductor compuesto de una matriz de pectina y poly(3-metoxidifenilamina) como material conductor. Ellos observaron que al aplicar un potencial eléctrico de 5 V, el coeficiente de difusión del fármaco se incrementó en un orden de magnitud, lo que se atribuyó a la interacción electrostática de repulsión entre el ibuprofeno y el electrodo cargado negativamente.

Yang y col. [52] reportaron la síntesis de hidrogeles compuestos de Alg y PPy, mediante la polimerización química del Py dentro de la matriz del hidrogel entrecruzado iónicamente. Entre los principales resultados se obtuvo un mejoramiento de las propiedades mecánicas, el Módulo de Young alcanzó valores entre 20-200 kPa; se mejoró la conductividad eléctrica del hidrogel compuesto en un orden de magnitud con respecto al hidrogel prístino. Además, los estudios histológicos del hidrogel mostraron una buena adhesión y proliferación celular, por lo que los autores concluyeron que los materiales son buenos candidatos para aplicaciones biológicas.

## 4. METODOLOGÍA

### 4.1 Materiales

- ❖ Pirrol 98%, marca Aldrich.
- ❖ Peróxido de hidrógeno 50%, marca Sigma-Aldrich.
- ❖ Sal de alginato de sodio, M/G =1.6, marca Aldrich.
- ❖ Nanotubos de carbono multicapa funcionalizados (f-NTCPM).
- ❖ Nanotubos de carbono multicapa prístinos (p-NTCPM)  $\geq$  98%, marca Aldrich.
- ❖ Dodecil sulfato de sodio (SDS) 98%, marca Aldrich.
- ❖ HCl 37.2%, marca Faga Lab.
- ❖ Carbonato de sodio 98%, marca Faga Lab.
- ❖ D- (+)- ácido glucónico- $\delta$ -lactona (gdl), marca Sigma-Aldrich.
- ❖ Metoprolol tartrato, marca Sigma-Aldrich.

### 4.2 Síntesis de polipirrol.

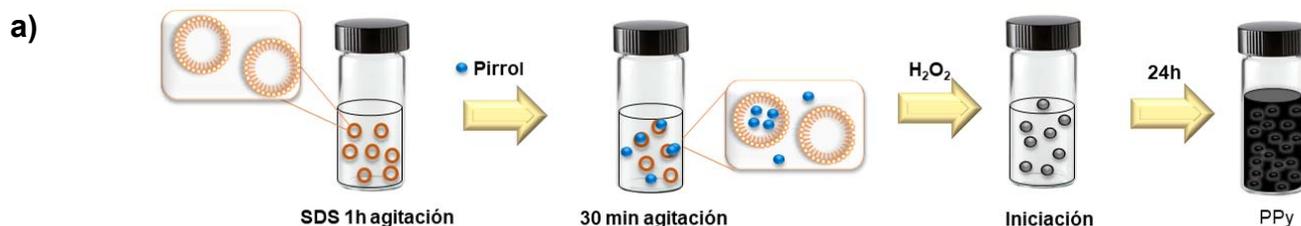
#### 4.2.1 Tratamiento oxidativo de p-NTCPM

Los p-NTCPM debido a su naturaleza hidrofóbica forman agregados en solución acuosa, por ello, previo a su incorporación en la síntesis de PPy, se realizó un tratamiento oxidativo de los p-NTCPM con la finalidad de mejorar su dispersión en medio acuoso, siguiendo la metodología reportada por Puentes y col.[113]. Brevemente, 6 mg de los p-NTCPM se colocaron en una mezcla de ácidos concentrados  $\text{H}_2\text{SO}_4$ : $\text{HNO}_3$  en una relación molar 3:1. A continuación, la mezcla de ácidos con los nanotubos se sometió a un tratamiento por microondas a una potencia de 150 Watts con temperatura constante de 70° C, durante 1h, en un reactor de microondas marca CEM Discover. El producto de reacción se purificó en una membrada de diálisis utilizando agua destilada, ésta se cambió en diferentes intervalos de tiempo hasta lograr un pH semejante al del agua destilada. Finalmente, los f-NTCPM fueron congelados y secados mediante liofilización. Este tratamiento de oxidación con ácidos concentrados permite la incorporación principalmente de grupos carboxílicos sobre la superficie de los NTC, con un porcentaje de oxidación alrededor de 12%.

#### 4.2.2 Síntesis de polipirrol

La síntesis de PPy se realizó mediante la técnica de emulsión a temperatura ambiente. Se disolvieron, 1.5 mmol del surfactante SDS en 3 mL solución acuosa (pH 3.1), bajo agitación magnética constante, para dar origen a la formación de micelas. Una vez transcurrido 1 h de agitación, se añadieron 0.87 mmol del monómero de Py y se continuó mezclando por 30 minutos. Finalmente, se adicionó el iniciador, el peróxido de hidrógeno, a partir de los cual transcurrió un tiempo de 24 h (Tabla 3).

Bajo estas condiciones de reacción, se obtuvieron nanopartículas de PPy; sin embargo, estas presentaban una alta resistividad eléctrica y, por lo tanto, baja conductividad eléctrica. Por ello, conservando las condiciones de síntesis y concentraciones de reactivos iniciales, se introdujeron nuevos materiales para la formación de nanocompuestos de PPy con la finalidad de mejorar las propiedades eléctricas y el rendimiento del producto de reacción. A la síntesis, se añadió alginato de sodio, un polisacárido aniónico, que provee flexibilidad al material compuesto y que al mismo tiempo puede funcionar como dopante. Además, se incorporaron individualmente p-NTCPM y f-NTCPM, utilizados para mejorar las propiedades eléctricas y mecánicas del material compuesto de PPy. Se eligió la síntesis con mayor rendimiento másico y conductividad eléctrica (síntesis 8), para llevar a cabo a mayor escala en condiciones de reacción controladas, es decir, se utilizó una atmósfera de nitrógeno y una temperatura de reacción de 3°C (Figuras 18 y 19).



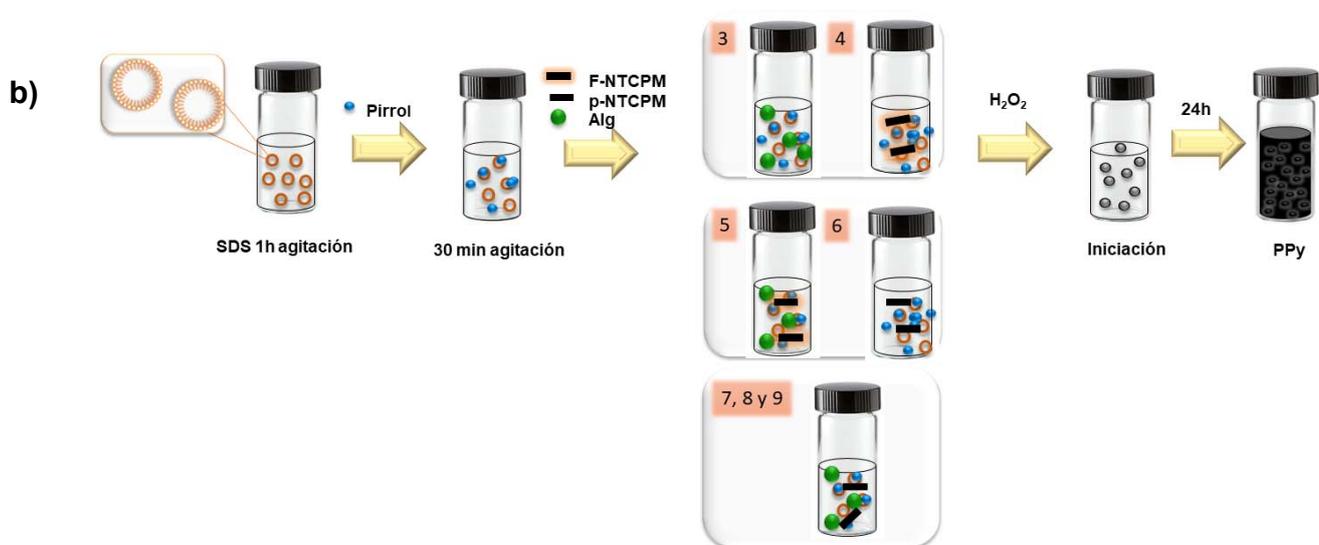


Figura 18. Proceso ilustrado de la síntesis de PPy, a) síntesis 1 y b) síntesis 2-9. La reacción se realizó en solución acuosa ácida, temperatura ambiente.

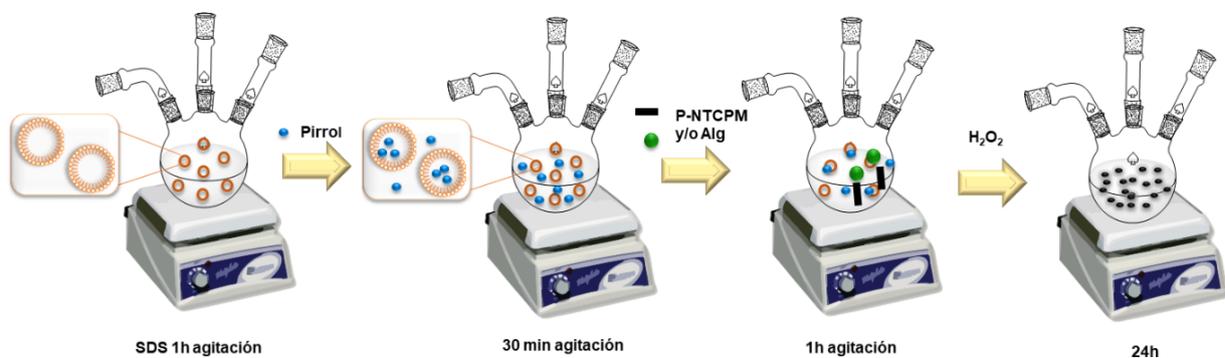


Figura 19. Síntesis de PPy a mayor escala (cinco veces) bajo condiciones controladas de temperatura (3°C) y atmósfera de nitrógeno N<sub>2</sub>.

#### 4.2.3 Purificación de la síntesis PPy

La purificación de PPy se realizó de la siguiente manera:

- a) Se realizaron tres lavados con agua desionizada, centrifugando la muestra durante 1 h a 6,000 rpm como se muestra en la Figura 20 (a).
- b) Se efectuaron lavados en una membrana de diálisis durante 24 h con agua desionizada, haciendo cambios constantes del medio, la purificación continuó hasta obtener un pH similar al del agua desionizada, Figura 20 (b).

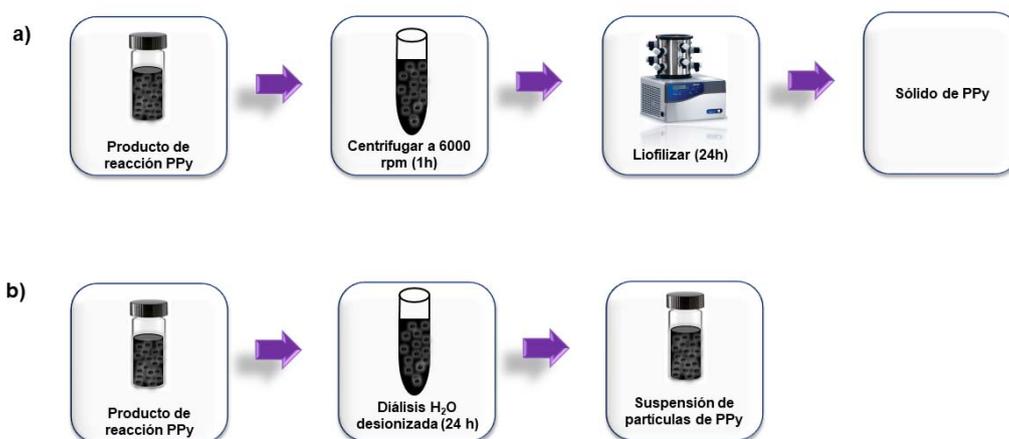


Figura 20. Proceso de purificación de la síntesis de PPy a) centrifugación y b) diálisis en agua desionizada.

#### 4.2.4 Caracterización de productos de reacción

##### a) Rendimiento másico.

El PPy puro, se secó mediante liofilización y, posteriormente, se obtuvo su masa (mg) utilizando una balanza analítica Ohaus Pioneer.

##### b) Conductividad eléctrica.

Las mediciones de conductividad eléctrica se determinaron por el método estándar de dos puntas, para lo que se elaboraron tres pastillas del polvo purificado y liofilizado. Se determinó:

1. Área de la pastilla.

2. Espesor de la sección transversal de la pastilla, utilizando micrómetro digital Mitutoyo modelo H-2780.
3. Resistencia eléctrica, utilizando un multímetro marca Agilent Technologies modelo 34410A.
4. Se aplicaron las ecuaciones 1 y 2 para la determinación de la conductividad. Las mediciones se realizaron por triplicado en pastillas independientes y se reportó el promedio.

$$\rho = \frac{RA}{L} \quad (\text{Ecuación 1})$$

$$\sigma = \frac{1}{\rho} \quad (\text{Ecuación 2})$$

Donde:  $\rho$  = Resistividad ( $\Omega$  cm)

L= Longitud (cm)

A= Área ( $\text{cm}^2$ )

R= Resistencia ( $\Omega$ )

$\sigma$  = Conductividad eléctrica ( $\Omega^{-1} \text{cm}^{-1}$ )

c) Espectrometría de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR).

Los FT-IR fueron tomados de 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  con una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$ , utilizando un espectrofotómetro FT-IR/FIR Frontier marca PerkinElmer. El FT-IR de cada síntesis se obtuvo realizando una pastilla del producto liofilizado de las síntesis con bromuro de potasio (KBr).

d) Espectroscopía Ultravioleta-visible (Uv-Vis).

Mediante espectroscopía Uv-Vis se determinaron las principales bandas de absorción de los productos de PPy. Los espectros fueron tomados desde 190 nm hasta 1100 nm, utilizando un espectrómetro Lambda 20 marca Perkin Elmer. Para la preparación de la muestra se tomó una alícuota de la suspensión de PPy purificada

por diálisis, se dispersó en agua desionizada y se transfirió a una celda de cuarzo para su posterior medición. Sección 8.3 anexos.

e) Potencial Zeta.

El potencial Zeta de las partículas de PPy se obtuvo en un equipo Zetasizer modelo nano ZS. Se tomaron 40  $\mu\text{L}$  de la suspensión de PPy puro y se ajustó a un volumen final de 2 mL con agua desionizada. Antes de medir el potencial Zeta, las partículas se sonicaron durante 5 min. Las mediciones se realizaron por triplicado, reportando el promedio.

f) Análisis termogravimétrico (TGA).

Los termogramas de las partículas de PPy se obtuvieron en un equipo Pyris 1 TGA marca PerkinElmer, a una velocidad de calentamiento de  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , comenzando a temperatura ambiente y finalizando en  $800^{\circ}\text{C}$ , con flujo de nitrógeno. Se pesó 5 mg de PPy y se colocó en el portamuestra para su medición. Sección 8.2 anexos.

g) Estudio de la Morfología.

La morfología de las síntesis de PPy se estudió mediante microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FE-SEM) utilizando un equipo JSM-7610F. Una alícuota pequeña de la suspensión de PPy se colocó sobre un sustrato de aluminio y se dejó secar para su posterior medición.

Por otro lado, las micrografías obtenidas por microscopía electrónica de transmisión-barrido (STEM) fueron observadas en un microscopio electrónico de ultra alta resolución JEOL-JEM220F + STEM en modo STEM, empleando una rejilla HOLEY. A partir de la suspensión coloidal de PPy, se tomaron 20  $\mu\text{L}$  y se mezclaron con 10  $\mu\text{L}$  de solución de SDS 5 mM, esta fue ajustada a un volumen de 1 mL con agua desionizada. Una porción de 10  $\mu\text{L}$  de la suspensión se depositó sobre el sustrato, se retiró el exceso de agua y se secó a temperatura ambiente durante 24 h.

El estudio por microscopía de fuerza atómica (AFM), se realizó utilizando un microscopio Asylum Research model MFP3D-SA, en modo de contacto intermitente (*Tapping*). Se depositó una alícuota de la suspensión coloidal (igual a la utilizada para STEM) sobre un sustrato de vidrio y se dejó secar a temperatura ambiente durante 48 h.

h) Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS).

El análisis XPS se realizó en un equipo Thermo Scientific Escalab 250Xi instrument con una radiación de excitación MgK $\alpha$  (1486.86 eV), un voltaje de rayos-X de 14 kV y una potencia de 350 Watts. La presión en la cámara de análisis se mantuvo  $\sim 10^{-8}$  Torr en cada medición. Se obtuvieron los datos de fotoemisión de alta resolución para C 1S y N 1S.

i) Determinación de la concentración crítica micelar (CMC).

La determinación de la CMC para el surfactante SDS se realizó en medio ácido mediante la medición de tensión superficial utilizando la técnica de goniometría, en un equipo System OCA 15plus de DataPhysics. Las soluciones del surfactante SDS se prepararon previo a la medición en un rango de concentraciones de 1 mM hasta 11 mM (rango de CMC reportado en la literatura) y se determinó la tensión superficial con el método de gota colgante (*pendant drop*). Las mediciones se realizaron por triplicado reportando el promedio de estas.

#### 4.3 Proceso de formación de hidrogeles de alginato

En la fabricación de los hidrogeles de alginato de sodio, se partió de una solución acuosa de Alg al 2% (p/v), para la formación de un hidrogel ionotrópico entrecruzado con calcio. Brevemente, a la solución de alginato se añadió el entrecruzante iónico CaCO<sub>3</sub>, se puso bajo agitación magnética y se sonicó durante 7 minutos. Una vez dispersado el CaCO<sub>3</sub> en la solución de Alg se desgasificó mediante vacío y se añadió una solución recién preparada de glucona- $\delta$ -lactona (gdl). La gdl se hidroliza lentamente en agua, acidificando el medio y por consiguiente, posibilitando la difusión de los iones calcio, dando origen a un hidrogel

homogéneo alginato-Ca (HgA, relación gdl:Ca 2:1). Previo a la gelificación, la solución alginato-calcio-gdl fue vertida en moldes cilíndricos de 11 mm de diámetro para formar hidrogeles con esta geometría, El tiempo gelificación es 10 minutos a partir de la adición de gdl. (Figura 21, Tabla 1).

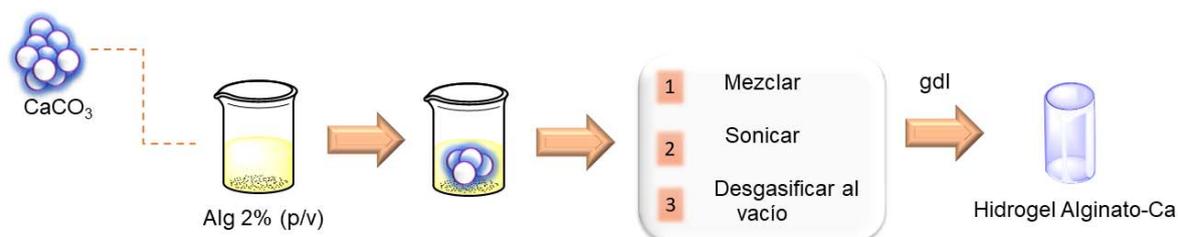


Figura 21. Proceso de obtención de hidrogeles de alginato-Calcio.

#### 4.3.1 Proceso de formación de hidrogeles Alginato-PPy.

Los hidrogeles compuestos de alginato y PPy fueron preparados por un proceso similar al descrito anteriormente para la fabricación del hidrogel HgA 2:1. Previo a la adición del entrecruzante, se adicionaron 0.5 mL o 1 mL de la suspensión acuosa de nanopartículas de PPy a la solución de alginato al 2% (p/v) (Figura 22, Tabla 1). La mezcla se agitó mecánicamente y se continuó con el entrecruzamiento tal como se describió en el punto 4.3, formando los hidrogeles HgAP0.5 e HgAP1 (relación molar de gdl: Ca 2:1), Tabla 1.

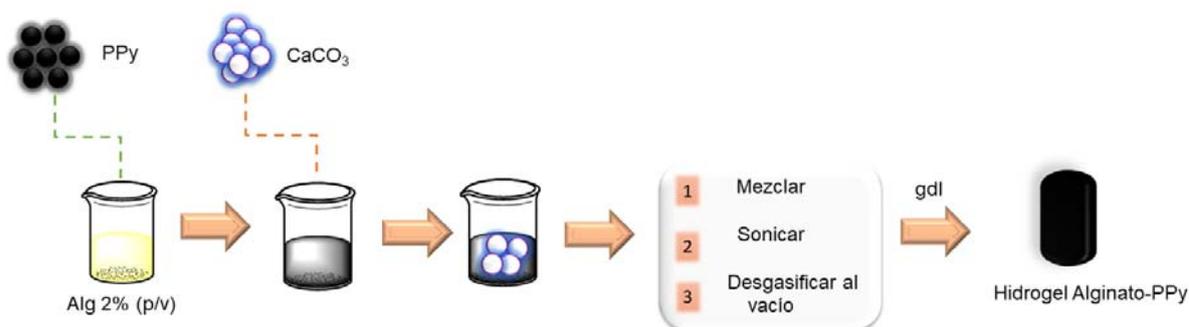


Figura 22. Proceso de formación de hidrogeles compuestos alginato-PPy.

#### 4.3.2 Proceso de formación de hidrogeles alginato-fármaco-polipirrol.

La incorporación del fármaco en el hidrogel se realiza durante el proceso de fabricación del hidrogel, a partir de una solución de metoprolol (61.9 mM). Se tomaron 200  $\mu\text{L}$  de la solución del fármaco y, se pusieron en agitación magnética con la suspensión de nanopartículas de PPy (0.5 o 1 mL) o bien con un mililitro de la suspensión que contenía 20 o 30 mg de PPy (previamente dispersado), durante un periodo de 3 h. Posteriormente, la suspensión PPy-metoprolol se incorporó a la solución de alginato al 2% y la preparación del hidrogel se continuó tal como se describe anteriormente para el hidrogel HgA en el punto 4.3 (Figura 23, Tabla 1). Previo a la total gelificación de los hidrogeles, en el molde, se introdujo un electrodo cilíndrico de titanio recubierto con platino en el centro del hidrogel, el cual se utiliza como electrodo de trabajo para la aplicación de un pulso eléctrico en los estudios de liberación del fármaco mediante la aplicación de un potencial eléctrico.

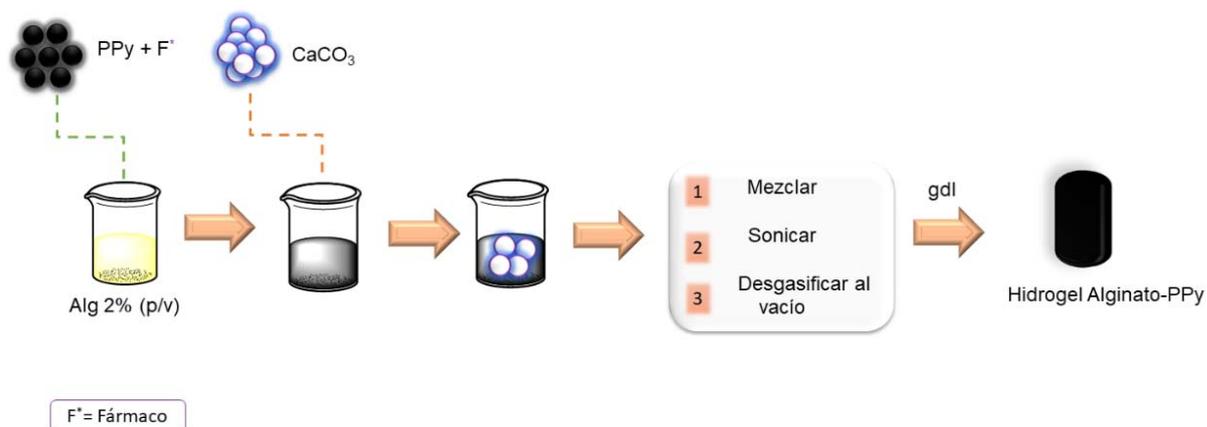


Figura 23. Proceso de formación de hidrogeles compuestos Alginato-fármaco-PPy.

En la tabla 1 se resumen las diferentes formulaciones para la preparación de los hidrogeles, así como el código con que se identifican las diferentes muestras en esta tesis.

Tabla 1. Composición utilizada en la preparación de los diferentes hidrogeles. La concentración de Alg fue 2% (p/v) para todos los hidrogeles.

Hidrogel	Condiciones de preparación de los hidrogeles		
	Relación gdI:Ca	Masa de nanoestructuras de PPy o volumen de suspensión	Masa de metoprolol
HgAM	1:1	0	8.5 mg
HgAMP20	1:1	20 mg	8.5 mg
HgAMP30	1:1	30 mg	8.5 mg
HgA	2:1	0	0 mg
HgAM	2:1	0	8.5 mg
HgAP0.5	2:1	0.5 mL	0 mg
HgAMP0.5	2:1	0.5 mL	8.5 mg
HgAP1	2:1	1.0 mL	0 mg
HgAMP1	2:1	1.0 mL	8.5 mg
HgAMP20	2:1	20 mg	8.5 mg
HgAM	2:2	0	8.5 mg
HgAMP20	2:2	20 mg	8.5 mg

Hg= Hidrogel

A= Alginato

M= Metoprolol

P= Polipirrol

### 4.3.3 Caracterización de hidrogeles

#### a) Cinética de hinchamiento.

Los estudios de hinchamiento para los hidrogeles en estado relajado fueron realizados en soluciones buffer a diferentes valores de pH (medio neutro pH 7.4 y medio ácido pH 1.2) mediante el método gravimétrico. Se utilizó la ecuación 3 para el cálculo del porcentaje de hinchamiento.

$$\% \text{ Hinchamiento} = \frac{W_x - W_0}{W_0} \quad (\text{Ecuación 3})$$

Donde:  $W_0$  = Peso del hidrogel en estado relajado.

$W_x$  = Peso del hidrogel hinchado.

#### b) Espectrometría de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR).

Los espectros de infrarrojo por transformada de Fourier fueron tomados de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  con una resolución de 4 $\text{cm}^{-1}$ , utilizando un espectrofotómetro FT-IR/FIR Frontier marca PerkinElmer. Se realizaron pastillas del hidrogel seco (liofilizado) con bromuro de potasio (KBr).

#### c) Análisis termogravimétrico (TGA).

Los termogramas se obtuvieron en un equipo Pyris 1 TGA marca PerkinElmer, a una velocidad de calentamiento de 10°C/min, comenzando a temperatura ambiente y finalizando en 800°C, con un flujo de nitrógeno. Se pesó 5 mg de hidrogel seco (liofilizado) y se colocó en el portamuestra para su medición.

#### d) Microscopía electrónica de transmisión (TEM).

El estudio de la morfología del Alg-PPy se realizó en un microscopio electrónico de transmisión JEOL2010F, para lo cual, el hidrogel en estado relajado, fue fijado con la resina SPURR y cortado mediante ultramicrotomía. La muestra fue secada

en una cámara de vacío durante 24 h previas al análisis. Este proceso se realizó únicamente para el hidrogel HgAMP1 2:1.

e) Microscopía electrónica de barrido (SEM).

El estudio de las morfologías para los diferentes hidrogeles se realizó en un microscopio electrónico de barrido JEOL 5410V. Una gota de la solución del hidrogel se dejó gelificar sobre una placa Petri. Posteriormente, la muestra se congeló con nitrógeno líquido y se liofilizó. Una pequeña porción de la muestra del hidrogel se colocó en un porta muestra con cinta de carbono, cubriendo la orilla del hidrogel con pintura de plata. Previo al análisis la muestra fue recubierta con oro.

f) Pruebas mecánicas de compresión.

Las propiedades mecánicas de los hidrogeles a compresión (módulo de Young, esfuerzo a la fractura y deformación a la fractura) se obtuvieron en un Equipo TA ElectroForce Sistema BioDynamic 5110 con una celda de carga de 225 N, a una velocidad de deformación 1 mm/min. Se utilizaron 5 muestras cilíndricas de los hidrogeles de cada composición con dimensiones de 11 mm diámetro por 6 mm espesor.

g) Ensayos de viabilidad celular.

Los ensayos de viabilidad celular *in vitro* se evaluaron para los hidrogeles HgA 2:1, HgAM 2:1, HgAP1 2:1 y HgAMP1 2:1 utilizando la línea celular de monocitos THP-1 (ATCCTIB202). Las células se cultivaron durante 20 días en el medio de cultivo celular RPMI-1640 (Sigma-Aldrich) suplementado con 10% de suero bovino fetal y 1% de los antibióticos estreptomina/ penicilina (Sigma-Aldrich).

Los hidrogeles fueron preparados de la siguiente manera: se tomaron 60  $\mu$ L de la solución de cada hidrogel previo a su gelificación y se colocaron en una placa de 96 pocillos, se dejaron gelificar durante 24 h. Posteriormente, los hidrogeles fueron congelados con nitrógeno líquido y liofilizados. Estos fueron desmoldados y esterilizados con luz ultravioleta con la finalidad de eliminar bio-contaminantes.

Los hidrogeles esterilizados se colocaron en una placa de 96 pocillos, sembrando una suspensión celular de 10,000 células/mL. Como control positivo se tomó el medio de cultivo más la suspensión de 10,000 células/mL y como control negativo se tomó solo el medio de cultivo sin la presencia de células. Estos se incubaron a 37°C bajo una atmósfera de 5% CO<sub>2</sub> y 80% de humedad relativa.

El número de células viables se determinó por triplicado a las 24h y 48h, utilizando resazurina al 20% en medio de cultivo. Se utilizó la ecuación 4 para el cálculo del porcentaje de células viables:

$$\% \text{ Viabilidad celular} = \frac{\left(\frac{O2}{A1} - \frac{O1}{A2}\right)}{\left(\frac{A2}{P1} - \frac{O1}{P2}\right)} \quad (\text{Ecuación 4})$$

Donde: O1 = coeficiente de extinción molar (E) de resazurina oxidada (azul) a 570 nm.

O2 = coeficiente de extinción molar (E) de resazurina reducida (rosa) a 600 nm.

A1 = absorbancia de los pocillos de prueba a 570 nm.

A2 = absorbancia de los pocillos de prueba a 600 nm.

P1 = absorbancia del pocillo de control positivo a 570 nm.

P2 = absorbancia del pocillo de control positivo a 600 nm.

Los estudios del porcentaje de viabilidad se encuentran en la sección 8.4 anexos.

#### 4.4 Liberación de fármacos.

La liberación de fármaco a partir de los hidrogeles se realizó utilizando una solución buffer trizma (pH 7.4, 100 mM) a temperatura ambiente (25°C), las cinéticas de liberación se estudiaron sin la aplicación de un voltaje (únicamente por difusión) y bajo la aplicación de un voltaje.

Las cinéticas de liberación de fármaco sin la aplicación de un voltaje se realizaron colocando el hidrogel en 30 mL de solución buffer trizma. Se tomaron alícuotas de 200  $\mu$ L en diferentes intervalos de tiempo. La liberación se monitoreó mediante espectroscopía Uv-Vis, para lo cual se realizó una curva de calibración del fármaco bajo las condiciones de liberación.

Los estudios de liberación mediante la aplicación de un estímulo eléctrico se realizaron insertando un electrodo cilíndrico de titanio recubierto con platino en el centro del hidrogel. Posteriormente, el hidrogel con el electrodo contenido se introdujo en 30 mL de solución buffer trizma y a una distancia de 0.5 cm, se colocó un segundo electrodo cilíndrico (idéntico al utilizado como electrodo de trabajo), conectando ambos electrodos a una fuente de poder DC marca Agilent modelo E3632A (Figura 24). Una vez aplicada la diferencia de potencial, se tomaron alícuotas de 200  $\mu$ L del medio de liberación, reponiendo el volumen tomado con buffer trizma. A continuación, se midió la absorbancia y el porcentaje de liberación fue determinado a través de una curva de calibración. En la Tabla 2 se muestran las diferentes condiciones estudiadas.

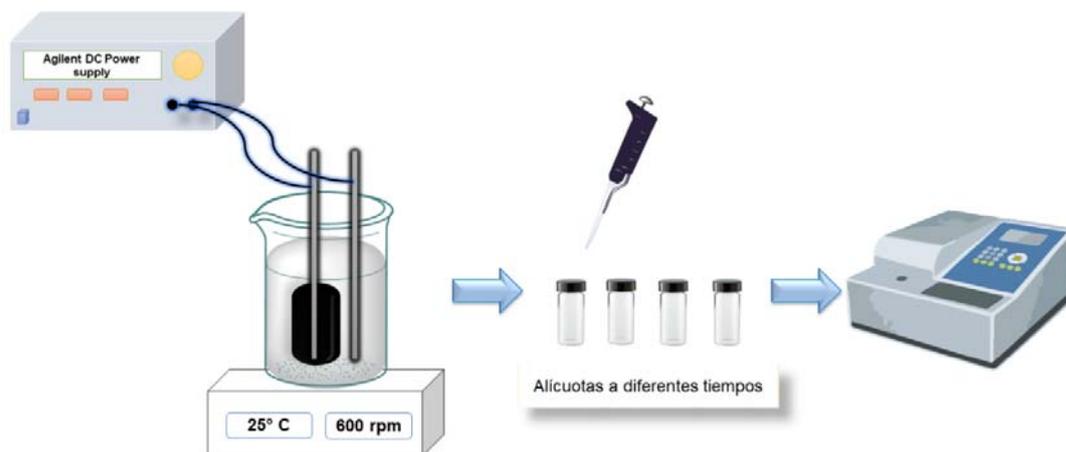


Figura 24. Esquema de liberación de metoprolol bajo la aplicación de un estímulo eléctrico.

Tabla 2. Condiciones experimentales aplicadas en la liberación pasiva y por la aplicación de un pulso eléctrico.

Hidrogel	Datos experimentales							
	Relación gdl:ca	Potencial eléctrico	Duración del potencial	Número de pulsos	Electrodo durante gelificación	Fármaco	Volumen de liberación Buffer Trizma	pH
HgAM	1:1	0V	---	---	si	Metoprolol	30 mL	7.4
HgAM	1:1	-5V	1 min	2	si	Metoprolol	30 mL	7.4
HgAMP20	1:1	0V	---	---	si	Metoprolol	30 mL	7.4
HgAMP20	1:1	-5V	1 min	2	si	Metoprolol	30 mL	7.4
HgAMP30	1:1	0V	---	---	si	Metoprolol	30 mL	7.4
HgAMP30	1:1	-5V	1 min	2	si	Metoprolol	30 mL	7.4
HgAM	2:1	0V	---	---	si	Metoprolol	30 mL	7.4
HgAM	2:1	-5V	1 min	2	si	Metoprolol	30 mL	7.4
HgAMP20	2:1	0V	---	---	si	Metoprolol	30 mL	7.4
HgAMP20	2:1	-5V	1 min	2	si	Metoprolol	30 mL	7.4
HgAM	2:1	0V	---	---	si	Metoprolol	30 mL	7.4
HgAM	2:2	-5V	1 min	2	si	Metoprolol	30 mL	7.4
HgAMP20	2:1	0V	---	---	si	Metoprolol	30 mL	7.4
HgAMP20	2:2	-5V	1 min	2	si	Metoprolol	30 mL	7.4

Variaciones en el potencial eléctrico, polaridad y duración del potencial se muestran en la sección de anexos 8.5 liberación de fármacos.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 5.1 Síntesis de polipirrol.

#### 5.1.1 Determinación de la concentración crítica micelar (CMC).

La polimerización por emulsión es un proceso complejo, debido a que la nucleación, crecimiento y estabilización de las partículas son controladas por mecanismos de polimerización por radicales libres combinados con varios fenómenos coloidales. El sistema de reacción se caracteriza por gotas de monómero emulsificadas dispersas en la fase continua y las micelas de monómero, sin embargo, estas solo pueden existir si la concentración del surfactante se encuentra por encima de su CMC. La CMC para SDS en medio acuoso (25°C) reportada en la literatura varía desde 5 mM hasta 11 mM, pero, bajo condiciones ácidas de reacción, la CMC del surfactante puede modificarse.

A. Rahman y C. W. Brown[114] reportaron una variación de la CMC del SDS a diferentes valores de pH. En este estudio, la CMC se evaluó mediante DLS y mediciones de conductancia. Los resultados mostraron que el valor de la CMC se considera independiente del pH en el rango de 5 hasta 10; sin embargo, a valores de pH menores de 4, la CMC varía con el pH. La disminución de la CMC del SDS en medio ácido se atribuye a dos razones: 1) remplazo de iones pesados por iones ligeros como  $\text{Na}^+$  o  $\text{H}^+$  y 2) por una disminución de la densidad de carga. Leonavicius y col.[9] realizaron la síntesis de PPy en condiciones ácidas utilizando SDS como surfactante. En su trabajo se reporta un valor de CMC de 3.3 mM para SDS en medio ácido, utilizando un cálculo de extrapolación lineal de la velocidad de polimerización vs la concentración.

En este trabajo, se determinó la CMC mediante goniometría a partir de los valores de tensión superficial. En la Figura 25 (a), se presenta la gráfica de tensión superficial vs la concentración del SDS. Se puede observar un cambio abrupto del parámetro medido entre concentraciones de  $1 \times 10^{-3}$  y  $2 \times 10^{-3}$  M, esto se atribuye a que la tensión interfacial líquido-vapor (Figura 25 (b)) de la solución acuosa es

modificada por la adición del surfactante disminuyendo la interfase líquido-vapor  $\gamma_{LV}$ . Las moléculas del surfactante se acumulan preferencialmente en la interfase líquido-vapor con los grupos polares orientados hacia la fase acuosa (Figura 25 (c)), la adsorción del surfactante decrece la energía interfacial y consecuentemente, la tensión superficial disminuye. En esta etapa, las moléculas continúan unidas formando una monocapa orientada (Figura 25 (d)). Por encima de esta concentración, las moléculas de surfactante se agregan formando micelas. Esta asociación continúa en solución con el aumento de la concentración del surfactante mientras en la superficie, las moléculas permanecen en su estado condensado. En el intervalo de concentraciones de  $3 \times 10^{-3}$  M hasta  $11 \times 10^{-3}$  M se observa una tensión superficial constante o que no varía drásticamente, en esta etapa la concentración del surfactante libre permanece constante mientras la concentración de micelas se incrementa (Figura 25 (e)), encontrando un equilibrio dinámico entre moléculas de surfactante libre y micelas. Se establece como CMC, el valor de la concentración donde se vuelve aproximadamente constante para los sistemas en estudio ya que depende únicamente de la estructura interfacial líquido-vapor. Tomando en cuenta lo anterior, se obtuvo un valor de CMC de 2 mM para el surfactante SDS en condiciones ácidas de reacción.

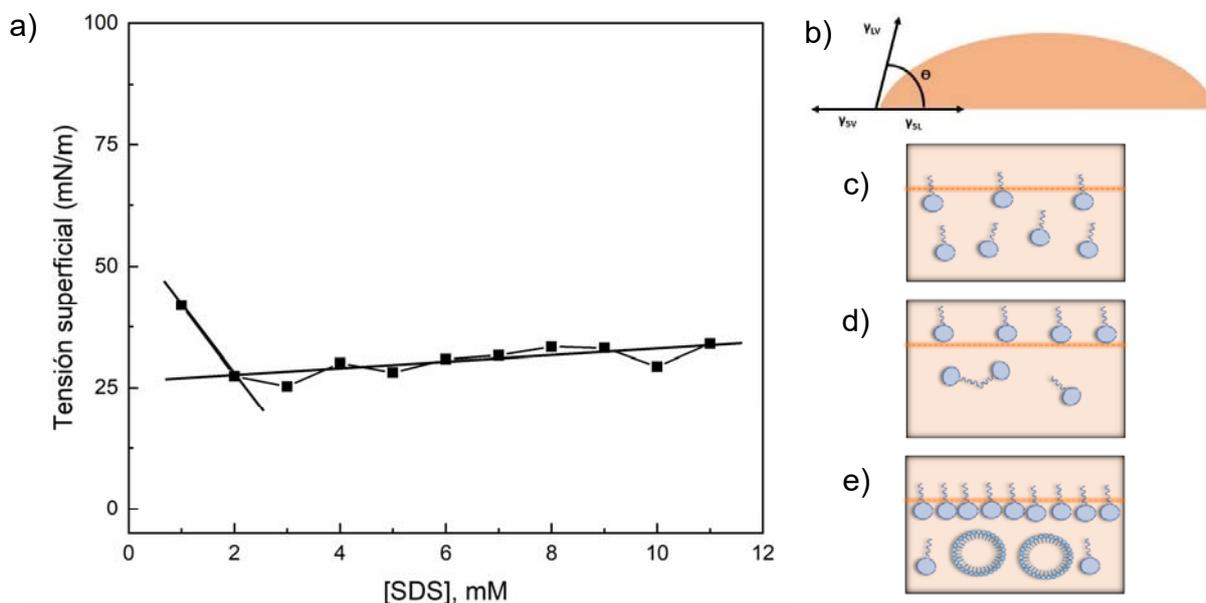


Figura 25. Variación de la tensión superficial en función de la concentración de SDS en medio ácido.

### 5.1.2 Rendimiento, conductividad eléctrica y potencial zeta

Los métodos de síntesis de PPy más comunes reportados en la literatura son la polimerización química y la polimerización electroquímica, esta última se caracteriza por formar polímeros con buenas propiedades eléctricas y pocos defectos estructurales; sin embargo, esta técnica está limitada por la electrodeposición del polímero conductor sobre el electrodo de trabajo, lo cual dificulta su rendimiento y su extrapolación industrial. Por otro lado, la oxidación química utiliza agentes oxidante fuertes como  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{KMnO}_4$  y  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ [115], que derivan en la incorporación de subproductos dentro de cadena de polímero, lo que podría generar toxicidad del polímero para aplicaciones biomédicas.

Una alternativa reportada en la literatura es el uso de agentes oxidantes “verdes” que puedan ser utilizados bajo condiciones suaves de reacción. El  $\text{H}_2\text{O}_2$  ha emergido como un oxidante amigable que permite la obtención de PPy y cuyos productos finales de reacción son  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{O}_2$ . No obstante, su uso en la síntesis de

PPy ha estado limitado por producir una cinética de polimerización lenta. En este contexto, el uso de surfactantes por encima de su CMC puede generar sitios para el crecimiento de las cadenas de PPy, favoreciendo la cinética de polimerización, de tal forma que, al combinar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> con surfactantes se logra llevar a cabo eficientemente la reacción de polimerización de manera amigable.

En este trabajo se sintetizó PPy mediante la oxidación química del monómero Py en presencia de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y SDS, como oxidante y surfactante, respectivamente. Se estudió el efecto de las condiciones de reacción como la concentración del surfactante SDS, pH y temperatura sobre las propiedades eléctricas y estructurales del producto de reacción. Adicionalmente, se analizó el efecto en las propiedades del producto final de PPy al incorporar Alg, p-NTCPM y f-NTCPM (Tabla 3). El rendimiento másico y la conductividad eléctrica fueron utilizadas para encontrar las mejores condiciones de reacción.

Las condiciones iniciales reacción se basaron en la metodología reportada por los autores Ramanavicius y col.[67] (Tabla 3, síntesis 1). La polimerización oxidativa en emulsión utilizando una concentración de 100 mM del surfactante SDS en medio ácido fue reproducida, en este caso se encontró la formación de nanopartículas de PPy, con alto rendimiento másico. Sin embargo, en la medición de su conductividad eléctrica, se encontró un valor  $\leq 10^{-11}$  S/cm, es decir, se obtuvo PPy aislante. Cabe mencionar que, en el estudio la referencia no se reporta el valor de la conductividad eléctrica de las muestras que se obtuvieron.

Con la finalidad de usar la mínima concentración de surfactante en la reacción con la intención de reducir su concentración en el producto final, se disminuyó la concentración de SDS de 100 mM a 5 mM en el medio de reacción, veinte veces menor a la reportada. La nueva concentración se encuentra por encima de la CMC determinada en nuestro estudio de tensión superficial. La reducción de la concentración del surfactante permitió la formación de nanopartículas de PPy similar a la obtenida con una concentración de surfactante mayor (síntesis 2, Tabla

3); sin embargo, el rendimiento másico de la reacción disminuye significativamente, sin mejorar las propiedades eléctricas del producto final.

Con el objetivo de sintetizar un sistema compuesto multifuncional con mejoradas propiedades eléctricas y mecánicas, se estudió el efecto en la adición de Alg, p-NTCPM y f-NTCPM al medio de reacción. El Alg es un polielectrolito natural capaz de actuar simultáneamente como andamio para el crecimiento de la cadena y como co-dopante del polimerización PPy en su estado oxidado[55]. En cambio, los materiales carbonáceos pueden servir como puentes entre los dominios conductores de PPy incrementando la percolación efectiva[116].

La adición de Alg al sistema en emulsión incrementa ligeramente el producto de rendimiento de reacción sin mejorar la conductividad eléctrica (síntesis 3). De manera contraria, al introducir f-NTCPM (síntesis 4, Tabla 3) se incrementa la conductividad eléctrica en 4 órdenes de magnitud sin incrementar el rendimiento másico. La combinación de Alg y f-NTCPM (síntesis 5, Tabla 3) produce un efecto poco favorable en la conductividad eléctrica, sin embargo, mejora el rendimiento final de la reacción.

Interesantemente, la incorporación de p-NTCPM (síntesis 6, Tabla 3) incrementa significativamente la conductividad eléctrica del nuevo producto de reacción en tres órdenes de magnitud comparado con el producto que contiene f-NTCPM. Esta diferencia contrastante entre la contribución eléctrica de los NTCPM prístinos y los NTCPM funcionalizados puede relacionarse con las propiedades eléctricas inherentes de las nanoestructuras. Los p-NTCPM exhiben una conductividad eléctrica en bulto de  $0.2 \text{ S cm}^{-1}$ , en cambio los f-NTCPM presentan una conductividad eléctrica en bulto de  $0.04 \text{ S cm}^{-1}$ . El mejoramiento significativo en las propiedades eléctricas tras la adición de p-NTCPM también sugiere una transferencia de carga más efectiva entre los nanotubos y los dominios de PPy, comparado con lo que ocurre con los f-NTCPM.

La adición combinada de Alg y p-NTCPM (síntesis 7, Tabla 3) conduce a un ligero incremento en el rendimiento másico mientras la conductividad se mantiene

en el mismo orden de magnitud comparada con la síntesis 6, sin la incorporación del polisacárido. Sin embargo, el rendimiento se incrementa al doble al modificar ligeramente el pH a 3.3 (síntesis 8), este incremento se atribuye a la ionización de los grupos carboxílicos presentes en los monómeros M y G del alginato de sodio ( $pK_a$  3.38 y 3.65, respectivamente)[117], con la posible incorporación del polielectrolito en el producto final, probablemente como co-dopante.

Posteriormente, considerando las condiciones que permitieron obtener valores más altos de conducción eléctrica y rendimiento, la reacción fue escalada a un volumen de 5 veces mayor, obteniendo un incremento de la conductividad en un orden de magnitud (síntesis 9). Finalmente, la polimerización escalada 5 veces fue realizada en temperatura controlada de 3°C, bajo atmósfera de nitrógeno, condiciones típicamente utilizadas en la síntesis de PPy. Estas últimas condiciones, resultaron en un ligero incremento en la conductividad eléctrica, atribuido al efecto de temperaturas bajas[118], las cuales favorecen la alineación regular de los polímeros, además, de incrementar la longitud de la cadena (mayor conjugación) y disminuir los defectos en las cadenas, tales efectos conllevan al incremento en los valores de conductividad[67], ya que facilita el transporte de cargas a lo largo de las cadenas.

En la Tabla 3 se resume el potencial zeta obtenido para cada producto de síntesis, como medida de la estabilidad coloidal de las partículas de PPy. La superficie cargada negativamente es atribuida a la adsorción de especies negativas en los coloides, incluyendo moléculas de surfactantes y del polisacárido, además de la carga negativa de los f-NTCPM en los productos que lo contienen. Se conoce que la presencia de Alg modifica la carga superficial de las partículas. Mosafer y col.[119], sugieren que la presencia de Alg en la síntesis de nanopartículas de trimetilquitosano incrementa el potencial zeta negativo de las partículas recubiertas comparada con las partículas sin recubrir. La carga se ha relacionado con el dominio aniónico derivado de los grupos carboxílicos de la cadena alifática, proporcionando una alta densidad de carga superficial negativa para el polisacárido (potencial zeta -76 mV)[60] en medio acuoso. Se ha reportado que el polielectrolito es adsorbido

rápido y eficientemente en superficies altamente catiónicas. Se sugiere que los dominios catiónicos de los coloides de PPy, favorecen la adsorción del polisacárido dando lugar a la densidad de carga negativa de los coloides.

Tabla 3. Rendimiento de reacción, conductividad eléctrica y potencial zeta de los productos de PPy bajo diferentes condiciones de reacción (Py 290 mM, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 390 mM).

Reacción	Condiciones de reacción				Resultados		
	SA (mg)	f- CNT (mg)	p- CNT (mg)	pH	Rendimiento másico (mg)	Conductividad eléctrica (S cm <sup>-1</sup> )	Potencial zeta (mV)
Sint.1 <sup>a</sup>	--	--	--	3.1	103	<10 <sup>-11</sup>	-11.00
Sint.2 <sup>b</sup>	--	--	--	3.1	19.5	<10 <sup>-11</sup>	-10.63
Sint.3 <sup>b</sup>	10	--	--	3.1	25.0	<10 <sup>-11</sup>	-26.43
Sint.4 <sup>b</sup>	--	3	--	3.1	18.0	2.05x10 <sup>-7</sup>	-12.47
Sint.5 <sup>b</sup>	10	3	--	3.1	37.0	5.27x10 <sup>-11</sup>	-23.60
Sint.6 <sup>b</sup>	--	--	3	3.1	22.0	9.46x10 <sup>-4</sup>	-10.63
Sint.7 <sup>b</sup>	10	--	3	3.1	25.0	5.49x10 <sup>-4</sup>	-22.13
Sint.8 <sup>b</sup>	10	--	3	3.3	59.0	2.38x10 <sup>-4</sup>	-16.90
Sint.9 <sup>b,c</sup>	50	--	15	3.3	145.2	2.49x10 <sup>-3</sup>	-21.60
Sint.10 <sup>b,c,d,e</sup>	50	--	15	3.3	150	5.60x10 <sup>-3</sup>	-22.00

<sup>a</sup> Síntesis realizada con 100 mM de SDS, de acuerdo con el reporte previo[9].

<sup>b</sup> Síntesis con 5 mM de SDS.

<sup>c</sup> Síntesis escalada 5 veces.

<sup>d</sup> Reacción en presencia de atmósfera de nitrógeno.

<sup>e</sup> Síntesis realizada a una temperatura de 3°C.

### 5.1.3 Morfología.

En la Figura 26, se muestran las micrografías representativas STEM, FE-SEM y AFM para las síntesis de los materiales compuestos de PPy. La Figura 26 (a) representa la morfología obtenida para la muestra de PPy en la que se disminuyó

a 5 mM la concentración de SDS. El polímero presenta una apariencia de agregados irregulares de partículas primarias que exhiben una morfología quasi-esférica. NPs con aspecto similar fueron obtenidas por Choi y col.[119], quienes obtuvieron un PPy poroso con auto agregación en medio micelar con SDS. Durante el proceso de polimerización en emulsión, las moléculas del surfactante proveen un efecto de confinamiento controlando los sitios de nucleación, crecimiento y estabilización de las partículas. Se infiere que, durante la polimerización, las moléculas del surfactante son capaces de incorporarse como contraiones de las cadenas catiónicas de PPy, y como resultado, algunas de las partículas en crecimiento podrían desestabilizarse, conduciendo a coloides irregulares que coexisten con NPs esféricas, que forman aglomerados de partículas tal como se muestra en la Figura 26 (a). Este efecto podría ser más pronunciado en concentraciones de surfactante más cercanas a la CMC. Una morfología similar se observó en la síntesis 3 (Figura 1 anexos)

Una morfología diferente fue observada cuando los p-NTCPM se añadieron a la reacción (síntesis 6). La Figura 26 (b), muestra p-NTCPM adornados con NPs esféricas de PPy. Se puede observar que algunas NPs individuales crecen sobre la superficie del material carbonáceo formando nanoestructuras unidimensionales con superficie rugosa. Esta afinidad entre los anillos aromáticos de PPy y la estructura gráfica de los nanotubos se fundamenta por interacciones no covalentes específicas como interacciones  $\pi$ - $\pi^*$  e hidrofóbicas[119]. Similar comportamiento ha sido reportado por otros grupos de investigación[62], donde se encontraron estructuras tubulares con una capa densa de crecimiento de partículas de PPy sobre la superficie de los NTC, estabilizadas por interacciones no covalentes. La aglomeración de NPs de PPy y un recubrimiento tipo película sobre la superficie también se observó en las microscopías.

Características morfológicas similares fueron obtenidas para las muestras de síntesis en presencia de p-NTCPM y Alg, en condiciones ambientales (síntesis 7) y bajo condiciones controladas de reacción (síntesis 10) Figura 26 (c) y (d), respectivamente. En estas muestras se observó un recubrimiento más denso de

NPs de PPy sobre los NTC, en comparación con la polimerización sin Alg, dando lugar a una estructura tridimensional con una buena conexión de dominios de cada material. Este resultado se correlaciona con el aumento de rendimiento de masa logrado cuando se añadió el polisacárido a la reacción.

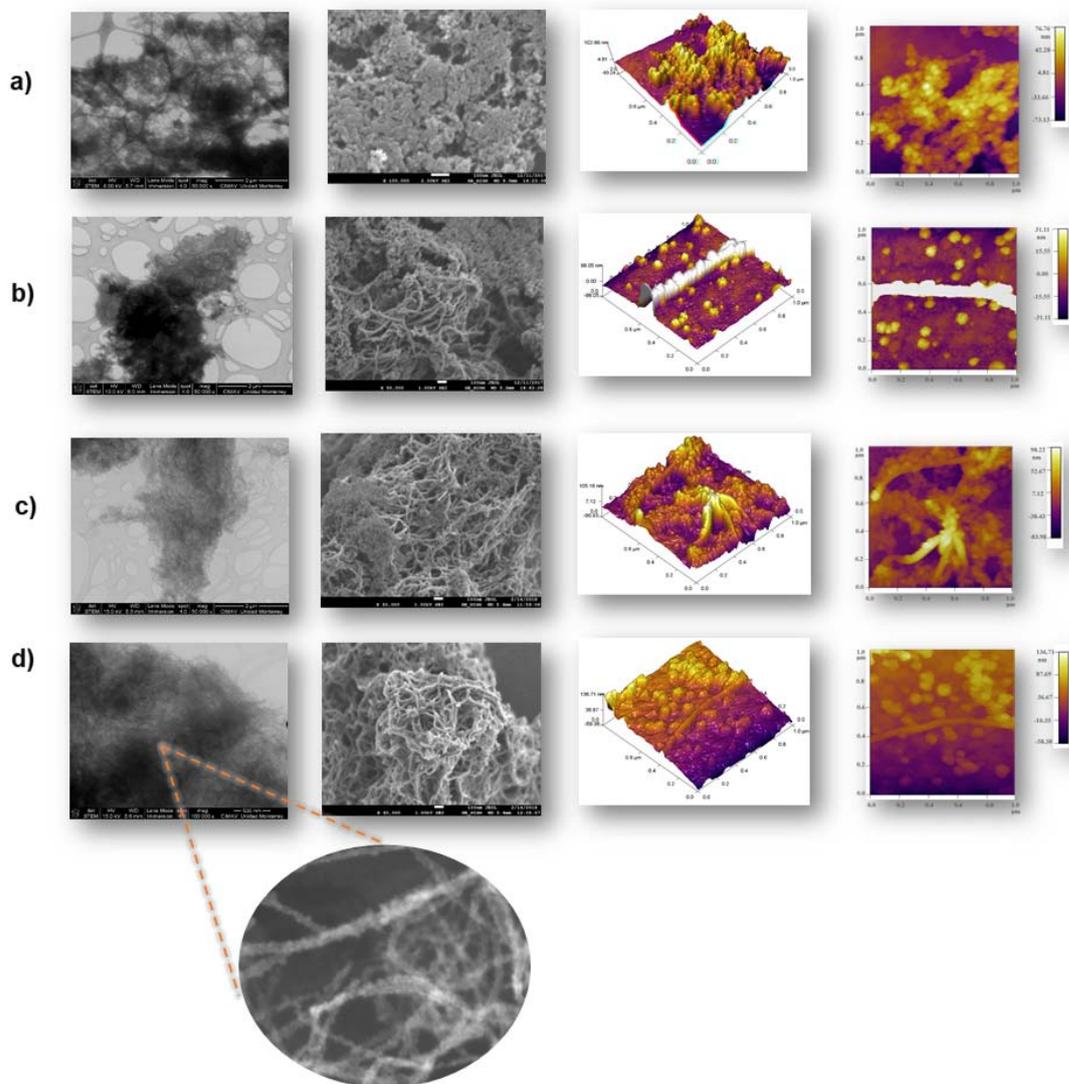


Figura 26. Estudio de morfología mediante microscopía electrónica de barrido transmisión (STEM), microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FE-SEM) y microscopía de fuerza atómica (AFM) para las síntesis a) 2, b) 6, c) 7 y d) 10.

### 5.1.4 Análisis de espectroscopía infrarrojo (FT-IR).

Los espectros FT-IR para los reactivos puros utilizados en la síntesis de PPy se muestran en la Figura 27. El surfactante SDS tiene una banda vibración asimétrica intensa la cual es característica del enlace S-O, generalmente, ésta se observa como una doble banda de intensidad similar y se localiza en 1252 y 1207  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 27 (a)). Las vibraciones ubicadas a 2962, 2921, 2850 y 1469  $\text{cm}^{-1}$  corresponden a los modos vibracionales de estiramiento y flexión del grupo  $\text{CH}_2$ . A 1182  $\text{cm}^{-1}$  se encuentra la banda correspondiente al estiramiento C-C. Los picos ubicados en 833 y 579  $\text{cm}^{-1}$  corresponden a la vibración de flexión asimétrica del enlace C-H.

En la Figura 27 (c), se exhibe el espectro de infrarrojo para el Alg. Este se caracteriza por la presencia de una banda ancha centrada a 3457  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente a la vibración del grupo O-H y a 2920  $\text{cm}^{-1}$ , la vibración del enlace C-H. A menor energía, las bandas ubicadas a 1614 y 1406  $\text{cm}^{-1}$  se atribuyen a la vibración asimétrica y simétrica del enlace  $\text{COO}^-$ , respectivamente.

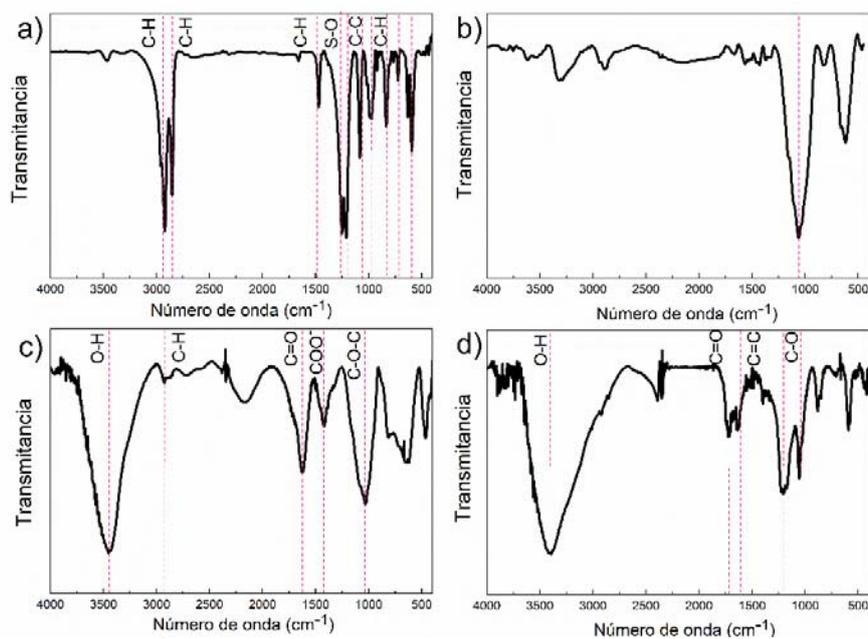


Figura 27. Espectros FT-IR de reactivos a) surfactante SDS, b) p-NTCPM, c) Alg y d) f-NTCPM.

Por otro lado, en la Figura 27 (b) y (d), se muestran los espectros FT-IR de los p-NTCPM y f-NTCPM, respectivamente. En el espectro de los NTC funcionalizados puede observarse la aparición de la banda en la región 3600-3000  $\text{cm}^{-1}$  atribuida a la vibración del enlace O-H presente en la superficie del nanotubo, a  $\sim 1700 \text{ cm}^{-1}$ , la vibración del enlace C=O y en el intervalo  $\sim 1300\text{-}1000 \text{ cm}^{-1}$  las vibraciones C-O. La presencia de estas bandas confirma la funcionalización de los NTC.

En la Figura 28 se muestran los espectros FTIR para los productos de las diez síntesis de PPy. En cada uno de los espectros se puede observar la presencia de las bandas características de las vibraciones para los grupos funcionales presentes en el PPy, estas se describen a continuación. En el espectro de la muestra de la síntesis 1 (Figura 28 (a)), se observa una banda ancha de absorción localizada entre 3000-3600  $\text{cm}^{-1}$  que se atribuye al estiramiento N-H, mientras que los estiramientos vibraciones ubicados en 2922 y 2848  $\text{cm}^{-1}$  corresponden a los modos vibracionales de estiramiento y flexión del grupo metileno  $\text{CH}_2$ , respectivamente, presentes en la cadena hidrocarbonada del surfactante. A menor energía, los picos a 1561 y 1453  $\text{cm}^{-1}$  corresponden a los estiramientos C=C y C-N del anillo de pirrol, respectivamente. La banda ubicada a 1050 se asigna a las vibraciones en el plano de deformación N-H y la de 934  $\text{cm}^{-1}$ , la vibración C-H. Adicionalmente, el espectro muestra la presencia de la banda centrada a 1604  $\text{cm}^{-1}$  la cual se atribuye al estiramiento del enlace carbonilo (C=O). La presencia de esta última señal puede deberse a una sobreoxidación en la cadena del PPy, debido a un ataque nucleofílico del agua. Esta característica ha sido observada en polimerizaciones de PPy en presencia de peróxido. Por otro parte, la banda centrada en 1208  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a las vibraciones del enlace S-O, lo cual confirma la incorporación del SDS en la cadena del PPy, probablemente actuando como un balanceador de carga.

La Figura 28 (a) muestra el espectro FT-IR de la muestra que se obtuvo al disminuir la concentración de surfactante a 5 mM. Tal como se describió

anteriormente para la muestra de la síntesis 1, el espectro del producto de la síntesis 2 muestra las bandas de absorción infrarroja característica de los grupos funcionales del PPy; sin embargo, se observó un incremento en la intensidad relativa de la señal a  $1563\text{ cm}^{-1}$  asociada al estiramiento del anillo de pirrol C=C respecto a la misma banda de la síntesis 1. Además, la intensidad entre las señales C=C y C=O se igualaron. El resto de las señales permanecieron en posiciones similares a las descritas para la síntesis con 100 mM de SDS.

Al incorporar Alg en la síntesis de PPy (Figura 28 (a)), además de las bandas características descritas para el PPy, se pueden observar algunos cambios en el espectro FT-IR atribuidos a la presencia del polisacárido. La banda ancha ubicada a  $3000\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a la vibración N-H del pirrol, muestra un ensanchamiento y desplazamiento a menor número de onda, respecto al espectro FT-IR de la síntesis 2, lo cual se atribuye a la presencia de los enlaces O-H presentes en carboxilos de los bloques G y M del Alg, que podrían estar interaccionando mediante puentes de hidrógeno con el PPy y generando estos desplazamientos. Por otra parte, la banda ubicada a  $1682\text{ cm}^{-1}$  asignada al enlace C=O incrementa su intensidad (respecto a la síntesis 2) lo que se asocia a la presencia del Alg, el cual presenta la vibración del enlace C=O.

En la Figura 28 (a) se muestra el espectro FT-IR al incorporar f-NTCPM a la síntesis de PPy. En este caso, el espectro es muy similar al descrito para la síntesis 2; sin embargo, se observa un pequeño incremento en la intensidad de la señal C=C a  $1561\text{ cm}^{-1}$ . El espectro del producto de la síntesis 5 (Figura 28 (a)), donde la polimerización se realizó en presencia de Alg y f-NTCPM presenta las bandas de absorción infrarroja del PPy. En este caso, hay un desplazamiento a menor energía del pico ubicado a  $1553\text{ cm}^{-1}$  (respecto al espectro FT-IR de la síntesis 4), y adicionalmente, la banda a  $1709\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al enlace C=O incrementa su intensidad relativa comparada con síntesis 4, lo que se atribuye a la presencia de los grupos COOH del Alg.

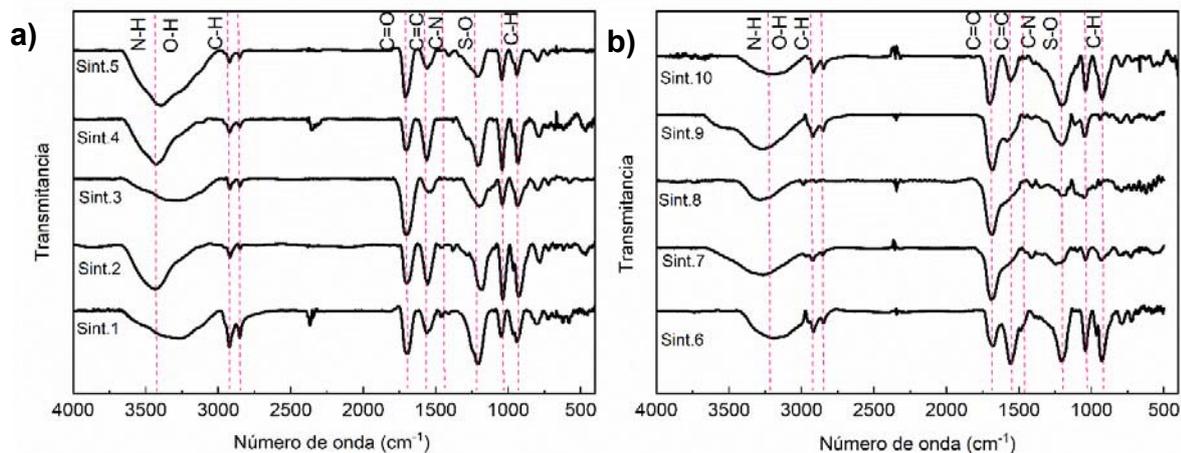


Figura 28. Espectros infrarrojo FT-IR para los productos de la síntesis de PPy a) síntesis.1 a la síntesis 5 y b) síntesis 6 a la síntesis 10

El espectro correspondiente a la síntesis 6 se muestra en la Figura 28 (b). Se observó que las bandas correspondientes a las vibraciones del enlace C=C, C-N y N-H/O-H muestran desplazamiento a menor energía, indicando que existen interacciones no covalentes entre el material carbonáceo prístino y el PPy. Por otro lado, las síntesis 7, 8, 9 y 10, en las cuales, se introdujo Alg y p-NTCPM, se observó que también exhiben desplazamientos hacia menor energía de las vibraciones del enlace C=C, C-N y N-H, derivado del establecimiento de interacciones no covalentes, incluyendo puentes de hidrógeno, entre los diferentes componentes de la polimerización. De manera general, la presencia del Alg en las síntesis, produce un incremento relativo de las señales de los grupos carboxílicos  $\sim 1670\text{ cm}^{-1}$  y los grupos hidroxilos  $\sim 3200\text{ cm}^{-1}$ , así como desplazamientos a menor número de onda más pronunciados.

### 5.1.5 Análisis composicional por XPS

La determinación de la composición semicuantitativa sobre la superficie de la muestra se realizó mediante espectrometría foto electrónica de rayos X (XPS), para las síntesis 2, 6, 7 y 10. El resumen de resultados se muestra en la Tabla 4. El alto contenido de oxígeno en todas las muestras se atribuye a la contribución de los grupos funcionales como  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{COOH}$  y  $\text{OH}$  de los materiales principales introducidos en la síntesis y posiblemente debido a una sobreoxidación de la cadena principal de PPy que típicamente ocurre por efecto oxidativo del peróxido de hidrógeno. Por otro lado, la presencia de un remanente de azufre en el análisis semicuantitativo confirma que algunas moléculas de SDS permanecen asociadas a las cadenas de PPy, probablemente como contraiones, ya que bajo las condiciones de pH en la polimerización los grupos sulfatos se encuentran totalmente ionizados con carga negativa ( $\text{pK}_a$  1.9).

Tabla 4. Composición atómica determinada por XPS para los productos de PPy.

Síntesis	Composición atómica (%)				Razón atómica S/N
	C	N	S	O	
2	73.92	6.48	2.21	17.03	0.34
6	69.34	14.35	0.75	15.57	0.05
7	71.62	8.50	1.05	18.33	0.12
10	71.95	9.16	1.49	17.40	0.16

Las nanoestructuras de PPy exhiben diferentes porcentajes de carbono, nitrógeno, azufre y oxígeno. El análisis de la relación atómica S/N para el producto de reacción 2 presentó la mayor relación atómica S/N; sin embargo, esta síntesis muestra un comportamiento aislante, indicando que el alto contenido del contraión con azufre no asegura un incremento en la conductividad eléctrica. La menor relación atómica S/N se obtuvo en la síntesis 6. Esta muestra contiene p-NTCPM,

que contribuyen con las propiedades eléctricas del material, con una transferencia de carga efectiva entre el material carbonáceo y los dominios del PPy. Los productos de la síntesis 7 y 10 muestran una relación atómica S/N similar con contenido mayor de azufre para la muestra sintetizada a temperatura baja.

El espectro de alta resolución a nivel núcleo se realizó para C1s y N1s de los productos de síntesis 2, 6, 7 y 10 (Figura 29). El pico del C1s para todas las muestras presenta 3 contribuciones principales; la señal centrada a ~284.5 eV relacionada con los enlaces C-C y C=C, el pico a ~286.1 eV asignado al enlace C-N /C-O y el tercer componente a ~287.9 eV atribuido al enlace C=O. El C1s para la síntesis 6 exhibe picos adicionales atribuidos señales a satélites, debido a las transiciones  $\pi - \pi^*$  entre los componentes aromáticos. En el caso del C1s para la síntesis 7 y 10, la señal C-C se divide en dos componentes adicionales correspondientes al carbono  $\alpha$  y  $\beta$ , posiblemente también existan por la contribución del polisacárido[120].

Por otra parte, el espectro N1s muestra tres contribuciones principales en todas las polimerizaciones analizadas. El componente de energía más bajo es atribuido al grupo imina (-N=), relacionado con defectos estructurales en la cadena de PPy que interrumpen la conjugación. Un contenido menor al 5% de imina fue encontrado para todas las síntesis analizadas, donde los valores más bajos se presentan en la síntesis 2 y en la síntesis 10. Por otro lado, la contribución centrada a 399.6 eV de más alta intensidad se relaciona con la amina neutra (-NH-) del anillo de pirrol, mientras el pico a mayor energía de enlace localizado a ~400 eV se atribuye a los átomos de nitrógeno cargados positivamente (N<sup>+</sup>), pertenecientes a la forma conductora de PPy[121].

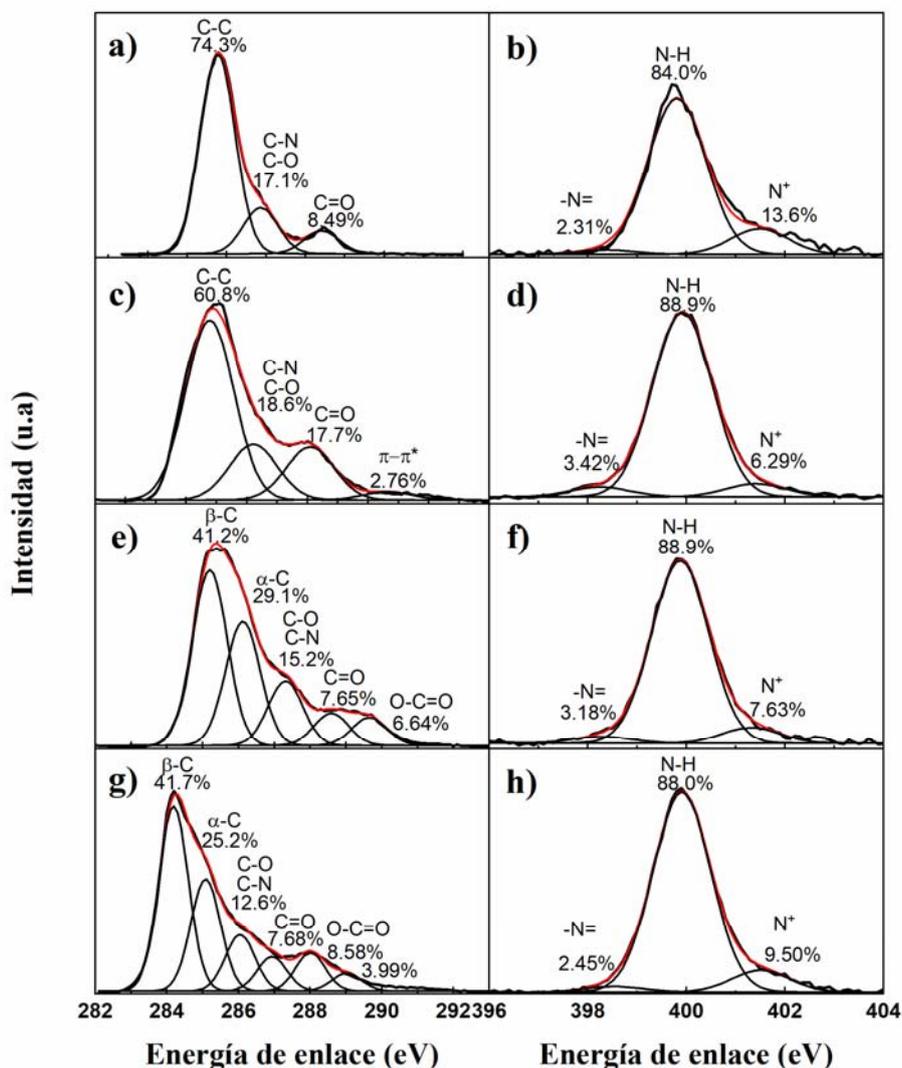


Figura 29. Espectros C1s y N1s nivel núcleo para los productos de las síntesis 2 (a y b), 6 (c y d), 7 (e y f) and 10 (g y h).

### 5.1.6 Propuesta del mecanismo de formación.

Trabajos previos reportados en la literatura han clarificado los mecanismos para la polimerización en emulsión de PPy en medio micelar con SDS[122]. Basado en nuestros resultados, se propone un mecanismo general para la formación del nanocomposito PPy-Alg-p-NTCPM en medio micelar, con SDS como surfactante mediada por el efecto oxidativo del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

El SDS provee los sitios de confinamiento para la nucleación. Las especies adicionales como alginato y p-NTCPM pueden promover interacciones con el PPy durante la reacción de polimerización.

Cuando la concentración del surfactante es de 5 mM, sus moléculas forman micelas con tamaños promedios de 3.13 y 107.3 nm tal como se muestra en la Figura 30 (a). Cuando el Py es añadido al medio micelar SDS, ocurre una variación de la dimensión y la distribución de tamaños de los agregados iniciales, lo que contribuye a la formación de las micelas cargadas de monómero de tamaños (53.39 nm) y gotas de monómero de mayor tamaño (205.4 nm) (Figura 30 (b)). No ocurren cambios significativos en el tamaño de los agregados más pequeños, probablemente se mantienen como agregados libres de monómero.

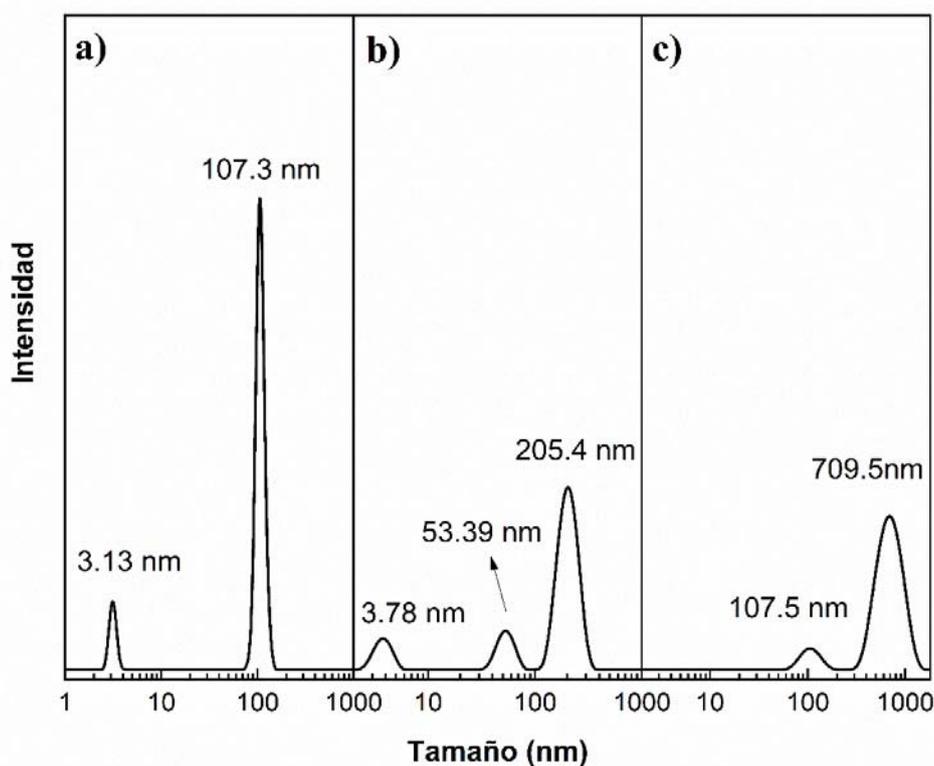


Figura 30. Distribución de tamaño por DLS. Las mediciones se realizaron bajo estas condiciones a) medio ácido + SDS, b) medio ácido + SDS + Py, y c) medio ácido + SDS + Py + Alg.

La adición de Alg perturba el comportamiento de agregación pirrol-SDS, incrementando las dimensiones de los agregados a una población bimodal de 107.5 nm y 709.5 nm y suprimiendo los agregados con tamaños menores a los 10 nm. Cabe mencionar que el polisacárido aniónico es capaz de mantenerse soluble en la fase acuosa, probablemente como un estabilizador en la fase continua vía puentes de hidrógeno[60].

Los p-NTCPM pueden estabilizarse en el medio de reacción mediante interacciones hidrofóbicas. Previos reportes muestran como las moléculas del surfactante típicamente son adsorbidas sobre la superficie hidrofóbica de los NTC, generando agregados (*templates*) donde se introducen las moléculas de pirrol. La asociación entre los NTC y el monómero está gobernada por interacciones no covalente tipo hidrofóbicas e interacciones  $\pi - \pi$ [61].

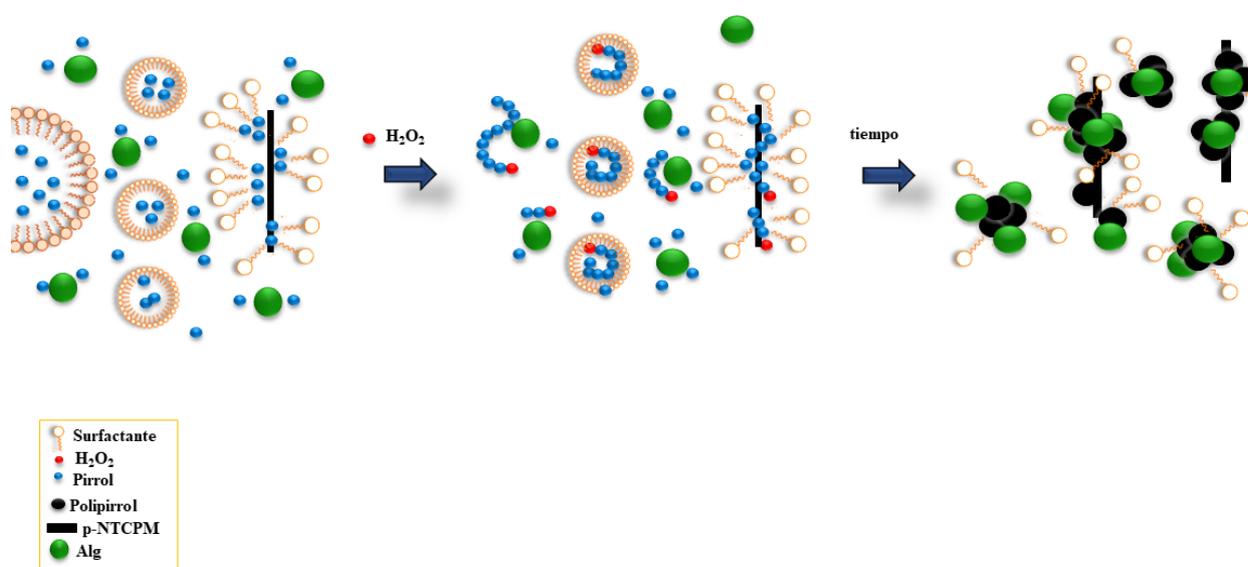


Figura 31. Mecanismo de formación de nanoestructuras de PPy y en presencia de p-NTCPM y Alg.

La polimerización es iniciada cuando el agente oxidante se añade a la reacción. En la síntesis, la concentración del surfactante 5 mM se encuentra sobre la CMC (2mM). No obstante es importante considerar que el surfactante puede

participar como estabilizador de micelas que contienen monómero y simultáneamente, es capaz de asociarse con el material carbonáceo que se caracteriza por tener una gran área superficial. Entonces, se considera que tanto la nucleación homogénea como la micelar pueden ocurrir simultáneamente.

Basado en el mecanismo micelar reportado, se considera que en la fase continua, los radicales libres del iniciador activen a una pequeña fracción de los monómeros disueltos en la fase acuosa formando radicales oligoméricos. Cuando los oligómeros alcanzan una longitud de cadena crítica, los radicales presentan una naturaleza más hidrofóbica y entran a las micelas de SDS y en los andamios SDS-NTC, originando, simultáneamente, las NPs esféricas de PPy y el decorado de NPs de PPy sobre la superficie del material carbonáceo. Este mecanismo, es congruente con la morfología observada en FE-SEM y AFM de los materiales nanocompuestos obtenidos. Una vez que el PPy está formado, las moléculas del Alg pueden asociándose con el PPy, probablemente participando como contraión de los dominios catiónicos del polímero, lo cual es consistente con el incremento del rendimiento másico de la reacción, así como con el aumento en el potencial zeta y los resultados del análisis XPS. Una representación de la distribución de las especies en el medio de reacción acorde al mecanismo general propuesto se muestra en la Figura 31.

Adicionalmente se considera que cierta proporción de las NPs de PPy pueden precipitar en la fase acuosa, adsorbiendo moléculas libres del surfactante o del polisacárido como contraiones, de acuerdo con incremento del potencial zeta de los coloides y el incremento de la carga superficial por la incorporación del Alg.

## 5.2 Hidrogeles electroconductores

### 5.2.1 Cinéticas de hinchamiento a pH 7.4.

Las propiedades de hinchamiento de los hidrogeles de Alg e hidrogeles compuestos de Alg, PPy nanoestructurado y metoprolol, fueron determinadas mediante el método gravimétrico a partir de los hidrogeles en estado relajado. Estos se incubaron en una solución de buffer trizma a pH 7.4 y se midió el cambio de masa

a diferentes intervalos de tiempo hasta llegar al equilibrio (Figura 32 y 33). En la Figura 32 (a) se muestra el porcentaje de hinchamiento con respecto al tiempo de los hidrogeles de Alg-metoprolol-polipirrol con relación molar gdl:Ca 1:1 (muestras HgAM 1:1, HgAMP20 1:1, HgAMP30 1:1, Tabla 1). Los hidrogeles presentan su equilibrio de hinchamiento a los 90 min posteriores a su incubación en la solución buffer, alcanzando el hidrogel sin PPy (HgAM 1:1) un hinchamiento máximo de 38%. Por otro lado, el hidrogel que contiene 20 mg de PPy nanoestructurado (HgAMP20 1:1) tuvo un hinchamiento del 38% idéntico al hidrogel HgAM 1:1, indicando que esta concentración del material electroconductor no interfiere con la reticulación del Alg y por ende, no modifica la cinética hinchamiento bajo las condiciones de análisis. En cambio, el hidrogel que contiene 30 mg del PPy nanocompuesto (HgAMP30 1:1) presentó un hinchamiento de 21% al llegar al equilibrio, disminuyendo 17% el porcentaje de hinchamiento al incorporar el PPy. Esto puede atribuirse a un reforzamiento en la estructura interna de la red tridimensional del hidrogel por la formación de interacciones no covalentes entre sus componentes tal como lo muestran Shin y col. [28] en su trabajo, donde al aumentar el contenido de NTC y PPy en hidrogeles de ácido hialurónico modificado con catecol se disminuyó la razón de hinchamiento debido a las interacciones que se generaron con la matriz, aumentando la densidad de entrecruzamiento.

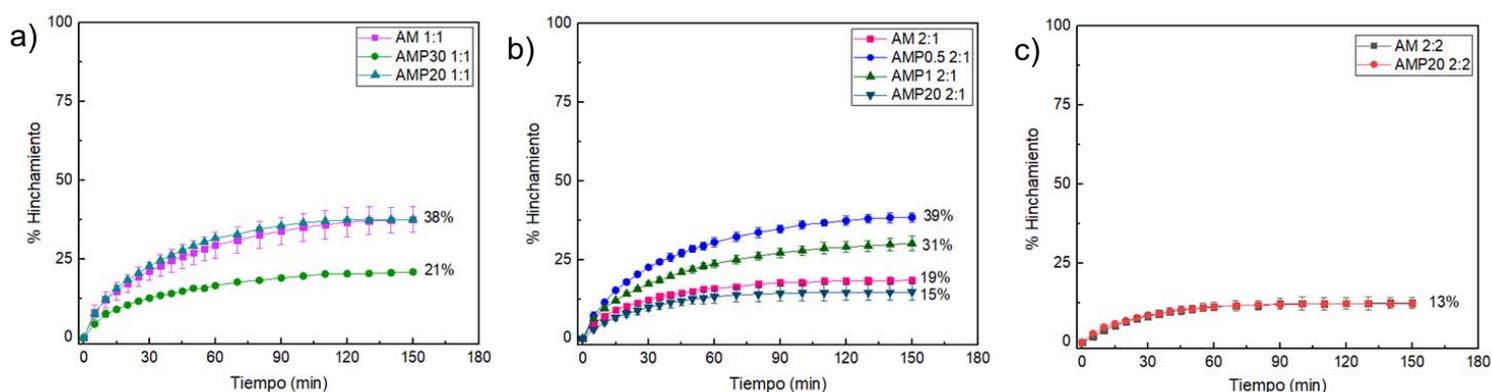


Figura 32. Cinéticas de hinchamiento para los diferentes tipos de hidrogeles preparados, a) HgAM 1:1, HgAMP20 1:1 y HgAMP30 1:1 y b) HgAM 2:1, HgAMP0.5 2:1, HgAMP1 2:1 y HgAMP20 2:1; c) HgAM 2:2 y HgAMP20 2:2, en buffer trizma pH 7.4, T=25°C.

En el caso de los hidrogeles con relación molar gdl: Ca 2:1 (Figura 32 (b)) el hidrogel HgAM 2:1 presentó un porcentaje de hinchamiento del 19%. Se observó que al añadir el material electroconductor en suspensión acuosa de 0.5 o 1.0 mL de los porcentajes de hinchamiento se incrementan a 31% y 39 %, respectivamente, en comparación con el hidrogel sin cargas. Este incremento en el porcentaje de hinchamiento se relaciona estrechamente con interacciones electrostáticas de repulsión debido a las cargas negativas presentes tanto en las nanoestructuras de PPy (Tabla 3) cuyo potencial zeta es -22 mV, como en los grupos carboxílicos desprotonados presentes en los bloques M y G del alginato que no interfieren en el entrecruzamiento a pH 7.4. Lo anterior, se correlaciona positivamente con el efecto de hinchamiento al incrementar el contenido de la suspensión de PPy. Sin embargo, se observó que al introducir las nanoestructuras de PPy en polvo después re-suspenderlas en solución acuosa, el comportamiento de hinchamiento es diferente al observado cuando se adicionaron las nanoestructuras electroconductoras directamente de la suspensión inicial. El porcentaje de hinchamiento para el HgAMP20 2:1 fue del 15%, esto se atribuye a que la presencia de aglomerados de las nanoestructuras de PPy influye en la reticulación del hidrogel y/o bien reforzando la red tridimensional del hidrogel.

Por otra parte, los hidrogeles Alg-metoprolol-polipirrol con relación gdl: Ca 2:2 (muestras HgAM 2:2 y HgAMP20 2:2, Tabla 1) mostraron una cinética de hinchamiento idéntica, en ambos casos se obtuvo un hinchamiento en el equilibrio del 13%, indicando que a mayor reticulación con los iones  $Ca^{2+}$  la adición de las nanoestructuras de PPy no influye en el proceso de absorción de solución buffer.

En la Figura 33 (a) se muestra la comparación de las cinéticas de hinchamiento de los hidrogeles de alginato con metoprolol a diferentes relaciones molares de gdl:Ca. Se observó que la relación molar gdl:Ca modifica el grado de entrecruzamiento, ya que la máxima capacidad de hinchamiento disminuye al incrementar la relación gdl:Ca; los porcentajes de hinchamiento fueron 38%, 15% y 13% para los hidrogeles HgAM 1:1, HgAM 2:1 y HgAM 2:2, respectivamente. Esto

se atribuye que al incrementar la relación molar de reticulantes, se genera una red tridimensional más densa, dando como resultado un tamaño de malla más bajo y produciendo un menor volumen libre lo cual limita la capacidad de absorción de fluido en la matriz del hidrogel[112].

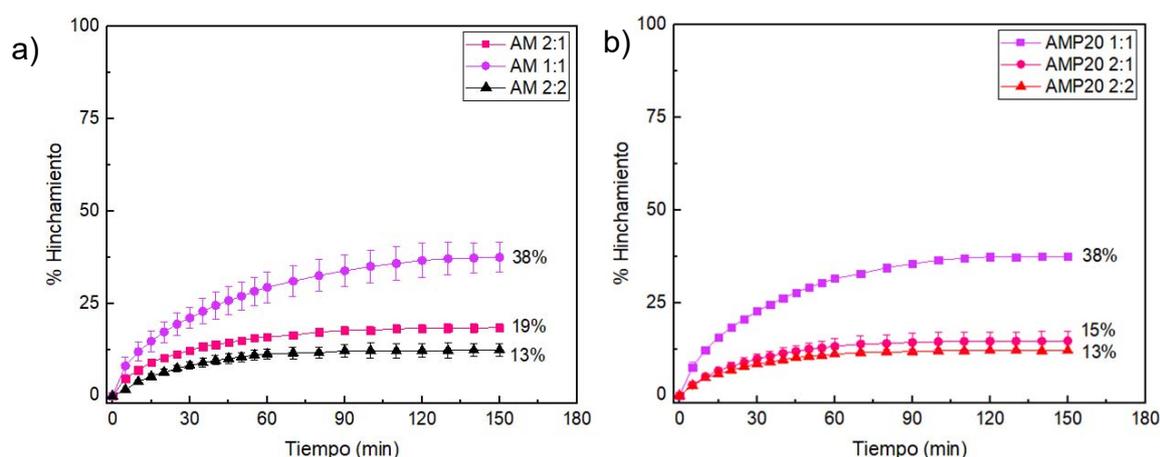


Figura 33. Cinéticas de hinchamiento de hidrogeles de Alg a) HgAM 1:1, HgAM 2: y HgAM 2:2 con diferente relación molar de gdl:Ca y b) HgAMP20 1:1, HgAMP20 2:1 y HgAMP20 2:2 diferente relación molar gdl:Ca y 20 mg de PPy nanoestructurado, obtenidas en buffer Trizma pH 7.4, T=25°C.

Por otra parte, al incorporar 20 mg de PPy nanoestructurado (Figura 33 (b)) en los hidrogeles de las diferentes relaciones molares de gdl: Ca, los porcentajes de hinchamiento en el equilibrio obtenidos fueron 38%, 19% y 13% para HgAMP20 1:1, HgAMP20 2:1 y HgAMP20 2:2, respectivamente. Se distingue una ligera disminución en el porcentaje de hinchamiento para la muestra HgAMP20 2:1 comparado con el comportamiento del hidrogel HgAM 2:1. Se considera que, la incorporación de 20 mg PPy no representa un efecto significativo sobre el porcentaje de hinchamiento en el equilibrio cuando la evaluación de las propiedades se hinchamiento se realizan a partir de hidrogeles en estado relajado.

### 5.2.2 Cinética de hinchamiento a pH 1.2.

Las propiedades de hinchamiento en medio ácido (pH 1.2) se evaluaron únicamente para los hidrogeles compuestos con relación molar gdl: Ca 2:1 (con

excepción del hidrogel HgAMP20 2:1) desde el estado relajado. En la Figura 34, se muestra el comportamiento de los hidrogeles 2:1 con respecto al tiempo al ser incubados en solución ácida, observándose una desorción del fluido contenido. Todos los hidrogeles mostraron el efecto de contracción en medio ácido, como resultado de la inhibición de los efectos electrostáticos causados por las cargas en los grupos carboxílicos en la red 3D del hidrogel, ya que los grupos carboxílicos del bloque G como el bloque M en la matriz de alginato se protonan en medio ácido, según sus valores de pKa (3.38 y 3.65, para el bloque M y G, respectivamente). Adicionalmente, se observó que los diferentes hidrogeles presentaron un comportamiento idéntico, es decir, todos los hidrogeles se contraen en proporción similar bajo las condiciones evaluadas, por lo que se considera que este comportamiento es influenciado únicamente por las propiedades de su matriz.

En la Figura 35 se muestran las fotografías de los hidrogeles antes de incurvarse en medio ácido y después de que llegan al equilibrio. Se observa claramente, la disminución en el tamaño del hidrogel.

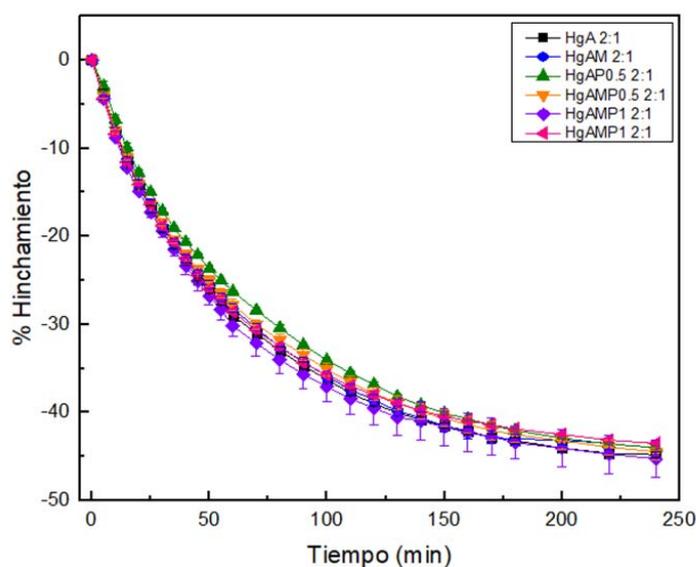


Figura 34. Cinéticas de hinchamiento en medio ácido (HCl pH 1.2, T=25°C) hidrogeles HgA 2:1, HgAM 2:1, HgAP0.5 2:1, HgAMP0.5 2:1, HgAMP1 2:1, HgAMP1 2:1 con relación molar gdl: Ca 2:1.

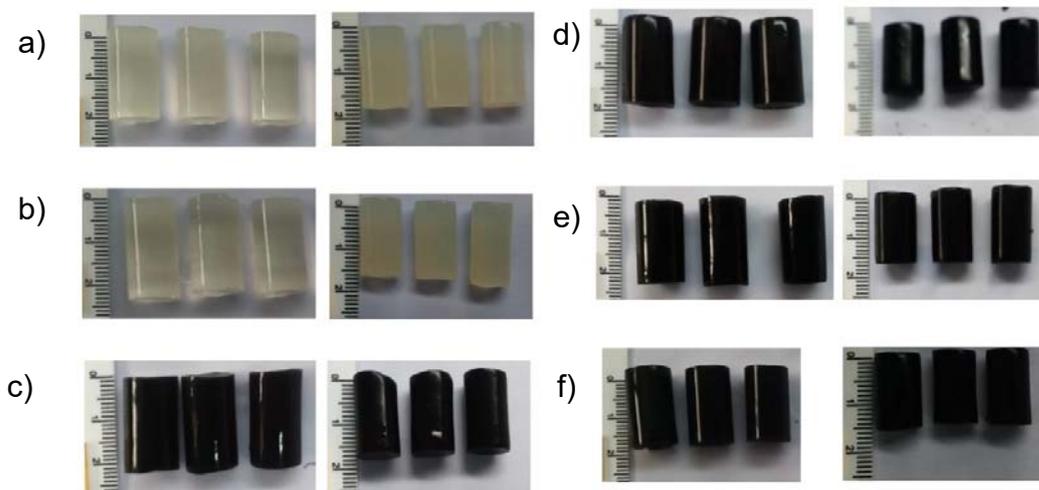


Figura 35. Fotografías de las cinéticas de hinchamiento en medio ácido (HCl pH 1.2, T=25°C) para los hidrogeles a) HgA 2:1, b) HgAM 2:1, c) HgAP0.5 2:1, d) HgAP1 2:1, e) HgAMP0.5 2:1 y HgAM1 2:1.

### 5.2.3 Morfología

En la Figura 36 se muestran las micrografías SEM obtenidas de la sección transversal para los hidrogeles compuestos de alginato, PPy y metoprolol con relación molar gdl: Ca 2:1 secados mediante liofilización. Las imágenes SEM muestran estructuras microporosas interconectadas en todos los hidrogeles analizados. En los hidrogeles compuestos compuestos es posible distinguir puntos brillantes que se atribuyen a la presencia de las nanoestructuras de PPy.

Para confirmar la presencia y distribución del material electroconductor dentro de la matriz del hidrogel se realizó un corte de la sección transversal del hidrogel HgAMP1 2:1 utilizando la técnica de ultramicrotomía. Posteriormente, los cortes fueron observados mediante TEM. En la Figura 37 se muestra las micrografías TEM donde es posible observar tanto las nanoestructuras de PPy como los NTC distribuidos uniformemente en la matriz. En el inciso (f) se muestra la micrografía STEM para el PPy (síntesis 10) utilizado en la preparación de los hidrogeles.

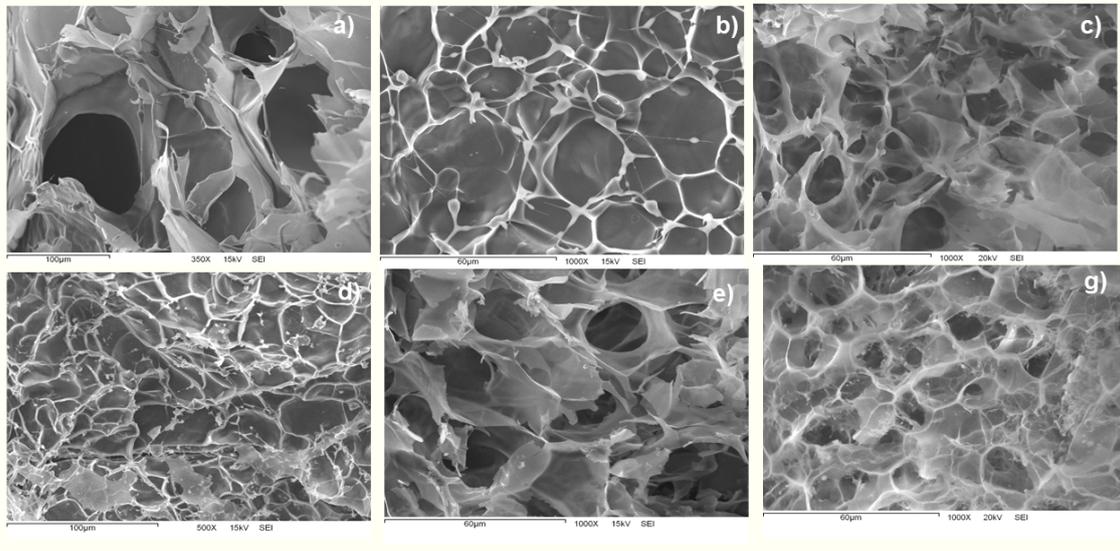


Figura 36. Micrografías SEM para los diferentes hidrogeles compuestos a) HgA 2:1, b) HgAM 2:1, c) HgAP0.5 2:1, d) HgAP1 2:1, e) HgAMP0.5 2:1 y g) HgAMP1 2:1.

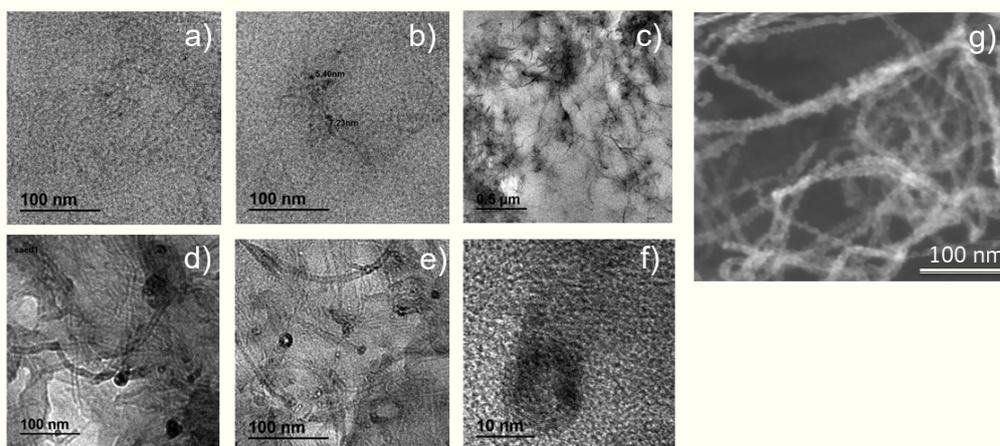


Figura 37. a-f) Micrografías TEM para el hidrogel HgAMP1 2:1 y g) micrografía STEM para la síntesis de PPy #10.

### 5.2.3 Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier.

En la Figura 38 se muestran los espectros FT-IR para los hidrogeles HgAM 1:1, HgAM20 1:1 y HgAMP30 1:1. Se observan las bandas de absorción infrarroja características del Alg, las cuales fueron descritas en la sección 5.1.4 (Figura 27 (c)). Distintivamente, se observa que la banda O-H ubicada a  $3434\text{ cm}^{-1}$  en el

espectro del hidrogel HgAM 1:1 muestra un desplazamiento a menor número de onda al incrementar el contenido de PPy, quedando centrada a  $3424\text{ cm}^{-1}$  y  $3355\text{ cm}^{-1}$ , para los hidrogeles HgAM20 1:1 y el HgAM30 1:1, respectivamente. Este desplazamiento se atribuye a la formación de interacciones tipo puente de hidrogeno entre la matriz del Alg y PPy, que se hace más significativa al incrementar el contenido de PPy en el hidrogel. Además, la vibración del enlace C=O también presenta un desplazamiento a menor energía observándose a  $1614$ ,  $1601$  y  $1603\text{ cm}^{-1}$  para los hidrogeles HgAM 1:1, HgAMP20 1:1 y HgAMP30 1:1, respectivamente.

Por otra parte, es posible observar algunas bandas de absorción asignadas al metoprolol tartrato incorporado en el hidrogel (líneas marcadas en azul). La banda ubicada a  $1500\text{ cm}^{-1}$  se atribuye a los grupos carboxílicos presentes en el metoprolol tartrato y la banda ubicada a  $1200\text{ cm}^{-1}$  se relaciona al grupo alquil éter presente en el fármaco.

Las bandas centradas a  $1400\text{ cm}^{-1}$  que se relacionan con el estiramiento  $\text{COO}^-$  del grupo presente en el Alg, presentan un ensanchamiento debido al traslape con la banda de vibración C-N del PPy que se ubica en este número de onda. Los resultados de la espectroscopía FT-IR confirmaron la incorporación del polímero electroconductor y el fármaco dentro de la matriz tridimensional del hidrogel cuando se usó la relación molar gdl:Ca 1:1.

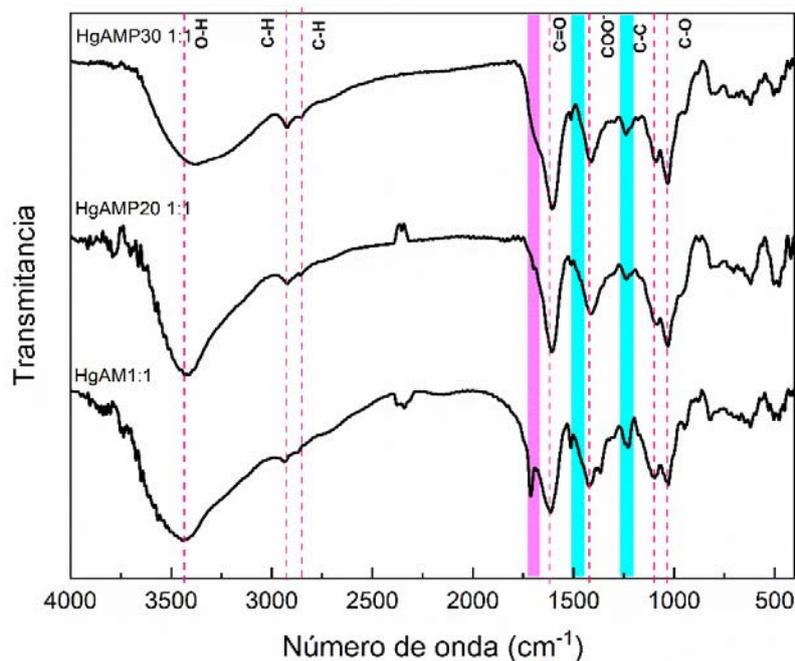


Figura 38. Espectros FT-IR para los hidrogeles HgAM 1:1, HgAMP20 1:1 y HgAMP30 1:1.

En la Figura 39 se muestran los espectros FTIR para los hidrogeles de Alg e hidrogeles compuestos Alg-metoprolol-polipirrol con relación molar gdl:Ca 2:1. Todos los hidrogeles muestran las bandas de absorción infrarroja características del Alg. Además, se observa desplazamiento a menor número de onda tanto de las bandas de las vibraciones O-H como del enlace C=O con respecto a sus posiciones en el hidrogel de solo Alg, lo que se atribuye a las interacciones que existen entre los componentes del hidrogel. Por otra parte, se observa la aparición de una pequeña banda ubicada entre 1770-1740 cm<sup>-1</sup>, la cual se atribuye a la vibración C=O del PPy. Adicionalmente, es posible observar un ensanchamiento en la banda ubicada a 1400 cm<sup>-1</sup> que se atribuye a la superposición de las señales del grupo C-N del PPy y a la vibración asimétrica del grupo COO<sup>-</sup> del Alg. Se observaron las bandas de metoprolol centradas a 1200 y 1500 cm<sup>-1</sup> descritas anteriormente, confirmando la presencia de PPy y metoprolol dentro de la matriz del hidrogel, así como la formación de interacciones no covalentes entre los componentes del hidrogel electroconductor.

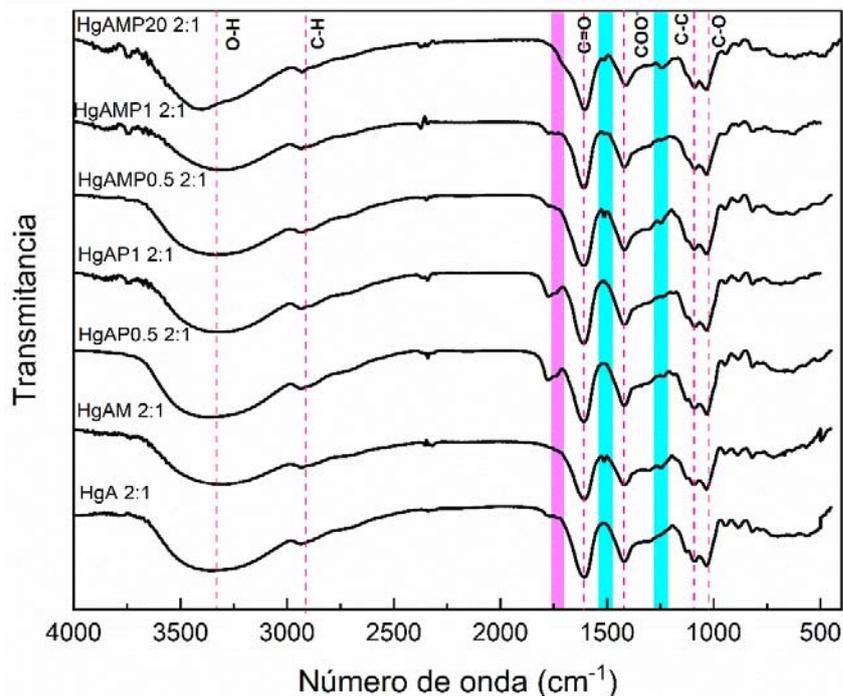


Figura 39. Espectros FT-IR para los hidrogeles HgA 2:1, HgAM 2:1, HgAP0.5 2:1, HgAP1 2:1, HgAMP0.5 2:1, HgAMP1 2:1 y HgAMP20 2:1 con relación molar gdl:Ca 2:1.

En la Figura 40 se muestran los espectros FTIR para los hidrogeles HgAM 2:2 y HgAMP20 2:2. Se observó la aparición de las bandas típicas de la matriz de Alg. Así como, la aparición de una pequeña banda ubicada a  $1709\text{ cm}^{-1}$  correlacionada con la sobre-oxidación del PPy y la presencia de grupos carboxílicos. Por otra parte, se observa el desplazamiento a menor número de onda de las señales de los enlaces O-H y C=O, de  $3410\text{ cm}^{-1}$  a  $3400\text{ cm}^{-1}$  y  $1618$  a  $1600\text{ cm}^{-1}$ , para los hidrogeles HgAM 2:2 y HgAMP202:2, respectivamente. Se distinguen también, las bandas ubicadas a  $1200$  y  $1500\text{ cm}^{-1}$  características de metoprolol tartrato.

Tal como en los casos anteriores, los resultados confirmaron la presencia del PPy y el fármaco dentro de la matriz y la existencia de interacciones no covalentes entre los componentes del hidrogel.

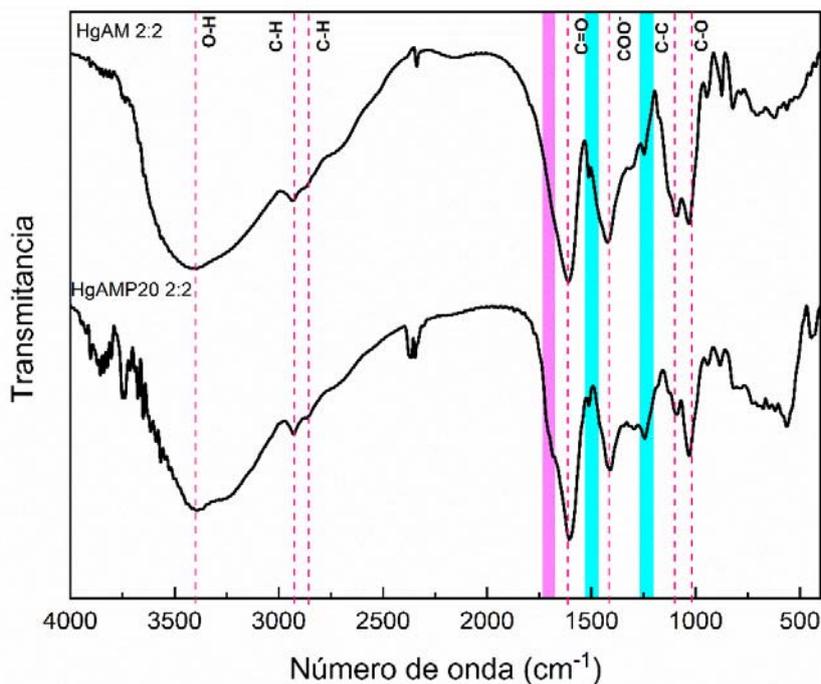


Figura 40. Espectros FT-IR para los hidrogeles HgAM 2:2 y HgAMP20 2:2 con relación molar gdl:Ca 2:2.

#### 5.2.4 Análisis termogravimétrico.

Las propiedades térmicas de los materiales utilizados para la síntesis de los hidrogeles fueron analizadas y se describen a continuación. En la Figura 41 se muestra la gráfica de pérdida de peso vs la temperatura para el Alg. La primera etapa a 40-120°C con una pérdida de peso del 9.38% se atribuye a la evaporación y deshidratación del agua adsorbida en la superficie del material. Una segunda etapa con una pérdida del 46.73% en peso en el rango de temperatura de 220-250°C se debe a un proceso complejo de degradación que involucra la ruptura del enlace glucosídico C-O-C y grupos carboxílicos[123]. Las pérdidas de peso a temperaturas mayores a los 400°C se atribuyen a la completa degradación de las cadenas de Alg[124] formado  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  y un material carbonáceo que se descompone lentamente a temperaturas superiores a los 600°C[125].

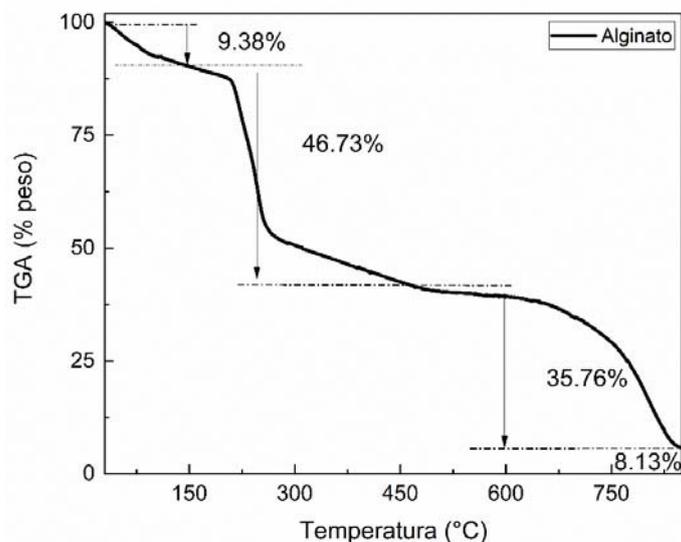


Figura 41. Análisis termogravimétrico para el alginato de sodio.

En la Figura 42 se muestra el termograma para el metoprolol tartrato. Este presenta una etapa de degradación con una pérdida de peso del 89.0% la cual se asigna a la descomposición del metoprolol formando un residuo de carbono el cual de degrada a temperaturas superiores a los 400°C [126].

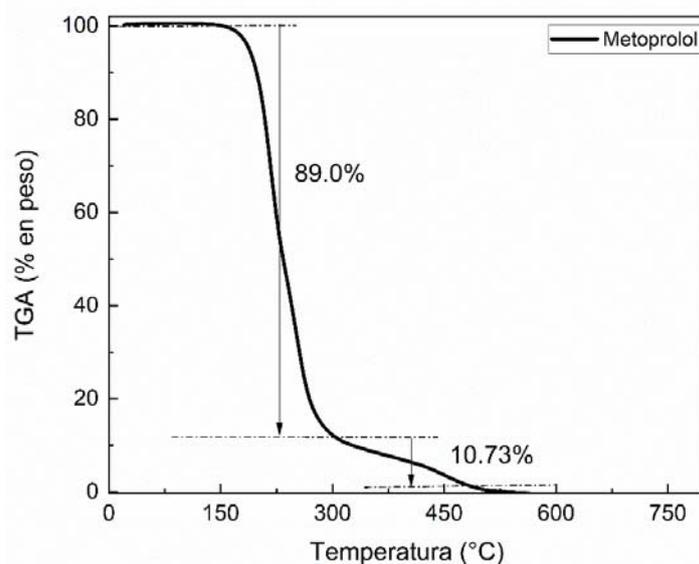


Figura 42. Análisis termogravimétrico para el metoprolol tartrato.

En la Figura 43 se muestra el termograma para el  $\text{CaCO}_3$ . El  $\text{CaCO}_3$  presenta una sola etapa de degradación a  $730^\circ\text{C}$  con una pérdida de peso del 43%. Durante este proceso el  $\text{CaCO}_3$  se transforma a  $\text{CaO}$  (reacción de calcinación) dando como resultado un residuo del 57% [127], [128].

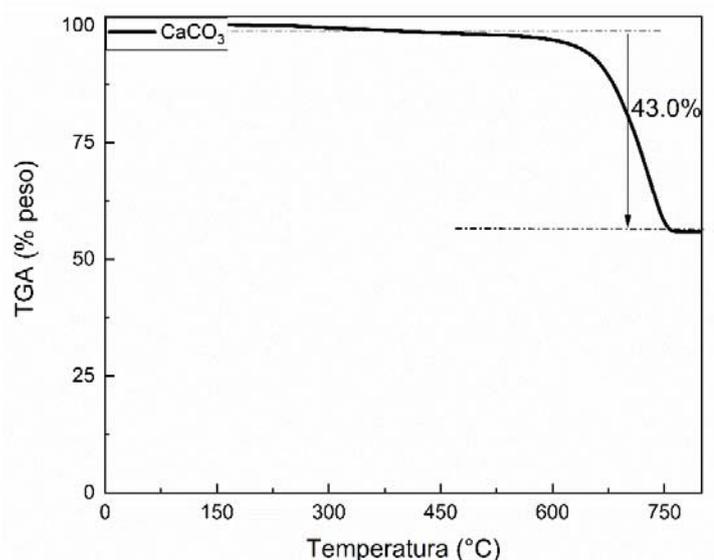


Figura 43. Análisis termogravimétrico para el  $\text{CaCO}_3$ .

La estabilidad térmica para los diferentes hidrogeles de Alg e hidrogeles compuestos, se evaluó en un rango de temperatura desde  $30$  hasta  $900^\circ\text{C}$ . En la Figura 44 se muestran los termogramas para los hidrogeles HgAM 1:1, HgAMP20 1:1 y HgAMP30 1:1. La degradación de los hidrogeles se lleva a cabo en tres etapas, la primera etapa se relaciona con la pérdida del agua adsorbida en la superficie de los hidrogeles, una segunda etapa en el intervalo de  $250$ - $280^\circ\text{C}$  esta asociada con la degradación del Alg provocando la pérdida de la estructura 3D del hidrogel, temperaturas superiores a los  $400^\circ\text{C}$  se atribuyen a descomposición de las cadenas del Alg. Se observa que las etapas de degradación para los hidrogeles de Alg son muy similares a las etapas de degradación de los hidrogeles de Alg compuestos, por lo que la presencia de las nanoestructuras de PPy no modifican las propiedades térmicas de los hidrogeles de Alg en la relación molar gdl:Ca 1:1.

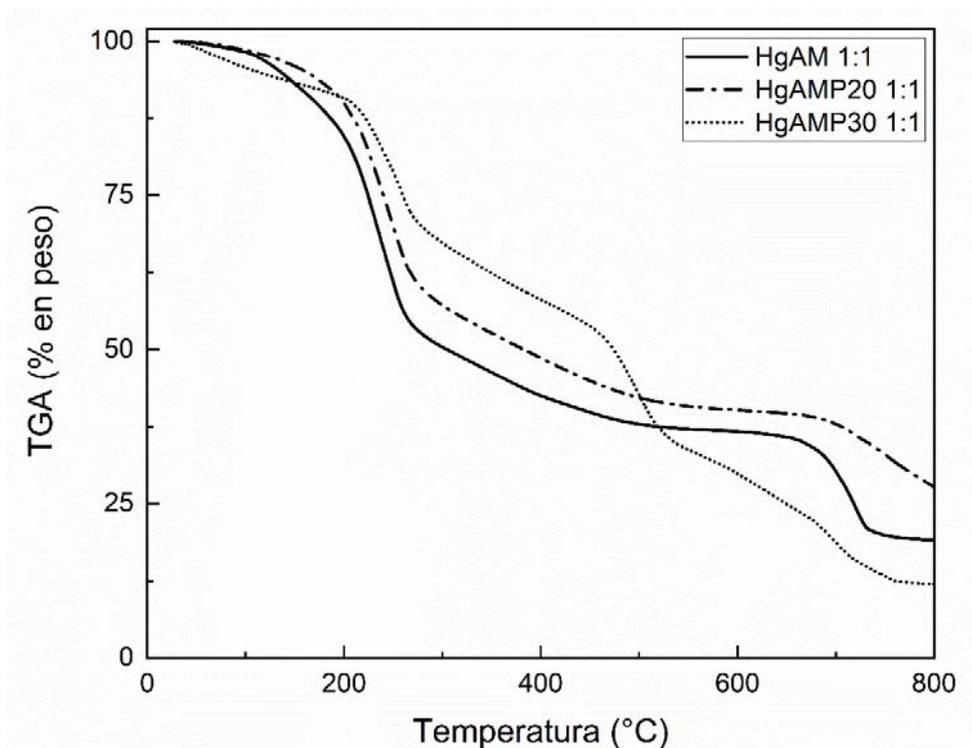


Figura 44. Análisis termogravimétrico para los hidrogeles HgAM 1:1, HgAMP20 1:1 y HgAMP30 1:1.

En la Figura 45 se muestran los termogramas para los hidrogeles de Alg y sus derivados compuestos con relación molar gdl:Ca 2:1. Es posible observar perfiles de degradación similares entre los diferentes hidrogeles, la degradación se lleva a cabo en tres etapas. La primera etapa se atribuye a la pérdida de peso debido a la evaporación y deshidratación del agua adsorbida sobre la superficie del hidrogel posterior al proceso de secado con una pérdida de peso aproximadamente del 10%. Todas las muestras exhiben una segunda pérdida considerable de peso en el intervalo 240-280 °C, la cual es típica de los polisacáridos y también, se relaciona con el cambio de la estructura reticulada del hidrogel. Pérdidas de peso mayores a los 400°C se atribuyen a la descomposición térmica de las cadenas de Alg[124]. En general, se observaron tendencias de degradación térmica de los hidrogeles compuestos muy similares al hidrogel de Alg, indicando que la incorporación del PPy nanoestructurado y del metoprolol presentan una influencia limitada sobre la estabilidad térmica del hidrogel compuesto.

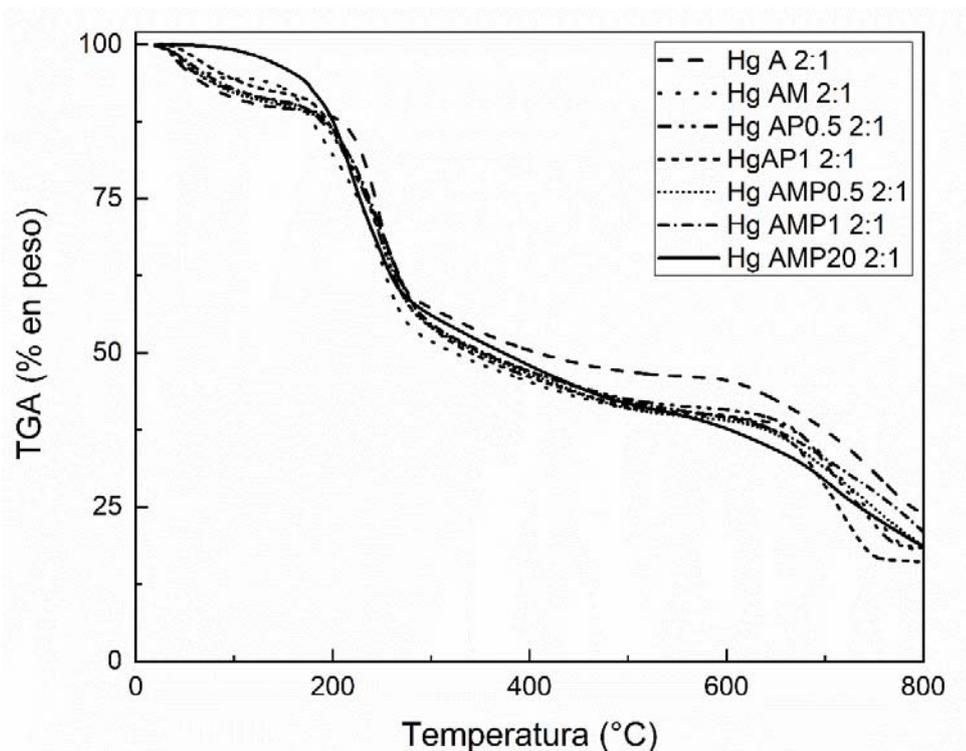


Figura 45. Análisis termogravimétrico para los hidrogeles HgA 2:1, HgAM 2:1, HgAP0.5 2:1, HGAP1 2:1, HgAMP0.5 2:1, HgAMP1 2:1 y HgAMP20 2:1.

La Figura 46 se muestran los termogramas para los hidrogeles de Alg e hidrogel alginato-metoprolol-polipirrol con relación molar gdl:Ca 2:2. Se observa una tendencia de degradación similar a las descritas anteriormente; sin embargo, para el hidrogel HgAMP20 2:2, se detecta la aparición de una tercera etapa de degradación, la cual se atribuye al incremento en la concentración de Ca.

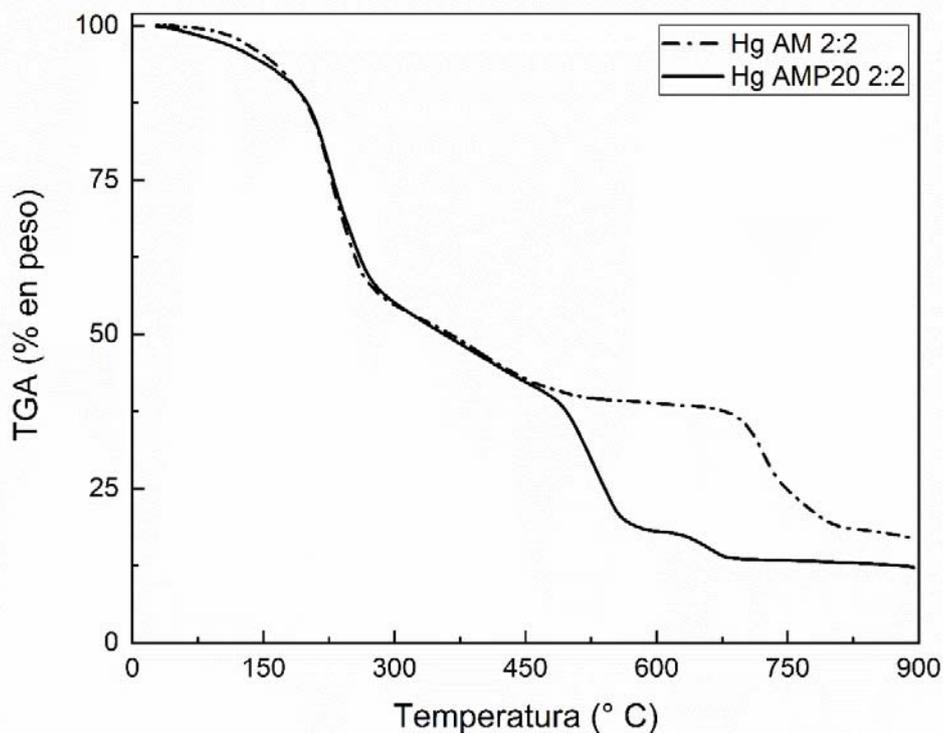


Figura 46. Análisis termogravimétrico para los hidrogeles HgAM 2:2 y HgAMP20 2:2.

#### 5.2.5 Propiedades mecánicas de los hidrogeles.

En la Tabla 4 se resumen las propiedades mecánicas de compresión; esfuerzo a la fractura, deformación a la fractura y módulo elástico para los diferentes hidrogeles de Alg. Se observó un incremento en el módulo elástico al modificar la relación molar gdl:Ca, siendo  $7.70 \pm 0.53$ ,  $11.76 \pm 4.55$  y  $15.18 \pm 4.07$  KPa para HgAM 1:1, HgAM 2:1 y HgAM 2:1, respectivamente. Este comportamiento, es típico al incrementar la densidad de entrecruzamiento la cual refuerza la estructura 3D del hidrogel. Un incremento en el módulo elástico también se obtuvo en los hidrogeles con 20 mg de las nanoestructuras de PPy y metoprolol, al aumentar relación molar de gdl:Ca indicando un reforzamiento en la red 3D del hidrogel.

En los hidrogeles de Alg con relación molar gdl : Ca 1:1 se observa una ligera disminución en el módulo elástico, esfuerzo a la fractura y la deformación máxima al introducir PPy nanoestructurado al hidrogel. Esto se puede atribuir a que al

incrementar el contenido de PPy, debido a su naturaleza hidrofóbica, este puede producir una red mas densa con pequeñas agregaciones dentro de la matriz, modificando la homegenidad de la red interna del hidrogel y debilitando levemente sus propiedades mecánicas[129].

Los hidrogeles de Alg con relacion molar gdl:Ca 2:1, las propiedades mecánicas variaron en función del componente ( PPy en suspensión, metoprolol o PPy polvo suspendido en solución acuosa). En las muestras HgA 2:1 y el HgAM 2:1, las propiedades mecánicas fueron muy similares para ambos casos, indicando que la presencia unicamente del fármaco no interfiere con las propiedades mecánicas del hidrogel. Sin embargo, al introducir 0.5 o 1.0 mL de la suspensión de PPy, el módulo elástico incrementa al doble  $23.78 \pm 3.64$  y  $24.22 \pm 3.24$  KPa (HgAP0.5 2:1 y HgAP1 2:1, respectivamente) comparado con el hidrogel sin PPy ( $11.64 \pm 6.11$  KPa), indicando que la presencia del polímero electroconductor en suspensión refuerza la red tridimensional, considerando que el esfuerzo máximo a la fractura también se incrementó al doble. En cambio, cuando se introdujo al sistema compuesto el fármaco, las propiedades mecánicas disminuyeron. Los módulos elásticos fueron  $15.62 \pm 2.15$ ,  $10.22 \pm 4.22$  y  $8.25 \pm 1.22$  KPa para los HgAMP0.5 2:1, HgAMP1 2:1 y HgAMP20 2:1, respectivamente. La incorporación del fármaco produce cambios en las interacciones no covalentes del material, modificando la estructura interna del hidrogel.

Por otra parte, al evaluar mecánicamente el hidrogel con mayor contenido de entrecruzante se observaron características diferentes a las descritas anteriormente. En este caso, la introducción del PPy nanoestructurado mejora la resistencia mecánica del hidrogel, bajo estas condiciones el tamaño nanométrico del PPy y la matriz reticulada de alginato convergen en un mejoramiento del módulo elástico.

Tabla 5. Propiedades mecánicas de compresión para los hidrogeles.

Hidrogel	Resultados			
	Relación molar gdl:ca	Esfuerzo a la fractura (kPa)	Deformación a la Fractura (%)	Módulo elástico (kPa)
HgAM	1:1	22.80±0.95	46±4.50	7.70±0.53
HgAMP20	1:1	7.70±1.22	40±0.5	5.65±0.92
HgAMP30	1:1	5.65±3.23	35±1.5	6.39±2.28
HgA	2:1	31.13±13.26	47±1.22	11.64±6.11
HgAM	2:1	37.04±12.53	48±1.49	11.76±4.55
HgAP0.5	2:1	64.27±9.11	49±2.04	23.78±3.64
HgAP1	2:1	58.88±1.62	47±2.54	24.22±3.24
HgAMP0.5	2:1	38.18±5.26	47±2.77	15.62±2.15
HgAMP1	2:1	34.04±8.06	48±2.36	10.22±4.22
HgAMP20	2:1	25.50±1.41	47±0.1	8.25±1.22
HgAM	2:2	48.67±9.69	47±2.0	15.18±4.07
HgAMP20	2:2	48.38±12.14	45±3.59	28.51±2.54

### 5.3 Cinética de liberación de metoprolol *in vitro*.

Metoprolol fue elegido como fármaco modelo para los estudiar el comportamiento de liberación a partir de los hidrogeles de Alg en combinación con las nanoestructuras de PPy. En la tabla 6 se resume el porcentaje de liberación de metoprolol en el equilibrio para los hidrogeles con relación molar gdl:Ca 1:1. Bajo condiciones pasivas (0V) y bajo la aplicación potenciales catódicos (-5V).

El máximo % de liberación de metoprolol bajo condiciones pasivas, se obtuvo a las 6h para todos los hidrogeles sin cambios significativos de concentración del fármaco posteriores a este periodo de tiempo. El % de fármaco en el equilibrio durante la liberación espontánea (0V) fue mayor para el hidrogel de Alg sin PPy

(56%), seguido por el hidrogel que contiene 20 mg de PPy (49%) y finalmente el hidrogel con 30 mg de PPy (39%). Esta tendencia se relaciona con la incorporación de las nanoestructuras de PPy en la estructura 3D del hidrogel y la posibilidad que tiene el fármaco de establecer interacciones no covalentes adicionales con el sistema conductor, lo que puede generar una mayor retención del fármaco en el hidrogel.

Tabla 6. Liberación a partir de los hidrogeles con relación gdl: Ca 1:1.

Hidrogel	Condiciones y resultados			
	Voltaje	% de metoprolol liberado por difusión	% de metoprolol liberado I	% de metoprolol liberado II
HgAM 1:1	0V	56%	---	---
HgAM 1:1	-5V	---	62%	71%
HgAM20 1:1	0V	42%	---	---
HgAM20 1:1	-5V	---	48%	68%
HgAM30 1:1	0V	39%	---	---
HgAM30 1:1	-5V	---	42%	47%

- I. Porcentaje de liberación en el equilibrio bajo la aplicación de un estímulo eléctrico.
- II. Porcentaje de liberación en el equilibrio tras la aplicación de un segundo estímulo eléctrico.

En la Figura 47 se muestra el porcentaje de liberación de metoprolol respecto al tiempo para el hidrogel HgAM 1:1 a 0V y -5V. Se observa que tras la aplicación de un primer pulso eléctrico al inicio de la liberación, el porcentaje de liberación en el equilibrio incrementó 6% respecto a la liberación espontánea. Sin embargo, al aplicar un segundo pulso eléctrico, el porcentaje de liberación en el equilibrio incrementó 9% con respecto al obtenido después del primer pulso; obteniendo un ascenso del 15% de liberación de metoprolol tras la aplicación de un voltaje eléctrico pulsado respecto a la liberación estudiada a 0V. Se ha reportado que la aplicación

de un voltaje catódico a una matriz 3D de alginato produce un incremento del tamaño de malla del hidrogel provocado por la repulsión electrostática de los grupos carboxílicos presentes en los bloques M y G, y, por consiguiente, favorece la difusión del fármaco aumentando el porcentaje de liberación[130]. Incrementos en el tamaño de malla del hidrogel bajo la aplicación de un potencial eléctrico se han reportado para matrices de biopolímeros cargadas negativamente con polímeros electroconductores, como por ejemplo hidrogeles de carragenina:Politiofeno[131] y Peptina: poli(3-metoxidifenilamina)[132], donde la aplicación de una diferencia de potencial (negativa) se asocia con el incremento en la liberación del fármaco.

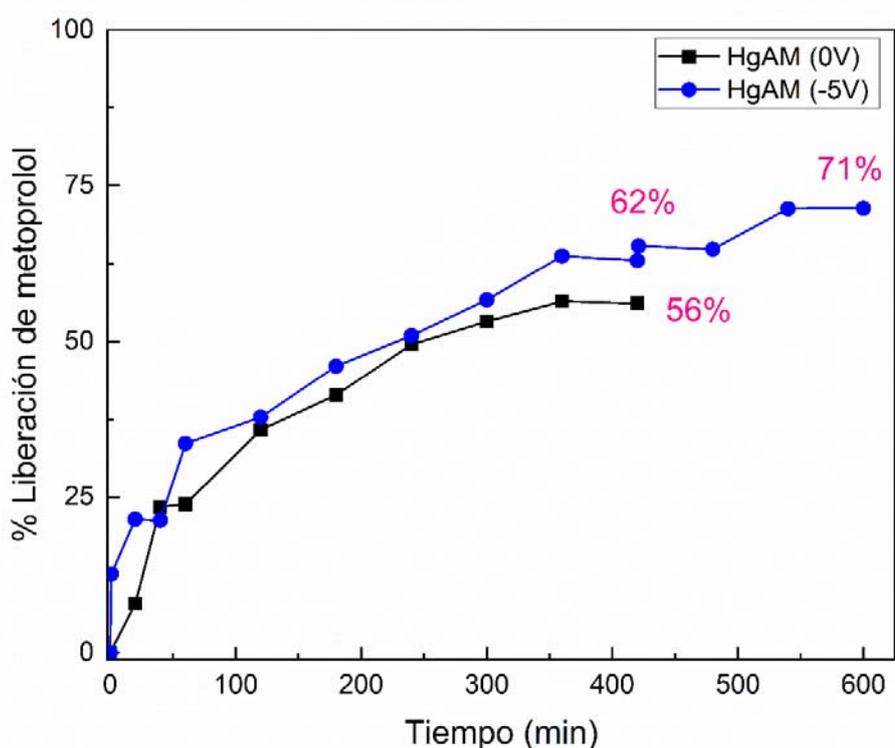


Figura 47. Cinética de liberación de metoprolol a partir del hidrogel HgAM 1:1 a 0V y -5V (25°C y buffer trizma pH =7.4).

La cinética de liberación del hidrogel con HgAMP20 1:1 (Figura 48) se vio favorecida por la aplicación de dos potenciales eléctricos (uno al inicio de la liberación y un segundo pulso después de 6 h, tras haber llegado al equilibrio) incrementando un 26% el porcentaje de liberación de metoprolol respecto al hidrogel

HgAMP20 1:1 a 0V. Este incremento en el porcentaje de liberación de metoprolol por la aplicación de un estímulo eléctrico es mayor al obtenido en el hidrogel sin PPy y se atribuye a: 1) la propiedad electroactiva del PPy, el cual al someterse a un potencial eléctrico catódico (negativo) se reduce, provocando cambios de volumen (contracción) en su estructura interna y la expulsión de los iones dopantes hacia el medio de liberación, así como su interacción con las especies presentes, lo que influencia sinérgicamente la difusión del fármaco al medio de liberación y 2) el incremento en el tamaño de malla del alginato por efectos electrostáticos tras la aplicación de un voltaje, explicado anteriormente en el comportamiento de la muestra HgAM 1:1.

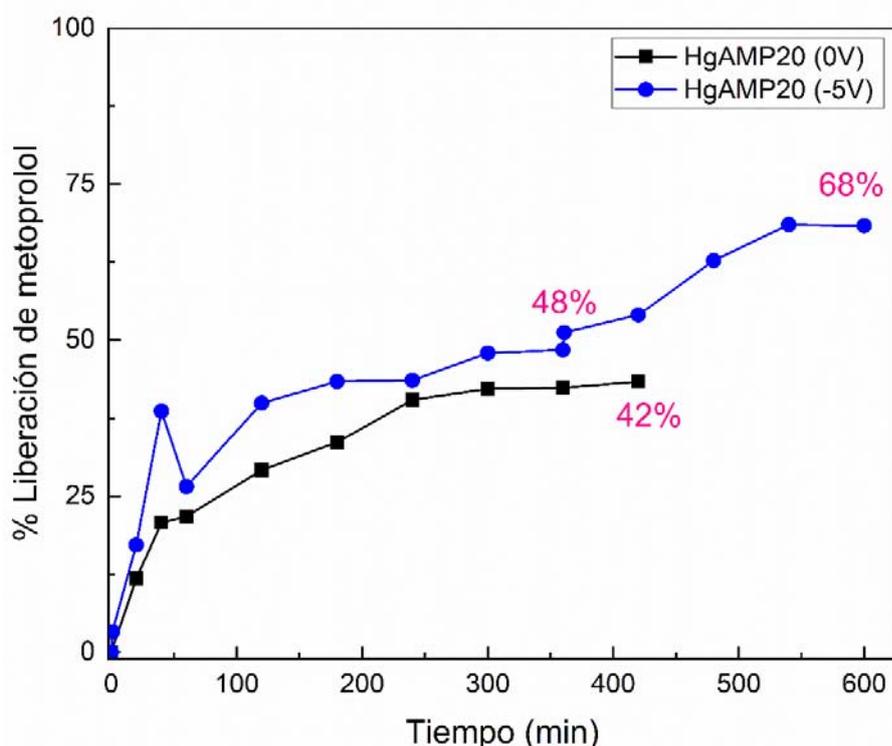


Figura 48. Cinética de liberación de metoprolol a partir del hidrogel HgAMP20 1:1 a 0V y -5V (25°C y buffer trizma pH= 7.4).

Contrario a lo esperado, al introducir mayor cantidad de material conductor dentro de la red tridimensional HgAMP30 1:1 (Figura 49), solo se logró tener un incremento del 8% respecto a la cinética de liberación sin la aplicación de un pulso

eléctrico. Esto se puede atribuir a : 1) una fuerte interacción no covalente entre la nanoestructura de PPy y el fármaco al incrementar el contenido del polímero conductor y 2) a la formación de agregados internos del PPy debido a su naturaleza hidrofóbica, donde la distribución no homogénea de los CPs dentro de matrices de hidrogeles puede inducir a la reducción de la movilidad electrónica disminuyendo las propiedades eléctricas del PPy[133], retrasando el transporte de moléculas.

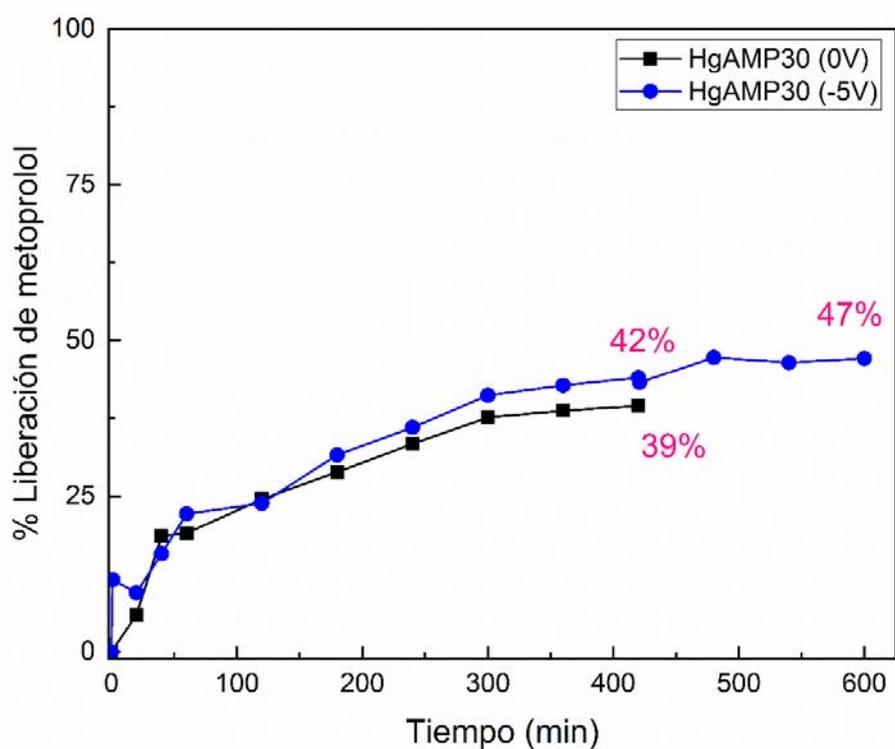


Figura 49. Cinética de liberación de metoprolol a partir del hidrogel HgAMP30 1:1 a 0V y -5V (25°C y buffer trizma pH= 7.4).

Posteriormente, se llevaron a cabo los estudios de liberación *in vitro*, de manera espontánea y bajo la aplicación de un estímulo eléctrico, en los hidrogeles con relación molar a gdl:Ca 2:1. En la tabla 7 se resumen los porcentajes de liberación obtenidos. El porcentaje de liberación pasiva (0V) fue menor para el HgAM 2:1 (46%) que para el HgAMP20 2:1 (49%), indicando que, bajo estas condiciones de estudio, el material electroconductor produjo un retardo para la difusión del fármaco.

Tabla 7. Liberación a partir de los hidrogeles con relación gdl: Ca 2:1

Hidrogel	Condiciones y resultados			
	Voltaje	% de metoprolol liberado por difusión	% de metoprolol liberado I	% de metoprolol liberado II
HgAM 2:1	0V	46%	---	---
HgAM 2:1	-5V	---	60%	60%
HgAM20 2:1	0V	49%	---	---
HgAM20 2:1	-5V	---	41%	54%

- I. Porcentaje de liberación en el equilibrio bajo la aplicación de un estímulo eléctrico.
- II. Porcentaje de liberación en el equilibrio tras la aplicación de un segundo estímulo eléctrico

Cuando se evaluó la liberación de metoprolol a partir del HgAM 2:1, con la aplicación de un potencial eléctrico al inicio de la cinética, se incrementó el porcentaje de liberación respecto al sistema 0V; sin embargo, el porcentaje de liberación se mantuvo constante (60%) al aplicar un segundo pulso eléctrico en el sistema compuesto, Figura 50.

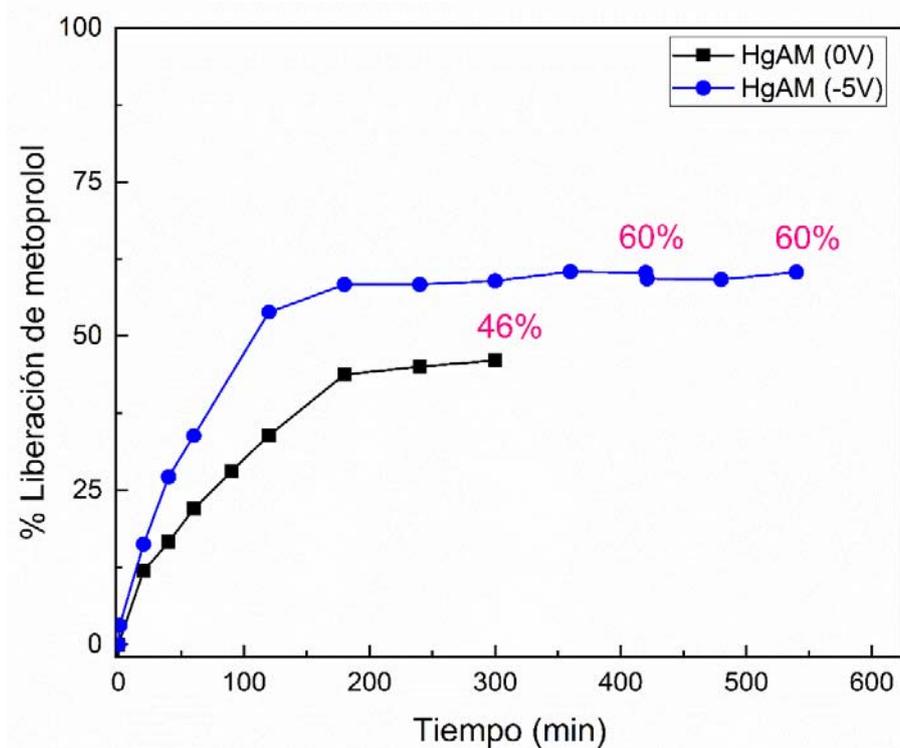


Figura 50. Cinética de liberación de metoprolol a partir del hidrogel HgAM 2:1 a 0V y -5V (25°C y buffer trizma pH= 7.4).

De manera contraria, el hidrogel que contiene 20 mg de PPy nanocompuesto, al aplicar al inicio una diferencia de potencial, alcanza una liberación de 41% de metoprolol al llegar al equilibrio. En este caso se observa que, tras la aplicación de un segundo potencial eléctrico, el porcentaje de liberación alcanza el 54% (Figura 51), logrando incrementar un 13% la liberación del fármaco. Esto se atribuye al efecto de reducción del PPy, donde al insertar electrones en la cadena del polímero ocurre un transporte de masa hacia el medio de liberación[134], favoreciendo la liberación de metoprolol que tras proporcionar un segundo estímulo eléctrico se logra activar el sistema incrementando el porcentaje de liberación.

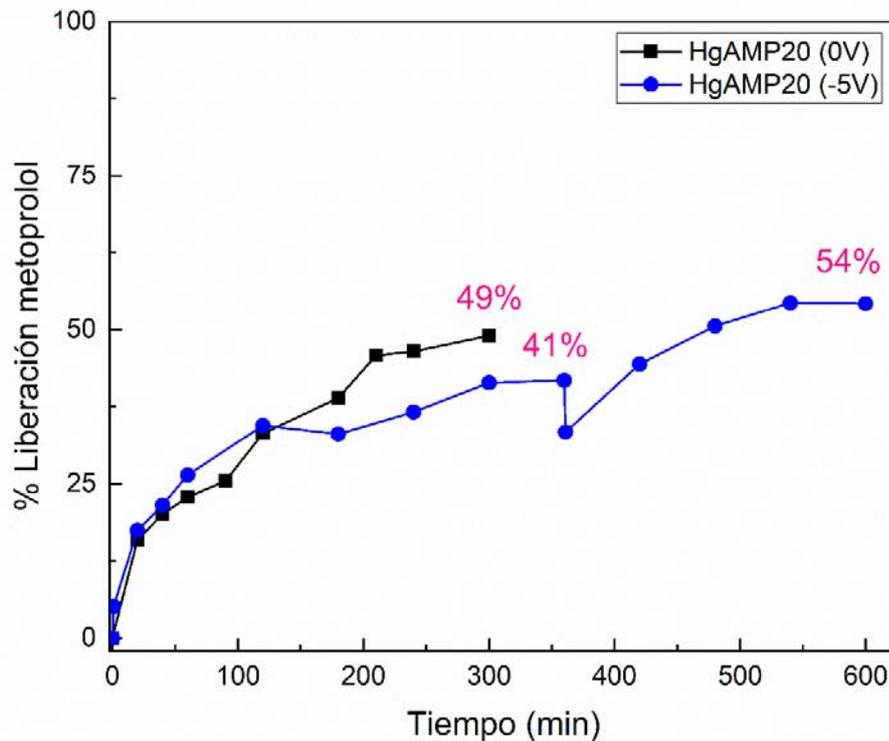


Figura 51. Cinética de liberación de metoprolol a partir del hidrogel HgAMP 20 2:1 a 0V y -5V (25°C y buffer trizma pH= 7.4).

Por último, la tabla 8 muestra los porcentajes de liberación de metoprolol para los hidrogeles donde se incrementó al doble la cantidad de reticulante iónico (gdl:Ca 2:2). Los porcentajes de liberación espontánea de metoprolol fueron 58% y 54% para los hidrogeles HgAM 2:2 y HgAMP20 2:2, respectivamente. El hidrogel con 20 mg de nanoestructuras de PPy presentó menor liberación, indicando que bajo estas condiciones, la presencia del material electroconductor PPy retarda ligeramente la difusión pasiva del fármaco, tal como se presentó para los hidrogeles con relación molar gdl: Ca 1:1.

Tabla 8. Liberación a partir de los hidrogeles con relación gdl: Ca 2:2

Hidrogel	Condiciones y resultados			
	Voltaje	% de metoprolol liberado por difusión	% de metoprolol liberado I	% de metoprolol liberado II
HgAM 2:2	0V	58%	---	---
HgAM 2:2	-5V	---	62%	63%
HgAM20 2:2	0V	54%	---	---
HgAM20 2:2	-5V	---	57%	68%

- I. Porcentaje de liberación en el equilibrio bajo la aplicación de un estímulo eléctrico al inicio.
- II. Porcentaje de liberación en el equilibrio tras la aplicación de un segundo estímulo eléctrico.

Por otro lado, al realizar los estudios de liberación pulsada eléctricamente para el hidrogel HgAM 2:2 (Figura 52), se observó que la aplicación de una diferencia de potencial, no representa un cambio significativo en la liberación de metoprolol, ya que el porcentaje de liberación espontánea fue del 58%, mientras que los porcentajes de liberación bajo la aplicación de un voltaje catódico fue de 62% tras el primer estímulo eléctrico y de 63%, tras el segundo pulso eléctrico.

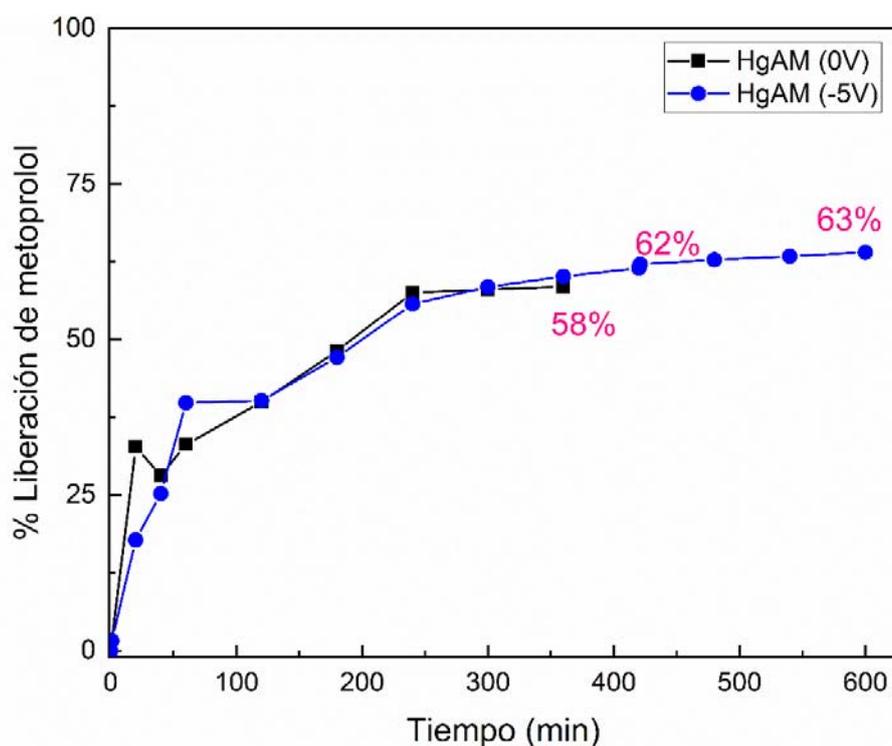


Figura 52. Cinética de liberación de metoprolol a partir del hidrogel HgAM 2:2 a 0V y -5V (25°C y buffer trizma pH= 7.4).

Sin embargo, al incorporar PPy nanoestructurado en la matriz de Alg con relación molar gdl:Ca 2:2, se incrementó su densidad de entrecruzamiento, formando una estructura más rígida que delimita el transporte de iones a través del hidrogel[135]. La liberación de metoprolol a 0 V para el hidrogel HgAMP20 2:2 fue muy similar a la liberación tras la aplicación de un primer pulso eléctrico, sin embargo, al someter el sistema compuesto a un segundo pulso eléctrico se obtuvo una mejora del 10% (Figura 53) en la liberación de metoprolol tras la aplicación de una segunda diferencia de potencial. Lo anterior nos indica que, bajo estas condiciones, es posible lograr una activación en la liberación de metoprolol al someter al sistema a la aplicación de estímulos eléctricos de manera pulsada. Lo anterior se atribuye a la reducción electroquímica del PPy, la expulsión de sus moléculas dopantes y la sinergia que se produce con la difusión del fármaco hacia el medio de liberación.

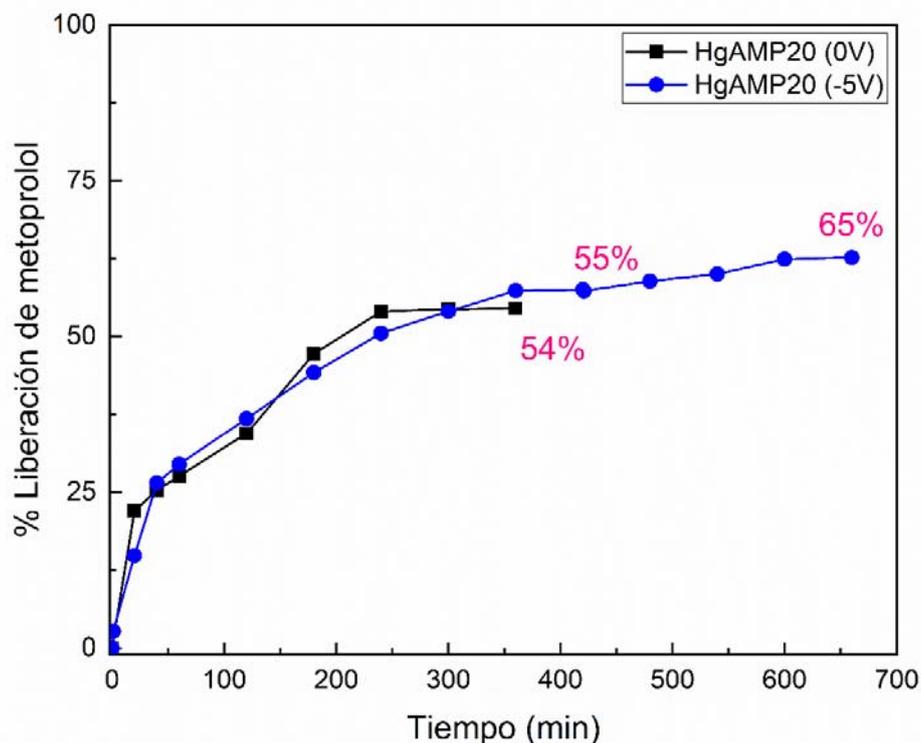


Figura 53. Cinética de liberación de metoprolol a partir del hidrogel HgAMP 20 2:2 a 0V y -5V (25°C y buffer trizma pH= 7.4).

De manera general se observa que el grado de entrecruzamiento de la matriz de Alg (relación molar usada de reticulante) influye el comportamiento de liberación de metoprolol desde los hidrogeles de solo Alg bajo impulso eléctrico, ya que cuando se usa la relación molar gdl:Ca 1:1, la aplicación de una diferencia de potencial incrementa la liberación, sin embargo, en los hidrogeles con relaciones molares de gdl:Ca 2:1 y 2:2, la matriz no presentó un cambio significativo en la liberación de metoprolol, manteniéndose constante después de dos pulsos eléctricos.

En cambio, la presencia del PPy nanoestructurado en los hidrogeles de Alg tiene una influencia significativa en la liberación de metoprolol bajo la aplicación de pulsos eléctricos. Este efecto se relaciona con los cambios electrónicos y estructurales que se producen en el PPy durante su reducción, modificando su volumen y la interacción de las nanoestructuras con su entorno e influenciado sinérgicamente con la liberación del metoprolol.

Con la finalidad de profundizar en el mecanismo de liberación de metoprolol considerando el efecto de la red tridimensional y el fenómeno de la difusión, se utilizaron diferentes modelos matemáticos. En la tabla 9 se describen los resultados obtenidos para el ajuste matemático del modelo Korsmeyer-Peppas, ecuación 5:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad (\text{Ecuación 5})$$

El modelo Korsmeyer-Peppas es un modelo semi-empírico para entender el mecanismo de liberación de un fármaco a partir de un hidrogel en un lapso de tiempo  $t$ . Donde  $M_t$  representa la cantidad de fármaco liberada en un tiempo  $t$ ,  $M_\infty$  se define como la cantidad de fármaco liberada en el equilibrio y  $n$  representa la dependencia de la velocidad de liberación en el tiempo y puede ser relacionada con el mecanismo de transporte de fármaco. De acuerdo al modelo, para hidrogeles cilíndricos, si el exponente  $n < 0.45$  el mecanismo de liberación corresponde a un mecanismo de difusión Fickiana, si el  $0.45 < n < 0.89$  corresponde a un mecanismo de liberación no Fickiana o anómalo. Cuando  $n > 0.89$  el mecanismo corresponde al transporte caso II.

Los parámetros obtenidos para  $n$  varían desde 0.198 a 0.7094 indicando que los mecanismos de liberación para los hidrogeles corresponden a una difusión Fickiana y a una difusión no Fickiana o anómala, donde el proceso de liberación está controlado por la difusión y la difusión en conjunto con la relajación de las cadenas poliméricas, respectivamente.

Tabla 9. Ajuste matemático Korsmeyer-Peppas de liberación de metoprolol (pasiva y bajo la aplicación de un potencial eléctrico) estudiados a pH 7.4 y T=25°C.

Hidrogel	Estímulo eléctrico	Resultados			Mecanismo de liberación
		Parámetros			
		$k$	$n$	$R^2$	
AM 1:1	0V	0.15312	0.69912	0.93499	Transporte anómalo
AM 1:1	-5V	0.059	0.198	0.91938	Difusión Fickiana
AMP20 1:1	0V	0.0961	0.4886	0.9636	Transporte anómalo
AMP20 1:1	-5V	0.0743	0.5394	0.97265	Transporte anómalo
AMP30 1:1	0V	0.0177	0.6424	0.9021	Transporte anómalo
AMP30 1:1	-5V	0.0796	0.5118	0.966	Transporte anómalo
AM 2:2	0V	0.0241	0.5885	0.9774	Transporte anómalo
AM 2:2	-5V	0.05	0.6727	0.997	Transporte anómalo
AMP20 2:1	0V	0.1379	0.7094	0.9476	Transporte anómalo
AMP20 2:2	-5V	0.0103	0.3969	0.9993	Difusión Fickiana
AM 2:2	0V	0.0347	0.3154	0.994	Difusión Fickiana
AM 2:2	-5V	0.1377	0.4867	0.9284	Transporte anómalo
AMP20 2:2	0V	0.0234	0.2476	0.9911	Difusión Fickiana

Por otro lado, el modelo matemático Higuchi está relacionado con la velocidad de liberación mediante la ecuación 5:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^{1/2} \quad (\text{Ecuación 6})$$

Donde  $M_t/M_\infty$  se relaciona con fracción de fármaco liberado,  $k$  constante cinética Higuchi y  $t$  es el tiempo.

El ajuste matemático mostró cuantitativamente que la liberación bajo la aplicación de un potencial eléctrico en la mayoría de los hidrogeles estudiados, ocurre a una velocidad mayor comparada con las cinéticas de liberación por pasiva (0V).

Tabla 10. Ajuste matemático Higuchi de liberación de metoprolol (pasiva y bajo la aplicación de un potencial eléctrico) estudiados a pH 7.4 y T=25°C.

Hidrogel	Resultados		
	Voltaje	Parámetros	
		$k_H$	$R^2$
AM 1:1	0V	0.0097	0.96475
AM 1:1	-5V	0.052	0.95302
AMP20 1:1	0V	0.011	0.9658
AMP20 1:1	-5V	0.023	0.8847
AMP30 1:1	0V	0.012	0.9304
AMP30 1:1	-5V	0.0083	0.9641
AM 2:1	0V	0.0033	0.9967
AM 2:1	-5V	0.0051	0.9954
AMP20 2:1	0V	0.0114	0.9684
AMP20 2:1	-5V	0.0034	0.9964
AM 2:2	0V	0.0055	0.9917
AM 2:2	-5V	0.0218	0.8834
AMP20 2:2	0V	0.0015	0.998
AMP20 2:2	-5V	0.0117	0.9578

## 6. CONCLUSIONES

En este trabajo, se realizó la síntesis de un material nanocompuesto de PPy mediante un método sencillo y fácil de realizar utilizando una polimerización *in situ* en medio micelar. El método involucra una baja cantidad de surfactante SDS, cercana a su valor de CMC en las condiciones de reacción y el uso de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como agente oxidante amigable con el ambiente. Adicionalmente, se añadieron a la reacción NTC y Alg con la finalidad de formar materiales compuestos multifuncionales con propiedades mejoradas de conductividad eléctrica. Se encontró que el uso únicamente del medio micelar no favorece las propiedades conductoras del PPy sintetizado con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Contrario a lo esperado, la incorporación de NTC prístinos favorece las propiedades eléctricas del nanocomposito comparado con el efecto encontrado para los NTC funcionalizados, evidenciando la importancia de las interacciones hidrofóbicas entre el PPy y los NTC durante la formación del polímero en medio micelar. Por otra parte, la incorporación de Alg permite aumentar el potencial zeta de los materiales lo cual se encuentra asociado directamente con la estabilidad de los sistemas coloidales.

Se obtuvieron hidrogeles compuestos homogéneos a partir de la reticulación *in situ* de polisacárido en una suspensión de los nanocompositos sintetizados.

Los hidrogeles se componen de una matriz de Alg, un biopolímero natural, entrecruzado ionotrópicamente con iones calcio. Los estudios de hinchamiento evidenciaron que la variación en la relación molar gdl:Ca produce cambios en el grado de entrecruzamiento del Alg. En los estudios de liberación espontánea (0V) y bajo la aplicación de estímulos eléctricos realizada en los hidrogeles cargados con el fármaco modelo (metoprolol) se encontró una activación en el porcentaje de liberación de metoprolol tras someterse a estímulos eléctricos, la cual se relaciona estrechamente con las propiedades electroactivas del PPy. Estos sistemas en condiciones óptimas podrían ser propuestos como sistemas de liberación controlada que responden a estímulos eléctricos.

## 7. RERENCIAS

- [1] B. Tandon, A. Magaz, R. Balint, J. J. Blaker, and S. H. Cartmell, "Electroactive biomaterials: Vehicles for controlled delivery of therapeutic agents for drug delivery and tissue regeneration," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 129, pp. 148–168, 2018.
- [2] S. Szunerits, F. Teodorescu, and R. Boukherroub, "Electrochemically triggered release of drugs," *Eur. Polym. J.*, vol. 83, pp. 467–477, 2016.
- [3] C. J. Pérez-Martínez *et al.*, "Electroconductive nanocomposite hydrogel for pulsatile drug release," *React. Funct. Polym.*, vol. 100, pp. 12–17, 2016.
- [4] J. Stejskal, "Conducting polymer hydrogels," *Chem. Pap.*, vol. 71, no. 2, pp. 269–291, 2017.
- [5] P. Schexnailder and G. Schmidt, "Nanocomposite polymer hydrogels," *Colloid Polym. Sci.*, vol. 287, no. 1, pp. 1–11, 2009.
- [6] A. Memic *et al.*, "Hydrogels 2.0: Improved properties with nanomaterial composites for biomedical applications," *Biomed. Mater.*, vol. 11, no. 1, 2015.
- [7] N. Dubey, C. S. Kushwaha, and S. K. Shukla, "A review on electrically conducting polymer bionanocomposites for biomedical and other applications," *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.*, vol. 69, no. 11, pp. 709–727, 2020.
- [8] C. Basavaraja, E. A. Jo, B. S. Kim, D. G. Kim, and D. S. Huh, "Electrical conduction mechanism of polypyrrole-alginate polymer films," *Macromol. Res.*, vol. 18, no. 11, pp. 1037–1044, 2010.
- [9] K. Leonavicius, A. Ramanaviciene, and A. Ramanavicius, "Polymerization model for hydrogen peroxide initiated synthesis of polypyrrole nanoparticles," *Langmuir*, vol. 27, no. 17, pp. 10970–10976, 2011.
- [10] T. M. Wu, H. L. Chang, and Y. W. Lin, "Synthesis and characterization of conductive polypyrrole/multi-walled carbon nanotubes composites with improved solubility and conductivity," *Compos. Sci. Technol.*, 2009.
- [11] F. Khadem, M. Pishvaei, M. Salami-Kalajahi, and F. Najafi, "Morphology control of conducting polypyrrole nanostructures via operational conditions in the emulsion polymerization," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 134, no. 15, pp. 1–7,

2017.

- [12] N. Ferrer-Anglada, M. Kaempgen, and S. Roth, "Transparent and flexible carbon nanotube/polypyrrole and carbon nanotube/polyaniline pH sensors," *Phys. Status Solidi Basic Res.*, vol. 243, no. 13, pp. 3519–3523, 2006.
- [13] Z. Liu, Y. Liu, S. Poyraz, and X. Zhang, "Green-nano approach to nanostructured polypyrrole," *Chem. Commun.*, vol. 47, no. 15, pp. 4421–4423, 2011.
- [14] H. K. Chitte, G. N. Shinde, N. V. Bhat, and V. E. Walunj, "Synthesis of Polypyrrole Using Ferric Chloride ( $\text{FeCl}_3$ ) as Oxidant Together with Some Dopants for Use in Gas Sensors," *J. Sens. Technol.*, vol. 01, no. 02, pp. 47–56, Jul. 2011.
- [15] D. Samanta, J. L. Meiser, and R. N. Zare, "Polypyrrole nanoparticles for tunable, pH-sensitive and sustained drug release," *Nanoscale*, vol. 7, no. 21, pp. 9497–9504, 2015.
- [16] J. Stejskal and M. Trchová, *Conducting polypyrrole nanotubes: a review*, vol. 72, no. 7. Springer International Publishing, 2018.
- [17] T. H. Le, Y. Kim, and H. Yoon, "Electrical and electrochemical properties of conducting polymers," *Polymers (Basel)*, vol. 9, no. 4, 2017.
- [18] T. F. Otero and J. G. Martinez, "Electro-chemo-biomimetics from conducting polymers: Fundamentals, materials, properties and devices," *J. Mater. Chem. B*, vol. 4, no. 12, pp. 2069–2085, 2016.
- [19] W. K. Oh, O. S. Kwon, and J. Jang, "Conducting polymer nanomaterials for biomedical applications: Cellular interfacing and biosensing," *Polym. Rev.*, vol. 53, no. 3, pp. 407–442, 2013.
- [20] A. Jafari and A. Amini, "Lactic acid gas sensor based on polypyrrole thin film," *Mater. Lett.*, vol. 236, pp. 175–178, 2019.
- [21] J. Stejskal and M. Trchová, *Conducting polypyrrole nanotubes: a review*, vol. 72, no. 7. Springer International Publishing, 2018.
- [22] Q. Hou *et al.*, "Encapsulation of  $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{NiO}$  and  $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{Co}_3\text{O}_4$  nanosheets into conductive polypyrrole for superior lithium ion storage," *Electrochim. Acta*, vol. 296, pp. 438–449, 2019.

- [23] A. Madhan Kumar, P. Sudhagar, A. Fujishima, and Z. M. Gasem, "Hierarchical polymer nanocomposite coating material for 316L SS implants: Surface and electrochemical aspects of PPy/f-CNTs coatings," *Polymer (Guildf)*, vol. 55, no. 21, pp. 5417–5424, 2014.
- [24] J. G. Hardy, J. Y. Lee, and C. E. Schmidt, "Biomimetic conducting polymer-based tissue scaffolds," *Curr. Opin. Biotechnol.*, vol. 24, no. 5, pp. 847–854, 2013.
- [25] R. Balint, N. J. Cassidy, and S. H. Cartmell, "Electrical Stimulation: A Novel Tool for Tissue Engineering," *Tissue Eng. Part B Rev.*, vol. 19, no. 1, pp. 48–57, 2013.
- [26] C. Ning, Z. Zhou, G. Tan, Y. Zhu, and C. Mao, "Electroactive polymers for tissue regeneration: Developments and perspectives," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 81, pp. 144–162, 2018.
- [27] K. M. Sajesh, R. Jayakumar, S. V. Nair, and K. P. Chennazhi, "Biocompatible conducting chitosan/polypyrrole-alginate composite scaffold for bone tissue engineering," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 62, pp. 465–471, 2013.
- [28] J. Shin *et al.*, "Three-Dimensional Electroconductive Hyaluronic Acid Hydrogels Incorporated with Carbon Nanotubes and Polypyrrole by Catechol-Mediated Dispersion Enhance Neurogenesis of Human Neural Stem Cells," *Biomacromolecules*, vol. 18, no. 10, pp. 3060–3072, Oct. 2017.
- [29] S. Kim *et al.*, "Cytotoxicity of, and innate immune response to, size-controlled polypyrrole nanoparticles in mammalian cells," *Biomaterials*, vol. 32, no. 9, pp. 2342–2350, 2011.
- [30] D. Melling, J. G. Martinez, and E. W. H. Jager, "Conjugated Polymer Actuators and Devices: Progress and Opportunities," *Adv. Mater.*, vol. 1808210, no. 1, pp. 1–17, 2019.
- [31] L. Bay, T. Jacobsen, S. Skaarup, and K. West, "Mechanism of actuation in conducting polymers: Osmotic expansion," *J. Phys. Chem. B*, vol. 105, no. 36, pp. 8492–8497, 2001.
- [32] A. Khodadadi, E. Faghih-Mirzaei, H. Karimi-Maleh, A. Abbaspourrad, S. Agarwal, and V. K. Gupta, "A new epirubicin biosensor based on amplifying

- DNA interactions with polypyrrole and nitrogen-doped reduced graphene: Experimental and docking theoretical investigations,” *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 284, no. September 2018, pp. 568–574, 2019.
- [33] S. Szunerits, F. Teodorescu, and R. Boukherroub, “Electrochemically triggered release of drugs Different stimuli for the release of drugs,” *Eur. Polym. J.*, vol. 83, pp. 467–477, 2016.
- [34] C. A. R. Chapman, E. A. Cuttaz, J. A. Goding, and R. A. Green, “Actively controlled local drug delivery using conductive polymer-based devices,” *Appl. Phys. Lett.*, vol. 116, no. 1, 2020.
- [35] D. Svirskis, J. Travas-Sejdic, A. Rodgers, and S. Garg, “Electrochemically controlled drug delivery based on intrinsically conducting polymers,” *J. Control. Release*, vol. 146, no. 1, pp. 6–15, 2010.
- [36] D. D. Ateh, H. A. Navsaria, and P. Vadgama, “Polypyrrole-based conducting polymers and interactions with biological tissues,” *J. R. Soc. Interface*, vol. 3, no. 11, pp. 741–752, 2006.
- [37] J. Przulski, “Electronically Conducting Polymers: Polyaniline,” *Solid State Phenom.*, vol. 13–14, pp. 93–119, 1991.
- [38] G. Natta, G. Mazzanti, P. Corradini, and I. Bassi, “Isotactic aldehyde polymers,” *Die Makromolekulare Chemie*, vol. 37, no. 1. pp. 156–159, 1960.
- [39] A. F. Diaz, A. Martinez, K. K. Kanazawa, and M. Salmón, “Electrochemistry of some substituted pyrroles,” *J. Electroanal. Chem.*, vol. 130, no. C, pp. 181–187, 1981.
- [40] P. M. George *et al.*, “Fabrication and biocompatibility of polypyrrole implants suitable for neural prosthetics,” *Biomaterials*, vol. 26, no. 17, pp. 3511–3519, 2005.
- [41] A. Ramanaviciene, A. Kausaite, S. Tautkus, and A. Ramanavicius, “Biocompatibility of polypyrrole particles: an in-vivo study in mice,” *J. Pharm. Pharmacol.*, vol. 59, no. 2, pp. 311–315, 2007.
- [42] A. Kausaite-Minkstiniene, V. Mazeiko, A. Ramanaviciene, and A. Ramanavicius, “Evaluation of chemical synthesis of polypyrrole particles,” *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 483, pp. 224–231, 2015.

- [43] R. Balint, N. J. Cassidy, and S. H. Cartmell, "Conductive polymers: Towards a smart biomaterial for tissue engineering," *Acta Biomater.*, vol. 10, no. 6, pp. 2341–2353, 2014.
- [44] E. Nazarzadeh Zare, M. Mansour Lakouraj, and M. Mohseni, "Biodegradable polypyrrole/dextrin conductive nanocomposite: Synthesis, characterization, antioxidant and antibacterial activity," *Synth. Met.*, vol. 187, no. 1, pp. 9–16, 2014.
- [45] N. K. Guimard, N. Gomez, and C. E. Schmidt, "Conducting polymers in biomedical engineering," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 32, no. 8–9, pp. 876–921, 2007.
- [46] M. J. L. Santos, A. G. Brolo, and E. M. Girotto, "Study of polaron and bipolaron states in polypyrrole by in situ Raman spectroelectrochemistry," *Electrochim. Acta*, vol. 52, no. 20, pp. 6141–6145, 2007.
- [47] T. Edition, *POLYMERS*. .
- [48] A. Vaitkuviene *et al.*, "Some biocompatibility aspects of conducting polymer polypyrrole evaluated with bone marrow-derived stem cells," *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 442, pp. 152–156, 2014.
- [49] L. Poole-Warren, N. Lovell, S. Baek, and R. Green, "Development of bioactive conducting polymers for neural interfaces," *Expert Rev. Med. Devices*, vol. 7, no. 1, pp. 35–49, 2010.
- [50] A. Vaitkuviene *et al.*, "Evaluation of cytotoxicity of polypyrrole nanoparticles synthesized by oxidative polymerization," *J. Hazard. Mater.*, vol. 250–251, pp. 167–174, 2013.
- [51] D. Mawad *et al.*, "A single component conducting polymer hydrogel as a scaffold for tissue engineering," *Adv. Funct. Mater.*, vol. 22, no. 13, pp. 2692–2699, 2012.
- [52] S. Yang *et al.*, "Polypyrrole / Alginate Hybrid Hydrogels: Electrically Conductive and Soft Biomaterials for Human Mesenchymal Stem Cell Culture and Potential Neural Tissue Engineering Applications," pp. 1–9, 2016.
- [53] M. Zhu *et al.*, "Construction of a graphene/polypyrrole composite electrode as an electrochemically controlled release system," *RSC Adv.*, vol. 9, no. 22, pp.

12667–12674, 2019.

- [54] X. H. Wang *et al.*, “Facile synthesis of polypyrrole-rhodamine B nanoparticles for self-monitored photothermal therapy of cancer cells,” *J. Mater. Chem. B*, vol. 8, no. 5, pp. 1033–1039, 2020.
- [55] S. Sahoo, S. Dhibar, and C. K. Das, “Facile synthesis of polypyrrole nanofiber and its enhanced electrochemical performances in different electrolytes,” *Express Polym. Lett.*, vol. 6, no. 12, pp. 965–974, 2012.
- [56] Y. Liao *et al.*, “Highly dispersible polypyrrole nanospheres for advanced nanocomposite ultrafiltration membranes,” *Mater. Horizons*, vol. 1, no. 1, pp. 58–64, 2014.
- [57] T. V. Vernitskaya and O. N. Efimov, “Polypyrrole: A conducting polymer (synthesis, properties, and applications),” *Usp. Khim.*, vol. 66, no. 5, pp. 502–505, 1997.
- [58] G. Kaur, R. Adhikari, P. Cass, M. Bown, and P. Gunatillake, “Electrically conductive polymers and composites for biomedical applications,” *RSC Adv.*, vol. 5, no. 47, pp. 37553–37567, 2015.
- [59] C. Basavaraja, E. A. Jo, B. S. Kim, D. G. Kim, and D. S. Huh, “Electrical conduction mechanism of polypyrrole-alginate polymer films,” *Macromol. Res.*, vol. 18, no. 11, pp. 1037–1044, 2010.
- [60] T. Zhang, W. Zhang, B. Wang, and J. Liu, “One-step synthesis of core/shell-like structured polypyrrole/sodium alginate nanocomposites and their electro-responsive performances,” *J. Intell. Mater. Syst. Struct.*, vol. 29, no. 2, pp. 232–241, 2018.
- [61] X. Zhang, J. Zhang, R. Wang, T. Zhu, and Z. Liu, “Surfactant-directed polypyrrole/CNT nanocables: Synthesis, characterization, and enhanced electrical properties,” *ChemPhysChem*, vol. 5, no. 7, pp. 998–1002, 2004.
- [62] N. D. Gupta, S. Maity, and K. K. Chattopadhyay, “Field emission enhancement of polypyrrole due to band bending induced tunnelling in polypyrrole-carbon nanotubes nanocomposite,” *J. Ind. Eng. Chem.*, vol. 20, no. 5, pp. 3208–3213, 2014.
- [63] H. Ghalib, I. Abdullah, and R. Daik, “Synthesis of polypyrrole nanoparticles in

- natural rubber-polystyrene blend via emulsion polymerization," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 123, no. 4, pp. 2115–2121, 2012.
- [64] J. L. Gardon, "Mechanism of Emulsion Polymerization," *Rubber Chem. Technol.*, vol. 43, no. 1, pp. 74–94, 1970.
- [65] C. S. Chern, "Emulsion polymerization mechanisms and kinetics," vol. 31, pp. 443–486, 2006.
- [66] K. Leonavicius, A. Ramanaviciene, and A. Ramanavicius, "Polymerization Model for Hydrogen Peroxide Initiated Synthesis of Polypyrrole Nanoparticles," pp. 10970–10976, 2011.
- [67] A. Kausaite-Minkstimiene, V. Mazeiko, A. Ramanaviciene, and A. Ramanavicius, "Evaluation of chemical synthesis of polypyrrole particles," *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 483, pp. 224–231, 2015.
- [68] T. F. Otero and M. T. Cortés, "A sensing muscle," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 96, no. 1–2, pp. 152–156, 2003.
- [69] O. Aydin *et al.*, "Development of 3D neuromuscular bioactuators," *APL Bioeng.*, vol. 4, no. 1, p. 016107, 2020.
- [70] L. Lizarraga, E. M. Andrade, and F. V. Molina, "Swelling and volume changes of polyaniline upon redox switching," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 561, no. SUPPL. 1, pp. 127–135, 2004.
- [71] Q. Shi, H. Liu, D. Tang, Y. Li, X. J. Li, and F. Xu, "Bioactuators based on stimulus-responsive hydrogels and their emerging biomedical applications," *NPG Asia Mater.*, vol. 11, no. 1, 2019.
- [72] T. H. Le, Y. Kim, and H. Yoon, "Electrical and electrochemical properties of conducting polymers," *Polymers (Basel)*, vol. 9, no. 4, 2017.
- [73] W. Zheng, P. G. Whitten, and G. M. Spinks, "Polypyrrole actuators: the effects of polymer thickness and voltage scan rate on fractional charging and isotonic actuation strain," *Multifunct. Mater.*, vol. 1, no. 1, p. 014002, Oct. 2018.
- [74] O. S. Kwon, J. Y. Hong, S. J. Park, Y. Jang, and J. Jang, "Resistive gas sensors based on precisely size-controlled polypyrrole nanoparticles: Effects of particle size and deposition method," *J. Phys. Chem. C*, vol. 114, no. 44, pp. 18874–18879, 2010.

- [75] H. Yoon, J. H. Kin, N. Lee, B. G. Kim, and J. Jang, "A novel sensor platform based on aptamer-conjugated polypyrrole nanotubes for label-free electrochemical protein detection," *ChemBioChem*, vol. 9, no. 4, pp. 634–641, 2008.
- [76] S. J. Park *et al.*, "Human dopamine receptor nanovesicles for gate-potential modulators in high-performance field-effect transistor biosensors," *Sci. Rep.*, vol. 4, pp. 1–8, 2014.
- [77] O. S. Kwon *et al.*, "Ultrasensitive and selective recognition of peptide hormone using close-packed arrays of hPTHR-conjugated polymer nanoparticles," *ACS Nano*, vol. 6, no. 6, pp. 5549–5558, 2012.
- [78] E. Stewart *et al.*, "Electrical Stimulation Using Conductive Polymer Polypyrrole Promotes Differentiation of Human Neural Stem Cells: A Biocompatible Platform for Translational Neural Tissue Engineering," *Tissue Eng. Part C Methods*, vol. 21, no. 4, pp. 385–393, Apr. 2015.
- [79] J. A. Goding, A. D. Gilmour, P. J. Martens, L. A. Poole-Warren, and R. A. Green, "Small bioactive molecules as dual functional co-dopants for conducting polymers," *J. Mater. Chem. B*, vol. 3, no. 25, pp. 5058–5069, 2015.
- [80] S. Szunerits, F. Teodorescu, and R. Boukherroub, "Electrochemically triggered release of drugs," *Eur. Polym. J.*, vol. 83, pp. 467–477, 2016.
- [81] D. Uppalapati *et al.*, "Micelle directed chemical polymerization of polypyrrole particles for the electrically triggered release of dexamethasone base and dexamethasone phosphate," *Int. J. Pharm.*, vol. 543, no. 1–2, pp. 38–45, 2018.
- [82] B. Zunic and S. Peter, "World ' s largest Science , Technology & Medicine Open Access book publisher," no. 2016, pp. 267–322, 2018.
- [83] N. G. Sahoo *et al.*, "Improvement of mechanical and thermal properties of carbon nanotube composites through nanotube functionalization and processing methods," *Mater. Chem. Phys.*, vol. 117, no. 1, pp. 313–320, 2009.
- [84] S. Ganguly *et al.*, "Green Reduced Graphene Oxide Toughened Semi-IPN Monolith Hydrogel as Dual Responsive Drug Release System: Rheological, Physicomechanical, and Electrical Evaluations," *J. Phys. Chem. B*, vol. 122, no. 29, pp. 7201–7218, 2018.

- [85] M. F. Islam, E. Rojas, D. M. Bergey, A. T. Johnson, and A. G. Yodh, "High Weight Fraction Surfactant Solubilization of Single-Wall Carbon Nanotubes in Water," *Nano Lett.*, vol. 3, no. 2, pp. 269–273, 2003.
- [86] M. Rahmat and P. Hubert, "Carbon nanotube-polymer interactions in nanocomposites: A review," *Compos. Sci. Technol.*, vol. 72, no. 1, pp. 72–84, 2011.
- [87] K. Balasubramanian and M. Burghard, "Electrochemically functionalized carbon nanotubes for device applications," *J. Mater. Chem.*, vol. 18, no. 26, pp. 3071–3083, 2008.
- [88] S. M. Fatemi and M. Foroutan, "Recent developments concerning the dispersion of carbon nanotubes in surfactant/polymer systems by MD simulation," *J. Nanostructure Chem.*, vol. 6, no. 1, pp. 29–40, 2016.
- [89] X. Luo, C. Matranga, S. Tan, N. Alba, and X. T. Cui, "Carbon nanotube nanoreservoir for controlled release of anti-inflammatory dexamethasone," *Biomaterials*, vol. 32, no. 26, pp. 6316–6323, 2011.
- [90] E. Fennell and J. M. Huyghe, "Chemically Responsive Hydrogel Deformation Mechanics: A Review," *Molecules*, vol. 24, no. 19, p. 3521, 2019.
- [91] K. Haraguchi, "Stimuli-responsive nanocomposite gels," *Colloid Polym. Sci.*, vol. 289, no. 5–6, pp. 455–473, 2011.
- [92] F. Ullah, M. B. H. Othman, F. Javed, Z. Ahmad, and H. M. Akil, "Classification, processing and application of hydrogels: A review," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 57, pp. 414–433, 2015.
- [93] E. S. Dragan, "Design and applications of interpenetrating polymer network hydrogels. A review," *Chemical Engineering Journal*, vol. 243, pp. 572–590, 2014.
- [94] A. S. Hoffman, "Hydrogels for biomedical applications," vol. 54, no. 1, pp. 3–12, 2002.
- [95] J. Thiele, Y. Ma, S. M. C. Bruekers, S. Ma, and W. T. S. Huck, "25th anniversary article: Designer hydrogels for cell cultures: A materials selection guide," *Adv. Mater.*, vol. 26, no. 1, pp. 125–148, 2014.
- [96] W. E. Hennink and C. F. van Nostrum, "Novel crosslinking methods to design

- hydrogels,” *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 64, no. SUPPL., pp. 223–236, 2012.
- [97] J. Qu, X. Zhao, P. X. Ma, and B. Guo, “Injectable antibacterial conductive hydrogels with dual response to an electric field and pH for localized ‘smart’ drug release,” *Acta Biomater.*, vol. 72, pp. 55–69, 2018.
- [98] A. Motealleh and N. S. Kehr, “Nanocomposite Hydrogels and Their Applications in Tissue Engineering,” *Adv. Healthc. Mater.*, vol. 6, no. 1, 2017.
- [99] M. Bahram, N. Mohseni, and M. Moghtader, “An Introduction to Hydrogels and Some Recent Applications World ’ s largest Science , Technology & Medicine Open Access book publisher,” *Emerg. Concepts Anal. Appl. Hydrogels*, no. April 2018, 2016.
- [100] M. Avella, E. Di Pace, B. Immirzi, G. Impallomeni, M. Malinconico, and G. Santagata, “Addition of glycerol plasticizer to seaweeds derived alginates: Influence of microstructure on chemical-physical properties,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 69, no. 3, pp. 503–511, 2007.
- [101] E. Ruvinov and S. Cohen, “Alginate biomaterial for the treatment of myocardial infarction: Progress, translational strategies, and clinical outlook. From ocean algae to patient bedside.,” *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 96, pp. 54–76, 2016.
- [102] G. A. Paredes Juárez, M. Spasojevic, M. M. Faas, and P. de Vos, “Immunological and Technical Considerations in Application of Alginate-Based Microencapsulation Systems,” *Front. Bioeng. Biotechnol.*, vol. 2, no. August, pp. 1–15, 2014.
- [103] A. Khan *et al.*, “Clinical manifestations of patients with Systemic Lupus Erythematosus (SLE) in Khyber Pakhtunkhwa,” *J. Pak. Med. Assoc.*, vol. 67, no. 8, pp. 1180–1185, 2017.
- [104] E. A. Nunamaker, E. K. Purcell, and D. R. Kipke, “In vivo stability and biocompatibility of implanted calcium alginate disks,” *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, vol. 83A, no. 4, pp. 1128–1137, Dec. 2007.
- [105] T. A. Becker, M. C. Preul, W. D. Bichard, D. R. Kipke, and C. G. McDougall, “Calcium alginate gel as a biocompatible material for endovascular arteriovenous malformation embolization: Six-month results in an animal model,” *Neurosurgery*, vol. 56, no. 4, pp. 793–800, 2005.

- [106] E. Josef, K. Barat, I. Barsht, M. Zilberman, and H. Bianco-Peled, "Composite hydrogels as a vehicle for releasing drugs with a wide range of hydrophobicities," *Acta Biomater.*, vol. 9, no. 11, pp. 8815–8822, 2013.
- [107] F. Zhao, D. Yao, R. Guo, L. Deng, A. Dong, and J. Zhang, "Composites of Polymer Hydrogels and Nanoparticulate Systems for Biomedical and Pharmaceutical Applications," *Nanomaterials*, vol. 5, no. 4, pp. 2054–2130, 2015.
- [108] C. Kleber, K. Lienkamp, J. Rühle, and M. Asplund, "Electrochemically Controlled Drug Release from a Conducting Polymer Hydrogel (PDMAAp/PEDOT) for Local Therapy and Bioelectronics," *Adv. Healthc. Mater.*, vol. 8, no. 10, pp. 1–11, 2019.
- [109] S. Merino, C. Martín, K. Kostarelos, M. Prato, and E. Vázquez, "Nanocomposite hydrogels: 3D polymer-nanoparticle synergies for on-demand drug delivery," *ACS Nano*, vol. 9, no. 5, pp. 4686–4697, 2015.
- [110] A. Chyzy and M. Tomczykowa, "Hydrogels as Potential Nano-, Micro- and Macro-Scale Systems for Controlled Drug Delivery," pp. 22–24, 2020.
- [111] "(2015)Electroconductive smart polyacrylamide polypyrrole (PAC-PPY) hydrogel a device for controlled release of rispidone.pdf." .
- [112] S. Mongkolkitikul, N. Paradee, and A. Sirivat, "Electrically controlled release of ibuprofen from conductive poly(3-methoxydiphenylamine)/crosslinked pectin hydrogel," *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 112, no. July 2017, pp. 20–27, 2018.
- [113] D. Puentes-Camacho, E. F. Velázquez, D. E. Rodríguez-Félix, M. Castillo-Ortega, R. R. Sotelo-Mundo, and T. Del Castillo-Castro, "Functionalization of multiwalled carbon nanotubes by microwave irradiation for lysozyme attachment: Comparison of covalent and adsorption methods by kinetics of thermal inactivation," *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.*, 2017.
- [114] A. Rahman, "Effect of pH on the Critical Micelle Concentration of Sodium Dodecyl Sulphate," vol. 28, no. 1983, pp. 1331–1334.
- [115] J. Stejskal *et al.*, "Polypyrrole salts and bases: Superior conductivity of nanotubes and their stability towards the loss of conductivity by deprotonation," *RSC Adv.*, vol. 6, no. 91, pp. 88382–88391, 2016.

- [116] A. Imani, G. Farzi, and A. Ltaief, "Facile synthesis and characterization of polypyrrole-multiwalled carbon nanotubes by in situ oxidative polymerization," *Int. Nano Lett.*, vol. 3, no. 1, p. 52, 2013.
- [117] M. M. Ghobashy and G. Bassioni, "pH stimuli-responsive poly(acrylamide-co-sodium alginate) hydrogels prepared by  $\gamma$ -radiation for improved compressive strength of concrete," *Adv. Polym. Technol.*, vol. 37, no. 6, pp. 2123–2133, 2018.
- [118] X. Chen, J. -P Issi, J. Devaux, and D. Billaud, "Chemically oxidized polypyrrole: Influence of the experimental conditions on its electrical conductivity and morphology," *Polym. Eng. Sci.*, vol. 35, no. 8, pp. 642–647, 1995.
- [119] J. Mosafer, A. Badiiee, and M. Tafaghodi, "Preparation, characterization and in vivo evaluation of alginate-coated chitosan and trimethylchitosan nanoparticles loaded with PR8 influenza virus for nasal immunization," *Asian J. Pharm. Sci.*, vol. 000, pp. 1–6, 2018.
- [120] X. Wang, Y. Ma, X. Sheng, Y. Wang, and H. Xu, "Ultrathin Polypyrrole Nanosheets via Space-Confined Synthesis for Efficient Photothermal Therapy in the Second Near-Infrared Window," *Nano Lett.*, vol. 18, no. 4, pp. 2217–2225, 2018.
- [121] N. Wang, G. Li, Z. Yu, X. Zhang, and X. Qi, "Conductive polypyrrole / viscose fiber composites," *Carbohydr. Polym.*, vol. 127, pp. 332–339, 2015.
- [122] J. Hazarika and A. Kumar, "Controllable synthesis and characterization of polypyrrole nanoparticles in sodium dodecylsulphate (SDS) micellar solutions," *Synth. Met.*, vol. 175, pp. 155–162, 2013.
- [123] A. Salisu, M. M. Sanagi, A. A. Naim, and K. J. Abd Karim, "Graft copolymerization of methyl methacrylate onto alginate using benzoyl peroxide initiator," *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.*, vol. 6, no. 2, pp. 1408–1416, 2015.
- [124] B. Q. J. L. H. X. B. H. L. Qian, "Facile preparation and characterization of sodium alginate/graphite conductive composite hydrogel," *Polym. Compos.*, vol. 37, no. 10, pp. 3050–3056, 2015.
- [125] J. P. Soares, J. E. Santos, G. O. Chierice, and E. T. G. Cavalheiro, "Thermal behavior of alginic acid and its sodium salt," *Eclet. Quim.*, vol. 29, no. 2, pp.

57–63, 2004.

- [126] M. A. Ciciliati and É. T. G. Cavalheiro, “Studies of thermal behavior of metoprolol tartrate,” *J. Therm. Anal. Calorim.*, vol. 138, no. 5, pp. 3653–3663, 2019.
- [127] M. M. H. Al Omari, I. S. Rashid, N. A. Qinna, A. M. Jaber, and A. A. Badwan, *Calcium Carbonate*, vol. 41, no. January 2018. 2016.
- [128] F. Jiang *et al.*, “Diatomite-based porous ceramics with high apparent porosity: Pore structure modification using calcium carbonate,” *Ceram. Int.*, vol. 45, no. 5, pp. 6085–6092, 2019.
- [129] T. Jayaramudu, H. U. Ko, H. C. Kim, J. W. Kim, R. M. Muthoka, and J. Kim, “Electroactive hydrogels made with polyvinyl alcohol/cellulose nanocrystals,” *Materials (Basel)*, vol. 11, no. 9, pp. 1–11, 2018.
- [130] N. Paradee, A. Sirivat, S. Niamlang, and W. Prissanaroon-Ouajai, “Effects of crosslinking ratio, model drugs, and electric field strength on electrically controlled release for alginate-based hydrogel,” *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 23, no. 4, pp. 999–1010, 2012.
- [131] S. Pairatwachapun, N. Paradee, and A. Sirivat, “Controlled release of acetylsalicylic acid from polythiophene/carrageenan hydrogel via electrical stimulation,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 137, pp. 214–221, 2016.
- [132] S. Mongkolkitikul, N. Paradee, and A. Sirivat, “Electrically controlled release of ibuprofen from conductive poly(3-methoxydiphenylamine)/crosslinked pectin hydrogel,” *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 112, no. July 2017, pp. 20–27, 2018.
- [133] S. Oktay and N. Alemdar, “Electrically controlled release of 5-fluorouracil from conductive gelatin methacryloyl-based hydrogels,” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 136, no. 1, pp. 1–8, 2019.
- [134] A. M. Orduño Rodríguez, C. J. Pérez Martínez, T. del Castillo Castro, M. M. Castillo Ortega, D. E. Rodríguez Félix, and J. Romero García, “Nanocomposite hydrogel of poly(vinyl alcohol) and biocatalytically synthesized polypyrrole as potential system for controlled release of metoprolol,” *Polym. Bull.*, vol. 77, no. 3, pp. 1217–1232, 2020.
- [135] T. S. Tsai *et al.*, “A polyvinyl alcohol-polyaniline based electro-conductive

hydrogel for controlled stimuli-actuable release of indomethacin,” *Polymers (Basel)*., vol. 3, no. 1, pp. 150–172, 2011.

- [136] C. Saravanan, R. C. Shekhar, and S. Palaniappan, “Synthesis of polypyrrole using benzoyl peroxide as a novel oxidizing agent,” *Macromol. Chem. Phys.*, vol. 207, no. 3, pp. 342–348, 2006.
- [137] P. Camurlu, “Polypyrrole derivatives for electrochromic applications,” *RSC Adv.*, vol. 4, no. 99, pp. 55832–55845, 2014.
- [138] R. C. Borra, M. A. Lotufo, S. M. Gagioti, F. de M. Barros, and P. M. Andrade, “A simple method to measure cell viability in proliferation and cytotoxicity assays,” *Braz. Oral Res.*, vol. 23, no. 3, pp. 255–262, 2009.

## 8. ANEXOS

### 8.1. Microscopía de fuerza atómica.

En la Figura anexos 1 se muestra la micrografía AFM para el producto de la síntesis #3 de nanoestructuras de PPy. Se observa la formación de nanoestructuras de PPy quasi-esféricas con tamaños menores a los 100 nm.

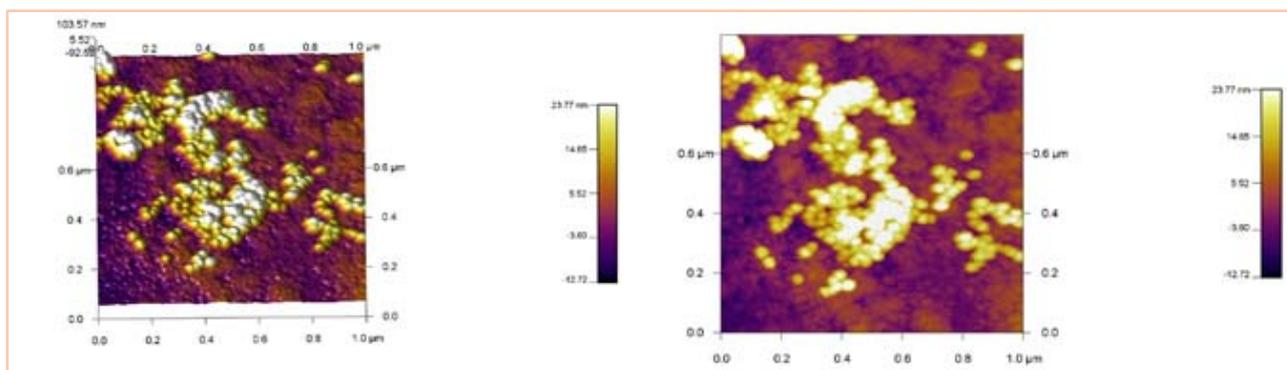


Figura anexos 1. Micrografía AFM para la síntesis 3.

### 8.2. Análisis termogravimétrico de las síntesis de PPy.

En la Figura anexos 2 se muestra los termogramas para los productos de la síntesis de las nanoestructuras de PPy. La degradación del PPy se lleva a cabo en tres etapas, la primera etapa de degradación en el intervalo 100-115°C con pérdidas de peso entre 5% y 8% se relaciona con la evaporación del agua adsorbida en la superficie del polímero conductor. La segunda etapa de degradación entre 230 y 370°C se atribuye a la pérdida de moléculas dopantes de las cadenas del PPy. La tercera etapa de pérdida de peso a temperaturas superiores a los 370°C se asocia con la degradación de las cadenas de PPy [136]. Para todos los productos de la síntesis de nanoestructuras de PPy se observaron etapas de degradación similares.

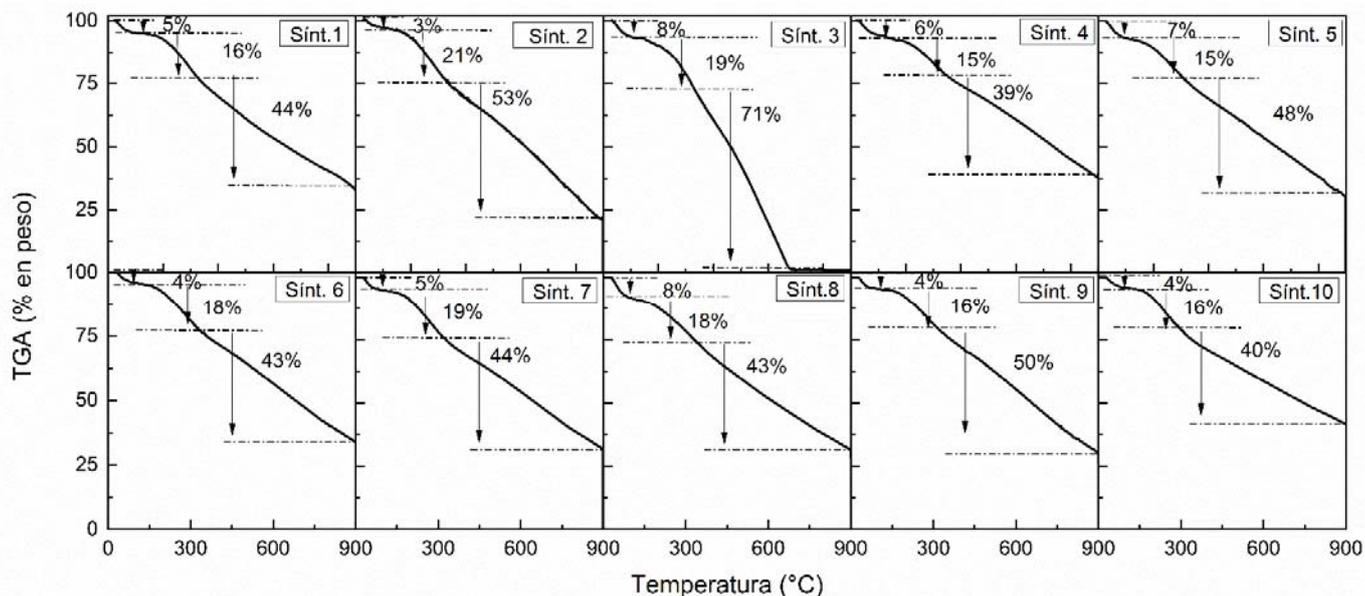


Figura anexos 2. Análisis termogravimétrico para las síntesis de las nanoestructuras de PPy.

### 8.3. Espectroscopía ultravioleta visible de las síntesis de PPy.

En la Figura 3 anexos se muestran los espectros Uv-Vis para los diferentes productos de síntesis de las nanoestructuras de PPy. En todos los casos se observa la aparición de tres bandas de absorción. La primera banda ubicada a 295 nm se asocia con las transiciones electrónicas  $\pi-\pi^*$  del PPy, la segunda banda de absorción ubicada entre 400-500 nm se atribuye a la formación del estado polarón, mientras que la banda de absorción con longitudes de onda superiores a los 650 nm se atribuye a la formación del estado bipolarón [137].

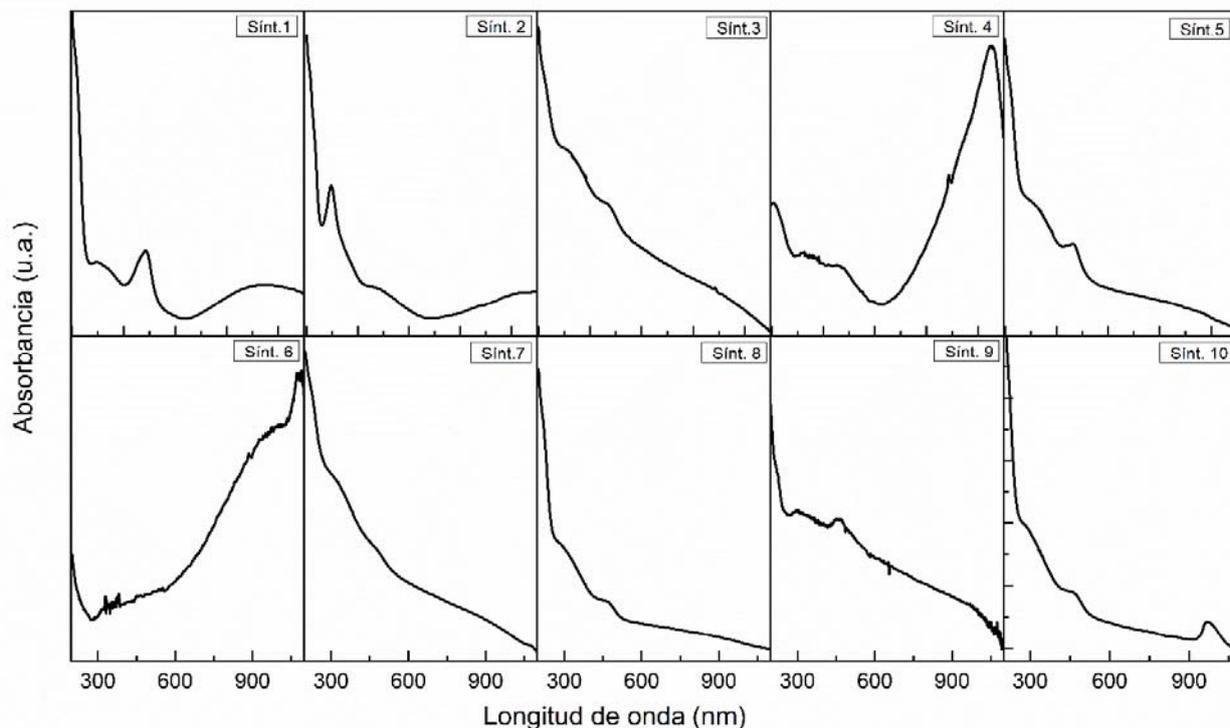


Figura anexos 3. Espectroscopía Uv-Vis para las nanoestructuras de PPy.

#### 8.4. Estudios de viabilidad celular.

La resazurina es un indicador de viabilidad celular *in vitro*. Las células mantienen un ambiente reducido en su citoplasma y mitocondria. Cuando se añade resazurina a un estudio de viabilidad *in vitro* esta es reducida a resofurina mediante la respiración aeróbica de las células metabólicamente activas. Donde las enzimas mitocondriales, portadoras de actividad diaforasas, como NADPH deshidrogenasa, son probablemente las responsables de la transferencia de electrones de NADPH + H<sup>+</sup> a resazurina para producir resofurina. Entonces es posible conocer la viabilidad celular midiendo la actividad metabólica de las células activas[138].

En la Figura anexos 4 se muestran los resultados de viabilidad celular para los hidrogeles HgA 2:1, HgAM 2:1, HgAP1 2:1 y HgAMP1 2:1. Se observó que durante las primeras 24h de incubación de los hidrogeles con los monocitos THP-1 tiene una respuesta metabólica baja para los hidrogeles HgAM 2:1, HgAP1 2:1 y

HgAMP1 2:1 con una viabilidad celular menor al 50%, mientras que para el hidrogel HgA 2:1 presenta una actividad metabólica alta con una viabilidad celular mayor al 75%, las células pueden presentar actividad metabólica baja durante las primeras 24h de incubación, sin embargo, con el transcurso del tiempo la actividad celular incrementa, tal como se presenta en nuestro caso para los hidrogeles incubados a las 48h donde incrementa la actividad metabólica celular incrementando la viabilidad celular >70%, indicando que bajo estas condiciones los geles tendrían baja toxicidad.

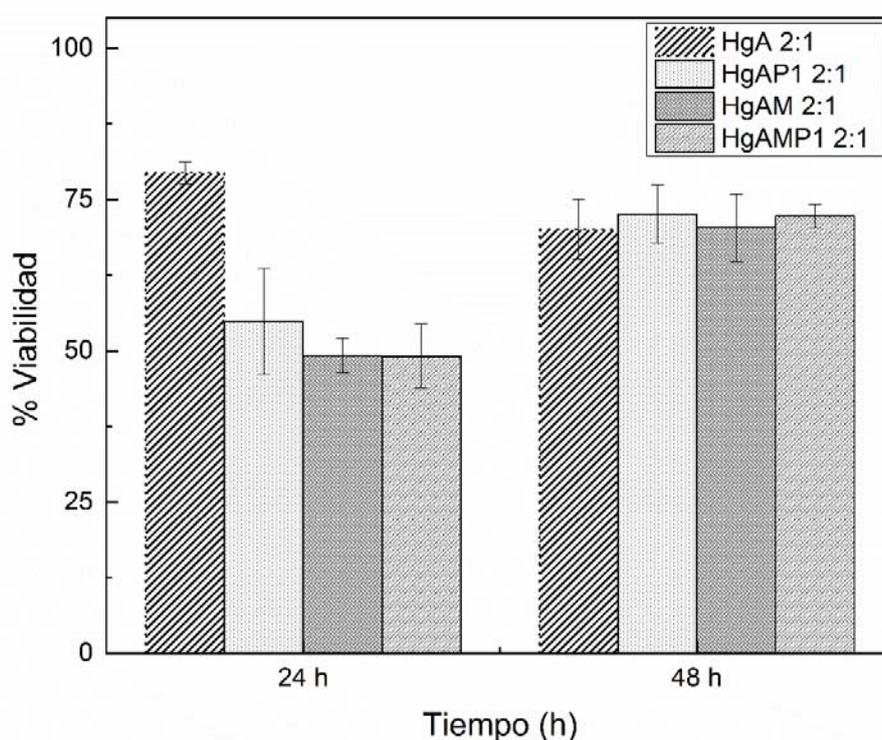


Figura anexos 4. Viabilidad celular para los hidrogeles HgA 2:1, HgAM 2:1, HgAP1 2:1 y HgAMP1 2:1.

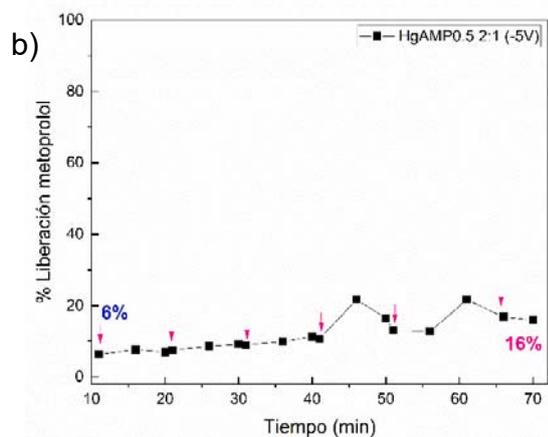
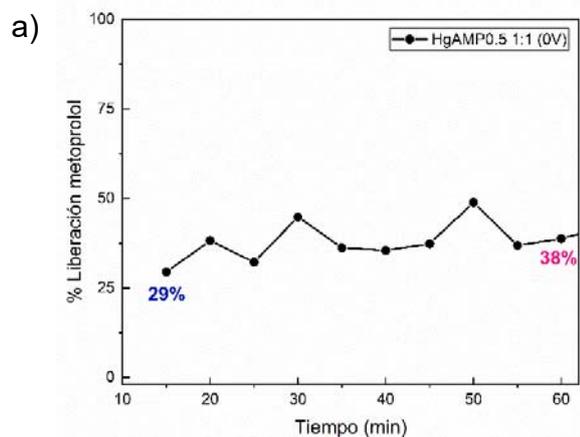
#### 8.5. Estudios de liberación de fármacos.

En la Tabla anexos 1 se especifica los detalles de las liberaciones realizadas a partir del hidrogel HgAMP0.5 2:1. Posteriormente, se incluyen las gráficas del porcentaje de liberación vs el tiempo de cada una de las liberaciones descritas en la tabla anexos 1.

Tabla anexos 1. Liberación de fármacos a partir de los hidrogeles HgAM0.5 2:1

Hidrogel	Parámetros de estudio, condiciones y resultados					
	Voltaje	Estímulo eléctrico		Fármaco	% Liberado	Condiciones especiales
		Duración	Repetición			
a. AMP0.5 2:1	0V	---	---	Metoprolol	38%	---
b. AMP0.5 2:1	-5v	30s	10 min	Metoprolol	16%	Hinchamiento 10 min
c. AMP0.5 2:1	-5v	30s	10 min	Metoprolol	36.6%	Hinchamiento 1h
d. AMP0.5 2:1	-10v	30s	10 min	Metoprolol	29% (rompe)	Hinchamiento 1h

Buffer trizma pH 7.4, T=25°C



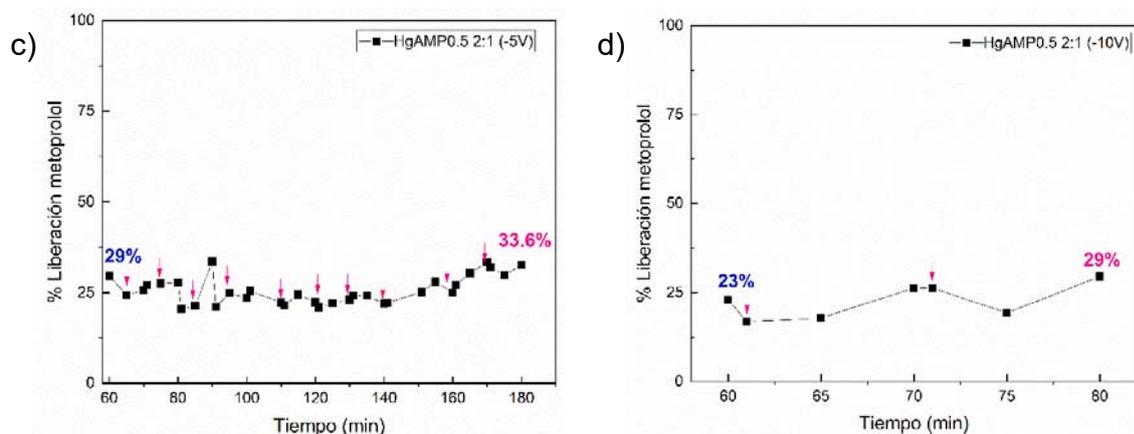


Figura anexos 5. Liberación de metoprolol a partir de los hidrogeles HgAMP0.5 2:1.

En la Tabla anexos 2 se especifica los detalles de las liberaciones realizadas a partir del hidrogel HgAMP1 2:1. Posteriormente, se incluyen las gráficas del porcentaje de liberación vs el tiempo de cada una de las liberaciones descritas en la tabla anexos 2.

Tabla anexos 2. Liberación de fármacos a partir de los hidrogeles HgAM 2:1 y HgAMP1 2:1

Hidrogel	Parámetros de estudio, condiciones y resultados					
	Voltaje	Estímulo eléctrico		Fármaco	% Liberado	Condiciones especiales
		Duración	Repetición			
e. AMP1 2:1	-3V	30s	10 min	Metoprolol	23%	Hinchamiento 1h
f. AMP1 2:1	-5V	30s	10 min	Metoprolol	27%	Hinchamiento 1h
g. AMP1 2:1	-7V	30s	10 min	Metoprolol	25%	Hinchamiento 1h
h. AMP1 2:1	-5V	30s	30 min	Metoprolol	43%	---
i. AM 2:1	-5V	30s	10 min	Metoprolol	22%	Hinchamiento 1h
j. AM 2:1	-5V	30s	30 min	Metoprolol	31%	---

**Nota:** e-j cuando se introducía el electrodo después de la gelificación de hidrogel provocaba formación de burbujas dentro del hidrogel. Esto se observó en los hidrogeles sin PPy.

k. AM 2:1	0V	---	---	Metoprolol	50%	E*
l. AM 2:1	-5V	30s	30 min	Metoprolol	50%	Hinchamiento 30 min, E*
ll. AMP1 2:1	0V	---	---	Metoprolol	50%	E*
m. AMP1 2:1	-5V	30s	30 min	Metoprolol	40%	Hinchamiento 30 min, E*
n. AMP1 2:1	-5V	30s	Al inicio	Metoprolol	66%	E*
ñ. AMP1 2:1	-5V	1 min	Al inicio	Metoprolol	47%	E*
o. AMP1 2:2	-5V	1 min	Al inicio	Metoprolol	73%	E* **
p. AMP1 2:1	0V	---	---	Ácido salicílico	76%	E*
p. AMP1 2:1	-5V	30s	Al inicio	Ácido salicílico	82%	E*
q. AMP1 2:1	-0.5V	Constante	---	Metoprolol	44%	E*
q. AMP1 2:1	-1V	Constante	---	Metoprolol	40%	E*
q. AMP1 2:1	+1V	Constante	---	Metoprolol	48%	E*
r. AMP1 2:1	-1V	Constante	---	Metronidazol	75%	E* ***
r. AMP1 2:1	0V	Constante	---	Metronidazol	75%	E* ***

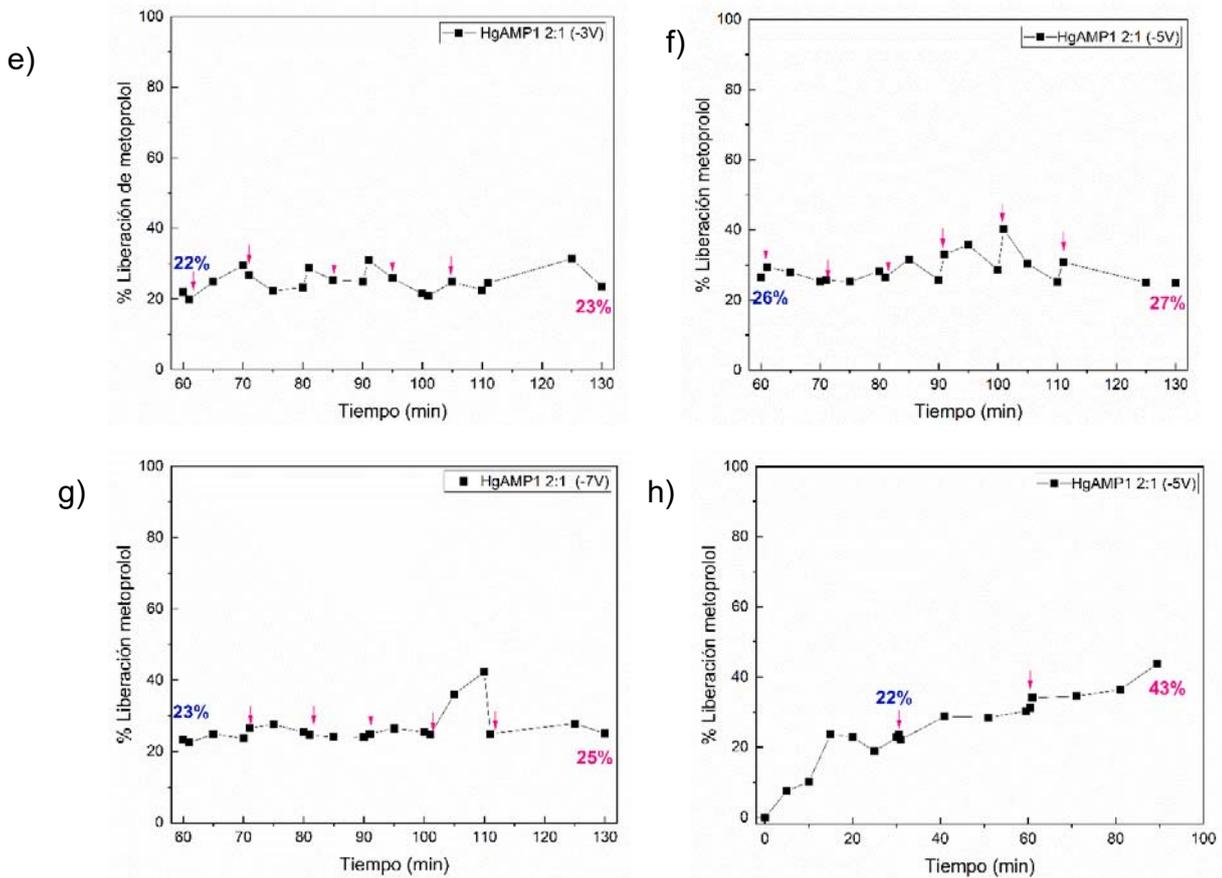
r. AMP1	+1V	Constante	---	Metronidazol	75%	E*
2:1						***
s. AMP20	-5V	1 min	30 min	Metoprolol	38%	E*
2:1						

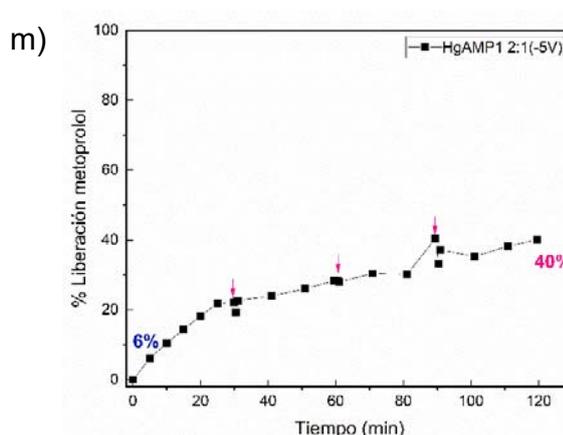
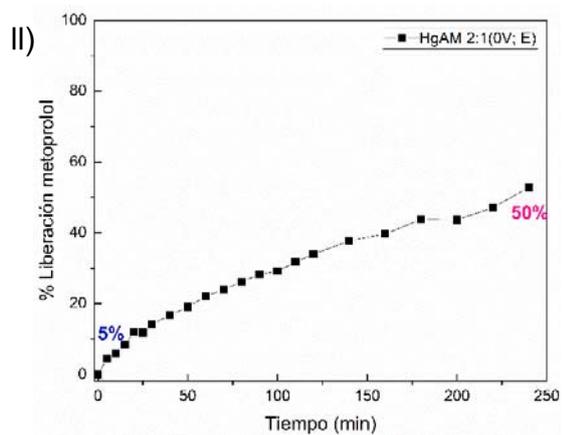
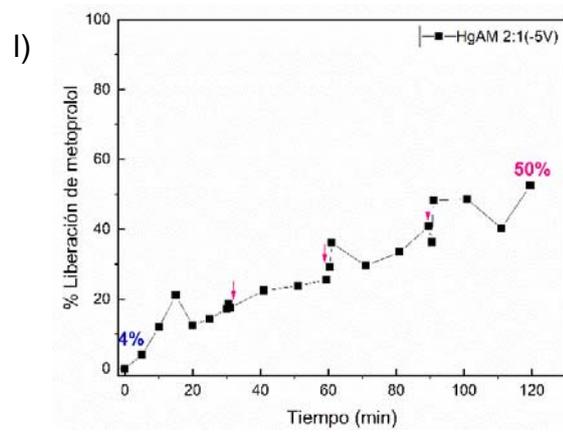
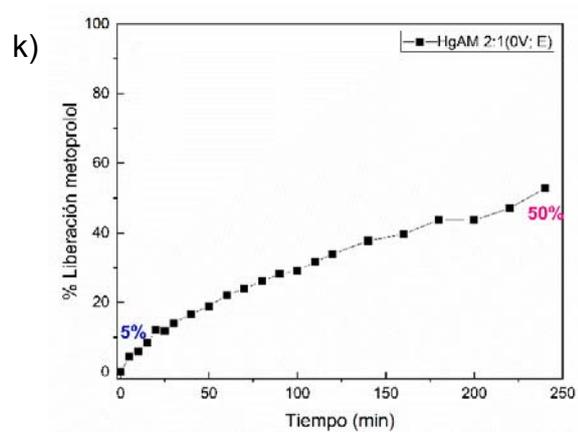
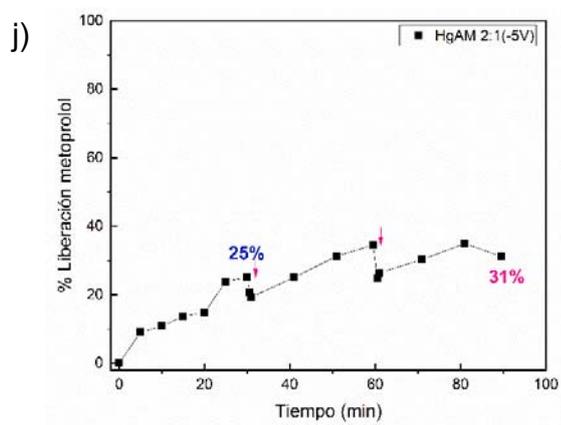
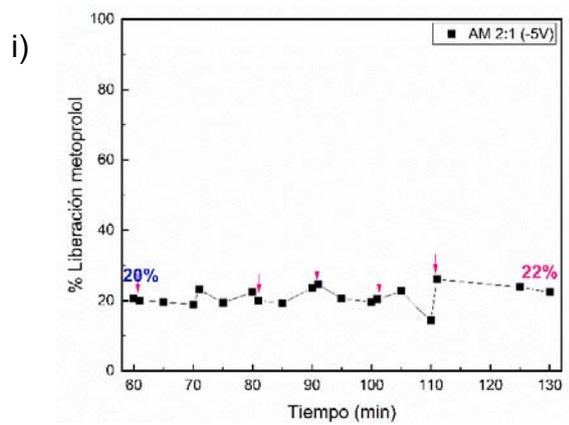
Los estudios de liberación se realizaron en Buffer trizma a pH 7.4 y T=25°C.

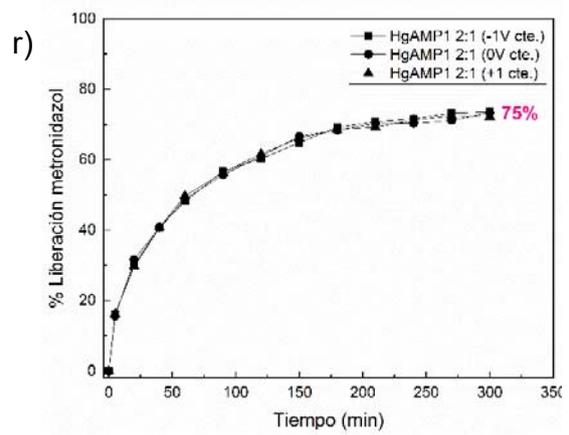
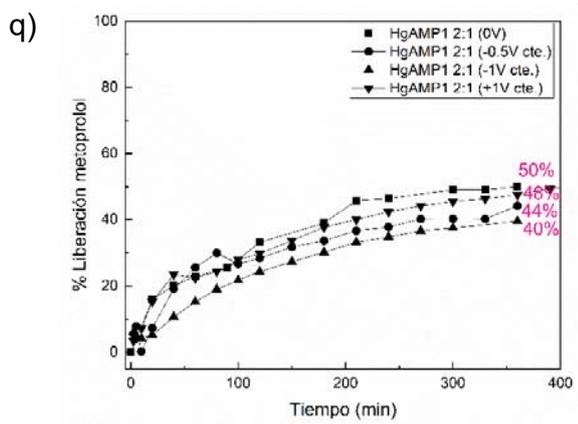
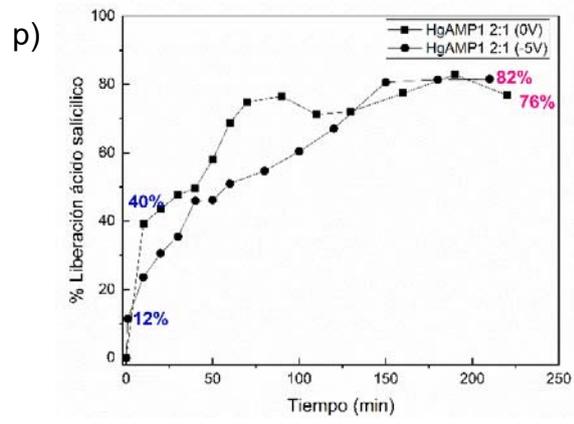
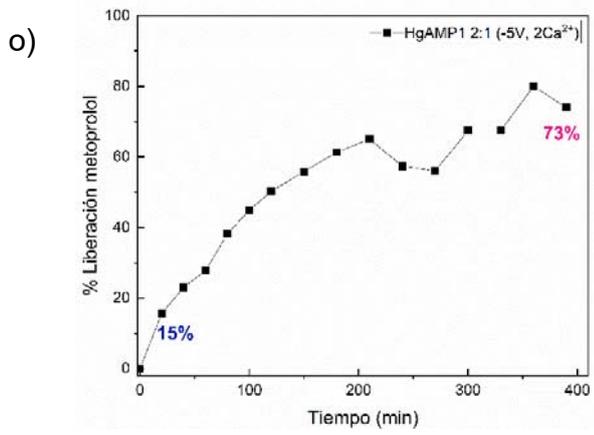
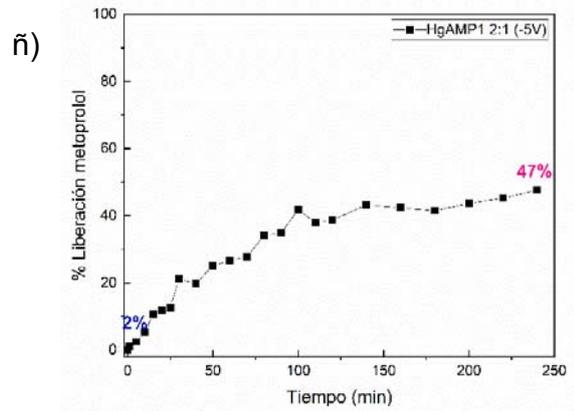
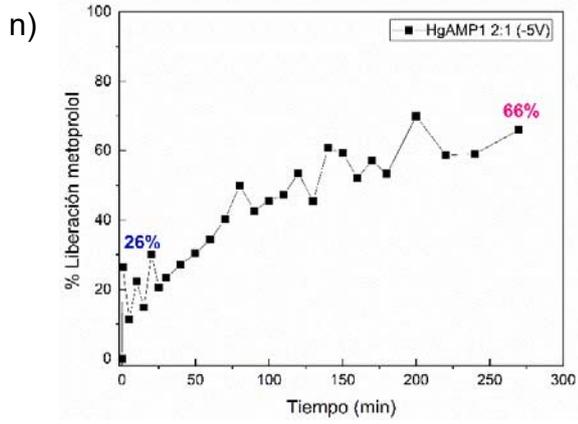
E\*= Introducción del electrodo Pt previo a la gelificación del hidrogel.

\*\* = Incremento al doble de la concentración de calcio.

\*\*\*= El pH de estudio fue 4.5 en solución buffer citrato.







s)

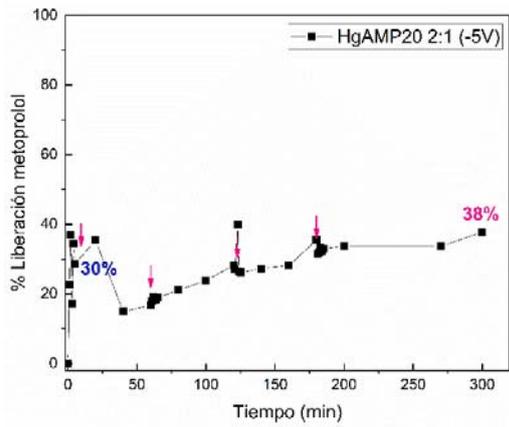


Figura anexos 6. Liberación de metoprolol a partir de los hidrogeles HgAM 2:1 y HgAMP1 2:1.

## 9. ANEXOS II

### 9.1 Publicaciones científicas

**Quevedo-Robles, R. V.**, Grijalva-Bustamante, G. A., del Castillo-Castro, T., Castillo-Ortega, M. M., Rodríguez-Félix, D. E., Ceniceros, T. E. L., & Saucedo, I. S. (2019). *Novel electroconducting polypyrrole/carbon nanotube/alginate nanocomposites synthesized by hydrogen peroxide-mediated emulsion pathway*. *Synthetic Metals*, 253, 100-109.

Grijalva-Bustamante, G. A., **Quevedo-Robles, R. V.**, del Castillo-Castro, T., Castillo-Ortega, M. M., Encinas, J. C., Rodríguez-Félix, D. E., ... & Armenta-Villegas, L. (2020). *A Novel Bile Salt-Assisted Synthesis of Colloidal Polypyrrole Nanoparticles*. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 124961.

Durazo-Bustamante, B. A., **Quevedo-Robles, R. V.**, Inoue, M., Ramirez, J. Z., Santacruz, H., Navarro, R. E., & Machi, L. (2017). *New DTPA-derived bis-naphthalenophanes: fluorescence, protonation, and complexation with aromatic amines*. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 89(1-2), 157-166.



## Novel electroconducting polypyrrole/carbon nanotube/alginate nanocomposites synthesized by hydrogen peroxide-mediated emulsion pathway



R.V. Quevedo-Robles<sup>a</sup>, G.A. Grijalva-Bustamante<sup>a</sup>, T. del Castillo-Castro<sup>a,\*</sup>, M.M. Castillo-Ortega<sup>a</sup>, D.E. Rodríguez-Félix<sup>a</sup>, Tania E. Lara Ceniceros<sup>b</sup>, R. Mayen-Mondragon<sup>c</sup>, I. Santos Saucedo<sup>d</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales, Universidad de Sonora, CP 83000, Hermosillo, Sonora, Mexico

<sup>b</sup> Advanced Functional Materials & Nanotechnology Group, Centro de Investigación en Materiales Avanzados S. C. (CIMAV-Unidad Monterrey), Alamosa Norte 202, PITT, CP 66628, Apodaca, Nuevo León, Mexico

<sup>c</sup> Pola Universitario de Tercera Generación, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, CP 66629, Apodaca, Nuevo León, Mexico

<sup>d</sup> Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, CP 76230, Santiago de Querétaro, Querétaro, Mexico

### ARTICLE INFO

**Keywords:**  
Polypyrrole  
Emulsion polymerization  
Nanocomposites  
Carbon nanotubes

### ABSTRACT

The development of Green-based methods for preparing polypyrrole (PPy)-containing materials with optimal electroactivity still remains a challenge. We herein report a new green approach for the preparation of PPy/carbon nanotube/alginate multifunctional nanocomposites through H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oxidation in micellar medium. The polymerization conditions were systematically varied to optimize the reaction yield and the material electroconductivity. The pre-polymerization emulsion system was studied by contact angle measurements and dynamic light scattering. The results of zeta potential characterization, field-emission scanning electron and atomic force microscopy, Fourier-transform infrared spectroscopy, X-ray photoelectron spectroscopy, and electrochemical impedance spectroscopy are discussed in detail, and a consistent mechanism for the nanocomposite formation is proposed. Interestingly, the synergistic combination of pristine carbon nanotubes and the alginate improves the conductivity and stability of PPy-based colloids. Furthermore, a metoprolol-loaded platform, obtained by the confinement of the synthesized nanocomposite into an alginate network, revealed a cumulative release lesser than 10% after five hours of delivery under passive conditions. This behavior seems to be promising to overcome the undesired burst release in stimulus-controlled drug delivery.

### 1. Introduction

Conducting polymers (CP) have been widely applied in batteries [1,2], sensors [3,4], bioanalytical devices [5], artificial muscles [6,7], scaffolds [8,9] and drug delivery systems [10,11]. Polypyrrole (PPy) is a well-known member of the CP family owing to its electroactivity, environmental stability and biocompatibility with several cell types [12,13]. The electrical properties of PPy-based materials can be engineered by chemical and/or physical modifications as well as through their preparation conditions. Chemical polymerization allows large-scale production of PPy and it is typically initiated by common oxidants such as FeCl<sub>3</sub>, KMnO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>CrO<sub>7</sub>, which remain associated to the PPy backbone even after purification process [14–16]. Furthermore, the entrapped ions from the oxidants and their toxic by-products may be harmful for a cellular environment, restraining the potential of the

synthesized PPy in biomedical uses.

Environmental friendly approaches have been explored for synthesizing nontoxic PPy using H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> as a green oxidant since the by-product of its redox reaction is just water [17,18]. The H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is thermodynamically capable of oxidizing Py but the kinetic limitations disfavor this reaction [19]. Consequently, these H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-mediated polymerizations are typically activated by enzymes [20–22], inorganic ferric compounds [23–25] and V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> fibers [26], among other catalyst systems.

The soft-template polymerization may avoid the common practice of using some toxic catalyst to activate the kinetics of pyrrole polymerization with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [27–29]. The surfactant molecules provide a confinement effect that controls the nucleating sites, growth and stabilization of polymer particles. Moreover, the emulsion technique allows the production of nanosized polymer particles, which improves the processability, the morphology control and the stability of PPy in

\* Corresponding author.

E-mail address: [terecat@polimeros.uson.mx](mailto:terecat@polimeros.uson.mx) (T. del Castillo-Castro).

<https://doi.org/10.1016/j.synmet.2019.05.006>

Received 14 March 2019; Received in revised form 18 April 2019; Accepted 11 May 2019

Available online 20 May 2019

0379-6779/ © 2019 Elsevier B.V. All rights reserved.



## A novel bile salt-assisted synthesis of colloidal polypyrrole nanoparticles



G.A. Grijalva-Bustamante<sup>a</sup>, R.V. Quevedo-Robles<sup>a</sup>, T. del Castillo-Castro<sup>a,\*</sup>,  
M.M. Castillo-Ortega<sup>a</sup>, J.C. Encinas<sup>a</sup>, D.E. Rodríguez-Félix<sup>a</sup>, T.E. Lara-Ceniceros<sup>b</sup>,  
D. Fernández-Quiroz<sup>c</sup>, J. Lizardi-Mendoza<sup>d</sup>, L. Armenta-Villegas<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales, Universidad de Sonora, 83000, Hermosillo, Sonora, México

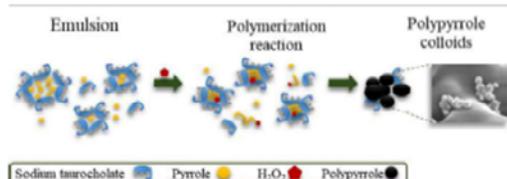
<sup>b</sup> Advanced Functional Materials & Nanotechnology Group, Centro de Investigación en Materiales Avanzados S. C. (CIMAV-Unidad Monterrey), Alamosa Norte 202, PBT, 66628, Apodaca, Nuevo León, México

<sup>c</sup> Departamento de Ingeniería Química y Metalurgia, Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora 83000, México

<sup>d</sup> Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Grupo de Investigación en Biotecnología, Hermosillo, Sonora 83304, México

<sup>e</sup> Departamento de Ciencias Químico Biológicas, Universidad de Sonora, 83000, Hermosillo, Sonora, México

## GRAPHICAL ABSTRACT



## ARTICLE INFO

## Keywords:

Polypyrrole  
Bile salt  
Sodium taurocholate  
Emulsion synthesis  
Colloidal nanoparticles

## ABSTRACT

We report, for the first time, the use of a bile salt, the sodium taurocholate (Tch), as a surface-active agent in the emulsion synthesis of electroactive polypyrrole (PPy) nanoparticles. PPy was obtained under mild and environmentally friendly conditions, using hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) as a green oxidant. The combined addition of a non-ionic surfactant, Tween 20 (Tw), was also studied. The electrical, structural, morphological, and colloidal properties of reaction products were analyzed in detail to find the best conditions of synthesis. The pre-polymerization emulsion systems were studied by osmometric measurements, isothermal titration calorimetry (ITC), and dynamic light scattering (DLS). A consistent mechanism of nucleation and growth of PPy colloids is proposed. The Tch acts as an emulsifier of the reaction media, a doping agent of oxidized chain of PPy, and a stabilizer of the resulting colloids. The main advantage of this work is the preparation of polymer colloids through a completely green alternative route, which could open up new possibilities for obtaining nanoparticles through an effective and non-toxic method.

## 1. Introduction

Electroconducting polymers (CPs) are organic materials that show

similarity to metals and inorganic semiconductors, based on their electrical, magnetic, and optical properties [1,2]. The evaluation of CPs in the biomedicine field has been increasing in recent years, supported

\* Corresponding author.

E-mail address: [terecat@polimeros.uson.mx](mailto:terecat@polimeros.uson.mx) (T. del Castillo-Castro).

<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.124961>

Received 30 March 2020; Received in revised form 2 May 2020; Accepted 4 May 2020

Available online 11 May 2020

0927-7757/© 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

## New DTPA-derived bis-naphthalenophanes: fluorescence, protonation, and complexation with aromatic amines

Blanca A. Durazo-Bustamante<sup>1</sup> · Reina Vianey Quevedo-Robles<sup>1</sup> · Motomichi Inoue<sup>1</sup> · Jose-Zeferino Ramirez<sup>1</sup> · Hisila Santacruz<sup>1</sup> · Rosa Elena Navarro<sup>1</sup> · Lorena Machi<sup>1</sup> 

Received: 21 March 2017 / Accepted: 26 July 2017 / Published online: 1 August 2017  
© Springer Science+Business Media B.V. 2017

**Abstract** Two fluorescent, water-soluble bis-naphthalenophane isomers with six carboxylate arms, abbreviated as (bis-dtpa14nap)H<sub>6</sub> and (bis-dtpa15nap)H<sub>6</sub>, were synthesized, which consist of two 1,4- or 1,5-substituted naphthalene rings interlinked by two diethylenetriaminepentaacetic (DTPA) chains through amide-linkages. Both DTPA-based macrocycles exhibit intense excimer and monomer emission bands, which sensitively respond to pH in three protonation steps; more sensitive is the 1,4-naphthyl isomer. The full pH-emission profiles have confirmed that the mono-protonated anion (bis-dtpanap)H<sub>4</sub><sup>-</sup> is the major protonation species at the physiological pH. Fluorometric titrations at pH 7.2 have proven that the 1,4-naphthalenophane anion forms 1:1-complexes with cationic phenethylamine (formation constant, 5700 M<sup>-1</sup>) and histamine (3000 M<sup>-1</sup>), excluding tryptamine cation, whereas the 1,5-isomer does not react with any of the three amines. The primary binding forces are electrostatic interactions between the CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub><sup>-</sup> arms of 1,4-naphthalenophane and the CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>3</sub><sup>+</sup> chain of an aromatic amine. The resulting ion-pair is stabilized by encapsulation of the guest molecule in 1,4-naphthalenophane cavity, while the 1,5-isomer cannot encapsulate. NMR studies have demonstrated that 1,4-naphthalenophane has a higher freedom in reorientation of naphthalene rings. Such geometrical properties controlled by selection of naphthalene units are the feature of the new naphthalenophanes,

and are responsible for the pH-emission profiles and the complexation.

**Keywords** Fluorescent chemosensors · Protonation · Inclusion complexes · Macrocycles · Aromatic amines

### Introduction

Fluorescent cyclophanes, consisting of fluorophore units linked together through suitable bridging chains or spacer groups, have been proven to be a good choice for molecular recognition and ion-sensing [1–16]. Especially, water-soluble fluorescent cyclophanes attract a great deal of interest because of their potential application as sensors in biological media. In the molecular design of fluorescent cyclophanes, the cavity size, as well as the fluorogenic properties exhibited by these systems, can be tuned by varying the fluorophore moieties, the bridging units or the spacer groups. The aromatic moieties confer to cyclophanes a hydrophobic cavity capable of encapsulating specific guests, but the hydrophobicity reduces the water solubility of the molecule to limit the use in physiological conditions. A series of chelating, water-soluble, fluorescent aza-cyclophanes have been synthesized by reactions between aromatic diamines and EDTA (ethylenediaminetetraacetic) or DTPA (diethylenetriaminepentaacetic) dianhydride in our research group; aromatic units linked by amino and amide chains construct a macrocyclic frame, and pendant carboxylate arms enhance water-solubility [8–12]. One of the features of this type of fluorescent macrocycles is that potential binding sites for protonation and complexation are integrated within the macrocyclic frame so that direct influences on geometrical relation between the fluorogenic groups result in sensitive and novel

**Electronic supplementary material** The online version of this article (doi:10.1007/s10847-017-0742-4) contains supplementary material, which is available to authorized users.

 Lorena Machi  
lmachi@polimex.uson.mx

<sup>1</sup> Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales, Universidad de Sonora, 83000 Hermosillo, SON, Mexico

## 9.2 Participación en congresos

R.V. Quevedo-Robles<sup>1\*</sup>, L. Chan-Chan<sup>2</sup>, T. del Castillo Castro<sup>1</sup>.

Poster: “Hidrogel híbridos electroconductores de alginato de sodio y polipirrol utilizados para la liberación controlada de metoprolol”.

XXIV Reunión Universitaria de Investigación en Materiales.

Lugar: Hermosillo, Sonora, México.

Fecha: 06 al 08 de noviembre 2019.

Reina Vianey Quevedo Robles, Teresa del Castillo Castro.

Poster: "Hidrogeles electroconductores de polipirrol nanoestructurado y alginato de sodio utilizados para la liberación de metoprolol".

XIII Coloquio Bienal en Ciencia de Materiales: Desafíos en salud y ambiente.

Lugar: Hermosillo, Sonora, México.

Fecha: 03 al 05 de abril 2019.

Reina Vianey Quevedo Robles, Teresa del Castillo Castro, María Mónica Castillo Ortega, Tania E. Lara Cenicerros

Poster: "Síntesis en emulsión de nanopartículas de polipirrol mediante química verde".

XXXI CONGRESO NACIONAL DE LA SOCIEDAD POLIMÉRICA DE MÉXICO, A.C.

Lugar: Puebla, Puebla, México.

Fecha: 14 al 18 octubre 2018.

R.V. Quevedo-Robles, M.M. Castillo-Ortega, T.E. Lara Cenicerros, T. del Castillo Castro.

poster: "Síntesis en emulsión de nanopartículas de polipirrol mediante química verde".

XXIII Reunión Universitaria de Investigación en Materiales.

Lugar: Hermosillo, Sonora, México

Fecha: 28 al 30 de noviembre 2018.

Reina Vianey Quevedo Robles, Teresa del Castillo Castro, María Mónica Castillo Ortega.

Poster: "A Novel Green Method for the Synthesis of Polypyrrole/Alginate/Carbon Nanotube Composites".

XXX Congreso Nacional de la Sociedad Polimérica de México A.C./ 4th US-Mexico Symposium on Advances in Polymer Science.

Lugar: Los cabos, Baja California, México.

Fecha: 03 al 07 de diciembre 2017.

R.V. Quevedo-Robles, T. del Castillo-Castro, M.M. Castillo-Ortega.

Poster: "A Novel Green Method for the Synthesis of Polypyrrole/Alginate/Carbon Nanotube Composites".

XXII Reunión Universitaria de Investigación en Materiales.

Lugar: Hermosillo, Sonora, México.

Fecha: 22 al 24 noviembre 2017.

Reina Vianey Quevedo Robles, Teresa del Castillo Castro.

Poster: "Síntesis de polipirrol mediante química verde".

XII Coloquio Bienal en Ciencia de Materiales.

Lugar: Hermosillo, Sonora, México

Fecha: 08 al 10 de marzo de 2017.

R.V. Quevedo-Robles, T. del Castillo-Castro.

Poster: "Síntesis de polipirrol mediante química verde".

XXI Reunión Universitaria de Investigación en Materiales.

Lugar: Hermosillo, Sonora, México

Fecha: 30 de noviembre al 01 de diciembre de 2016

**SPM** Sociedad Polimérica de México A. C. **BUAP**

**El Comité del Congreso Nacional SPM 2018**

Reconoce como Mejor Presentación en la Modalidad de Cartel  
en la sesión Síntesis de Polímeros

*Síntesis en emulsión de nanopartículas de polipirrol  
mediante "química verde"*

Presentada por  
**Reina Vianey Quevedo Robles, Teresa del Castillo Castro,  
María Mónica Castillo Ortega y Tania E. Lara Cenicerros**

  
Dr. José Bonilla Cruz  
Presidente de la SPM

  
Dra. Judith Percino Zacarías  
Co-organizador - BUAP

**14-18 de Octubre de 2018, Puebla, Puebla.**

**XXXI CONGRESO NACIONAL DE LA SOCIEDAD POLIMERICA DE MEXICO, A.C.**