



"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"

# UNIVERSIDAD DE SONORA

---

---

**DIVISIÓN DE INGENIERÍA**

**DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA  
Y METALURGIA**

**ESTUDIO DE LA LIBERACION DE AMOXICILINA A  
PARTIR DE HIDROGELES COMPUESTOS DE  
POLIACRILAMIDA Y POLIANILINA**

Tesis

Que para obtener el título de:

**INGENIERO QUÍMICO**

Presenta

**Francisco Ismael Ortega Velázquez**

Hermosillo, Sonora

Mayo 2014

# 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

## Contenido

Lista de Figuras.....	iv
Lista de Tablas.....	v
Resumen.....	vi
I. Introducción y Objetivos.....	1
1.1 Justificación.....	2
1.2 Objetivos.....	3
II. Antecedentes.....	4
2.1 Polímeros electroconductores.....	4
2.2 Polianilina.....	7
2.3 Aplicaciones de la polianilina.....	12
2.4 Hidrogeles.....	15
2.5 Expansión en la estructura de un hidrogel.....	17
2.6 Capacidad de hinchamiento de los hidrogeles.....	20
2.7 Mecanismo de hinchamiento.....	22
2.8 El agua en los hidrogeles.....	24
2.9 Hidrogeles de poliacrilamida.....	25
2.10 Hidrogeles electroconductivos.....	26
2.11 Amoxicilina.....	29
III. Metodología.....	31
3.1 Materiales.....	31
3.2 Métodos.....	32
3.2.1 Síntesis de PANI.....	32
3.2.2 Cargado de amoxicilina en la suspensión de PANI (PANI-amoxicilina).....	32
3.2.3 Incorporación del sistema PANI-amoxicilina a hidrogeles de PAAm (PAAm/PANI-amoxicilina).....	33
3.2.4 Estudio de la cinética de liberación del fármaco desde los hidrogeles compuestos PAAm/PANI-amoxicilina frente a soluciones búfer.....	35
IV. Resultados y Discusión.....	36
V. Conclusiones.....	44
VI. Anexos.....	45
6.1 Preparación de amoxicilina sódica.....	45
6.2 Preparación de soluciones búfer.....	45
Referencias Bibliográficas.....	47



## Lista de Figuras

Figura		Página
1	Representación esquemática de la Teoría de Bandas en materiales aislantes eléctricos, semiconductores y conductores.....	5
2	Representación de la unidad repetitiva de la PANI.....	7
3	Estructura de la PANI en su forma de emeraldina base, $(1-y)=0.5$ ....	7
4	Mecanismo de polimerización de la anilina.....	8
5	Formas aislante y conductora de la PANI.....	9
6	Imágenes por microscopía electrónica de transmisión de estructuras de PANI. obtenidas mediante la síntesis en presencia del ácido L-glutámico.....	11
7	Representación de una polimerización en dispersión inversa.....	17
8	Representación de los procesos de entrecruzamientos químicos y físicos de un hidrogel.....	18
9	Representación de las fuerzas involucradas en el proceso de hinchamiento de un hidrogel.....	20
10	Representación de las diferentes estructuras en los hidrogeles.....	21
11	Cinética de hinchamiento para diferentes grados de entrecruzamiento.....	23
12	Diferentes tipos de agua en la estructura del hidrogel.....	23
13	Estructura de la PAAm.....	24
14	Estructura de la amoxicilina.....	28
15	Esquema del proceso de preparación del hidrogel compuesto PAAm/PANI-amoxicilina.....	33
16	Cinética de liberación de amoxicilina a 37°C frente a los pH de 5, 7 y 9, desde los hidrogeles 58:1, 58:2 y 58:3.....	36
17	Repetición de la cinética de liberación de amoxicilina a 37°C desde el hidrogel 58:1, frente a pH de 5, 7 y 9.....	37
18	Cinética de liberación de amoxicilina a 37°C para los hidrogeles 58:1, 58:2 y 58:3 en función del pH de 5, 7 y 9.....	38
19	Cinética de liberación de amoxicilina para el hidrogel 58:2 a 25 y 37°C frente a pH de 5, 7 y 9.....	41
20	Cinética de liberación de amoxicilina a 37°C para los hidrogeles 58:2 y 58:2 (sin PANI) frente a pH de 5, 7 y 9.....	42

## Lista de Tablas

Tabla		Página
I	Concentraciones y volúmenes de materiales para la preparación de los hidrogeles compuestos PAAm/PANI-amoxicilina.....	34



## Resumen

Los materiales compuestos obtenidos de la combinación de hidrogeles y polímeros electroconductores se consideran estructuras de gran interés dentro del área biomédica. Estos materiales conservan las propiedades electroconductoras que proporciona el polímero electroconductor y la capacidad de adsorción/desorción de grandes volúmenes de agua característica del hidrogel.

En el presente trabajo se sintetizó polianilina (PANI) coloidal mediante una síntesis química en presencia del ácido L-glutámico. Las estructuras de PANI fueron cargadas con amoxicilina, un antibiótico de amplio espectro usado para infecciones bacterianas. Seguidamente se llevó a cabo la incorporación del sistema PANI-amoxicilina en hidrogeles de poliacrilamida (PAAm) mediante la adición de una porción de la suspensión coloidal del polímero electroconductor cargado con el fármaco durante el proceso de formación del hidrogel. La cinética de liberación del medicamento desde el material compuesto fue estudiada *in vitro* frente a soluciones búfer.

Los resultados mostraron que la cinética de liberación y la cantidad de medicamento máxima liberada puede ser controlada en función del pH del medio de liberación, la proporción del entrecruzante usado en el hidrogel, la temperatura y la forma de incorporación del medicamento en la matriz.

Se obtuvo un 98% de liberación del medicamento cuando se utilizó una proporción de monómero:entrecruzante de 58:2 en la preparación del hidrogel, un pH del medio de liberación de 9 y una temperatura controlada de 37°C, lo que evidenció la potencialidad del sistema en la liberación controlada del fármaco.



## I. Introducción y Objetivos

Entre los materiales con potencialidad de aplicación en la liberación controlada de fármacos se encuentran los polímeros electroconductores (PEs) que se caracterizan por presentar una alta conjugación en sus cadenas, lo que determina sus inusuales propiedades electrónicas: transiciones ópticas de baja energía, bajos valores de potencial de ionización y alta electroafinidad [1-3].

Dentro del uso biomédico, la relevancia de los PEs está determinada por su capacidad de incorporar y/o liberar moléculas biológicas de manera controlada, la capacidad de transferir carga de reacciones bioquímicas y la posibilidad de manipular sus propiedades eléctricas, físicas y químicas según los requerimientos de la aplicación específica a la que se destinen [4,5].

Por otro lado, los hidrogeles son materiales que presentan características interesantes para la industria farmacéutica. Estos materiales son una clase de polímeros reticulados que, debido a su naturaleza hidrofílica, pueden absorber grandes cantidades de agua. En general, los hidrogeles presentan propiedades físicas y químicas adecuadas para su uso como sistemas de liberación controlada de fármacos, así como buena estabilidad mecánica en su estado hinchado que los hace factibles en esta aplicación [6,7].

Los materiales compuestos obtenidos de la combinación de hidrogeles y PEs, se consideran estructuras de gran interés en usos específicos como dispositivos actuadores mecánicos (músculos artificiales) y los ya mencionados sistemas de liberación controlada de medicamentos. Estos materiales compuestos pueden combinar las propiedades electroconductoras y de intercambio iónico que proporciona el PE, y la capacidad de adsorción/desorción de grandes volúmenes de agua; característica del hidrogel. Esto último en función de las condiciones a las que estén expuestos (hidratación o deshidratación) [8].



Relacionado con el tema de investigación descrito, en el presente trabajo se preparó un material compuesto usando como matriz un hidrogel de poliacrilamida (PAAm), al que se le incorporaron coloides de polianilina (PANI) previamente cargados con un antibiótico de amplio espectro, la amoxicilina. Lo anterior se realizó con la finalidad de estudiar la cinética de liberación del medicamento frente a soluciones búfer evaluando el efecto del pH, la proporción del entrecruzante usado en el hidrogel, la temperatura y forma de incorporación del medicamento a la matriz.

## **1.1 Justificación**

En el área de la medicina se ha presentado gran auge en la aplicación de sistemas de liberación prolongada de fármacos, ya que ello resulta una alternativa real a las nuevas formas de medicación que persiguen prolongar el tiempo que la dosis terapéutica está presente de forma efectiva utilizando una única dosis, y eliminar o minimizar las concentraciones que exceden los requerimientos terapéuticos. Para ello se han realizado investigaciones en el área de materiales, con la finalidad de desarrollar nuevos materiales o la conjunción de ellos, que permitan el acarreo y liberación del fármaco de forma prolongada.

En la actualidad, numerosos materiales poliméricos son evaluados como acarreadores de fármacos, donde la cinética de liberación del medicamento queda determinada por el mecanismo de degradación del polímero en el medio biológico [9].

A diferencia del caso anterior, los sistemas “estímulo-respuesta” basados en PEs o hidrogeles, son capaces de responder a una señal externa, estímulo eléctrico o cambio de pH, por lo que resultan de especial interés para la comunidad biomédica en determinadas aplicaciones donde se requiere el control a largo plazo de la administración de fármacos, en dosis periódicas y precisas.



## 1.2 Objetivos

### Objetivo general

Preparar materiales formados por coloides de polianilina cargados con amoxicilina e incorporados a un hidrogel de poliacrilamida y estudiar el proceso de liberación del medicamento.

### Objetivos particulares

- Sintetizar químicamente polianilina coloidal en presencia del ácido L-glutámico.
- Incorporar amoxicilina en las partículas coloidales de polianilina.
- Preparar sistemas compuestos a partir de la incorporación de los coloides de polianilina cargados con amoxicilina a un hidrogel de poliacrilamida.
- Estudiar la cinética de liberación *in vitro* de la amoxicilina a partir del sistema polimérico (poliacrilamida/polianilina), frente a soluciones búfer de diferente pH.
- Evaluar el efecto de la proporción de entrecruzante en el hidrogel sobre la cinética de liberación de la amoxicilina.
- Evaluar el efecto de la temperatura sobre la cinética de liberación de la amoxicilina.

## II. Antecedentes

### 2.1 Polímeros electroconductores

Los PEs son compuestos que conducen corriente eléctrica sin tener una banda electrónica parcialmente vacía o parcialmente llena. Los polímeros electroconductores presentan una cadena con electrones  $\pi$  deslocalizados, los cuales son los responsables de sus inusuales propiedades electrónicas tales como su conductividad eléctrica, transiciones ópticas de baja energía, bajo potencial de ionización y alta electroafinidad [1-3].

La conductividad eléctrica de los PEs no puede ser explicada de manera simple por la teoría de bandas, que se utiliza para explicar algunos de los fenómenos electrónicos en estos polímeros orgánicos.

La teoría clásica de bandas del estado sólido considera el traslape de la energía de los orbitales atómicos de cada átomo, con los orbitales de sus átomos vecinos en todas direcciones para producir orbitales moleculares. En moléculas pequeñas de un sólido, el número de orbitales atómicos es alrededor de  $10^{22} \text{ cm}^{-3}$  y por lo tanto el número de orbitales moleculares será de  $10^{22} \text{ cm}^{-3}$ . Cuando las energías de muchos orbitales se superponen al mismo tiempo en un intervalo dado de energías, forman bandas continuas de energía. El espacio de energía entre la banda más alta ocupada y la más baja desocupada es llamado intervalo de banda o banda prohibida (*bandgap*). La banda más alta ocupada es llamada banda de valencia y la banda más baja desocupada es la banda de conducción, como se muestra en la Figura 1 [10].

Según la teoría clásica de bandas del estado sólido, las propiedades eléctricas de materiales convencionales dependen de cómo son llenadas las bandas de energía. Cuando las bandas energéticas están llenas o vacías, no ocurre conducción eléctrica. Si el intervalo de banda es estrecho, la excitación térmica de los electrones de la banda de valencia a la banda de conducción proporciona



conductividad a temperatura ambiente. Esto es lo que ocurre en semiconductores clásicos. Cuando el intervalo de banda supera los 2 eV, la excitación térmica a temperatura ambiente es insuficiente para excitar electrones a través del intervalo de banda y el sólido se comporta como un material aislante. La conductividad eléctrica elevada que se presenta en materiales metálicos se debe a bandas parcialmente ocupadas, una banda de conducción parcialmente llena y una banda de valencia parcialmente vacía o un intervalo de banda cero [10].

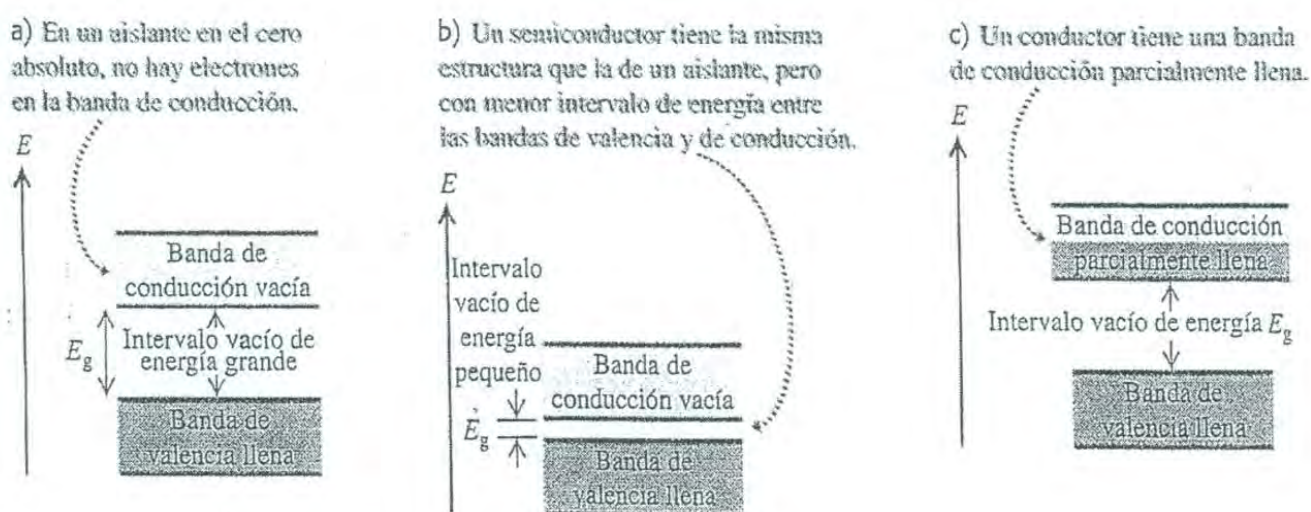


Figura 1. Representación esquemática de la Teoría de Bandas en materiales aislantes eléctricos, semiconductores y conductores [11].

En el caso de los polímeros conjugados debe ocurrir una oxidación o reducción del polímero. El proceso *redox* que puede ser llevado a cabo por una especie química o por un proceso electroquímico, genera una cadena cargada con un ión asociado. Este proceso se conoce como dopaje y las especies aniónicas o catiónicas incorporadas se identifican como dopantes. Las cargas de la cadena se encuentran generalmente deslocalizadas sobre determinadas unidades monoméricas del polímero, causando la relajación de su geometría a una conformación energéticamente favorecida. Dichos segmentos de polímero constituyen las llamadas islas de carga que se forman alrededor de los iones de la sustancia dopante [10].



En particular, al ser removido un electrón de la banda de valencia de un polímero conjugado mediante el proceso de oxidación, se forman cationes radicales en el polímero que constituyen las ya descritas islas o deformaciones estructurales en las cadenas. El catión radical posee un orbital de enlace desestabilizado que energéticamente se ubica en la banda prohibida. Durante este proceso, la banda de conducción y de valencia permanecen vacías y llenas, respectivamente.

El catión radical resultante de la oxidación es nombrado polarón y se estabiliza polarizando el medio a su alrededor. En caso de que el proceso fuese de reducción, el polarón formado correspondería con un anión radical. Estas especies poseen un spin de  $\frac{1}{2}$  por tener un electrón desapareado.

Si otro electrón es extraído de la estructura del polímero, se consideraría la formación de un nuevo polarón en un segmento diferente de la cadena del polímero. Sin embargo, es más favorable que el electrón sea removido de la estructura polarónica generándose un bipolarón, estructura más estable en comparación con la existencia de dos polarones. A niveles altos de dopaje, la repulsión electrónica entre las cargas iguales del bipolarón, son contrarrestadas por los dopantes, contribuyendo a su estabilidad.

Los niveles energéticos de los bipolarones, al igual que en el caso de los polarones, se ubican en el intervalo de la banda prohibida. Estos se encuentran vacíos si fueron generados por un proceso de oxidación o completamente llenos, si son el resultado de la reducción del polímero. Debido a ello, los bipolarones no tienen spin, lo cual explica los resultados del análisis por resonancia de spin electrónico (RSE), en donde disminuye la intensidad de la señal del spin en polímeros con alto nivel de dopaje, sin afectación de sus propiedades eléctricas [12,13].

En polímeros que poseen un estado basal degenerado, es decir, formas resonantes equivalentes, los bipolarones se disocian en dos cationes



Las formas descritas, polarones, bipolarones y solitones, son esencialmente distorsiones estructurales con cargas, que son movibles a lo largo de las cadenas. A niveles de concentración en el polímero suficientemente altos, éstas pueden moverse a lo largo de las cadenas y funcionar como portadores de cargas, haciendo posible el fenómeno de conductividad eléctrica [12,13].

## 2.2 Polianilina

La polianilina (PANI) también se conoce como anilina negra. Se distinguen entre sus propiedades, una conductividad eléctrica alta en su estado dopado y una alta estabilidad química en condiciones ambientales normales [15].

La PANI está compuesta de unidades repetidas de anilina conectadas para formar una cadena de átomos de nitrógeno y anillos bencenos alternados, tal como se muestra en la Figura 2.

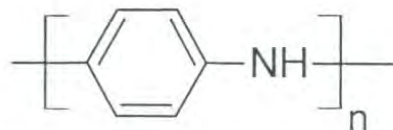


Figura 2. Representación de la unidad repetitiva de la PANI.

La forma base de la PANI se conoce como emeraldina. En este estado, el polímero se encuentra constituido por igual número de unidades oxidadas y reducidas (Figura 3).

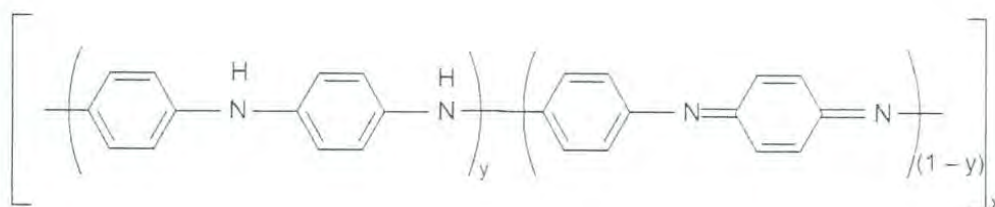


Figura 3. Estructura de la PANI en su forma de emeraldina base,  $(1-y) = 0.5$ .

La PANI es dopada para pasar de un estado aislante a conductor eléctrico mediante procesos de protonación y oxidación, de hecho, los pasos ocurren al mismo tiempo. Puede ser dopada por protonación con un ácido protónico o por

transferencia de carga con un agente oxidante. Ambos métodos de dopaje conducen a una PANI dopada tipo "p" con un incremento de conductividad de  $10^{-9}$  hasta alrededor de  $1 \text{ S cm}^{-1}$ .

El heteroátomo de nitrógeno en la PANI participa directamente en el proceso de polimerización (la anilina polimeriza cabeza-cola) y además participa en la conjugación de la forma conductora del polímero [15].

En la Figura 4 se muestra el mecanismo aceptado para la reacción de polimerización.

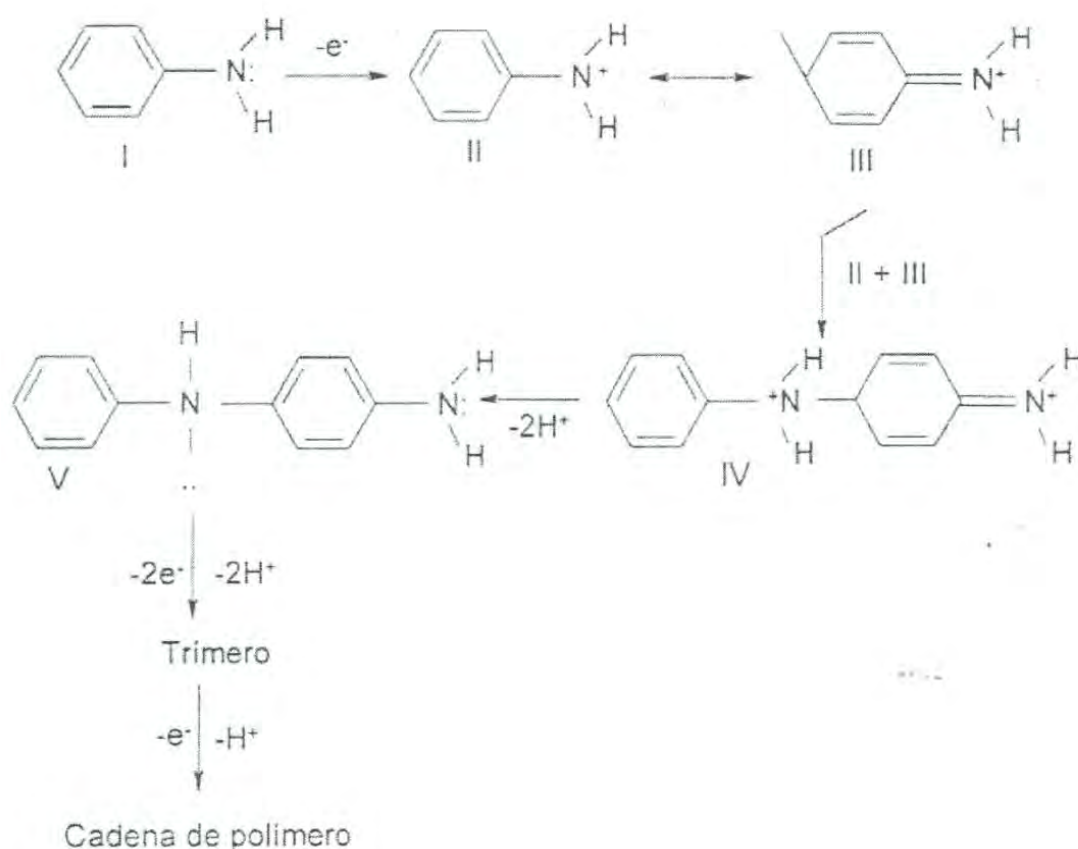


Figura 4. Mecanismo de polimerización de la anilina [15].

Los estados de oxidación de las tres formas estables de la PANI, la emeraldina base (LB), la leucoemeraldina (EB) y la pernigranilina (PNB), se muestran en la Figura 5. Los cambios entre estas estructuras son reversibles y pueden realizarse



mediante métodos químicos y electroquímicos. La forma conductora de la PANI se reconoce como emeraldina sal (Figura 5).

La anilina puede ser polimerizada por métodos electroquímicos o químicos. La electropolimerización de anilina para formar un polímero conductor requiere de soluciones en condiciones ácidas. Esto es importante ya que el monómero de anilina es soluble en agua únicamente bajo condiciones ácidas. Además, la forma conductora de la polianilina se logra únicamente a pH ácido, ya que el polímero es dopado por protonación y oxidación [15].

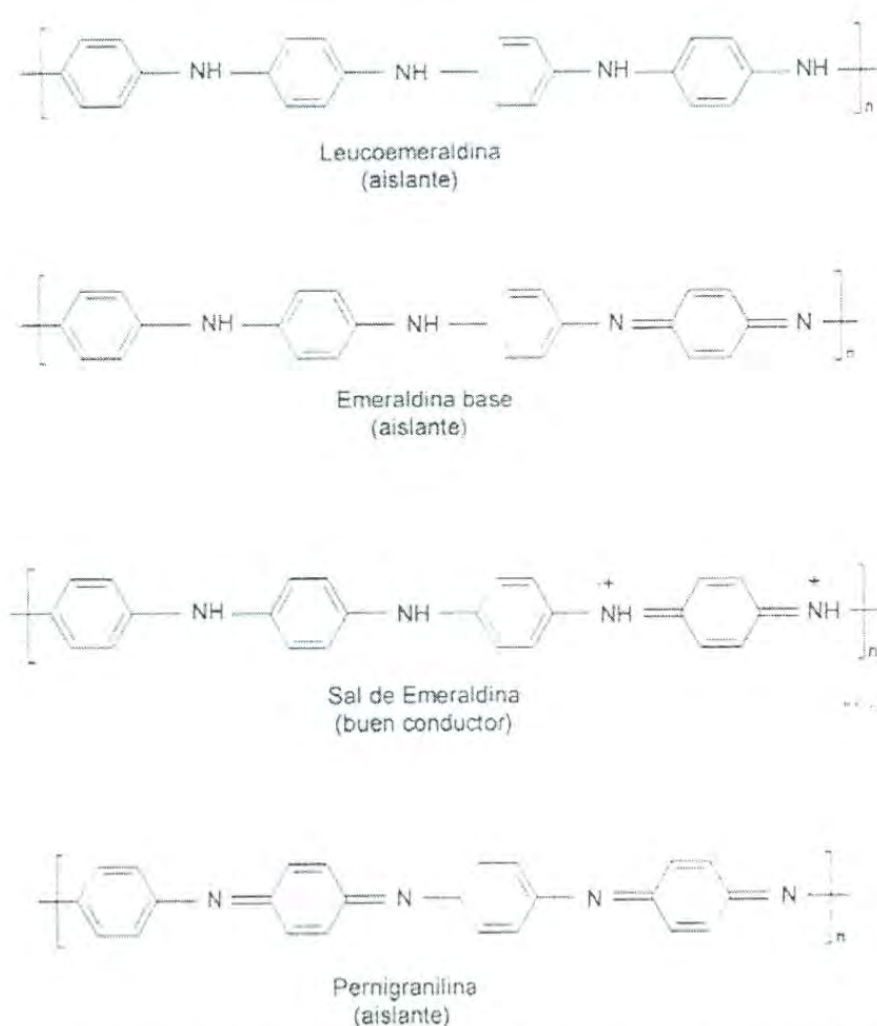


Figura 5. Formas aislante y conductora de la PANI.

La oxidación anódica de la anilina es generalmente llevada a cabo sobre un electrodo de material inerte, el cual es usualmente platino. Sin embargo, en algunos estudios se han empleado electrodos de otros materiales, entre los que se

encuentran plata, cobre, zinc, paladio y diferentes tipos de carbón (vítreo, pirolítico o grafito) [16].

La oxidación anódica de la anilina es normalmente efectuada a temperatura ambiente, donde se ha notado que la velocidad de reacción es proporcional a la temperatura en el rango de 0 a 60°C [16].

Investigaciones recientes llevadas a cabo por diferentes grupos de investigadores han llegado a la conclusión de que la velocidad de electrodeposición de la PANI en medio acuoso, es influenciada por la concentración del anión y no por la concentración del ácido, aunque las condiciones ácidas son requeridas para el proceso de polimerización [16]. La ventaja principal del método electroquímico sobre el método químico, es la obtención de un producto limpio que no requiere normalmente ser extraído de la mezcla inicial de monómero oxidante-solvente [16]. Por otro lado, en la polimerización química de la anilina, la fuerza oxidante se genera por la acción de un oxidante químico en la solución.

En una polimerización química convencional, la anilina se mezcla con el oxidante químico en un matraz de reacción. Durante la reacción, la solución va adquiriendo color gradualmente hasta la aparición de un precipitado negro, que corresponde a la PANI. La coloración del solvente se atribuye a la formación de oligómeros solubles [16].

Generalmente la reacción se lleva a cabo en medio ácido (pH entre 0 y 2), usando ácidos fuertes como el ácido sulfúrico y el ácido clorhídrico [16]. La polimerización de anilina ha sido estudiada por Lacaze y colaboradores en medio neutro y básico [16]; y por Genies y colaboradores en acetonitrilo y en soluciones acuosas con valores de pH comprendidos entre 9 y 10 [16]. La concentración empleada de monómero varía en los diferentes trabajos y está comprendida entre 0.01 y 1 M [16].



En el Departamento de Investigación de la Universidad de Sonora se ha estudiado la síntesis química de la PANI usando ácido L-glutámico (AG) y persulfato de amonio. El procedimiento permite obtener estructuras fibrilares de diámetros en escala submicro/nanométrica, el AG se incorpora como agente dopante del polímero electroconductor y las estructuras fibrilares de PANI se encuentran recubiertas con el aminoácido (Figura 6) [17].

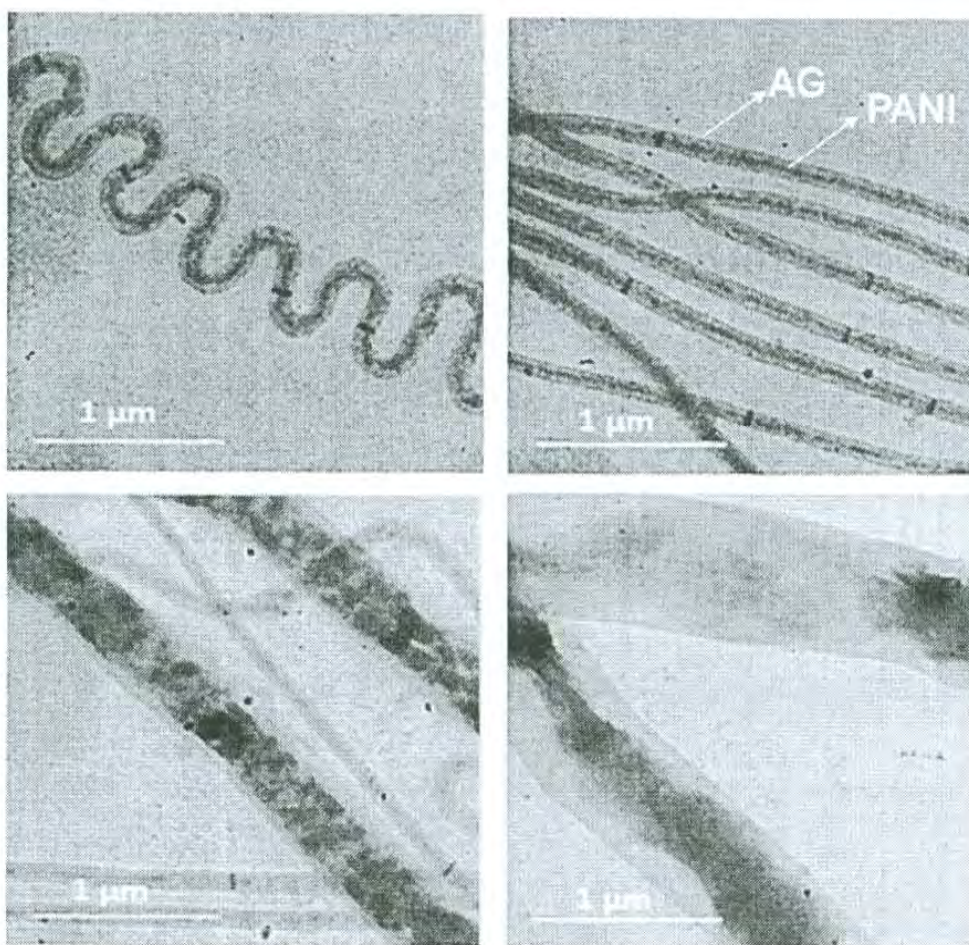


Figura 6. Imágenes por microscopía electrónica de transmisión de estructuras de PANI obtenidas mediante la síntesis en presencia del ácido L-glutámico [17].



## 2.3 Aplicaciones de la polianilina

Las propiedades eléctricas y ópticas de la PANI han permitido su implementación en numerosas aplicaciones. Recientes estudios han demostrado la biocompatibilidad de este polímero lo que ha impulsado su aplicación dentro del área biomédica como biosensor, dispositivos para la administración controlada de fármacos y en ingeniería de tejidos. A continuación se comentan los resultados de varias investigaciones que corroboran las propiedades de biocompatibilidad y el uso de la PANI en desarrollos tecnológicos, en especial, en dispositivos de liberación de medicamentos.

Elaine Armelin y colaboradores reportaron el uso de pinturas epóxicas con PANI para la protección contra la corrosión [18]. Una forma de utilizar pinturas como ánodos de sacrificio en la protección contra la corrosión es mediante la aplicación de una pintura epoxi con altos contenidos de partículas de zinc. Sin embargo, dicha aplicación tiene sus inconvenientes; el recubrimiento presenta una baja adherencia a la pared metálica y la película presenta una alta porosidad y un alto contenido de sólidos. En este estudio se compararon las propiedades anticorrosivas de la pintura epoxi con la de una pintura epoxi que contenía un 3% de PANI. Se recubrió la superficie de un metal formando una película protectora, una vez que se secó la película se dañó su integridad física y se colocó el sistema en una salmuera. Los resultados demostraron una mejor efectividad de la película de epoxi/PANI contra la corrosión en comparación con la pintura de control, donde se apreció un mayor cambio de coloración en el recubrimiento en un periodo menor a las 120 h y posterior corrosión del metal.

Los polímeros conductores tienen propiedades electroquímicas análogas a la de los cromatos. Las propiedades *redox* reversibles pueden ser la razón de su capacidad para contrarrestar los daños por corrosión sobre las superficies metálicas. Sin embargo, la eficiencia de los polímeros conductores en esta aplicación depende de la forma en que se aplican y de las condiciones del proceso



electroquímico, es decir, el polímero electroconductor puede tener una excelente capacidad de protección o por el contrario, puede favorecer el ataque corrosivo.

C. Lai y colaboradores estudiaron el efecto que tienen la presencia de partículas de PANI/TiO<sub>2</sub> en una batería de litio [19]. Estas baterías tienen importantes aplicaciones en dispositivos electrónicos entre ellos, vehículos eléctricos e híbridos. En dichas baterías, el electrodo debe poseer una excelente capacidad para la difusión de los electrones y los iones de litio en longitudes cortas, esto se logra con la presencia de materiales nanocristalinos como los compuestos de titanio, TiO<sub>2</sub> y Li<sub>4</sub>Ti<sub>5</sub>O<sub>12</sub>. En este trabajo se prepararon microesferas núcleo/coraza de TiO<sub>2</sub>/PANI, con el objeto de evaluar su efectividad en el proceso electroquímico de una batería de litio. En el procedimiento de preparación, se mezcló una solución de anilina en etanol con una solución acuosa que contenía TiOSO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O y FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O. La solución resultante se transfirió a una autoclave revestida de teflón, que trabajó a una temperatura de 140°C por 6 h. Posteriormente, los precipitados obtenidos se lavaron con etanol y agua destilada y se secaron a 60°C al vacío. Adicionalmente, se preparó una muestra de control mediante un procedimiento similar, sin adicionar FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O, que cumple la función de catalizador en dicha reacción. En este caso, una vez obtenida las microesferas de TiO<sub>2</sub>/PANI, estas fueron calcinadas a 500°C por 3 h. Las microesferas compuestas mostraron un comportamiento favorable como electrodos en la batería de litio, mostrando una excelente velocidad de respuesta. Las microesferas se mantuvieron estructural y electroquímicamente estables frente a ciclos de carga/descarga usando diferentes densidades de carga, lo que demostró la potencialidad de su uso para baterías de alto poder y largo tiempo de vida útil.

Lijuan Zhang y colaboradores reportaron la preparación de microesferas de PANI con la finalidad de utilizarlas en la liberación controlada de indometacina, un antiinflamatorio de uso común [20]. En el desarrollo de este estudio se trabajó con diferentes relaciones de metanol/agua como solvente de la anilina y el fármaco, también se realizaron diferentes síntesis variando el % en peso del monómero, lo anterior con la finalidad de obtener una morfología homogénea de las microesferas



de PANI. El fármaco fue adsorbido sobre la superficie de microesferas debido a la presencia de grupos polares en la molécula del fármaco y la estructura de la PANI. El estudio de liberación se realizó colocando las microesferas cargadas del fármaco en el interior de una membrana de diálisis. La cinética de liberación se monitoreó frente a soluciones búfer de pH 6.8, 7.4 y 8.0, bajo agitación y usando una temperatura de 37°C. Se obtuvo una liberación controlada de indometacina en función del pH, logrando una liberación máxima de 53% variando el pH entre 7.4 y 2 en intervalos de tiempo regulares durante 7 h.

Yixiang Duan y colaboradores desarrollaron un sensor de pH a partir del depósito de películas de PANI sobre un soporte de poli(metil metacrilato) comercial (plexiglás) [21]. La plataforma sensible se obtuvo colocando una placa rectangular de plexiglás en el recipiente donde se llevó a cabo la polimerización química de la anilina, con persulfato de amonio usando ácido clorhídrico. La mezcla reaccionante se dejó por un periodo máximo de 12 h. Las películas de PANI fueron estables cuando se almacenaron tanto en agua como expuestas al aire. La detección de pH se realizó mediante el monitoreo de la absorbancia a la longitud de onda donde se detectó el máximo. Se obtuvieron resultados precisos en un intervalo de pH de 5 a 8, con un tiempo de respuesta menor a 1 s. Debido a que las películas de PANI se consideran no tóxicas y biocompatibles, los autores proponen a estos sensores ópticos para la medición de pH de la sangre *in vivo*.

Leyla Shadi y colaboradores sintetizaron un copolímero formado por bloques de PANI y polietilenglicol (PEG) [22]. El copolímero de estructura PANI-PEG-PANI se mezcló con la policaprolactona (PCL) para obtener nanofibras mediante la técnica de electrospinning, utilizando un nuevo sistema de cosolventes 2-cloroetanol/cloroformo. La mezcla resultante permitió la obtención de nanofibras de diámetros uniformes, con una electroactividad y biodegradabilidad adecuadas para su aplicación en el área biomédica, especialmente como soporte electroactivo en el área de ingeniería de tejidos.



Kamalesh y colaboradores implantaron películas de PANI en forma oxidativa de emeraldina, leucoemeraldina y pernigranilina en ratas debajo de la piel de la parte dorsal, para evaluar la respuesta del tejido vivo durante periodos de tiempo de 19 a 90 semanas [23]. Las pruebas realizadas demostraron que el polímero no provocó respuestas inflamatorias durante el periodo que duró su implante en las ratas. Se midió la presión intersticial cerca del implante para evaluar el desarrollo de tejido neoplásico. No se observaron altas presiones positivas durante esta medición en los animales a casi 2 años después del implante, lo que confirmó la biocompatibilidad de la PANI en la región dorsal de la piel de las ratas.

En estudio similar, E. T. Kang y colaboradores implantaron en la región dorsal de ratas, polvos y películas de las distintas formas oxidativas de la PANI modificadas superficialmente por la copolimerización de ácido acrílico, y subsecuente inmovilización de colágeno [24]. La respuesta del tejido vivo en las ratas fue monitoreada en un intervalo de 19 a 50 semanas. Se observó que la inflamación asociada con las diversas formas de PANI fue mínima después de 50 semanas, en el caso de las películas de PANI modificadas con colágeno, no se detectó ninguna respuesta inflamatoria.

## **2.4 Hidrogeles**

Los hidrogeles son una clase de polímeros reticulados que, debido a su naturaleza hidrofílica, pueden absorber grandes cantidades de agua. Estos materiales presentan una alta estabilidad física, químicas y mecánica en su estado hinchado. La estructura de un hidrogel puede ser diseñada para una aplicación específica mediante la selección de materiales adecuados de partida y técnicas de procesamiento. Dado que la capacidad de hinchamiento de un hidrogel depende del equilibrio entre las fuerzas elásticas y la presión osmótica, los hidrogeles con diferentes capacidades de hinchamiento pueden ser diseñados mediante la participación de fuerzas individuales. Ciertos hidrogeles responden a los cambios



en factores ambientales mediante la alteración de su comportamiento de hinchamiento [6].

Los hidrogeles generalmente se preparan a partir de monómeros hidrofílicos; sin embargo, algunas veces se utilizan monómeros hidrófobos con el fin de regular ciertas propiedades en aplicaciones específicas. Convencionalmente, la preparación de un hidrogel requiere del monómero, un iniciador y el agente de reticulación. Para controlar el calor de polimerización y las propiedades finales de los hidrogeles, se pueden utilizar diluyentes, tales como agua u otras soluciones acuosas. Después de la síntesis, el hidrogel necesita ser lavado para eliminar las impurezas que quedan del proceso de síntesis del hidrogel. Estos incluyen iniciadores, monómeros que no han reaccionado, agentes de reticulación, así como productos no deseados producidos mediante reacciones secundarias.

Las propiedades de los hidrogeles pueden ser moduladas variando los factores sintéticos, tales como la geometría del recipiente de reacción, tiempo y temperatura de reacción, naturaleza del monómero y del agente de reticulación, la relación monómero/agente de reticulación, concentración del monómero, el tipo y cantidad de iniciador, entre otros parámetros [6].

Los hidrogeles sintéticos se producen generalmente mediante técnicas en polimerización en volumen, solución y de dispersión inversa. Mientras que las dos primeras reacciones son homogéneas, el método de dispersión inversa se lleva a cabo en las fases dispersa y continua. Entre las polimerizaciones homogéneas, se prefiere la reacción en solución debido a un mejor control del calor de polimerización, y por lo tanto de las propiedades del polímero. La mayoría de los hidrogeles de alta capacidad de hinchamiento se producen de esta manera. En general, el iniciador, el monómero, y el agente de reticulación son solubles en agua. El producto de esta reacción puede ser secado y pulverizado para diversas aplicaciones. Los hidrogeles se pueden preparar en tamaños de micras mediante la técnica de dispersión inversa en la que coexisten una fase dispersa y una continua. La primera es acuosa y la otra es orgánica. Normalmente, el monómero se disuelve



en la fase dispersa y se incorpora un surfactante para ayudar a que el monómero y los otros reactivos se dispersen adecuadamente en toda la fase continua. Aunque esta técnica permite obtener partículas con tamaños micrométricos, la eliminación de los solventes orgánicos, tales como *n*-hexano y tolueno, resulta una tarea complicada. Una polimerización en suspensión inversa típica para producir hidrogeles con alta capacidad de hinchamiento se muestra en la Figura 7. La técnica es apropiada para monómeros altamente hidrófilos, tales como sales de acrílico y ácidos metacrílicos, así como para la acrilamida [6].

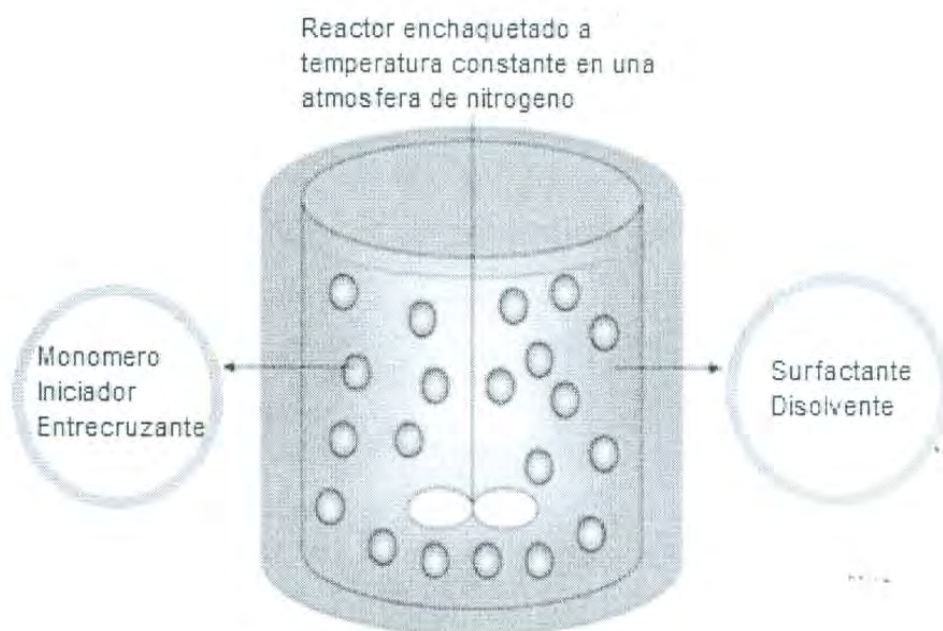


Figura 7. Representación de una polimerización en dispersión inversa.

## 2.5 Expansión en la estructura de un hidrogel

Los polímeros hidrofílicos sin reticulación se llaman hidrosol (soluble en agua), cuando se disuelven en solución acuosa. Los hidrosoles muestran un comportamiento físico de un líquido y los hidrogeles muestran un comportamiento de sólido. Un hidrosol no puede retener una geometría específica; en cambio, los

hidrogeles pueden mantener una forma debido al movimiento restringido de las cadenas causado por el entrecruzamiento intermolecular. El método de reticulación de las cadenas de polímero depende del tipo de monómero y la aplicación final. Los monómeros hidrofílicos que contiene dobles enlaces, tales como el ácido acrílico, la acrilamida y el hidroxietil metacrilato pueden polimerizar y formar enlaces químicos con agentes reticulantes que tienen enlaces dobles [6].

Menos comúnmente, los monómeros hidrofílicos que contienen grupos funcionales, tales como  $-OH$ ,  $-COOH$  ó  $-COO^-$ , se utilizan para la reticulación en hidrogeles, por ejemplo, vía interacciones carboxilo-hidroxilo. Además, la reticulación puede llevarse a cabo por medios físicos. Los monómeros, tales como N-isopropilacrilamida, que contienen grupos hidrófobos, en soluciones acuosas, se agregan a ciertas temperaturas, mostrando una transición hidrosol/hidrogel. El enlace por puente de hidrógeno también puede funcionar como una herramienta de reticulación en polímeros que contienen múltiples grupos hidroxilos, tales como el alcohol de polivinilo. El enlace por puente de hidrógeno puede generar entrecruzamiento en polímeros que contienen grupos funcionales iguales o diferentes. Lo anterior se presenta, por ejemplo, en el poli(ácido acrílico) y poliacrilamida, que individualmente son altamente solubles en agua, sin embargo, su mezcla es parcialmente soluble como resultado de los enlaces por puente de hidrógeno entre sus grupos carboxilo y amida, respectivamente. El comportamiento líquido/sólido de los polímeros en estado de hidrosol/hidrogel así como los mecanismos involucrados en la transición se representan en la Figura 8 [6].





Figura 8. Representación de los procesos de entrecruzamiento químicos y físicos de un hidrogel.

Los polímeros en estado de hidrosol, tales como poli(ácido acrílico) o sus derivados, también se pueden reticular con iones metálicos. La magnitud de la reticulación depende del tipo de los iones metálicos y su valencia. Algunos polímeros naturales en forma de hidrosol, tales como el ácido algínico y el quitosano, forman fácilmente hidrogeles en presencia de iones de calcio y de fosfato, respectivamente. De manera similar, interacciones de reticulación de tipo electrolíticas ocurren entre macromoléculas con aniones y cationes. Por ejemplo, el ácido algínico que contiene  $-COO^-$  y el quitosano con grupos  $-NH_2$ , interactúan en soluciones acuosas para formar complejos insolubles en forma de hidrogel [6].

Los hidrogeles se pueden formar también por agregación de las cadenas del polímero. Los hidrocoloides, tales como el agar y la gelatina, muestran una transición hidrosol/hidrogel en solución acuosa debido a los cambios de temperatura. Este entrecruzamiento se produce debido a la agregación de las cadenas del polímero, que resulta por interacciones cadena-cadena más fuertes que las interacciones entre las moléculas de agua y las cadenas del polímero [6].



## 2.6 Capacidad de hinchamiento de los hidrogeles

Los hidrogeles son usualmente definidos por su grado de hinchamiento. La capacidad de hinchamiento de un hidrogel, es determinada por el espacio dentro del volumen del gel disponible para acomodar volumen de agua en dicha estructura. Sin embargo, los principios del grado de hinchamiento se basan en las fuerzas interactivas polímero-agua. Básicamente, mientras más hidrófila sea la estructura del polímero, más fuerte será la interacción polímero-agua.

Los hidrogeles con grupos funcionales hidrófilos se hinchan en agua exclusivamente como resultado de las fuerzas de interacción polímero-agua. Si la estructura del hidrogel contiene grupos iónicos, la presión osmótica se genera debido a la diferencia de concentración de los iones dentro de gel y la solución exterior. Mientras mayor sea la diferencia de concentración de los iones, mayor será la presión osmótica. Los iones en los hidrogeles se pueden generar a partir de la ionización de los grupos del polímero; proceso mediante el cual, la cadena adquiere una carga positiva o negativa, lo que define que los hidrogeles sean de tipo catiónico o aniónico, respectivamente. En solución acuosa, las cargas iónicas en la cadena principal del polímero se repelen entre sí, generando una expansión de la estructura para la absorción de agua [6].

En conjunto, las tres fuerzas, la interacción polímero-agua, la electrostática y la presión osmótica definen la expansión de la estructura del hidrogel. La solubilidad infinita de un hidrogel se evita por las fuerzas elásticas, que se originan del entrecruzamiento de la red polimérica. El balance entre estos dos sistemas de fuerzas determina la capacidad de hinchamiento de un hidrogel en el equilibrio, tal como se muestra en la Figura 9 [6]



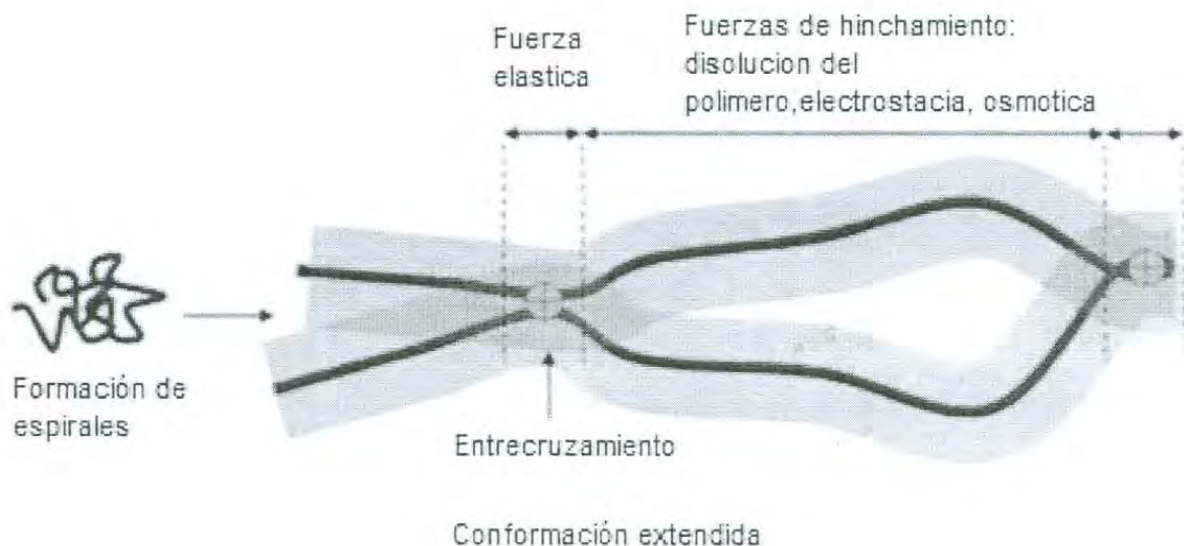


Figura 9. Representación de las fuerzas involucradas en el proceso de hinchamiento de un hidrogel.

Los hidrogeles se pueden clasificar como no iónicos, iónicos (aniónicos, catiónicos, y anfóteros), así como aquellos con cadenas principales hidrofílicas que contienen grupos hidrofóbicos. Los hidrogeles no iónicos, tal como poli(N-vinil-pirrolidona) y el poli(óxido de etileno), se hinchan exclusivamente en un medio acuoso debido a las interacciones polímero-agua. El hinchamiento de los hidrogeles catiónicos depende del pH del medio acuoso, el cual determina el grado de disociación de las cadenas iónicas. Los hidrogeles catiónicos muestran un grado de hinchamiento superior en medios ácidos, ya que la disociación de las cadenas se ve favorecida en niveles de pH bajos. Del mismo modo, los hidrogeles aniónicos se disocian más a un pH alto, por lo que muestran un mayor grado de hinchamiento en soluciones neutras y básicas [6].

Los hidrogeles anfóteros poseen cargas positivas y negativas que se equilibran en un cierto valor de pH (punto isoeléctrico). Un cambio en el pH puede cambiar el carácter iónico global (aniónico o catiónico). Los hidrogeles hidrófobos modificados contienen una cadena hidrófila con grupos hidrófobos laterales. En una solución acuosa, el balance entre las interacciones hidrófilas e hidrófobas cambia con la temperatura. Por lo tanto, dependiendo de la naturaleza de estos grupos, se produce una asociación hidrófoba a una temperatura específica, lo que resulta en



el proceso de gelificación, tal como se muestra en la Figura 10.

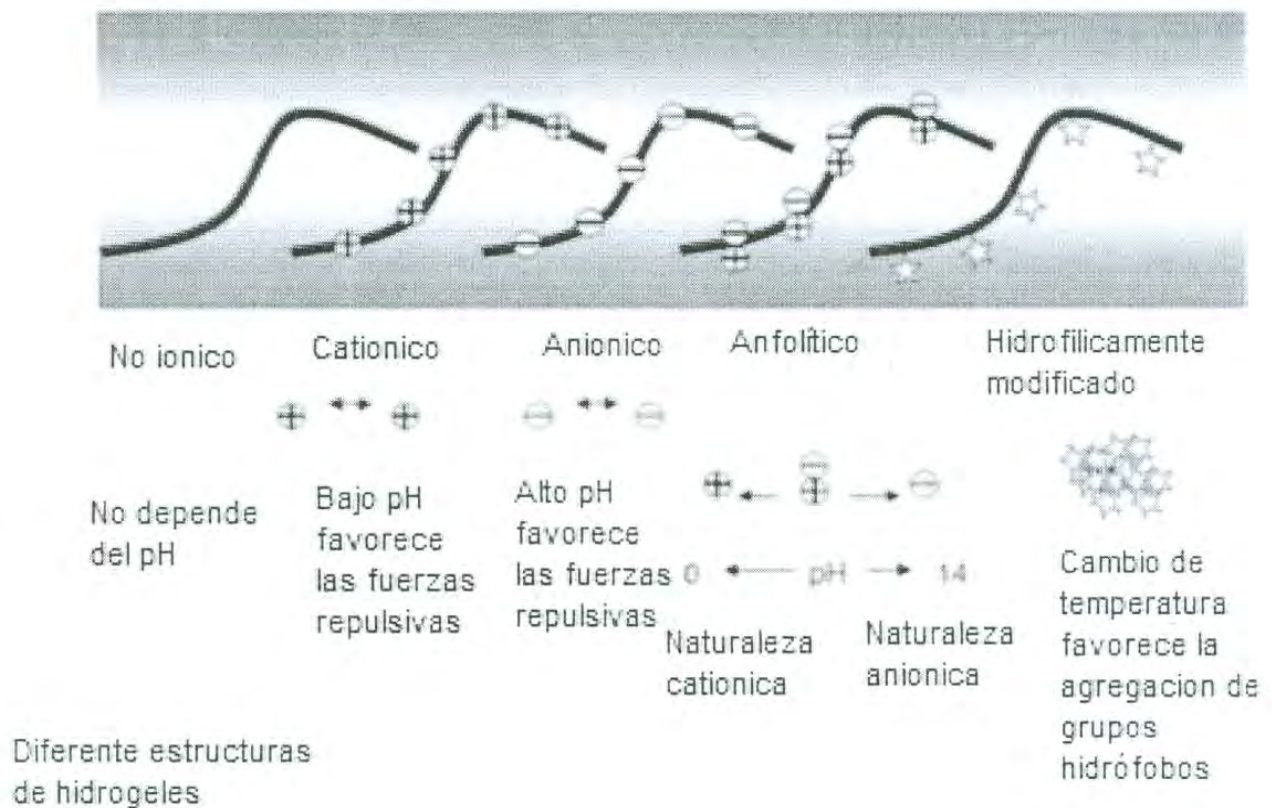


Figura 10. Representación de las diferentes estructuras en los hidrogeles.

## 2.7 Mecanismo de hinchamiento

La absorción de agua en hidrogeles depende de muchos factores, como por ejemplo, de los parámetros de red, la naturaleza de la solución, la estructura de hidrogeles (poroso o no poroso) y las técnicas de secado [6]. El factor más importante es la densidad de reticulación, que se determina por la concentración efectiva del agente de reticulación utilizado en el proceso de entrecruzamiento.

Esto, a su vez, determina la distancia (peso molecular) entre dos entrecruzamientos en una cadena de polímero. Entre más corta es esta distancia, mayor es la densidad de reticulación. El proceso de hinchamiento puede ser visto como un proceso de difusión seguido por un proceso de relajación. Es decir, la velocidad con la que el agua se difunde dentro de la red polimérica es el paso determinante del inicio del proceso de hinchamiento. Lo anterior depende del peso



molecular del disolvente, la temperatura de la solución y la porosidad dentro la estructura del hidrogel [6].

La cinética de la segunda etapa del proceso de hinchamiento de un hidrogel está determinada por la rapidez con que las cadenas del polímero pueden relajarse, lo que ocurre como un proceso de absorción más lento. El mecanismo de absorción en los hidrogeles altamente reticulados depende únicamente del proceso de difusión; debido a que los movimientos de las cadenas se encuentran limitados por la alta densidad de entrecruzamiento. En otras palabras, un hidrogel altamente reticulado se comporta como una malla de metal que permite que una cantidad constante de agua pase continuamente (Figura 11).

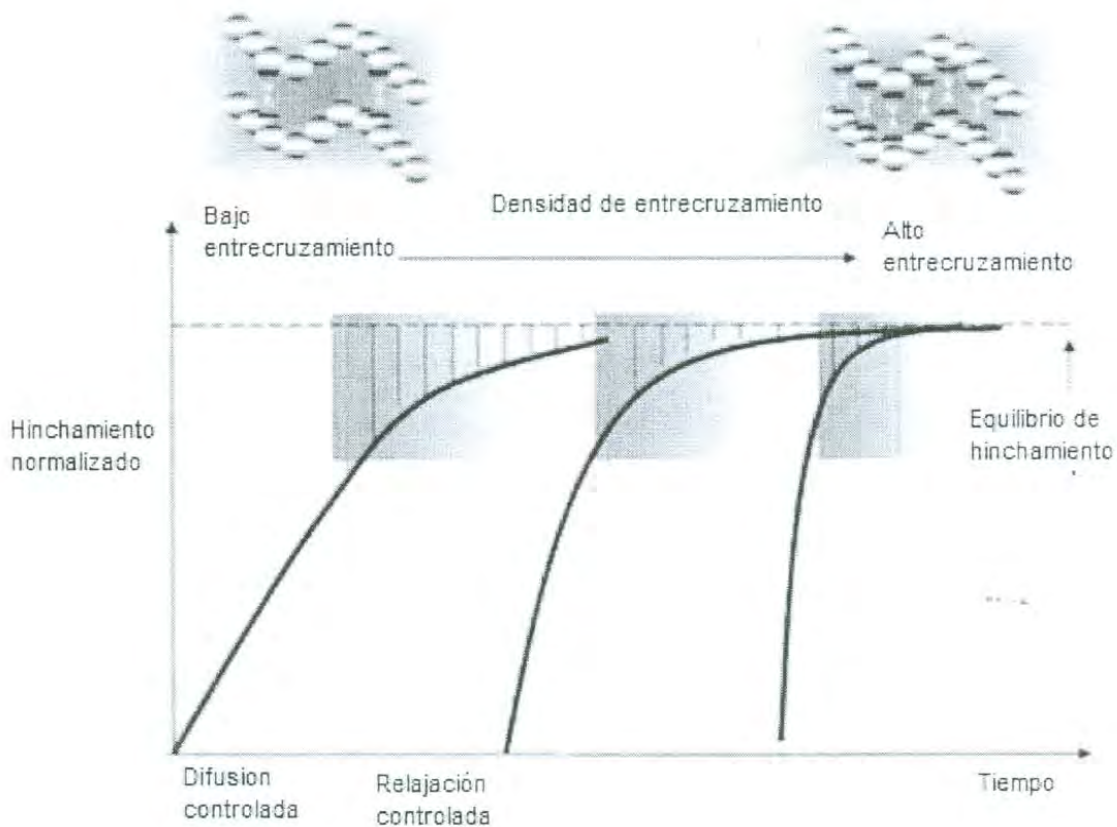


Figura 11. Cinética de hinchamiento para diferentes grados de entrecruzamiento.

## 2.8 El agua en los hidrogeles

El agua que se incorpora en la estructura de los hidrogeles se puede clasificar en cuatro tipos como se muestra en la Figura 12.

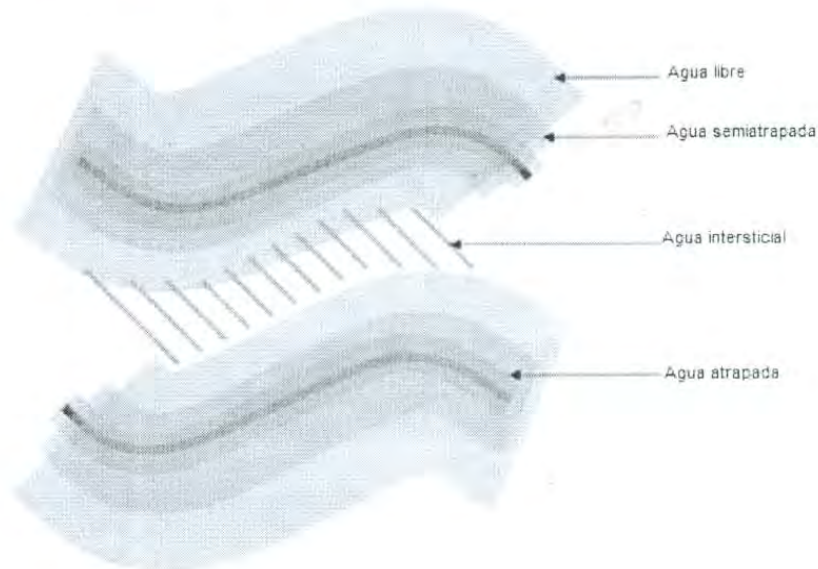


Figura 12. Diferentes tipos de agua en la estructura del hidrogel

El agua de la capa más externa es identificada como libre y puede ser removida de los hidrogeles bajo condiciones sencillas. El agua intersticial es el tipo de agua que no está enlazada a la red tridimensional pero que se encuentra físicamente atrapada entre las cadenas hidratadas del polímero. El agua ligada se encuentra directamente vinculada a las cadenas poliméricas por un mecanismo de hidratación de los grupos funcionales o iones. El agua ligada permanece como una parte integral de la estructura del hidrogel y sólo se puede separar a temperaturas muy altas. El agua semi-ligada es un tipo de agua con propiedades intermedias entre el agua ligada y el tipo libre. Aunque otras capas de agua pueden ser incorporadas dentro de la estructura del hidrogel, éstas tienen interacciones mucho más débiles con los grupos funcionales e iones ya que están más lejos de estos sitios.

El agua libre y el agua intersticial pueden ser retiradas de los hidrogeles mediante centrifugación y compresión mecánica. Los diferentes tipos de agua en un hidrogel



pueden ser estudiadas mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC).

## 2.9 Hidrogeles de poliacrilamida

La poliacrilamida (PAAm) es un polímero formado por unidades monoméricas de acrilamida (AAm) (Figura 13). La AAm se obtiene industrialmente por hidratación del acrilonitrilo usando ácido sulfúrico a temperaturas de 90 a 100°C o superiores. Recientemente se ha obtenido mediante hidratación catalítica usando cobre como catalizador. La capacidad de producción total en el mundo es de más de 300,000 toneladas por año [25,26].

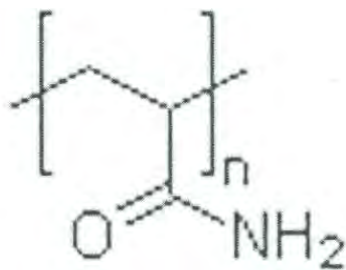


Figura 13. Estructura de la PAAm [27].

El monómero AAm es un sólido cristalino blanco inodoro, a temperatura ambiente y presión estándar, condiciones en las que puede ser disuelto en el solvente para la polimerización. Posee un punto de fusión de 84.5°C. Es soluble en muchos solventes polares entre los que se encuentran acetona, acetonitrilo y agua; 215.5 g pueden ser disueltos en 100 mL de agua a 30°C. La AAm contiene dos grupos funcionales principales, el doble enlace carbono-carbono vinílico y un grupo amida [25].

El proceso de polimerización de la AAm produce un polímero que cuenta con características químicas y biológicas completamente diferentes a las del monómero. Como ocurre con todos los monómeros acrílicos y vinílicos, la AAm es químicamente una especie altamente reactiva debido al doble enlace rico en electrones; sin embargo en el proceso de polimerización para formar PAAm el

doble enlace es removido, y por lo tanto la PAAm muestra una notable inercia química bajo condiciones normales. A diferencia de la AAm, la PAAm no es propensa a la adición nucleofílica en la cadena principal debido a que poseen únicamente un enlace simple C-C. El grupo amida de la PAAm puede experimentar reacciones tales como hidrólisis y deshidratación [25].

La PAAm frecuentemente tiene un peso molecular extremadamente alto (arriba de decenas de millones). Se disuelve fácilmente en agua y su solución incrementa su viscosidad considerablemente con el aumento de la concentración del polímero [28].

Los geles de PAAm se forman por la polimerización vinílica del monómero acrilamida y del monómero entrecruzador N,N'-metilen-bis-acrilamida (BisAAm). La polimerización se inicia con la formación de radicales libres a partir de los monómeros, que se producen por causa de la acción de los iones persulfato. Las aminas terciarias como la N,N,N',N'-tetrametilendiamina (TEMED) se emplean como iniciadores de la reacción, ya que éstas dan inicio a la formación de radicales libres del persulfato, que son los que atacan los dobles enlaces del monómero de AAm y BisAAm. La concentración de BisAAm determina el grado de entrecruzamiento que presentará el gel [29, 30].

## **2.10 Hidrogeles electroconductivos**

Los hidrogeles electroconductores (ECH) pueden ser preparados a partir de la combinación de polímeros electroactivos intrínsecamente conductores (CEP) con hidrogeles hidratados. Descrita por primera vez por Guiseppi-Elie [31] en 1995 y más tarde por Wallace y col. [32] y Guiseppi-Elie y col. [33] estos nuevos materiales poliméricos combinan las propiedades electroconductoras que proporciona el CEP y la capacidad de adsorción/desorción de grandes volúmenes de agua característica del hidrogel, esto último en función de las condiciones a las que estén expuestos (hidratación o deshidratación).



A partir de los primeros trabajos reportados por Guiseppi-Elie y Wallace, se han publicado varios estudios sobre los materiales compuestos formados de CEP y los hidrogeles. Se obtuvo un material compuesto eléctricamente conductor formado por nanopartículas de polianilina dispersas en una matriz de un hidrogel de poli(vinil pirrolidona) (PVP). Este material fue preparado por polimerización en dispersión de anilina en medio acuoso, usando PVP como un estabilizante estérico, seguido de irradiación para inducir la reticulación del PVP [34].

Por otro lado, Moschouet y col. [35] desarrollaron un material con aplicación como músculo artificial basado en un hidrogel formado a partir de acrilamida y ácido acrílico combinado con polipirrol y negro de carbón. Lira y col. [36] prepararon materiales compuestos de PAAm/PANI mediante la electropolimerización de la anilina dentro de la matriz del hidrogel aislante con diferentes tamaños de poro. El material resultante presentó electroactividad debido a la PANI presente en el interior de los poros. Estos compuestos se aplicaron a un dispositivo controlado electroquímicamente en la administración de fármacos.

Koul y col. [37] Reportaron la síntesis de una membrana de un material compuesto de PANI y el copolímero de acrilonitrilo-butadieno-estireno (ABS); material compuesto que se utilizó para un sensor de amoníaco acuoso. El cambio de la resistencia de la película compuesta en la exposición a diferentes concentraciones de amoníaco acuoso mostró su utilidad como material para un sensor.

Park y Park [38] investigaron las propiedades eléctricas del material compuesto conductor de poli(metil metacrilato-co-metil estireno), injertado con polipirrol (PMMAPMS-g-PPy). El material fue sintetizado por la reacción electroquímica del pirrol en presencia del PMMAPMS, en una solución electrolítica que contenía perclorato de litio y como disolvente una mezcla de acetonitrilo y diclorometano.

La incorporación de enzimas en películas de polipirrol (PPy) sintetizado electroquímicamente en solución acuosa, se ha utilizado comúnmente para



preparar electrodos con aplicaciones de biosensibilidad. Por ejemplo, se desarrolló un biosensor de glucosa a partir de la inclusión de la enzima glucosa oxidasa (GOx) dentro de la membrana de un hidrogel compuesto de poli(hidroxietil metacrilato (poli(HEMA)) y PPy [39]. El material se obtuvo preparando una mezcla de HEMA y el agente de reticulación, el tetraetilen glicol diacrilato (TEGDA). La enzima se depositó sobre la superficie de un electrodo de platino y se llevó a cabo la polimerización del HEMA mediante irradiación con UV en atmósfera de argón. Posteriormente, el monómero pirrol atrapado dentro de la red del hidrogel fue polimerizado electroquímicamente.

- Un biosensor amperométrico para la cuantificación de colesterol, se preparó atrapando la enzima colesterol oxidasa (ChOx) en la matriz de un hidrogel compuesto poli(HEMA)/PPy [40]. El biosensor mostró una excelente selectividad al colesterol frente a interferencias fisiológicas, tales como el ácido ascórbico, ácido úrico y el acetaminofeno.

La aplicación de un ECH en la liberación controlada de fármacos se basa en la posibilidad de que frente a un estímulo eléctrico, el material libere el fármaco previamente cargado y que una vez que el campo eléctrico se retire, la liberación del medicamento cese. Adicionalmente, si el fármaco se encuentra adsorbido sobre las partículas del polímero electroconductor, los procesos de intercambio iónico entre el sistema polímero electroconductor/fármaco y el electrólito en contacto, pueden ser controlados en función del pH del medio de liberación.

Una de las formas prácticas de implementar el uso de los ECH es como parche iontoforético. Estos sistemas son usados principalmente para el suministro transdérmico de fármacos, mediante el movimiento de iones a través de una membrana bajo la influencia de un campo eléctrico aplicado de forma externa. Este desarrollo elimina la necesidad de una administración intravenosa o epidural del fármaco y por ende, resulta en un proceso de menor costo y una mejor aceptación por el paciente. A pesar de que la administración controlada de fármacos basada en ECH se encuentra todavía en etapas iniciales de investigación y desarrollo [41],



un posible dispositivo consistente en un parche transdérmico electrosensible promete revolucionar el campo de la medicina, la vacunación y el tratamiento de enfermedades, usando una tecnología que no genera dolor y que es mínimamente invasiva.

Las formulaciones en hidrogeles permiten la sustitución de la dosificación diaria o semanal utilizando el dispositivo iontoforético, ya que pueden ser diseñados como un hidrogel cargado con el fármaco para una dosis única. Por otro lado, la manera en la que el hidrogel puede ser desventajoso es que, a largo plazo, el hidrogel absorba secreciones sudoríparas que lleguen a ser irritantes [41].

## 2.11 Amoxicilina

La amoxicilina, cuya estructura química se muestra en la Figura 14, pertenece a la familia de las aminopenicilinas, las cuales son una importante familia de antibióticos que se deriva de la penicilina, descubierta por Alexander Fleming en 1928 [42].

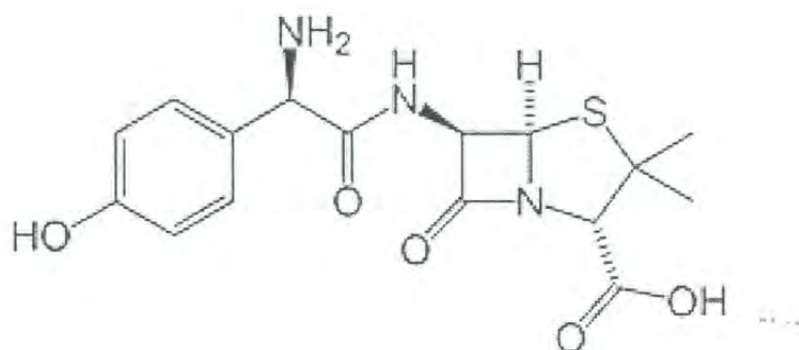


Figura 14. Estructura de la amoxicilina.

La amoxicilina es una aminopenicilina semisintética del grupo de los  $\beta$ -lactámicos, por lo tanto, es susceptible a la acción de las  $\beta$ -lactamasas; posee un amplio espectro contra microorganismos Gram positivos. La amoxicilina desarrolla un efecto bactericida debido a que interfiere con la síntesis de la pared bacteriana, motivando una estructura defectuosa que finalmente se rompe para causar la muerte de la bacteria. La amoxicilina es estable en un medio ácido gástrico y

presenta una absorción oral cercana a 90%; es estable en el medio ácido gástrico y la presencia de alimentos no altera su absorción. En neonatos, su absorción y eliminación disminuyen considerablemente. Se une poco a las proteínas plasmáticas (17-20%). Se distribuye ampliamente hacia los líquidos, tejidos y secreciones corporales, como secreciones bronquiales, paranasales, saliva, humor acuoso, líquido cerebroespinal (los niveles de amoxicilina en líquido cefalorraquídeo son bajos, excepto cuando las meninges están inflamadas), líquidos serosos y en el oído medio. Su volumen de distribución es de 0.2 L Kg<sup>-1</sup>. Atraviesa la barrera placentaria y se excreta en la leche materna. Tiene vida media de aproximadamente 60 a 90 minutos; en caso de insuficiencia renal, la eliminación se reduce, pudiendo alargarse hasta 6 y 18 horas, dependiendo del grado de reducción de la filtración glomerular [42].



### III. Metodología

#### 3.1 Materiales

- Persulfato de amonio,  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ , 98.7%. J.T. Baker. Hecho en México.
- N, N, N', N', Tetrametilendiamina,  $(\text{CH}_3)_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ , 99%. Sigma-Aldrich. Hecho en EUA.
- Acido L-Glutámico,  $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$ . J.T. Baker. Hecho en Japón.
- Acrilamida,  $\text{C}_3\text{H}_5\text{NO}$ , 99%, Sigma-Aldrich.
- N,N'-Metilenbis(acrilamida) (bisacrilamida),  $(\text{H}_2\text{C}=\text{CHCONH})_2\text{CH}_2$ , 99%. Sigma-Aldrich. Hecho en EUA.
- Ácido bórico,  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 99.5%. Sigma-Aldrich. Hecho en EUA.
- Fosfato de sodio dibásico heptahidratado,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 98%. Faga-Lab. Hecho en México.
- Ácido acético,  $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ , 99.7%. Sigma-Aldrich. Hecho en México.
- Fosfato de sodio monobásico,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 99%. Sigma-Aldrich. Hecho en Suiza.
- Amoxicilina,  $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ , 90%. Sigma-Aldrich.
- Cloruro de potasio,  $\text{KCl}$ , 99%. Sigma-Aldrich. Hecho en EUA.
- Hidróxido de sodio, lentejas,  $\text{NaOH}$ , 98%. Sigma-Aldrich. Hecho en Suecia.
- Acetato de sodio,  $\text{C}_2\text{H}_2\text{NaO}_2$ , 99%. Sigma-Aldrich. Hecho en EUA.
- Anilina,  $\text{C}_6\text{H}_7\text{N}$ , 99%. Sigma-Aldrich. Hecho en EUA.

La anilina se destiló al vacío en atmósfera de nitrógeno y se guardó en la oscuridad a temperatura de aproximadamente 3°C, previo a su uso.

La amoxicilina fue tratada con una solución de hidróxido de sodio (Anexo 6.1).

## 3.2 Métodos

### 3.2.1 Síntesis de PANI

Para llevar a cabo la polimerización de la anilina, se pesaron 2 g del ácido L-glutámico (AG) y se disolvieron en 132 mL de agua deionizada, usando agitación magnética y temperatura de 60°C. La solución de AG se colocó en un matraz de 3 bocas y se le adicionaron 5 mL de la anilina previamente destilada. Separadamente, se disolvieron 12.52 g de persulfato de amonio (PSA) con 70 mL de agua deionizada. La solución de PSA se colocó en un embudo de adición. El sistema de reacción fue cerrado y se dejó pasar un flujo de nitrógeno de 10 a 15 minutos. Una vez evacuado el aire, se selló el sistema de reacción y se dejó caer gota a gota la solución de PSA. Es importante destacar que antes y durante la adición de la solución oxidante, el matraz de reacción se mantuvo en un baño de hielo. La reacción se dejó en agitación continua durante 24 horas.

Una vez transcurridas las 24 horas, la mezcla reaccionante se lavó por filtración con agua deionizada hasta que el filtrado alcanzó un pH de 6. El producto de esta etapa consistió en una suspensión acuosa de concentración  $1.48 \times 10^{-2} \text{ g mL}^{-1}$  de estructuras fibrilares de PANI recubiertas con AG.

### 3.2.2 Cargado de amoxicilina en la suspensión de PANI (PANI-amoxicilina)

Se pesaron 1 g de amoxicilina y se disolvieron en 5 mL de agua deionizada. La solución anterior se mezcló con 25 mL de la suspensión de PANI y se dejó en agitación durante 24 horas.

Para la eliminación del fármaco no adsorbido sobre las estructuras de PANI, la suspensión PANI-amoxicilina se colocó en un tubo de diálisis con capacidad de purificación de moléculas con masa molecular mayor de  $12,000 \text{ g mol}^{-1}$ . El tubo de



diálisis se colocó en 500 mL de agua deionizada, la cual fue reemplazada cada 4 horas durante un periodo de 72 horas. Antes de cada cambio se tomó una muestra del agua de lavado con la finalidad de cuantificar el fármaco no adsorbido. La concentración del fármaco se realizó por espectroscopia de absorción UV-vis; se midió la absorbancia a 274 nm y se correlacionó con la concentración de amoxicilina usando una curva de calibración construida previamente. Se utilizó un espectrofotómetro GX Perkin Elmer.

### **3.2.3 Incorporación del sistema PANI-amoxicilina a hidrogeles de PAAm (PAAm/PANI-amoxicilina)**

La incorporación del sistema PANI-amoxicilina a un hidrogel de PAAm, se realizó a partir de la adición de una porción de la suspensión coloidal de PANI cargada con el fármaco durante el proceso de formación del hidrogel.

Inicialmente, se prepararon 100 mL de una solución acuosa que contenía 58 g de AAm (monómero) y 2 g de BisAAm (monómero entrecruzador).

Seguidamente, se tomaron 15 mL de la solución anterior y se mezclaron con 10 mL de la suspensión de PANI-amoxicilina, usando agitación magnética y baño de hielo. Una vez homogeneizada la mezcla anterior, se adicionaron 1 mL de una solución de  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$  (iniciador) de concentración 10 % peso/volumen y se continuó con la agitación, manteniendo el baño de hielo.

Transcurridos 3 minutos, se adicionaron 0.20 mL de una solución al 99 % de N,N,N',N'-tetrametilendiamina (TEMED) (catalizador) y se continuó la agitación por 2 minutos adicionales, conservando el baño de hielo.

Finalmente, la mezcla se colocó en un vaso de precipitado que funcionó como molde y se mantuvo a temperatura ambiente hasta finalizar el proceso de polimerización y formación del gel.

El proceso de formación del hidrogel compuesto PAAm/PANI-amoxicilina se ilustra en la Figura 15.

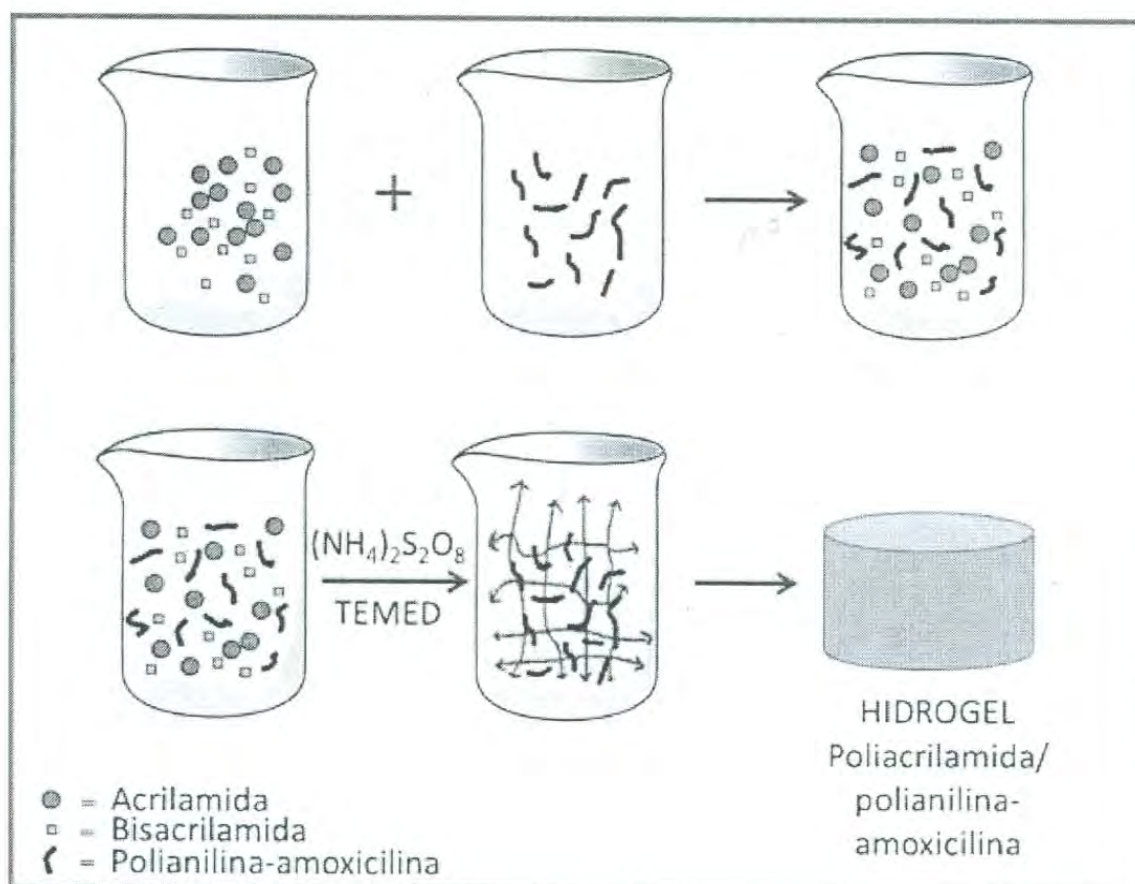


Figura 15. Esquema del proceso de preparación del hidrogel compuesto PAAm/PANI-amoxicilina.

Se prepararon también hidrogeles variando la relación AAm:BisAAm para evaluar el efecto del grado de entrecruzamiento del gel en el proceso de liberación del medicamento. De acuerdo a ello, se realizó un procedimiento similar al descrito, usando una cantidad de BisAAm de 1 y 3 g respectivamente. La Tabla I resume las concentraciones y volúmenes que se emplearon en la preparación de todos los hidrogeles compuestos y la forma en que son identificados en esta Tesis.



Tabla I. Concentraciones y volúmenes de materiales para la preparación de los hidrogeles compuestos PAAm/PANI-amoxicilina

Hidrogel	Solución AAm:BisAAm		Suspensión PANI-amoxicilina	Solución acuosa de amoxicilina	Solución $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$		Solución TEMED		
	Conc. ( $\text{g mL}^{-1}$ )		Vol. (mL)	Vol. (mL)	Vol. (mL)	Conc. (%)	Vol. (mL)	Conc. (%)	Vol. (mL)
	AAm	BisAAm							
<b>58:1</b>	0.58	<b>0.01</b>	15	10	0	10	1	99	0.20
<b>58:2</b>	0.58	<b>0.02</b>	15	10	0	10	1	99	0.20
<b>58:3</b>	0.58	<b>0.03</b>	15	10	0	10	1	99	0.20
<b>58:2(SIN PANI)*</b>	0.58	<b>0.02</b>	15	0	10	10	1	99	0.20

\*Hidrogel preparado sin partículas de PANI y que fue cargado con una dosis de amoxicilina similar a la presente en los hidrogeles A, B y C.

Adicionalmente se preparó un hidrogel de PAAm cargado con amoxicilina, sin partículas de PANI. La preparación de este hidrogel fue similar a la descrita anteriormente, difiriendo únicamente en la adición de una solución acuosa del fármaco en lugar de la porción de suspensión PANI-amoxicilina.

### 3.2.4 Estudio de la cinética de liberación del fármaco desde los hidrogeles compuestos PAAm/PANI-amoxicilina frente a soluciones búfer

El estudio de la cinética de liberación del fármaco se realizó *in vitro* frente a soluciones búfer. Para desarrollar dicho estudio se colocaron los hidrogeles en diferentes soluciones búfer de pH (5,7,9), dentro de una incubadora con agitación orbital a una temperatura de 37°C; lo anterior con la finalidad de simular un entorno fisiológico. La preparación de las soluciones búfer se describe en el Anexo 6.2.

Se tomaron muestras de los medios de liberación que contenían a los hidrogeles cada 2 horas por un periodo de 96 horas, excluyendo los horarios de la madrugada. La concentración de amoxicilina en las muestras se cuantificó por espectroscopia de absorbancia UV-vis, tal como se describió anteriormente.

#### IV. Resultados y Discusión

Se estudió la cinética de liberación de amoxicilina en función del grado de entrecruzamiento del hidrogel, el pH del medio de liberación y de la temperatura. Adicionalmente se analizó el efecto sobre la cinética de liberación de la forma de incorporación del medicamento al material.

La Figura 16 muestra la cinética de liberación del fármaco en función de la proporción de entrecruzante (relación en masa AAm:BisAAm) para los diferentes valores de pH.

Independientemente del pH del medio de liberación, los resultados evidenciaron que la cinética de liberación del fármaco depende de la proporción utilizada del agente reticulante (BisAAm) en el hidrogel.

Teóricamente se esperaba que entre mayor fuese la cantidad de BisAAm se presentara un mayor empaquetamiento dentro de la matriz del hidrogel, esto debido a la formación de mayor cantidad de enlaces covalentes entre las cadenas poliméricas, lo que traería como consecuencia una menor capacidad de hinchamiento, una cinética de liberación más lenta y un menor % de fármaco liberado en el equilibrio.

Al comparar los hidrogeles 58:2 y 58:3, los resultados experimentales mostraron una cinética de liberación más rápida y un % de liberación en el equilibrio más alto para el hidrogel 58:2 en todos los valores de pH evaluados, lo que concuerda con la tendencia teórica esperada.

Sin embargo, en el caso del hidrogel 58:1, se obtuvo una cinética de liberación más lenta y un % de liberación en el equilibrio más bajo en comparación con el hidrogel 58:2 en todos los valores de pH. Lo anterior no concuerda con la tendencia teórica esperada ni con el comportamiento relativo observado en los 58:2 y 58:3. El



procedimiento experimental fue repetido y los resultados fueron corroborados, tal como se muestra en la Figura 17

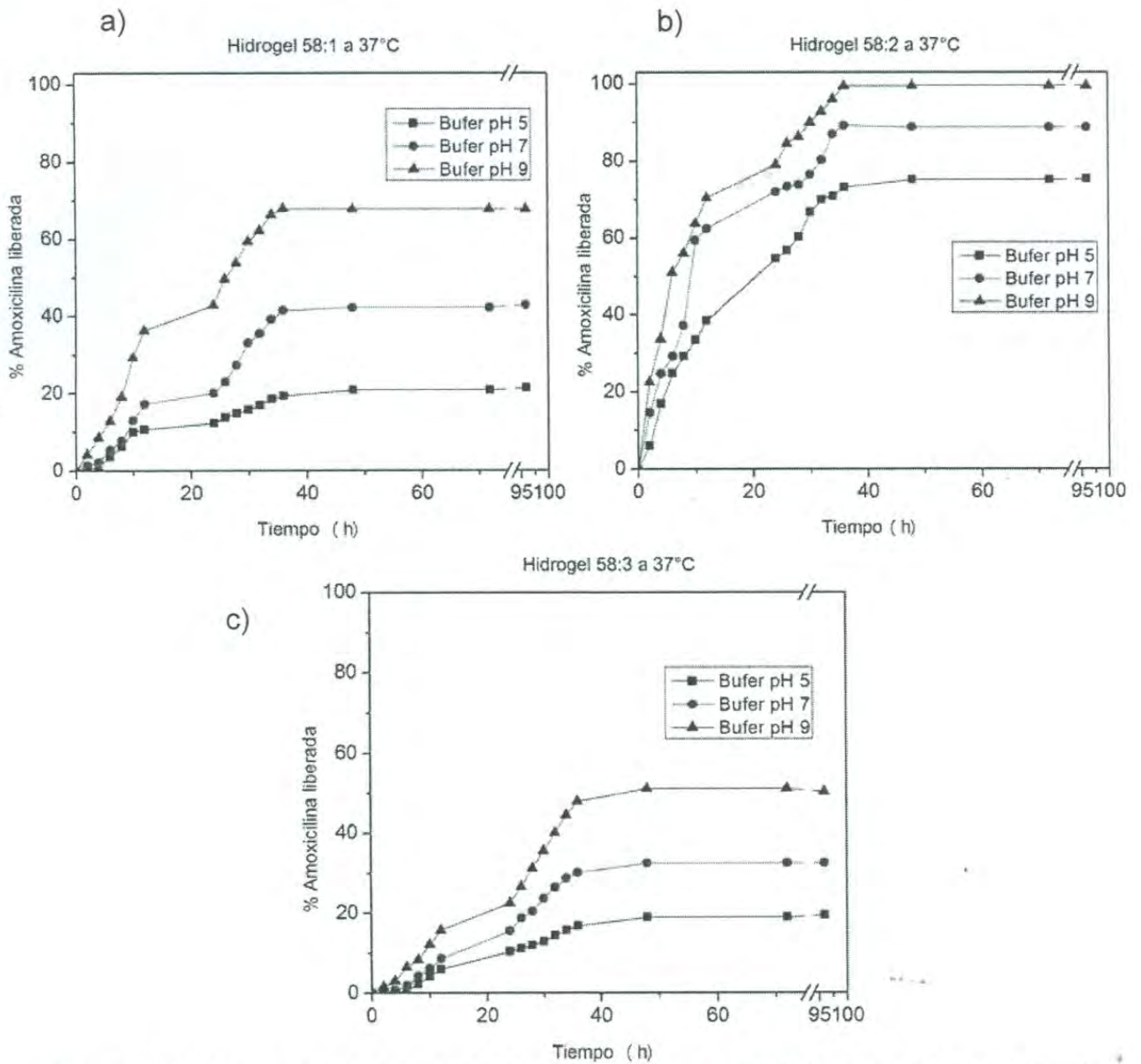


Figura 16. Cinética de liberación de amoxicilina a 37°C frente a pH de 5,7 y 9 desde los hidrogeles a) 58:1, b) 58:2 y c) 58:3.

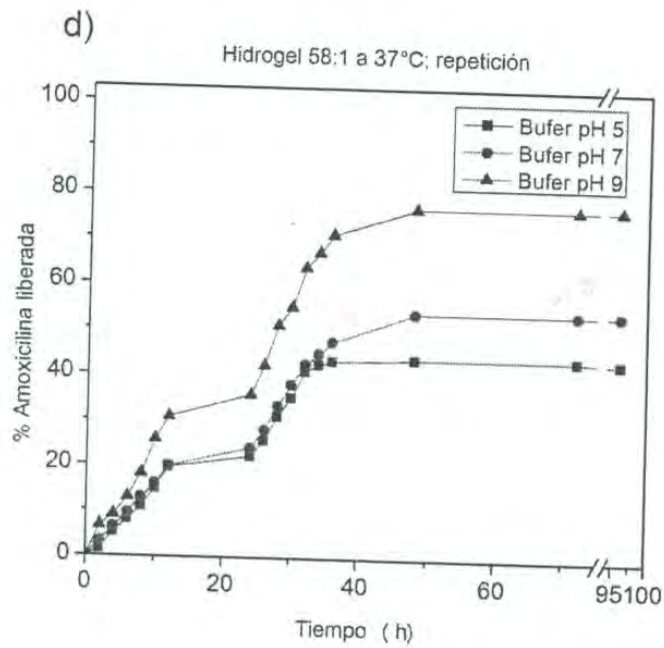


Figura 17. Repetición de la cinética de liberación de amoxicilina a 37°C desde el hidrogel d) 58:1 repetición, frente a pH de 5, 7 y 9.

Se recomienda realizar estudios futuros de caracterización a los hidrogeles preparados con diferente proporción de entrecruzante con el objeto de elucidar el grado de reticulación en los mismos.



La Figura 18 muestra la cinética de liberación del fármaco en función del pH para las diferentes proporciones del entrecruzante (relación en masa AAm:BisAAm).

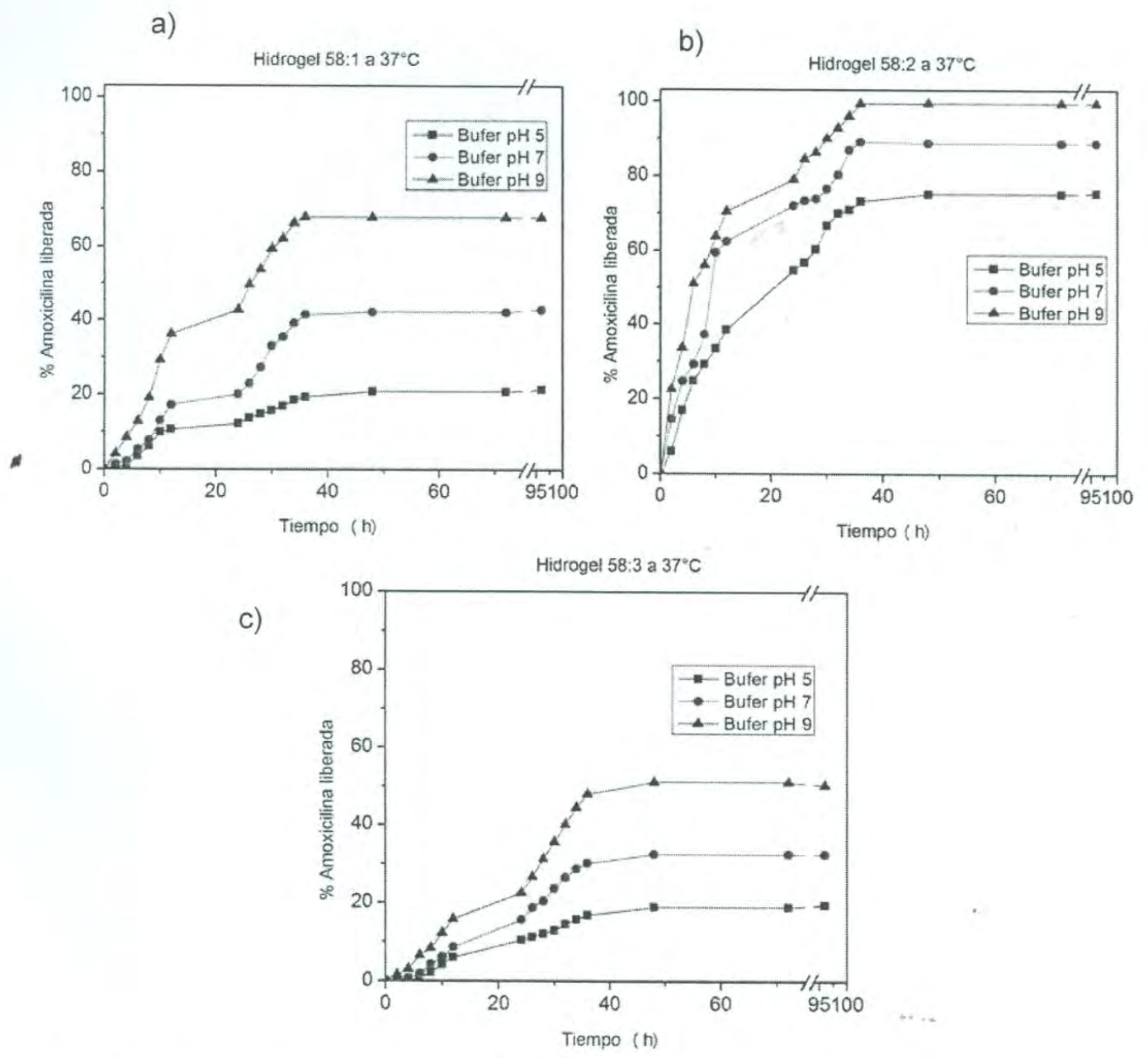


Figura 18. Cinética de liberación de amoxicilina a 37°C desde los hidrogeles a) 58:1, b) 58:2 y c) 58:3 a diferente grado de entrecruzamiento frente a pH de 5,7 y 9.

Se observa que para todos los tipos de hidrogeles, a medida que se incrementa el valor de pH, la cinética de liberación se hace más rápida y el % de liberación en el equilibrio aumenta. Lo anterior se explica teniendo en cuenta que el polímero electroconductor se desdopa a valores de pH alcalinos; en este proceso se produce la salida de las moléculas de AG que rodean a las estructuras de PANI y que funcionan como contraiones [17] y en consecuencia, se induce la salida de las moléculas de amoxicilina.

La liberación de fármaco en el medio neutro y ácido se explica por el intercambio iónico entre el sistema electroconductor y los iones del búfer, proceso que según los resultados experimentales se encuentra menos favorecido en medio ácido.

El análisis del efecto de la temperatura sobre la cinética de liberación se realizó para el hidrogel 58:2 considerando que en este hidrogel se obtuvieron los mayores % de liberación en el equilibrio. La Figura 19 muestra los resultados de la cinética de liberación desde el hidrogel 58:2 a 25°C y 37°C frente a valores de pH de 5, 7 y 9.

En este análisis se pudo observar como la cinética de liberación depende de la temperatura. A mayor temperatura se favorece la velocidad del proceso de liberación y el % de liberación en el equilibrio. Lo anterior se explica por el hecho de que a una mayor temperatura se favorece la difusión del fármaco dentro de la matriz del hidrogel y la capacidad de hinchamiento del mismo. Se observa también que el equilibrio se establece alrededor de las 48 horas para ambas temperaturas.

Esta comparación nos ayuda apreciar que dicho dispositivo es viable para aplicaciones biomédicas, ya que la temperatura corporal es de 37°C.



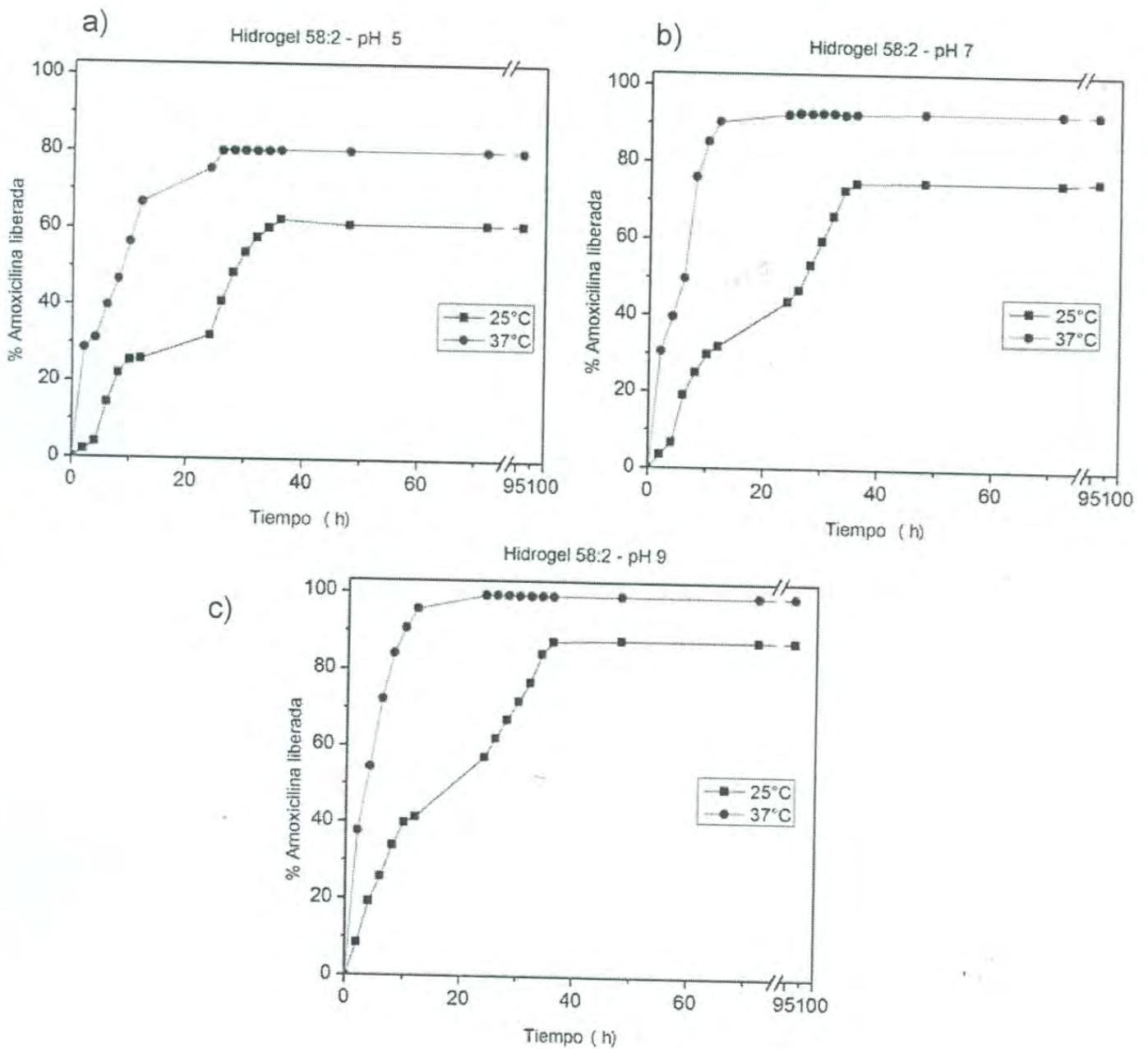
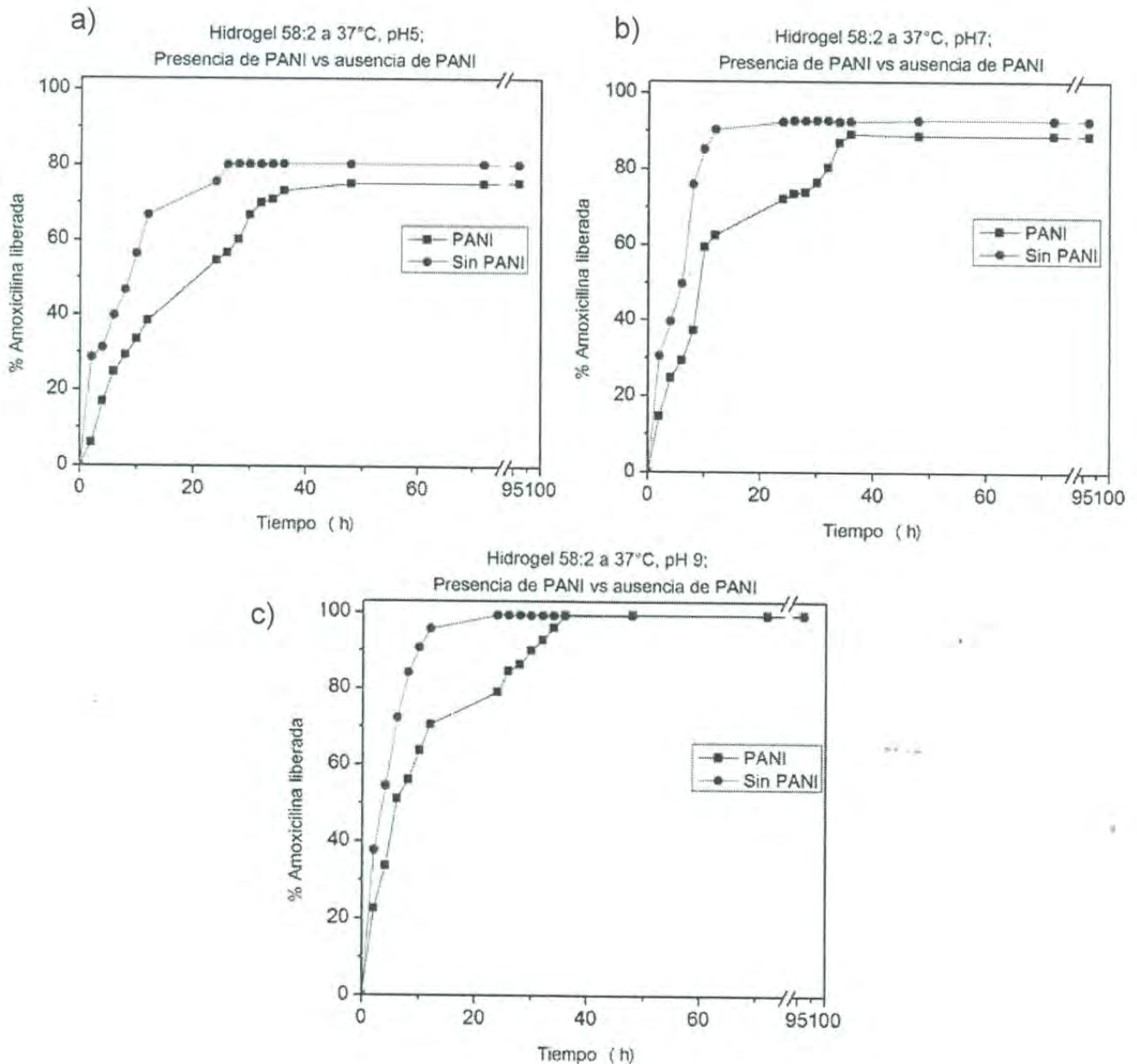


Figura 19. Cinética de liberación de amoxicilina desde el hidrogel 58:2 a 25 y 37°C, frente a pH de a) 5, b) 7 y c) 9.

La Figura 20 muestra los resultados obtenidos de la evaluación del efecto de la forma de incorporación del medicamento al material sobre la cinética de liberación; es decir, los datos previamente discutidos que corresponden a cuando la amoxicilina se adsorbió sobre las estructuras de PANI y posteriormente se incorporó el sistema PANI-amoxicilina al hidrogel, se comparan con nuevos datos obtenidos de hidrogeles cargados con el fármaco, sin estructuras de PANI.





En general, en un dispositivo de liberación controlada de fármacos es deseable que la cinética de liberación sea lenta y que se alcance un alto % de liberación en el equilibrio. Según la Figura 20, se observa que en el hidrogel donde no están presentes las estructuras de PANI, el % del fármaco liberado alcanza el equilibrio en menor tiempo (12 a 24 h) en comparación con el comportamiento del hidrogel donde se incorporó el sistema PANI-amoxicilina (48 h). Tomando en cuenta el criterio anterior, la adsorción del fármaco sobre las estructuras de PANI y su posterior incorporación al hidrogel favorece su aplicación en un sistema de liberación controlada del fármaco.

En el hidrogel sin estructuras de PANI, la liberación del medicamento estará determinada por la capacidad de hinchamiento del hidrogel y por las interacciones entre los grupos polares del fármaco y las funcionalidades de cadenas poliméricas que conforman el hidrogel. En el caso del hidrogel compuesto que contiene estructuras de PANI, además de los factores anteriores, la cinética de liberación del fármaco está determinada por las interacciones PANI-amoxicilina, lo que permite usar la capacidad de intercambio iónico del polímero electroconductor para controlar el proceso de liberación del fármaco.

## V. Conclusiones

- Se prepararon materiales compuestos a partir de la incorporación de estructuras fibrilares de polianilina cargadas con amoxicilina en una matriz formada por un hidrogel de poliacrilamida.
- La cinética de liberación del fármaco a partir de los materiales compuestos puede ser controlada en función del grado de entrecruzamiento del hidrogel, el pH del medio de liberación y la temperatura.
- La disminución de la proporción de entrecruzante en el hidrogel no tuvo una tendencia definida sobre la cinética de liberación, por lo que se recomienda realizar estudios futuros de caracterización a los hidrogeles preparados con el objeto de elucidar el grado de reticulación en los mismos.
- Cuando el pH del medio de liberación es básico (pH = 9), la cinética de liberación se hace más rápida y el % de liberación en el equilibrio se incrementa lo que puede ser atribuido al proceso de desdopaje del polímero electroconductor, que induce la salida de las moléculas de ácido L-glutámico y en consecuencia, la desorción de las moléculas de amoxicilina.
- El aumento de la temperatura incrementa la velocidad del proceso de liberación y el % de liberación en el equilibrio debido a que se favorece la difusión del fármaco dentro de la matriz del hidrogel y la capacidad de hinchamiento del mismo.
- La adsorción del fármaco sobre las estructuras de PANI<sup>+</sup> y su posterior incorporación al hidrogel favorece su aplicación en un sistema de liberación controlada del fármaco en comparación de un sistema similar sin estructuras del polímero electroconductor.



## VI. Anexos

### 6.1 Preparación de amoxicilina sódica

Se preparó una solución de amoxicilina al 10 % (m/V) en 100 mL de agua deionizada usando agitación magnética. A la solución anterior, que tuvo una apariencia lechosa se le adicionó gota a gota una solución de NaOH 1M hasta que se obtuvo una solución homogénea perfectamente incolora. La solución resultante se liofilizó por un periodo aproximado de 48 h.

### 6.2 Preparación de soluciones búfer

El pH de las soluciones búfer se ajustó usando un pH metro marca Thermo modelo orión 525 A+ equipado con un electrodo de combinación con referencia de calomel súper delgado y largo marca Aldrich.

#### 6.2.1 Búfer acetato pH = 5 (100 mM)

Se prepararon 500 mL de una solución acetato de sodio 0.2 M (solución B), para lo que se pesaron 8.2038 g de acetato de sodio. Separadamente se prepararon 250 mL de una solución de ácido acético (solución A), usando 3 mL del reactivo. Posteriormente se mezclaron 148 mL de la solución A y 352 mL de la solución B, se ajustó el valor de pH y se aforó la solución a 1 L.

#### 6.2.2 Búfer fosfato pH = 7 (100 mM)

Se prepararon 250 mL de una solución 0.2 M de fosfato de sodio monobásico (solución A), para lo cual se pesaron 23.993 g del reactivo. Se prepararon 500 mL de una solución 0.2 M de fosfato de sodio dibásico (solución B), pesando 53.6133 g del reactivo. Se utilizó temperatura para facilitar la disolución. La solución búfer se

obtuvo de mezclar 195 mL de la solución A y 305 mL de la solución B, ajustar el pH y aforar a 1 L.

### **6.2.3 Búfer borato-cloruro pH = 9 (100 mM)**

Se prepararon 250 mL de una solución 0.1 M de ácido bórico (solución A), pesando 6.2 g del reactivo. Se prepararon 250 mL de una solución 0.1M de KCl (solución B), pesando 7.43 g del reactivo. Se prepararon 500 mL de una solución de NaOH 0.1M (solución C), para lo cual se pesaron 4 g del reactivo. Finalmente se mezclaron los volúmenes preparados de las soluciones A y B, con 208 mL de la solución C, se ajustó el pH y se aforó a 1 L.



## Referencias Bibliográficas

- [1] B. Bott, T.Jones, Sensors and actuators 9 (1986) 19-25.
- [2] T.Yukio, O. Kurobe, Sensors and actuators9 (1986) 301-312.
- [3] J. Vyas, V. Katti, S.Gupta, J. Yakhmi, sensors and actuators, B, Chem 115 (2006) 28-32.
- [4] M. Castillo, T. Del Castillo, V. Ibarra, S. Nuño, J.Puing, P.Herrera. Sensors and Actuators B 125 (2007) 538-543.
- [5] C .Medrano, T. Del Castillo, M. Castillo, J. Encinas. Journal of polymer Research 20 (2013) 71-79.
- [6] H.Omidian, K.Park, Biomedical Applications of Hydrogels Handbook(2010) 1-12.
- [7] V Sáez, E Hernáez, L. López. Revista Iberoamericana de Polimeros 4 (2003) 112- 122.
- [8] C.Small, C.Too, G.Wallace.Polymer Gels and Networks 5 (1997) 251-265.
- [9] F. Bian, L. Jia, Wei Yu, M.Liu .Carbohydrate Polymers,76 (2009) 454-459.
- [10] M. KanatzIdla. Chemical and Engineering news, 68/40 (1990) 36-54].
- [11] H. Young., R. Freedman. Física Universitaria con Física Moderna. 2 (2009)1445-1446.
- [12] P. Chandrasekhar, Kluwer Academic publishers, U.S.A.,1999.
- [13] J.Wang, M. Wan, Synthetic Metals,101 (1999) 848-849.
- [14] M.Kanatzidis, Chemical and Engineering News, 68 (1990) 36.
- [15] Gordon G. Wallace,Geofrey M. Spinks, Peter R. Teasdale," Conductive Electroactive Polymers" technomic publishin, U.S.A.,1997.
- [16] E.M.Genies, A.Boyie, M. Lapkowski and C. Tsintavis,"Polyaniline: a historical survey", Synthetic Metals,36 (1990) 142-145.
- [17] C. Pérez, T. del Castillo, M. Castillo, D. Rodríguez, P. Herrera, V. Ovando. Synthetic Metals 184 (2013) 41– 47.
- [18] E. Armelin , R. Pla , F. Liesa, X. Ramis, J. Iribarren,C. Alemán. Corrosion Science 50 (2008) 721–728.



- [19] C. Lai, H. Zhang, G. Li, X. Gao. *Journal of Power Sources* 196 (2011) 4735–4740.
- [20] L. Zhang, Z. Zhang, P. Kilmartin, J. Sejdic. *Macromolecular Chemistry and Physics*. 212 (2011) 2674–2684.
- [21] Z. Jin, Y. Su, Y. Duan. *Sensors and Actuators B* 71 (2000) 118-122.
- [22] L. Shadi, M. Karimi, A. Entezami, K. Safa. *Polymers Bulletin*. 70 (2013) 3529–3545.
- [23] S. Kamalesh, P. Tan, J. Wang, T. Lee, E. Kang, and C. Wang, *Journal of Biomedical Of Biomedical Research*. 52 (2000) 467–478.
- [24] C. Wang, Y. Dong, K. Sengothi, K. Tan, and E. Kang, *Synthetic Metals*., 102 (1999) 1313–1314.
- [25] M. Caultfield, G. Qiao, D. Solomon, *Chemical Review*. 102 (2002) 3067-3083.
- [26] <http://www.panelamonitor.org/media/docrepo/document/files/concepto-cientifico-poliacrilamida-en-panela.pdf>
- [27] <http://www.irooildrilling.com/span/Shale-Control/PAM.htm>
- [28] P. Munk, J. Wiley and sons, EEUU. 1989.
- [29] D.H. Garcia Perez, *Elservir*, 2 (2000) 31-41.
- [30] <http://upcommons.upc.edu/pfc/bitstream/2099.1/3233/1/52166-1.pdf>
- [31] 31.1 A. Guiseppi, Jr N. Sheppard (1995) Conferring biospecificity to electroconductive polymer-based biosensor devices. In: ACS Northeast Regional Meeting (NERM), Rochester, NY, 22–25 October 1995.
- 31.2 A Guiseppi, A. Wilson, A. Sujdak, K. Brown. *Polymer Preprints*. 608 (1997) 38.
- 31.2 A. Guiseppi, A. Sujdak, A. Wilson. Electroconductive hydrogels: electrical, electrochemical and impedance properties. In: Fall MRS Meeting Symposium J, Boston, 1–5 December 1997.
- [32] Small CJ, Too CO, Wallace GG (1997) Responsive conducting polymer-hydrogel composites. *Polym Gels Network* 5(3):251–265.
- [33] A. Guiseppi, A. Wilson, S. Sudjak. *ACS Publications*, 709 (1998) 185–202.
- [34] C. Dispenza, G. Fiandaca, C. Presti, S. Piazza, G. Spadaro. *Radiation Physics and chemistry*. 76(2007):1371–1375.



- [35] E. Moschou, M. Madou, L. Bachas, S. Daunert. *Sensors Actuators B Chemical* 115(2006):379–383.
- [36] Lira LM, Cordoba de Torresi SI (2005) Conducting polymer-hydrogel composites for electrochemical release devices. *Electrochem Commun* 7:717–723.
- [37] S. Koul , R. Chandra, S. Dhawan . *Sensors Actuators B Chemical* 75(2001)151–159.
- [38] Y.Park ,S. Park (2002). *Synthetic Metals* 128(2002):229–234.
- [39] S. Brahim, D. Narinesingh, A. Guiseppi (2002). *Biosens Bioelectron.* 17(2002):53–59.
- [40] S. Brahim, D. Narinesingh, A. Guiseppi. *Analytica Chimica Acta.*448(2001) 27–36.
- [41] S. INDERMUN, Y. CHOONARA, P. KUMAR, L. DU,G. MODI, R. LUTTGE, V.PILLAY. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* DOI 10.1002/jps.23829 (2013) 1-14.
- [42] Dra.H.Larrondo ,*Acta Medica* 9 (2000) 96-100.