



GOBIERNO DE
MÉXICO



CONACYT
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología



CENTRO DE INVESTIGACIÓN
EN QUÍMICA APLICADA

Saltillo, Coahuila a 16 de octubre de 2023

Programa de Maestría en Tecnología de Polímeros

Coordinación de Posgrado
Presente

Por este conducto nos permitimos informar a esta coordinación que, el documento de tesis preparado por ANDRÉ FRANCISCO CUEVAS ZEPEDA titulado Síntesis de hidrogeles de dextrano y poli(ácido metacrílico) para su uso como sistema de liberación controlada de doxorrubicina el cual fue presentado el día 10 de octubre de 2023, ha sido modificado de acuerdo a las observaciones, comentarios y sugerencias, realizadas por el Comité Evaluador asignado. Por tal motivo, avalamos que el documento adjunto corresponde a la versión final del documento de tesis.

Atentamente,

SINODALES

Dr. Luis Alfonso García Cerda
Presidente

Dra. Gethzemani Mayeli Estrada Villegas
Secretario

Dr. René Darío Peralta Rodríguez
Vocal

ASESORES

Dr. Héctor Iván Meléndez Ortiz

Dra. Rebeca Betancourt Galindo



TESIS CON CARACTER ABIERTO

PROGRAMA: MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE POLÍMEROS

AUTOR: ANDRÉ FRANCISCO CUEVAS ZEPEDA FIRMA *André Cuevas*

TITULO: Síntesis de hidrogeles de dextrano y poli(ácido metacrílico) para su uso como sistema de liberación controlada de doxorrubicina

ASESORES: Dr. Héctor Iván Meléndez Ortiz

FIRMA

Hector Melendez

Dra. Rebeca Betancourt Galindo

FIRMA

Rebeca Betancourt

El Centro de Investigación en Química Aplicada clasifica el presente documento de tesis como ABIERTO.

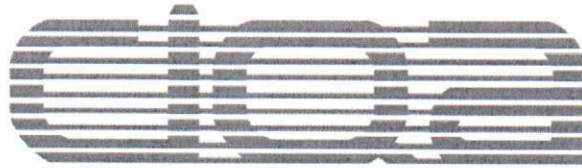
Un documento clasificado como Abierto se expone en los estantes del Centro de Información para su consulta. Dicho documento no puede ser copiado en ninguna modalidad sin autorización por escrito del Titular del Centro de Información o del Director General del CIQA.

Saltillo, Coahuila, a 10 de Octubre de 2023

Sello de la Institución



Julieta Torres
Dra. Julieta Torres González
Directora General del CIQA



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA
Programa de Maestría en Tecnología de Polímeros

TESIS

Síntesis de hidrogeles de dextrano y poli(ácido metacrílico) para su uso como sistema de liberación controlada de doxorrubicina

Presentada por:

ANDRÉ FRANCISCO CUEVAS ZEPEDA

Para obtener el grado de:

Maestro en Tecnología de Polímeros

Asesorado por:

Dr. Héctor Iván Meléndez Ortiz
Dra. Rebeca Betancourt Galindo

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA
Programa de Maestría en Tecnología de Polímeros

TESIS

Síntesis de hidrogeles de dextrano y poli(ácido metacrílico) para su uso como sistema de liberación controlada de doxorrubicina

Presentada por:

ANDRÉ FRANCISCO CUEVAS ZEPEDA


Para obtener el grado de:

Maestro en Tecnología de Polímeros

Asesorado por:

Dr. Héctor Iván Meléndez Ortiz
Dra. Rebeca Betancourt Galindo


SINODALES



Dr. Luis Alfonso García Cerda
Presidente



Dra. Gethzemani Mayeli Estrada Villegas
Secretario



Dr. René Darío Peralta Rodríguez
Vocal

DECLARACIÓN

Declaro que la información contenida en la Parte Experimental así como en la Parte de Resultados y Discusiones de este documento y que forman parte de las actividades de investigación y desarrollo realizadas durante el período que se me asignó para llevar a cabo mi trabajo de tesis, será propiedad del Centro de Investigación en Química Aplicada.

Saltillo, Coahuila a 10 de octubre de 2023

Andrés Cuevas

ANDRÉ FRANCISCO CUEVAS ZEPEDA

Nombre y Firma



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA

Programa de Maestría en Tecnología de Polímeros

TESIS

Síntesis de hidrogeles de dextrano y poli(ácido metacrílico) para su uso como sistema de liberación controlada de doxorrubicina

Presentada por:

Ing. André Francisco Cuevas Zepeda

Para obtener el grado de:

Maestro en Tecnología de Polímeros

Directores de Tesis

Dr. Héctor Iván Meléndez Ortiz
Dra. Rebeca Betancourt Galindo

Saltillo, Coahuila

Agosto de 2023

Dedicatoria

A Dios, por darme salud y la fortaleza mental para concluir este proyecto.

A mis padres, por su guía, apoyo y amor incondicional.

A mis hermanos por soportarnos y la forma de querernos que ha evolucionado con los años.

A mi familia y amistades que han aportado en la formación de la persona que soy
actualmente.

A mi novia Mónica por creer en mí, por su compañía, amor y cariño.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por el apoyo del proyecto 6660 y la beca de maestría otorgada No. 797986.

A mis asesores, Dr. Héctor Iván Meléndez Ortiz y Dra. Rebeca Betancourt Galindo, por el tiempo y esfuerzo invertido en el desarrollo de la tesis.

A la Lic. Bertha Alicia Puente Urbina y a MC. Gladis Cortez Mazatán por su guía y apoyo durante la etapa experimental de este proyecto.

Al Dr. Jorge Luis Sánchez Orozco por su apoyo y consejos durante la realización de este proyecto.

A la Lic. Julieta Sánchez Salazar por su apoyo y asistencia en las pruebas de caracterización por espectroscopia infrarroja (FTIR).

A la Lic. María Guadalupe Méndez padilla, M.C. Myrna Salinas Hernández y Dr. Israel Sifuentes Nieves por su apoyo y asistencia en la caracterización mediante análisis termogravimétrico (TGA) y calorimetría diferencial de barrido (DSC).

A la Dra. Mónica A. Cenicerós Reyes por su apoyo y asistencia en las caracterizaciones por microscopía electrónica de barrido (SEM).

A la Dra. Geraldina Rodríguez Riojas por su apoyo y asistencia en los estudios de RMN.

A Xóchitl Cárdenas por su amistad y compañía durante esta etapa de mi vida.

Contenido

Dedicatoria.....	i
Agradecimientos.....	ii
Abreviaturas.....	v
Resumen	1
1. Introducción.....	2
2. Antecedentes.....	4
2.1 Cáncer.....	4
2.1.1 Microambiente tumoral	5
2.1.2 Tratamientos convencionales	5
2.1.3 Agentes antineoplásicos	6
2.2 Sistemas de liberación de fármaco	8
2.2.1 Hidrogeles.....	8
2.2.2 Liberación controlada de fármaco	9
2.2.3. Cinéticas de liberación de fármaco.....	10
2.3 Polimerización vía radicales libres	11
2.4 Polímeros naturales	11
2.4.1 Dextrano	12
2.4.2 Quitosano.....	13
2.5 Polímeros inteligentes	14
2.5.1 Poli(ácido metacrílico) (PMAA)	15
2.6 Hidrogeles basados en polímeros naturales aplicados en la liberación de fármacos..	16
3. Objetivo general	20
4. Objetivos específicos.....	20
5. Justificación	21
6. Hipótesis	22
7. Metodología.....	22
7.1 Reactivos	22
7.2 Modificación de dextrano con metacrilato de glicidilo	22
7.3 Modificación de quitosano con anhídrido maleico	23
7.4 Preparación de hidrogeles poli(DexGMA-co-MAA)	24
7.5 Pruebas de hinchamiento	25

7.6 Carga y liberación de fármaco.....	26
8. Resultados y discusión	28
8.1 Síntesis de DexGMA	28
8.2 Síntesis de CS-MA	30
8.3 Preparación de hidrogeles de poli(DexGMA-co-MAA)	30
8.4 Caracterización de hidrogeles de poli(DexGMA-co-MAA)	33
8.4.1 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).....	33
8.4.2 Análisis termogravimétrico (TGA)	34
8.4.3 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	35
8.4.4 Microscopia electrónica de barrido (SEM)	38
8.4.5 Pruebas de hinchamiento	42
8.4.6 Determinación de pH de respuesta	44
8.4.7 Estudios de carga y liberación de doxorubicina.....	45
7. Conclusiones.....	53
9. Referencias	54

Abreviaturas

5-FU 5-Fluorouracilo

CS Quitosano

CS-MA Quitosano modificado con anhídrido maleico

Dex Dextrano

DexGMA Dextrano modificado con metacrilato de glicidilo

DOX Doxorubicina

DS Grado de sustitución

DSC Calorimetría diferencial de barrido

DTIC Dacarbacina

FTIR Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier

GMA Metacrilato de glicidilo

HG Hidrogel

MA Anhídrido maleico

MAA Acido metacrílico

PMAA Poli(ácido metacrílico)

PTX Paclitaxel

SEM Microscopía electrónica de barrido

TGA Análisis termogravimétrico

UV-vis Espectroscopía de ultravioleta-visible

Resumen

En el presente trabajo se sintetizaron hidrogeles mediante polimerización vía radicales libres a base de dextrano (modificado previamente con metacrilato de glicidilo) y ácido metacrílico (MAA) utilizando quitosano (CS) como agente entrecruzante, con la finalidad de obtener hidrogeles basados en polisacáridos que sean sensibles al pH. Se varió la relación másica de monómeros, la concentración de monómeros y agente entrecruzante, así como el tiempo de reacción. Los materiales obtenidos fueron caracterizados mediante espectroscopia por transformada de Fourier (FTIR), análisis termogravimétrico (TGA), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y microscopía electrónica de barrido (SEM). Los espectros de FTIR así como los estudios de TGA y DSC confirmaron la formación del copolímero de dextrano-ácido metacrílico poli(DexGMA-co-MAA). Los resultados de SEM mostraron que los tamaños de poro de los hidrogeles son influenciados por el contenido inicial de dextrano. Además, se evaluaron los hidrogeles obtenidos mediante pruebas de hinchamiento para conocer su tiempo de hinchamiento límite, así como su capacidad máxima de absorción de agua y su dependencia con respecto al pH. Los hidrogeles mostraron hinchamiento dependiente del pH presentando más hinchamiento cuando el pH se encuentra por arriba de 5.4. Posteriormente, se seleccionaron aquellos hidrogeles con mejor respuesta al pH para ser cargados con doxorubicina (DOX). Los estudios de carga mostraron que la cantidad de DOX cargada fue dependiente del contenido de MAA en el hidrogel, incrementando de 0.14 hasta 0.24 mgDOX/mgHG a medida que se incrementaba la cantidad inicial de MAA. Posteriormente, se realizaron pruebas de liberación a 37 °C en un medio de pH 5.0 y 7.4 encontrando una relación entre el perfil de liberación y el pH del medio debido a interacciones electroestáticas presentes entre los hidrogeles y el fármaco.

1. Introducción

Existen diferentes tipos de cáncer de piel tales como el carcinoma basocelular y el carcinoma espinocelular, los cuales tienen altas probabilidades de curación, pero pueden causar desfiguración y ser tratamientos costosos. Otro tipo de cáncer de piel es el melanoma, es el que resulta ser más peligroso ya que causa la mayor cantidad de muertes y su prevalencia es alta [1].

Para el tratamiento clínico del melanoma, la quimioterapia es uno de los métodos más importantes [2]. Las rutas de administración más comunes en la quimioterapia para el tratamiento del melanoma son el oral y parenteral. Sin embargo, estos medios de administración sistemática pueden causar serias reacciones incluyendo cardiotoxicidad y neurotoxicidad [3,4].

Una alternativa a estas vías es la administración tópica o transdérmica la cual puede reducir en gran medida esta toxicidad y efectos secundarios debido a que la liberación del fármaco puede ser focalizada en el sitio de interés [5,6]. Los hidrogeles son uno de los materiales de uso biomédico más importantes en dermatología debido a que su alta capacidad de hinchamiento le permite tener un grado de flexibilidad similar a la de los tejidos naturales [7–9]. También, en algunos casos, la liberación del fármaco puede ser activada por varios estímulos externos tales como temperatura y pH, así como la presencia de varias enzimas. Una de las principales ventajas de los hidrogeles usados en el tratamiento tópico de enfermedades de la piel es su fácil aplicación y minimización de efectos secundarios. Además, la incorporación de compuestos terapéuticos en la matriz del hidrogel los protege de la acción de enzimas que puedan degradar el agente antes de alcanzar su objetivo [10,11]. Sin embargo, la liberación del fármaco depende de muchos factores como las barreras de capas propias de la piel, así como de las propiedades fisicoquímicas de los compuestos terapéuticos y su acarreador. Asimismo, la naturaleza hidrofóbica de la mayoría de los agentes antineoplásicos ha limitado su carga y homogeneidad dentro de matriz polimérica de los hidrogeles. Asimismo, la biocompatibilidad del hidrogel debe ser un aspecto importante a tomar en cuenta [12,13].

En este sentido, los hidrogeles basados en polímeros naturales han sido estudiados ampliamente debido a su biocompatibilidad, biodegradabilidad, alta capacidad de retención

de fluidos, adhesión a tejidos y su fácil disponibilidad [14]. Además, son capaces de actuar como transportadores de fármacos y controlar la liberación de agentes anticancerígenos. El dextrano (Dex) es un polisacárido complejo y ramificado formado por numerosas moléculas de glucosa, formando unidades en cadenas de longitud variable (de 10 a 200 kDa) [15]. Este polisacárido es biocompatible y puede ser fácilmente modificado por lo que su uso en el campo de la biomedicina es amplio. El dextrano tiene muchas ventajas para ser empleado como material en la liberación de fármacos debido a su excelente solubilidad, biocompatibilidad y biodegradabilidad [16]. La biocompatibilidad *in vivo* de sistemas de liberación basados en dextrano ha sido probada en estudios de implantación cutánea y de tejido sugiriendo que este polímero no produce una respuesta inmunológica o tóxica en el cuerpo [17].

Por su parte, el poli(ácido metacrílico) (PMAA) presenta respuesta al pH debido a que consta de grupos ionizables que pueden aceptar y donar protones en respuesta a un cambio en el pH. Este polímero muestra cambios estructurales en un intervalo de pH de 5-6. A valores de pH altos, la carga es distribuida a lo largo de la cadena polimérica y la repulsión electrostática de los grupos carboxilo da como resultado un aumento en volumen hidrodinámico del polímero [18,19]. El rápido cambio en la carga neta de los grupos causa una alteración en el volumen hidrodinámico de las cadenas poliméricas lo cual puede resultar interesante que pudiera tener un control adicional sobre su comportamiento en una fase acuosa y por tanto en la liberación de fármacos. Adicionalmente, el PMAA ha mostrado ser biocompatible debido a su naturaleza hidrofílica [20,21].

Por lo tanto, este proyecto de tesis contempla la síntesis y caracterización de hidrogeles basados en dextrano y PMAA empleando quitosano (CS) como agente entrecruzante para su uso como sistemas de liberación de un agente anticancerígeno (doxorubicina, DOX). Previamente, el dextrano fue modificado con metacrilato de glicidilo para proveerle de grupos funcionales susceptibles a ser polimerizado vía radicales libres. Así mismo, se modificó el CS previamente con anhídrido maleico (MA) para que actúe como agente entrecruzante. El hidrogel se formó copolimerizando el dextrano modificado con ácido metacrílico y se cargó con DOX para llevar a cabo estudios de liberación a diferentes condiciones de pH (7.4 y 5.0) a 37 °C.

2. Antecedentes

2.1 Cáncer

El cáncer es un conjunto de enfermedades causadas por una acumulación de mutaciones en el ADN que conducen a un crecimiento celular descontrolado que en muchos casos pueden migrar por el torrente sanguíneo dañando tejidos cercanos o acumulándose en diferentes partes del cuerpo [22]. Estas acumulaciones son denominadas tumores y se pueden clasificar en benignos y malignos. Siendo un tumor maligno uno de los más invasivos debido a que presentan metástasis, esta es la capacidad de desprenderse del tumor original, invadir y crecer en tejidos lejanos provocando la muerte de las personas afectadas [23]. Dentro de las características principales de las células tumorales es que tienen la capacidad de evadir los supresores del crecimiento, algunas células no presentan muerte celular programada (apoptosis) y crecen rápidamente. Además, tienen la capacidad de liberar señales químicas que causan el crecimiento y formación de nuevos vasos sanguíneos para nutrirse del organismo [24].

Recientemente, el cáncer de piel se ha reportado entre los más diagnosticados a nivel mundial según las estadísticas globales de cáncer GLOBOCAN (Figura 1) [25]. El cáncer de piel se divide en dos tipos: melanoma y no melanoma. El melanoma es el cáncer que presenta mayor mortalidad debido a que los tratamientos en la mayoría de los casos resultan ser ineficientes. Por otra parte, el no melanoma tales como carcinoma basocelular y carcinoma espinocelular son los de mayor incidencia en la población, sin embargo, presenta un bajo índice de mortalidad y tiende a presentar efectos secundarios como desfiguración y morbilidad [26,27]. Los principales factores de riesgo que pueden propiciar el cáncer de piel son: exposición a la luz ultravioleta, a sustancias químicas y el tabaquismo [28].

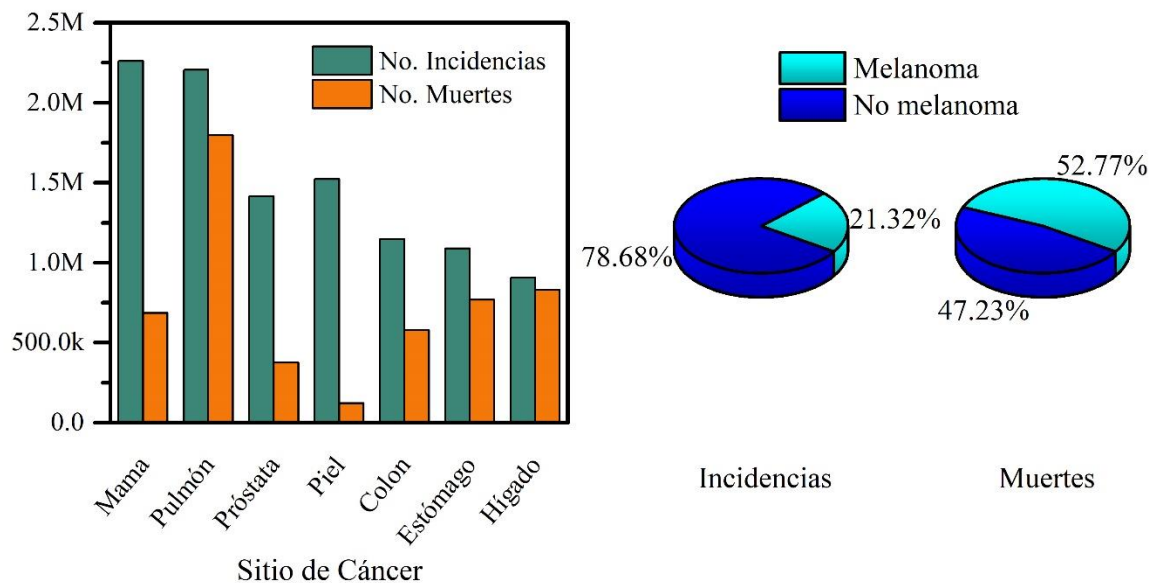


Figura 1. Estadísticas globales del cáncer 2020 – GLOBOCAN [25].

2.1.1 Microambiente tumoral

El microambiente tumoral es el entorno que rodea al tumor y está formado por células cancerígenas, estromales e inmunes. El conocimiento de este microambiente es clave para el desarrollo de nuevas terapias que permitan el control o eliminación de los tumores [29]. El pH desregulado es una característica del cáncer, esto es debido a procesos patológicos químicos y físicos. Las células cancerígenas tienen un pH intracelular de 7.4, el cual es superior al de células normales, y les facilita la supervivencia, su proliferación e inhibe la muerte celular programada, mientras que el pH extracelular de las células cancerígenas (5.7 – 7.1) es menor al de las células sanas (~7.4) [30,31].

2.1.2 Tratamientos convencionales

Para combatir el cáncer de piel se opta por un tratamiento dependiendo del avance y tipo de cáncer. Entre los tratamientos convencionales se encuentran la cirugía, radioterapia, y quimioterapia [32,33].

La remoción de la zona afectada mediante un procedimiento quirúrgico suele ser el tratamiento principal y dependiendo del riesgo de propagación se administran otros tratamientos. La radioterapia consiste en atacar las células cancerígenas con radiación para

matarlas o inhibir su crecimiento [34,35]. Por otro lado, la quimioterapia es el tratamiento contra el cáncer más empleado para casos muy avanzados, el objetivo es prevenir o retardar el crecimiento de células cancerígenas con la administración de químicos potentes vía intravenosa, oral o tópica. Al tratarse de un tratamiento que ataca a células normales y cancerígenas por igual, se ven efectos adversos en el paciente dependiendo de la dosis [36]. Además, se presentan factores como el mecanismo de transporte del fármaco que disminuyen la efectividad del tratamiento y pueden conducir a que el cáncer adquiera inmunidad debido a la limitada cantidad de fármaco que llega al tumor [37]. Por esta razón surge la importancia del desarrollo de tratamientos más eficientes que permitan la liberación sostenida y dirigida al sitio de interés [38].

2.1.3 Agentes antineoplásicos

Los agentes antineoplásicos o quimioterapéuticos son los encargados de detener o inhibir el crecimiento de las células cancerígenas. Todos los agentes son altamente citotóxicos con pequeños márgenes terapéuticos y dependiendo del mecanismo en el que afectan a las células los podemos clasificar en alquilantes, antimetabolitos, antibióticos antitumorales, entre otros [39]. Entre los agentes utilizados para tratar el cáncer de piel podemos encontrar los siguientes:

5-Fluorouracilo (5-FU)

Es un antimetabolito que pertenece al grupo de las fluoropirimidinas (Figura 2). Los metabolitos activos del 5-FU dificultan la síntesis y función del ácido desoxirribonucleico (ADN) y ácido ribonucleico (ARN), bloquean la propagación de las células cancerígenas e inducen la muerte celular programada [40,41].

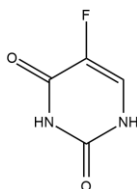


Figura 2. Estructura química de 5-FU.

Dacarbacina (DTIC)

La dacarbacina (Figura 3) usualmente se clasifica como un agente alquilante y su mecanismo de acción no está bien definido. Entre los mecanismos propuestos se encuentra la actuación como purina análoga, previenen la división celular al entrecruzar las cadenas de ADN [42].

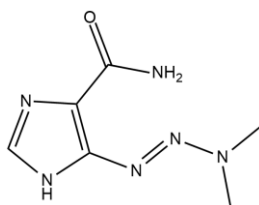


Figura 3. Estructura química de DTIC.

Paclitaxel (PTX)

El paclitaxel (Figura 4) es un agente de origen natural, taxano, su mecanismo consiste en promover el ensamblaje de microtúbulos que son las estructuras que permiten el movimiento de los cromosomas durante la mitosis. Los microtúbulos se estabilizan en presencia de paclitaxel, lo que no le permite depolimerizar y consecuentemente no puede darse la división celular [43].

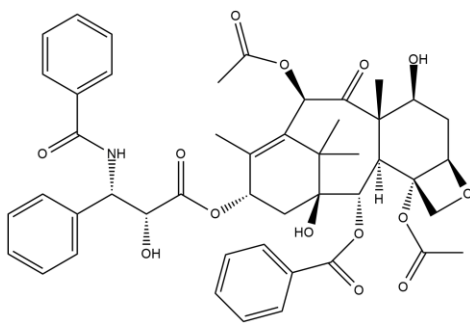


Figura 4. Estructura química de PTX.

Doxorrubicina (DOX)

La doxorrubicina es un agente quimioterapéutico perteneciente a la familia de las antraciclinas, en su presentación como hidrocloreto de doxorrubicina (DOX-HCl) es soluble en agua. Su mecanismo de acción es mediante la inhibición de la enzima

topoisomerasa II, complejos de la DOX se interponen en el ADN e inhiben la replicación de material genético o síntesis de ARN [44]. Es una base débil con un constante de disociación acida (pK_a) de 8.15, es decir que a un pH menor a su pK_a se lleva a cabo la protonación de la DOX y se vuelve una molécula catiónica (Figura 5) [45]. Para su administración, la FDA aprueba una dosis de 50-75 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ cada 3-4 semanas cuando se usa DOX únicamente. La posibilidad de presentar efectos adversos como la cardiotoxicidad, incrementa cuando se supera la dosis acumulada de 500 mg/m^2 [46].

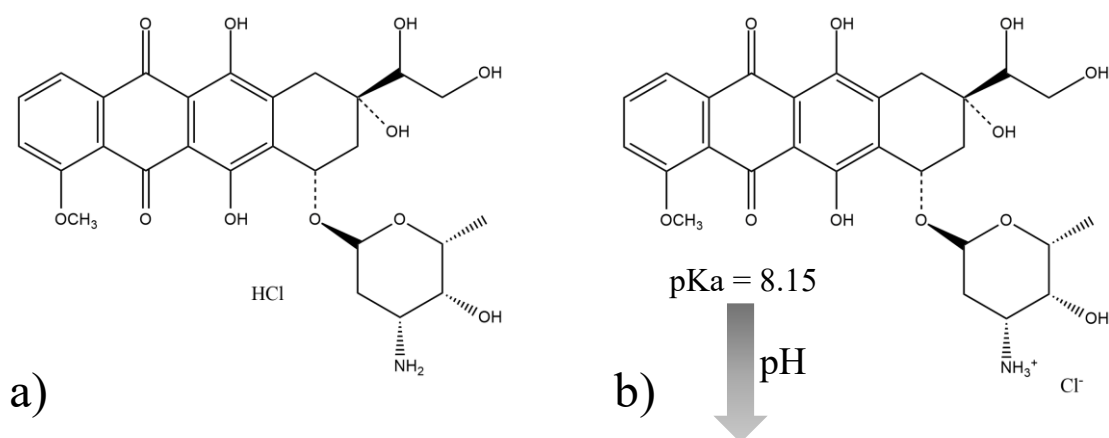


Figura 5. Estructura química de DOX a) desprotonada y b) protonada.

2.2 Sistemas de liberación de fármaco

Los sistemas de liberación permiten lograr una respuesta terapéutica deseada y se han propuesto varios diseños para el tratamiento del cáncer dependiendo de la ruta de administración y las características del sistema [47]. Entre los portadores de fármaco que se reportan se pueden encontrar: nanoportadores inorgánicos como nanopartículas (NPs) de oro [48], NPs de silica [49] y nanotubos de carbono [50]; sistemas poliméricos como NPs poliméricas [51], dendrímeros [52], micelas [53] e hidrogeles.

2.2.1 Hidrogeles

Los hidrogeles son cadenas poliméricas entrecruzadas que forman una estructura tridimensional y su capacidad de hinchamiento les permite absorber grandes cantidades de agua debido a los grupos hidrofílicos en las cadenas poliméricas principales, tales como grupos hidroxilo, carboxilo y amino [54,55]. Esto permite encapsular fármacos hidrofílicos

en los poros del hidrogel [56]. Adicionalmente, la propiedad de absorción de agua depende factores como la estructura y densidad de entrecruzamiento [57].

Se pueden clasificar por el origen de los polímeros que lo conforman y por el tipo de entrecruzamiento. Según el origen del polímero, están los hidrogeles naturales y sintéticos. La clasificación por tipo de entrecruzamiento se divide en el físico y el químico. El entrecruzamiento físico se obtiene mediante fuerzas intermoleculares (puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y fuerzas electrostáticas) mientras que el entrecruzamiento químico se debe a la formación de enlaces covalentes [55]. Se pueden obtener hidrogeles químicamente entrecruzados vía polimerización de radicales libres en presencia de un agente entrecruzante que promueva la unión entre cadenas poliméricas. Los hidrogeles entrecruzados químicamente presentan mejores propiedades mecánicas y estabilidad en comparación con los obtenidos físicamente. Sin embargo, los entrecruzantes comúnmente utilizados (glutaraldehído y tripolifosfato de sodio) incrementan la citotoxicidad del hidrogel, por esta razón se vuelve de importancia el desarrollo de entrecruzantes de baja o nula toxicidad que puedan reemplazarlos [58,59].

Generalmente los hidrogeles no son homogéneos, debido a que en algunos casos ocurre la separación de fases por formación de macroporos, esto se debe a la composición de la mezcla de reacción, el disolvente, la temperatura y concentración de sólidos durante la gelación, resultando en regiones de mayor entrecruzamiento que presentan menor hinchamiento y de menor entrecruzamiento que generalmente presentan mayor hinchamiento en agua [60].

2.2.2 Liberación controlada de fármaco

La liberación controlada tiene dos aspectos principales: liberación sostenida y liberación estímulo sensible o inteligente. La liberación sostenida permite administrar fármaco a una velocidad establecida por tiempos prolongados, mientras que la liberación inteligente consiste en utilizar polímeros capaces de percibir cambios en propiedades ambientales como la temperatura y pH, y que la respuesta de este material resulte en la liberación de fármaco [61,62].

2.2.3. Cinéticas de liberación de fármaco

La liberación de fármaco es compleja y puede ser el resultado de varios mecanismos como difusión, erosión e hinchamiento. Por esta razón se utilizan modelos matemáticos para comprender bajo que mecanismos se da la liberación. Algunos de los modelos principales son: orden cero, primer orden, Higuchi y Korsmeyer-Peppas [63].

El modelo de orden cero (Ecuación 1) corresponde a una tasa de liberación constante, en este caso la liberación de fármaco solo es función del tiempo [63].

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k \cdot t \quad \text{Ec. 1}$$

El modelo de primer orden (Ecuación 2) se caracteriza por ser dependiente de la concentración fármaco [63].

$$\ln\left(\frac{M_t}{M_\infty}\right) = k \cdot t \quad \text{Ec. 2}$$

El modelo de Higuchi (Ecuación 3) se basa en la ley de Fick, modela sistemas que liberan fármaco por difusión [64].

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k \cdot t^{1/2} \quad \text{Ec. 3}$$

El modelo de Korsmeyer-Peppas (Ecuación 4) conocido como ley de la potencia, es una ecuación que permite describir la liberación de fármaco de sistemas poliméricos.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k \cdot t^n \quad \text{Ec. 4}$$

En las ecuaciones (1 a 4) M_t es la cantidad liberada de fármaco en un tiempo t , M_∞ es el total de fármaco cargado en el hidrogel, n es el exponente de difusividad y k es una constante cinética [63].

Suponiendo geometría cilíndrica, el modelo de Korsmeyer-Peppas tiene la siguiente interpretación para valores de n . Cuando $n \leq 0.45$, rige el mecanismo de liberación por difusión Fickiana. Cuando $0.45 < n < 0.89$, el mecanismo que rige es anómalo o no Fickiana es decir que hay una contribución del mecanismo de difusión e hinchamiento. Cuando $n = 0.89$ se hace referencia a la cinética de orden cero, conocido como Caso II y la liberación es debida al hinchamiento del hidrogel. Mientras que a $n > 0.89$ es una forma extrema de transporte y ocurre la erosión del hidrogel, conocido como Super Caso II [63,65].

2.3 Polimerización vía radicales libres

La polimerización por radicales libres se refiere a un tipo de polimerización en cadena o poliadición. Esta polimerización generalmente requiere de hidrocarburos insaturados como monómeros y de un iniciador como lo pueden ser persulfatos, peróxidos y azocompuestos. Consiste en tres etapas: iniciación, propagación y terminación. En la etapa de iniciación se lleva a cabo la disociación del iniciador para formar radicales libres (especies con un electrón desapareado) y la reacción de estos con monómero para formar un macroradical. El macroradical es capaz de reaccionar con enlaces C=C de los monómeros e inicia la adición secuencial de monómero formando una cadena en crecimiento y esta etapa es conocida como propagación. Finalmente, la etapa de terminación implica la desaparición de los radicales por medio de diferentes fenómenos entre ellos la unión de dos cadenas en crecimiento [66].

2.4 Polímeros naturales

Los polímeros naturales o biopolímeros son compuestos orgánicos provenientes de organismos vivos como animales, plantas y microorganismos. Comparados con los polímeros sintéticos, destacan en su biocompatibilidad, toxicidad nula y degradabilidad [67]. Sin embargo, carecen en resistencia mecánica. Por esta razón se pueden preparar hidrogeles con polímeros naturales y sintéticos, hidrogeles híbridos, con propiedades mejoradas. Los biopolímeros más utilizados en el área biomédica para la liberación de fármacos son los polisacáridos [68]. Según su carga intrínseca, se pueden dividir a los

polisacáridos en catiónicos (quitosano), aniónicos (alginato, ácido hialurónico) y neutros (dextrano) [69].

2.4.1 Dextrano

El dextrano es un polisacárido hidrofílico complejo y ramificado compuesto por muchas unidades de glucosa unidas mediante enlaces glucosídicos α -1,6 formando cadenas de longitud variable de 10 a 200 kDa con posibles ramificaciones con enlaces α -1,3 (Figura 6). Es biocompatible, biodegradable y se ha comprobado la biocompatibilidad *in vivo* de los sistemas de liberación a base de dextrano, lo cual sugiere que no produce toxicidad o repuesta inmune. Además, exhibe una excelente solubilidad en disolventes tales como agua, dimetilsulfóxido (DMSO) y etilenglicol. Dado a su carácter hidrofílico y las propiedades mencionadas previamente; el dextrano es un buen candidato en sistemas de liberación controlada de fármacos. Por esta razón se ha empleado en gran medida como sistemas de liberación de agentes antineoplásicos [15,70].

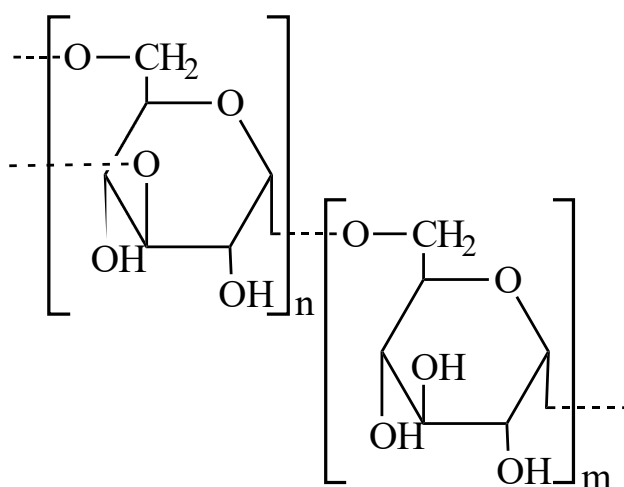


Figura 6. Estructura química del dextrano.

El dextrano no es susceptible a la polimerización vía radicales libres pero la disposición de grupos hidroxilo en su estructura permite introducir grupos funcionales que puedan polimerizar como los grupos metacrilato, tioles o aldehídos. La síntesis de dextrano metacrilizado es la modificación más utilizada para obtención de dextrano polimerizable, entre las rutas de síntesis se encuentra la reacción con metacrilato de glicidilo, cloro metacrilato y anhídrido metacrílico[71].

2.4.2 Quitosano

Es un polisacárido lineal, catiónico y semicristalino proveniente de la desacetilación de la quitina (Figura 7), el grado de desacetilación comercial está por arriba del 55%. Como otros polímeros naturales, posee buena biocompatibilidad, biodegradabilidad y no presenta toxicidad. Entre otras propiedades que se le atribuyen se encuentra la actividad antiinflamatoria, antioxidante, antimicrobiana, antifúngica y antitumoral. El quitosano no es soluble en agua, por lo que requiere de un medio ácido ($\text{pH} < 6.5$) para que los grupos amino protonen y así pueda solubilizar [72].

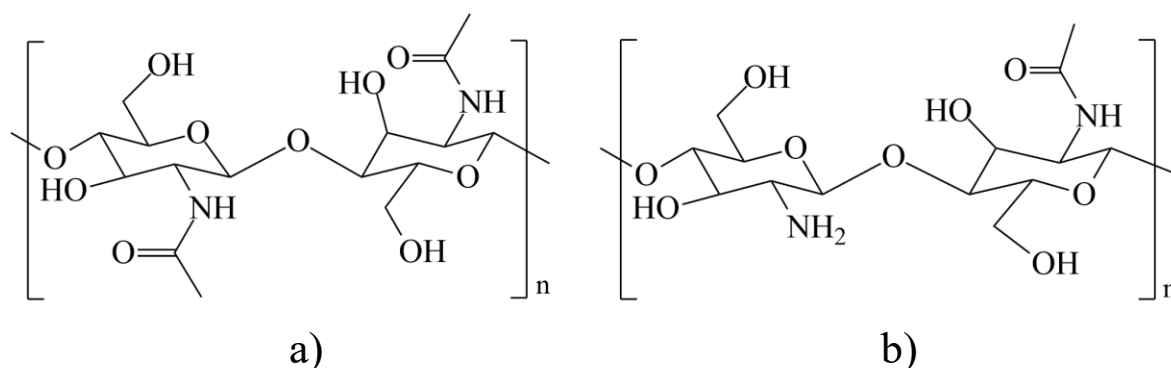


Figura 7. Estructura química de a) quitina y b) quitosano

Debido a sus propiedades, el quitosano se ha modificado con anhídrido maleico para utilizarse como agente entrecruzante en la preparación de varios hidrogeles:

Yu y col. (2011) obtuvieron quitosano como agente entrecruzante con 14.2% de sustitución de grupo maleico para la formación de un hidrogel inteligente de ácido itacónico y N-isopropilacrilamida donde se observó que la protonación de los grupos amino en el entrecruzante permiten una mayor capacidad de agua en el hidrogel [73].

Más recientemente, Meléndez-Ortiz y col. (2022) injertaron gasas de algodón con hidrogeles de maltodextrina (MD) y ácido acrílico (PAAc) para la liberación de vancomicina utilizando quitosano modificado como entrecruzante. Concluyeron que la concentración de entrecruzante influyó drásticamente el porcentaje de injerto, a mayor concentración se favorece el acoplamiento de las cadenas de PAAc-co-MD [74].

2.5 Polímeros inteligentes

Los polímeros estímulo sensibles o inteligentes son aquellos que son capaces de detectar pequeños cambios fisicoquímicos en su entorno. Se caracterizan por experimentar cambios estructurales y conformacionales reversibles en respuesta a las variaciones de los alrededores. Estos cambios ambientales o estímulos se dividen en tres tipos: químicos, físicos y biológicos. Los estímulos químicos incluyen pH, potencial redox y fuerza iónica; los estímulos físicos incluyen la temperatura, luz, ultrasonido, campo eléctrico y magnético; y los estímulos biológicos, concentración de algunas sustancias y enzimas [75].

El estímulo químico de pH es de los más estudiados y los polímeros que responden a este estímulo es mediante cambios estructurales o de propiedades, como la conformación de la cadena y solubilidad. Los polímeros sensibles al pH contienen grupos pendientes ionizables que aceptan o donan protones en respuesta al entorno. Estos polímeros se pueden clasificar en poliácidos y polibases. Los poliácidos o polianiones se componen por grupos ácidos ionizables, como ácido carboxílico (COOH), ácido sulfónico (SO₃H) o ácido fosfónico (PO₃H₂), mientras que las polibases o policationes contienen grupos básicos como aminas (NH₂) en su estructura. El grado de ionización del polímero se altera drásticamente cuando se alcanza cierto valor de pH denominado pKa y este cambio se ve reflejado en el volumen hidrodinámico de la cadena (Figura 8). Los poliácidos exhiben un estado expandido cuando el pH del medio supera el pKa, mientras que a pH menor que el pKa estarán en un estado contraído mientras que las polibases presentarán un estado contraído cuando el pH del medio se encuentre por arriba del pKa y un estado expandido cuando el pH es menor [75,76].

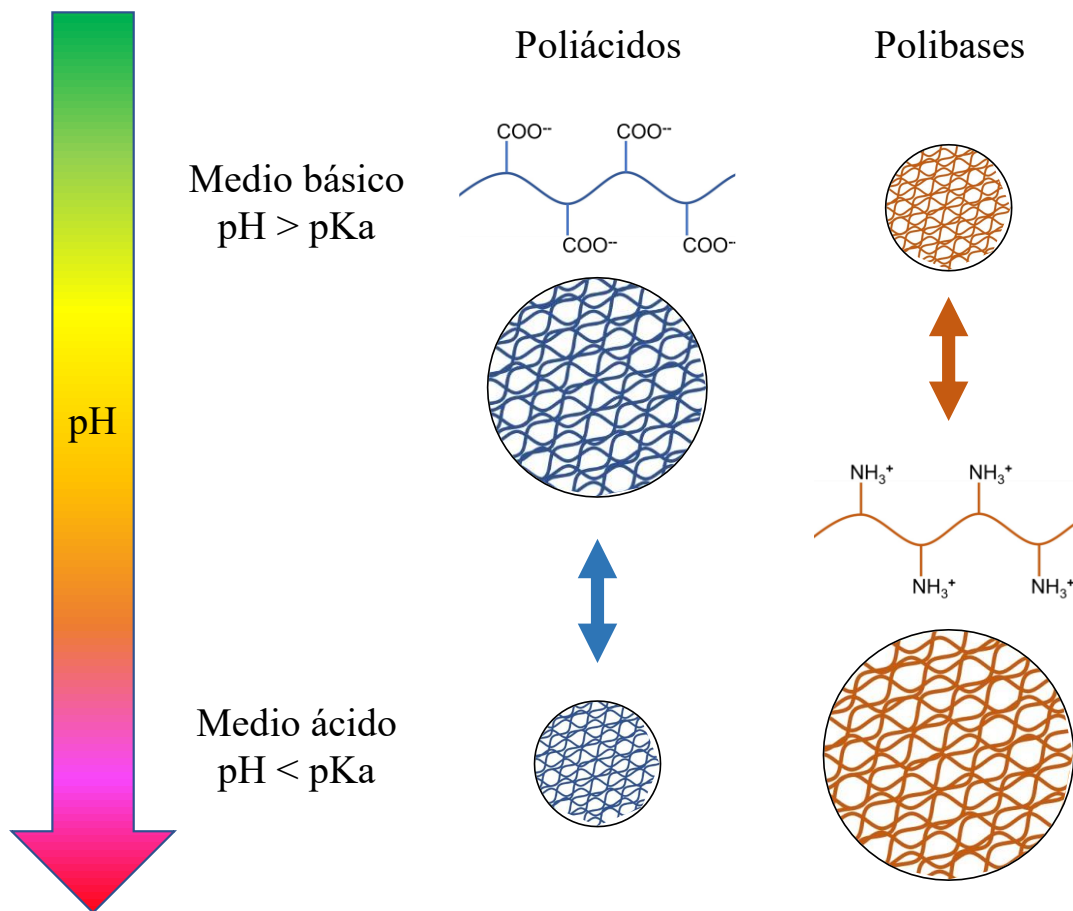


Figura 8. Esquema del comportamiento de polímeros sensibles al pH.

2.5.1 Poli(ácido metacrílico) (PMAA)

Es un polímero sintético (Figura 9) apropiado para aplicaciones biomédicas. Es hidrofílico, biocompatible y tiene una alta capacidad de hinchamiento en agua que cambia con la variación de pH del medio. Por lo general, los poliácidos con grupos carboxílicos, como el poli(ácido acrílico) y el poli(ácido metacrílico) tienen su valor de pKa entre 5 y 6 [67].

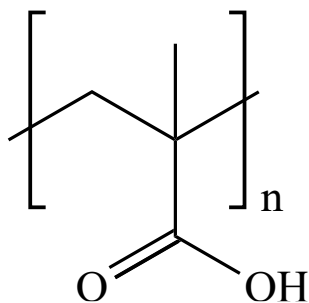


Figura 9. Estructura de PMAA.

Cuando el PMAA está a pH mayores a 5.5, los grupos carboxílicos tenderán a ionizarse y los grupos cargados se repelen generando como consecuencia el hinchamiento del hidrogel. En el caso contrario, cuando el pH es menor a 5.5, los grupos no estarán ionizados por lo que la red se quedara en un estado compacto [77].

2.6 Hidrogeles basados en polímeros naturales aplicados en la liberación de fármacos

Esta investigación se centra en el uso de hidrogeles basados en polisacáridos para su aplicación en sistemas de liberación de fármacos. A continuación, se muestran algunos trabajos previamente reportados sobre el uso de hidrogeles empleados como sistemas de liberación de fármacos principalmente aplicados en el tratamiento de cáncer de piel:

Liu y col. (2016) sintetizaron hidrogeles con sericina y dextrano, para esto ambos fueron modificadas químicamente. Se obtuvo una gelación muy rápida a 37 °C mediante el entrecruzamiento por enlaces hidrazonas. También se realizaron pruebas de porosidad, hinchamiento, citotoxicidad, biocompatibilidad y liberación. Se observó una disminución de tamaño de poro y porosidad en la estructura del hidrogel conforme se aumentaba la concentración de dextrano modificado. El hinchamiento en medio ácido fue menor que a condición básica y neutra, por lo que estos hidrogeles pueden funcionar como materiales sensibles al pH. Finalmente se obtuvo un sistema no invasivo de liberación controlada con posible aplicación en terapias dirigidas contra el cáncer [78].

Carvalho y col. (2018) prepararon un hidrogel conformado por carboximetilcelulosa (CMC) a partir de un complejo CMC-DOX que fue entrecruzado con ácido cítrico. Se encontró que el grado de sustitución de CMC influye al hinchamiento del hidrogel. Por otro lado, se reportó que la liberación de fármaco es dependiente del pH del medio y el grado de sustitución. Las pruebas *in vitro* indicaron que el hidrogel de CMC-DOX presenta una eficiencia moderada contra células cancerígenas, por esta razón los autores concluyen que este sistema es prometedor para el desarrollo de terapias tópicas para el cáncer de piel [79].

Por otro lado, Capanema y col. (2019) reportaron un hidrogel híbrido compuesto por CMC y nanopartículas de plata (AgNPs). Para sintetizarlo se preparó el compuesto CMC-AgNPs y se incorporó DOX mediante atracción electroestática en medio ácido (pH=5.5) para

después entrecruzar químicamente al agregar ácido cítrico. Mediante pruebas *in vitro* se encontró una citotoxicidad mayor hacia las células cancerígenas. Siendo así, el hidrogel demostró un efecto sinérgico hacia matar células de melanoma y adicionalmente se probó la actividad antimicrobiana del mismo. Se concluyó que el hidrogel CMC-AgNPs-DOX podría ser una buena opción en el tratamiento tópico de cáncer de piel debido a su ataque al cáncer, actividad antimicrobiana y baja toxicidad [80].

Por su parte, Huang y col. (2020) sintetizaron hidrogeles a partir de dextrano modificado con metacrilato de glicidilo (DexMA) entrecruzado con luz UV. Este hidrogel se utilizó para producir micro agujas (MNs) y se realizaron pruebas de hinchamiento, degradabilidad y liberación de fármaco. Se prepararon varias soluciones de DexMA para sintetizar los hidrogeles (10, 20, 30 %p/v) y se observó que el hidrogel obtenido con la solución DexMA 30% fue la que presentó menos hinchamiento y degradación debido a la mayor densidad de entrecruzamiento, mientras que los demás hidrogeles presentaban una gran pérdida de masa debido al reactivo que no pudo entrecruzar. El DexMA no presenta toxicidad, sin embargo, el uso de fotoiniciador en grandes concentraciones puede aportar cierto grado de citotoxicidad. Las pruebas de liberación se llevaron a cabo con DOX y trametinib (Tra) a 37 °C. Se observó que la DOX se liberó en mayor cantidad (80%) debido a su alta solubilidad en agua mientras que Tra se liberó alrededor del 20% en 48 h. Se concluyó que la mejor opción es el hidrogel DexMA 30% debido a su liberación constante de fármaco y mayor grado de entrecruzamiento que lo hace tener menor contenido de iniciador residual, así como una mejor resistencia mecánica y menor degradación [10].

Recientemente, Nair y col. (2021) desarrollaron un hidrogel a base de quitina cargado con plumbagina. Se realizaron pruebas *in vitro* con células de cáncer de piel para analizar la viabilidad celular y *ex vivo* para estudiar penetración de piel. Se obtuvo una viabilidad celular de 25% cuando la concentración de plumbagina en el hidrogel fue 200 μ M. Se utilizaron potenciadores para mejorar la penetración del fármaco en la piel, como polietilenglicol (PEG), ácido oleico y polisorbato 80, con el que se obtuvieron mejores resultados de penetración (49%) con 1% polisorbato y 1% PEG. Los autores desarrollaron un sistema con la habilidad de penetrar la piel para aplicación en el tratamiento tópico del cáncer de piel [7].

Más recientemente, Luca y col. (2023) obtuvieron hidrogeles basados en dextrano/quitosano/xantán/gelatina entrecruzado con N,N'-metilbisacrilamida (NMBA). Los hidrogeles obtenidos presentaron poros interconectados y en pruebas de hinchamiento a condiciones fisiológicas llegaron hasta 2200% de hinchamiento en 2 h. La liberación máxima fue 85 % de DOX en 120 h mediante difusión con un pequeño aporte por el hinchamiento del hidrogel.

Adicionalmente, en la Tabla 1 se muestran algunos reportes sobre hidrogeles de origen natural que se han propuesto para el tratamiento de cáncer de piel.

Tabla 1. *Hidrogeles en el tratamiento de cáncer de piel.*

Hidrogel	Agente antineoplásico	Resultado	Año	Ref.
Hidrogeles de gelatina-alginato oxidado	Curcumina	La degradación del hidrogel permitió transporte de las vesículas a través de la piel.	2023	[81]
Hidrogeles de iota-carragenina	MTX	Hidrogel tópico con control del transporte transdérmico de MTX mediante el solubilizante β DB que inhibe la permeación.	2022	[82]
Hidrogel híbrido de quitosano-g-ácido dihidrocafeico incorporado de nanocompositos MoS ₂ @MnFe ₂ O ₄ y micelas de aldehído Pluronic F127 cargadas con glucosa oxidasa	-	Sistema inyectable con excelente biocompatibilidad y supresión tumoral casi completa tanto <i>in vitro</i> (98.8%) como <i>in vivo</i> (97.6%).	2021	[83]
Hidrogel híbrido basado en gelatina con nanopartículas de plata recubiertas con albumina de suero bovino (ASB)	-	Tratamiento tópico con buen hinchamiento, propiedades mecánicas e inhibición del crecimiento tumoral sin toxicidad aparente.	2021	[84]
Hidrogel a base de Carbopol 940	PTX	Presentó buena adhesión a la	2020	[85]

incorporado con micelas de polietilenimina y polietilenglicol		piel, penetración y depósito de PTX.		
Hidrogel basado en poli(etil glutamato) y polietilenglicol	DOX	Sistema termosensible con buena biocompatibilidad e inhibición tumoral sin efectos secundarios.	2018	[86]
Hidrogel de quitosano dopado con lantano	-	Inhibición selectiva del crecimiento de células de melanoma.	2018	[87]
Hidrogel base oligopéptido	PTX	Supresión del crecimiento de melanoma <i>in vivo</i> .	2018	[88]
Hidrogel de curcumina con incorporación de complejos hidroxipropil- β -ciclodextrina	Curcumina	Mejora en la solubilidad de la curcumina, logrando un efecto transdérmico y citotoxicidad en células de melanoma.	2014	[89]
Nanohidrogeles basados en colesterol-g-ácido hialurónico (HA-CH) con ASB oxidasa	-	La ASB oxidasa inmovilizada en el hidrogel tiene mayor actividad que la ABS oxidasa libre.	2013	[90]

Sin embargo, el desarrollo de hidrogeles basados particularmente en dextrano para el tratamiento de cáncer de piel no ha sido investigado exhaustivamente. En base a los antecedentes mostrados en este trabajo se pretende llevar a cabo la preparación de un nuevo hidrogel basado en dextrano y PMAA para su potencial uso como sistema de liberación controlada de DOX. Además, se estudiará el rol del quitosano como agente entrecruzante en la formación del hidrogel.

3. Objetivo general

Preparar y caracterizar un hidrogel basado en dextrano y PMAA mediante polimerización por radicales libres empleando CS modificado como agente entrecruzante para su uso como sistema de liberación de DOX.

4. Objetivos específicos

- I. Modificar dextrano con metacrilato de glicidilo (GMA) para proveerle de grupos susceptibles a polimerizar vía radicales libres.
- II. Copolimerizar dextrano-GMA con ácido metacrílico mediante polimerización por radicales libres para obtener un hidrogel variando diversos parámetros de síntesis tales como relación másica de comonómeros, concentración de comonómeros, concentración de agente entrecruzante y tiempo de reacción.
- III. Caracterizar los materiales preparados mediante diversas técnicas fisicoquímicas tales como espectroscopia de infrarrojo (FTIR), resonancia magnética nuclear (RMN), análisis termogravimétrico (TGA), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y microscopía electrónica de barrido (SEM).
- IV. Estudiar el comportamiento de hinchamiento en agua de los hidrogeles, así como la carga y los perfiles de liberación de DOX a diferentes condiciones de pH (7.4 y 5.0).

5. Justificación

La preparación de hidrogeles basados en materiales biocompatibles es una estrategia importante para la preparación de dispositivos biomédicos empleados en el tratamiento de cáncer de piel. Particularmente, el dextrano es considerado biocompatible, biodegradable y seguro para su uso como dispositivo biomédico. Sin embargo, este tipo de polisacáridos no pueden formar hidrogeles por sí solos y necesitan previa funcionalización, así como el uso de agentes entrecruzantes y/o comonómeros para su formación. En particular se escogió el ácido metacrílico como monómero para promover la formación del hidrogel y además de proveer propiedades mecánicas al hidrogel resultante.

Por otro lado, el uso de quitosano (CS) como agente entrecruzante ha sido poco estudiado. De esta manera, la modificación de CS planteada en la propuesta permitiría su uso como agente entrecruzante en la formación de hidrogeles de dextrano. Esto evitaría el uso de agentes entrecruzantes citotóxicos en la formación de hidrogeles de interés biomédico.

6. Hipótesis

Es posible la preparación de hidrogeles basados en dextrano y PMAA mediante polimerización por radicales libres empleando CS modificado como agente entrecruzante capaces de cargar y liberar un agente antineoplásico.

7. Metodología

7.1 Reactivos

En la Tabla 2 se enlistan los reactivos utilizados tanto en la síntesis de los hidrogeles poli(DexGMA-co-MAA) como en las pruebas de carga y liberación de fármacos.

Tabla 2. Reactivos utilizados.

Reactivos
Quitosano (Sigma-Aldrich, 50-190 kDa, grado de desacetilación 75-85 %)
Dextrano (Sigma-Aldrich, <i>Leuconostoc spp.</i> , Mr 40,000)
Anhídrido maleico (Sigma-Aldrich, 99%)
Metacrilato de glicidilo (Sigma-Aldrich, 97%)
Ácido metacrílico (Sigma-Aldrich, 99%)
Persulfato de amonio (Sigma-Aldrich, 98%)
Doxorrubicina (Sigma-Aldrich, estándar farmacéutico 98%)
Ácido cítrico (Fermont, 99%)
Fosfato de sodio dibásico heptahidratado (Jalmek, 98%)

7.2 Modificación de dextrano con metacrilato de glicidilo

Inicialmente se disolvieron 2 g de dextrano en 5 mL de agua desionizada a temperatura ambiente para después agregar una solución de HCl 1.6 M hasta alcanzar un pH de 3. Entonces se agregaron 4 g de metacrilato de glicidilo (GMA) y la mezcla resultante se dejó reaccionar bajo agitación magnética durante 24 h a 60 °C (Figura 11). Enseguida, el producto se precipitó en 150 mL de etanol e hicieron 3 lavados de 45 min con etanol. El precipitado (DexGMA) se decantó, se dejó secar a 60 °C y se almacenó para su posterior uso.

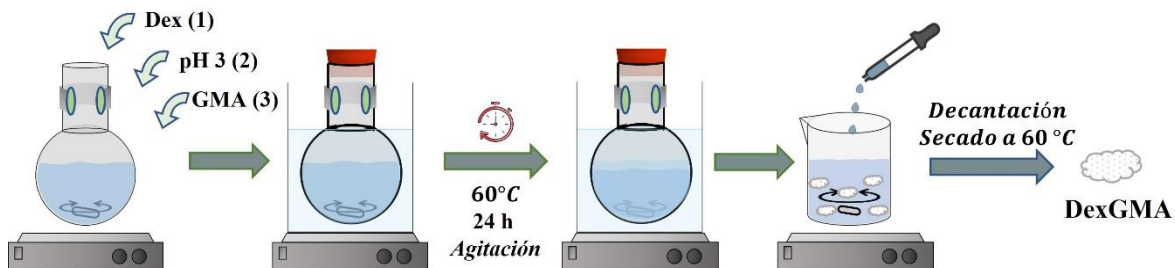


Figura 10. Esquema para la modificación de dextrano con GMA.

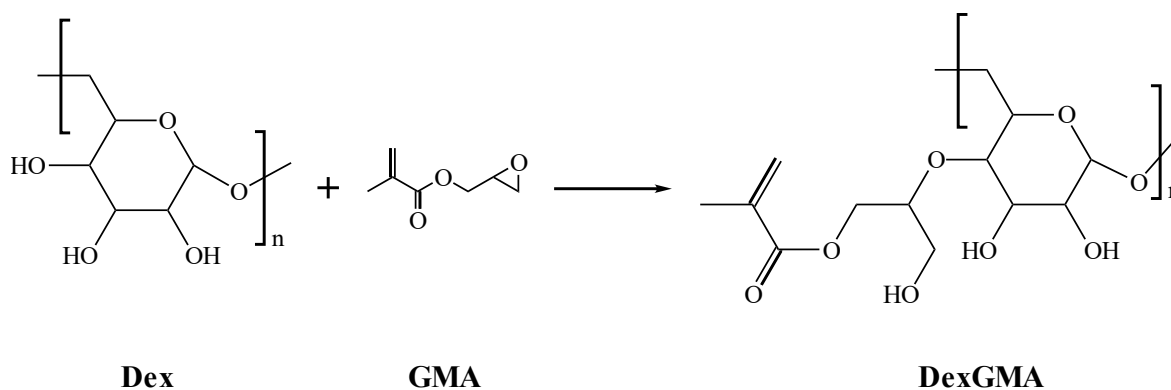


Figura 11. Reacción de modificación de Dex con GMA.

7.3 Modificación de quitosano con anhídrido maleico

Para modificar el CS se disolvió 1 g en 33 mL de agua y 0.3 mL de ácido acético. Posteriormente, se añadió gota a gota una solución de anhídrido maleico (MA, 2 g) en acetona (2 mL) bajo agitación constante en un baño de hielo. Después de 15 minutos (Figura 13), la mezcla se colocó a temperatura ambiente y se agitó durante 24 h. El producto (CS-MA) se precipitó en 200 mL de acetona, se decantó y dejó secar a temperatura ambiente para su posterior uso.

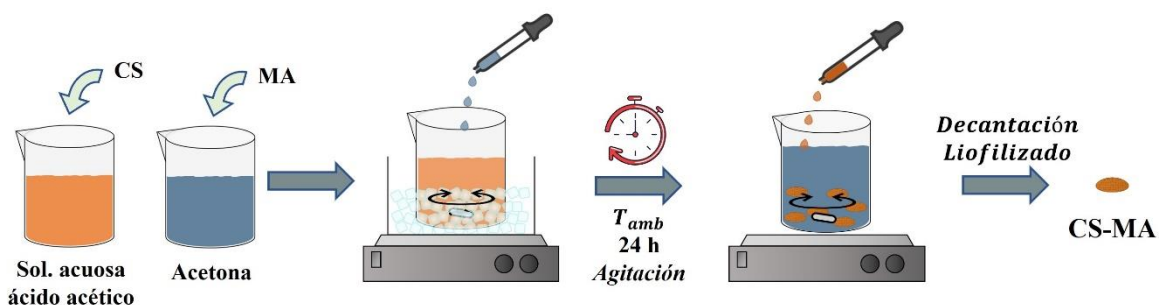


Figura 12. Esquema de la ruta empleada para la modificación de quitosano con MA.

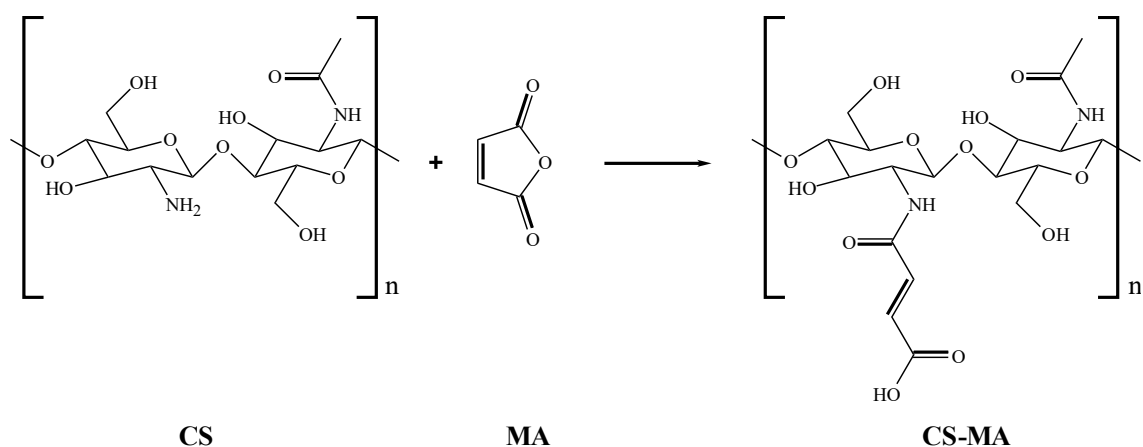


Figura 13. Reacción de modificación de CS con MA.

7.4 Preparación de hidrogeles poli(DexGMA-co-MAA)

En un matraz bola se disolvió una cantidad predeterminada de CS-MA en 5 mL de agua Milli-Q. Una vez disuelto, se añadió DexGMA hasta su disolución total. Entonces, se agregó MAA previamente destilado y persulfato de amonio (APS, 5% en peso con respecto a la cantidad de monómeros), el matraz se selló con un tapón septum y se purgó con nitrógeno durante 15 min. El matraz bola se colocó en un baño de temperatura controlada a 60 °C y agitación magnética constante por un tiempo determinado para la formación del hidrogel poli(dextrano-co-ácido metacrílico). El hidrogel obtenido se lavó con agua destilada para eliminar residuos de monómeros sin reaccionar y se secó en una estufa a 60 °C (Figura 14). En esta parte se varió la proporción de relación másica de los monómeros,

concentración comonomérica (5-20 % en peso) y de agente entrecruzante (0-10 % en peso con respecto a la cantidad de monómeros), así como el tiempo (0.5-3 h) para determinar su efecto en la formación del hidrogel. Se propone que el hidrogel tendrá la estructura mostrada en la Figura 15.

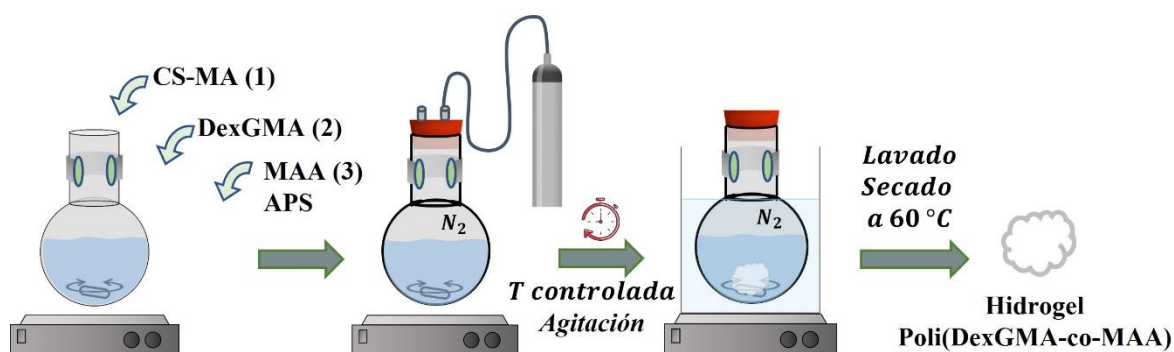


Figura 14. Metodología de preparación de hidrogeles poli(DexGMA-co-MAA).

7.5 Pruebas de hinchamiento

Se llevaron a cabo pruebas de hinchamiento para determinar la capacidad de retención de agua de los hidrogeles preparados. Para esto, los hidrogeles sintetizados (previamente secados y pesados), se sumergieron en agua destilada a temperatura ambiente. A diferentes tiempos las muestras se sacaron, se les retiró el exceso de agua y se pesaron para posteriormente sumergirlas nuevamente en agua. Se construyó una gráfica de la dependencia del porcentaje de hinchamiento con respecto al tiempo. El tiempo de hinchamiento límite se determinó por el punto en el cual el peso del hidrogel permanece constante.

El porcentaje de hinchamiento se determina con la siguiente ecuación:

$$\text{Hinchamiento (\%)} = \frac{W_s - W_0}{W_0} \cdot 100$$

Donde W_s = peso del hidrogel hinchado, W_0 = peso inicial del hidrogel.

Una vez establecido el tiempo de hinchamiento límite, se determinó la dependencia de este a diferentes valores de pH, para determinar el pH crítico (pH de respuesta) del hidrogel en un intervalo de 3 a 7.

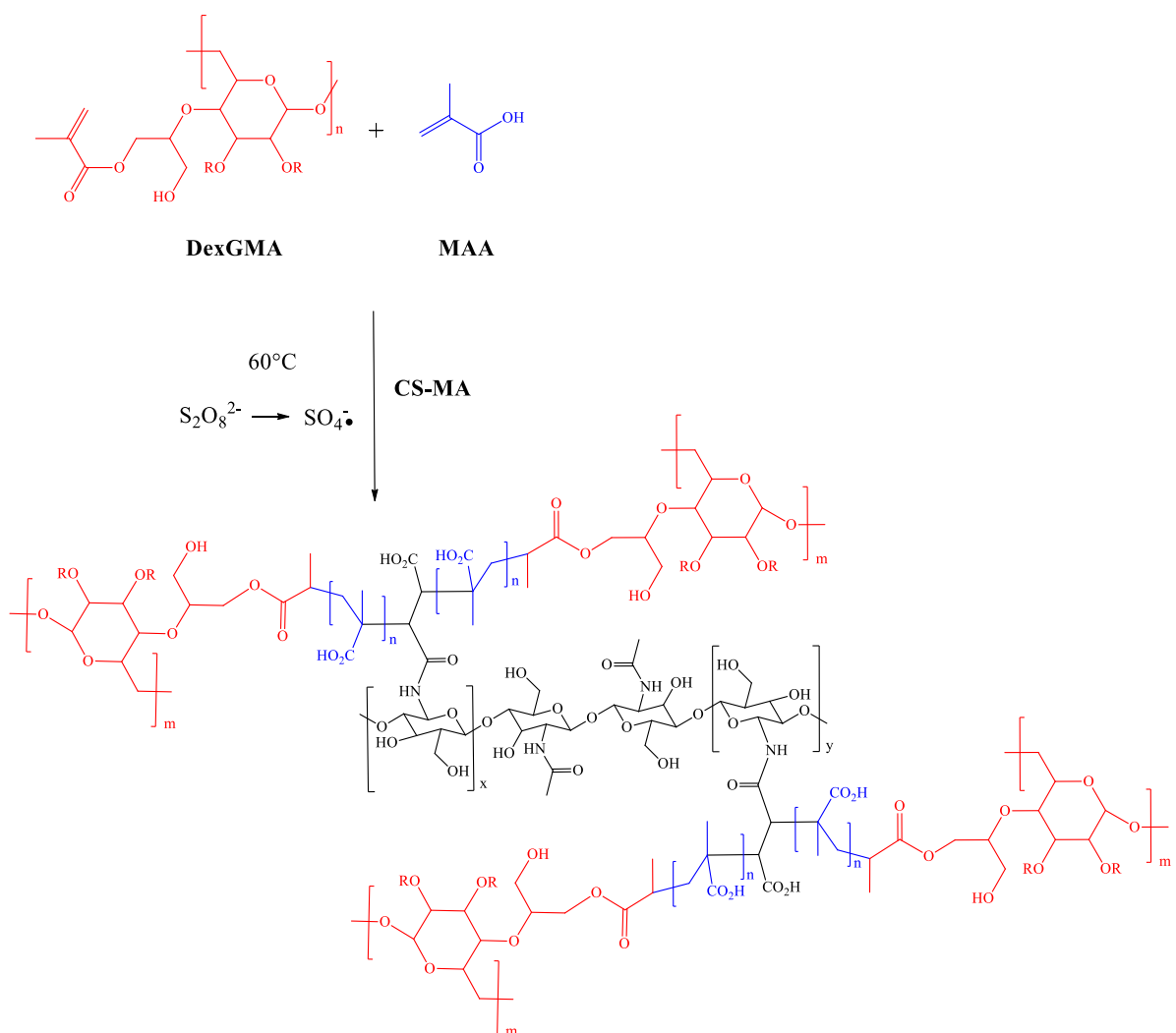


Figura 15. Esquema propuesto para la formación del hidrogel poli(DexGMA-co-MAA).

7.6 Carga y liberación de fármaco

Para la carga de DOX, una muestra de hidrogel (previamente pesada) se sumergió en una solución de DOX (0.1 mg/mL). Entonces a determinados tiempos, se tomó una alícuota y se midió la absorbancia (longitud de onda 480 nm) en un espectrofotómetro Jenway 7305. El proceso de carga terminó cuando no se observaron cambios en los valores de la absorbancia de la solución.

Para los estudios de liberación, una muestra de hidrogel cargada previamente con DOX se sumergió en una solución amortiguadora McIlvaine (pH 7.4 y 5.0) a 37 °C con agitación

magnética leve. La liberación del fármaco fue monitoreada mediante UV-vis (480 nm) tomando una alícuota de 2 mL a intervalos de tiempo determinados y agregando el equivalente de solución amortiguadora nueva. Los experimentos se llevaron a cabo por triplicado.

Para determinar la concentración se utilizó una curva de calibración preparada previamente por el grupo de trabajo (Figura 16). Con la ecuación de la recta $y=17.674x + 0.0122$, donde “y” es la absorbancia y “x” la concentración en mg/mL.

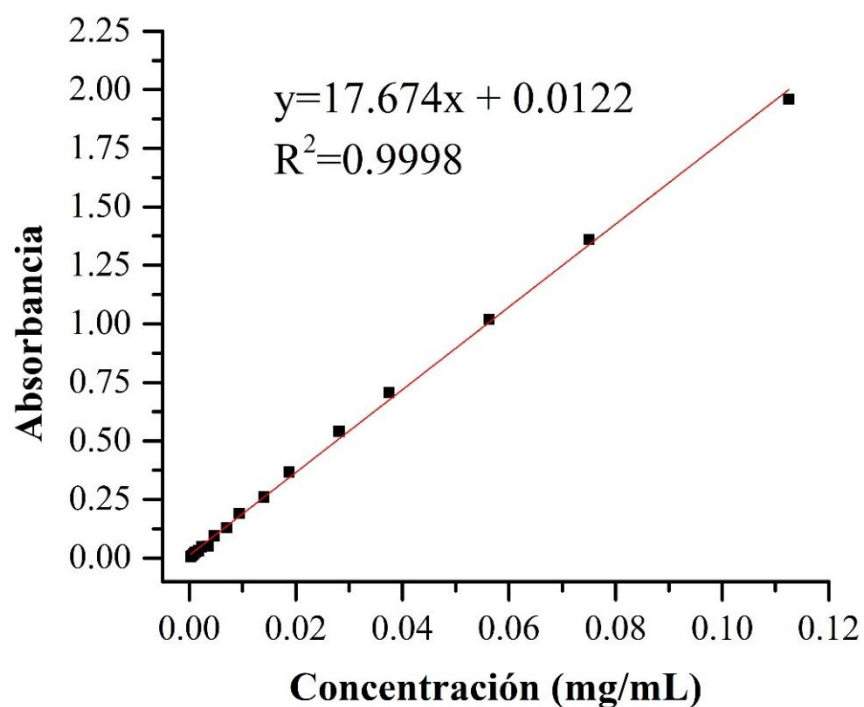


Figura 16. Curva de calibración de DOX.

8. Resultados y discusión

8.1 Síntesis de DexGMA

Se modificó el dextrano mediante la sustitución de GMA a partir de la apertura de anillo del epóxido (Figura 11) [91,92]. La funcionalización de dextrano se caracterizó mediante FTIR y RMN. En la Figura 17 se muestran los espectros de Dex y DexGMA. Para ambos compuestos se presenta una banda en 3350 cm^{-1} asociado a las vibraciones OH y 1645 cm^{-1} a los grupos C-OH de las unidades glucopiranosas. El pico en 2925 cm^{-1} corresponde a los estiramientos C-H, adicionalmente se asociaron los picos en $1148, 1100$ y 1010 cm^{-1} a los modos de deformación C-O-C de los enlaces glucosídicos [93,94]. Las señales que confirmaron la modificación de dextrano se encuentran en 1715 y 1640 cm^{-1} , las cuales corresponden a los enlaces C=O y C=C del GMA respectivamente [10].

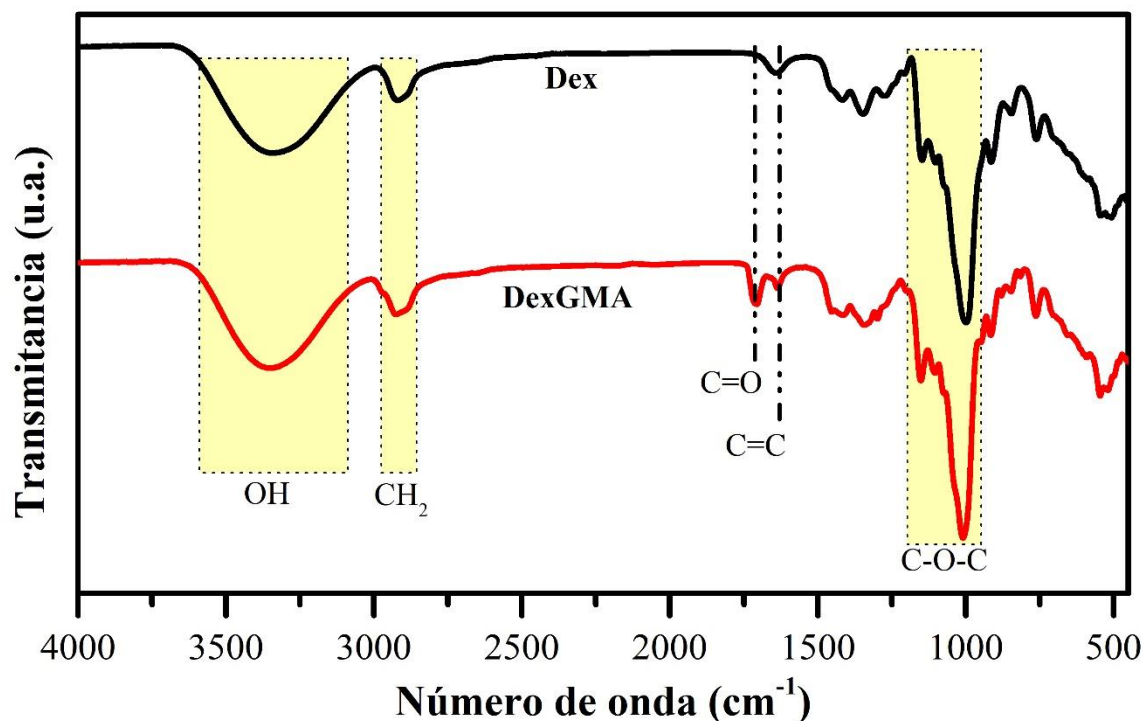


Figura 17. Espectros de FTIR-ATR de dextrano y dextrano modificado con GMA.

En la Figura 18 se muestran los espectros de RMN de los compuestos anteriores. El espectro del dextrano sin modificar muestra señales en el intervalo de desplazamiento químico (δ) de 4.1 a 3.4 ppm que corresponde a los protones en la cadena del dextrano,

mientras que la señal a $\delta=4.9$ es asignada al protón anomérico del anillo glucopiranososa. Por su parte, el espectro del DexGMA mostró la señal del protón anomérico del dextrano, de los protones de la cadena de dextrano y adicionalmente las señales en $\delta=6.17$ y 5.75 que se asocian a los protones del grupo insaturado del GMA, estas señales confirman la modificación del dextrano con GMA. Adicionalmente se calculó el grado de sustitución (DS) del DexGMA obtenido resultando en $DS = 9\%$. Esto fue calculado dividiendo el promedio de las integrales de los picos señalados de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$DS = \frac{\text{integral de } \delta = 6.17 \text{ y } 5.75 \text{ (protones metacrilicos)}/2}{\text{integral de } \delta = 4.9 \text{ (proton anomeric)}} \cdot 100$$

En otros trabajos, Huang y col. reportan valores obtenidos de $DS = 20\%$ mientras que Plieva y col. reportaron diferentes valores de DS (4, 11 y 42 %) por lo que el DS obtenido mediante el método de síntesis utilizado en este trabajo se encuentra dentro de valores reportados para la modificación de Dex con GMA [10,95].

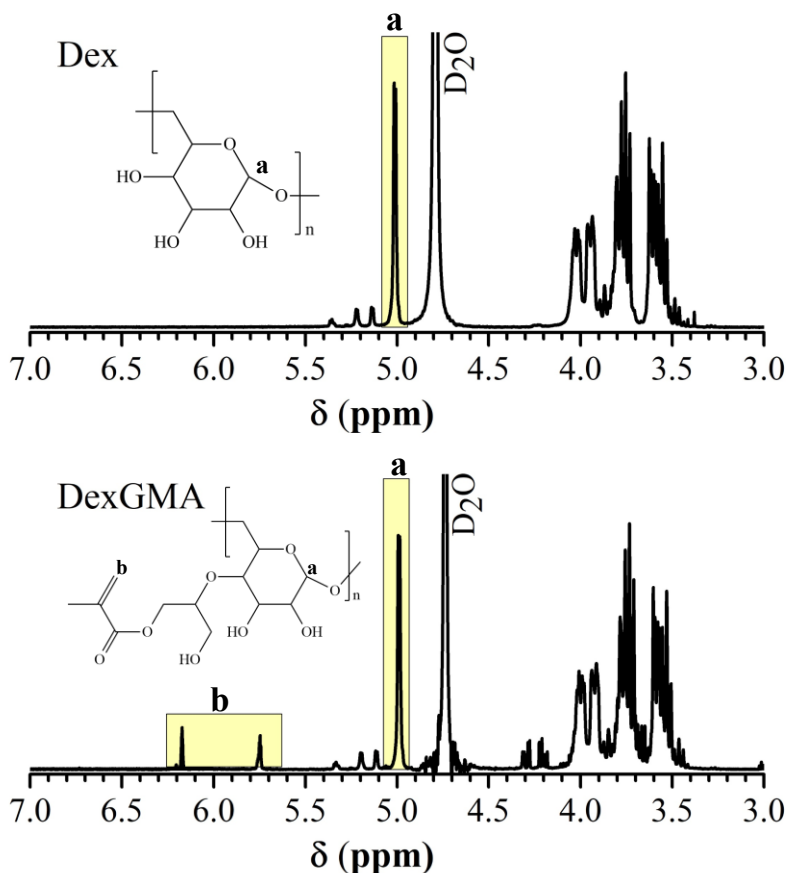


Figura 18. Resultados de ¹H RMN de Dex y DexGMA.

8.2 Síntesis de CS-MA

En la Figura 19 se muestran los espectros de FTIR del CS y CS-MA. En ambos espectros se observa una banda de 3630 a 3030 cm^{-1} que corresponde al estiramiento de enlaces O-H y N-H mientras que los picos en 2915 y 2855 cm^{-1} se asocian al estiramiento asimétrico del enlace C-H. Adicionalmente, la banda entre 1200 y 940 cm^{-1} se asocia a las vibraciones de estiramiento C-O y de estiramiento asimétrico C-O-C del anillo glucosídico [96]. En seguida se encuentran señales en 1615, 1550 y 1355 cm^{-1} que corresponden a la tensión de C=O, a la flexión de NH_2 y el estiramiento N-H respectivamente [97]. La señal en 1705 cm^{-1} en el espectro de CS-MA confirma que se realizó la modificación del CS y esta señal está asociada al grupo C=O proveniente del MA. El espectro obtenido coincide con el reportado por Nakhjiri y col. del cual fue adaptada la metodología de modificación de quitosano [98].

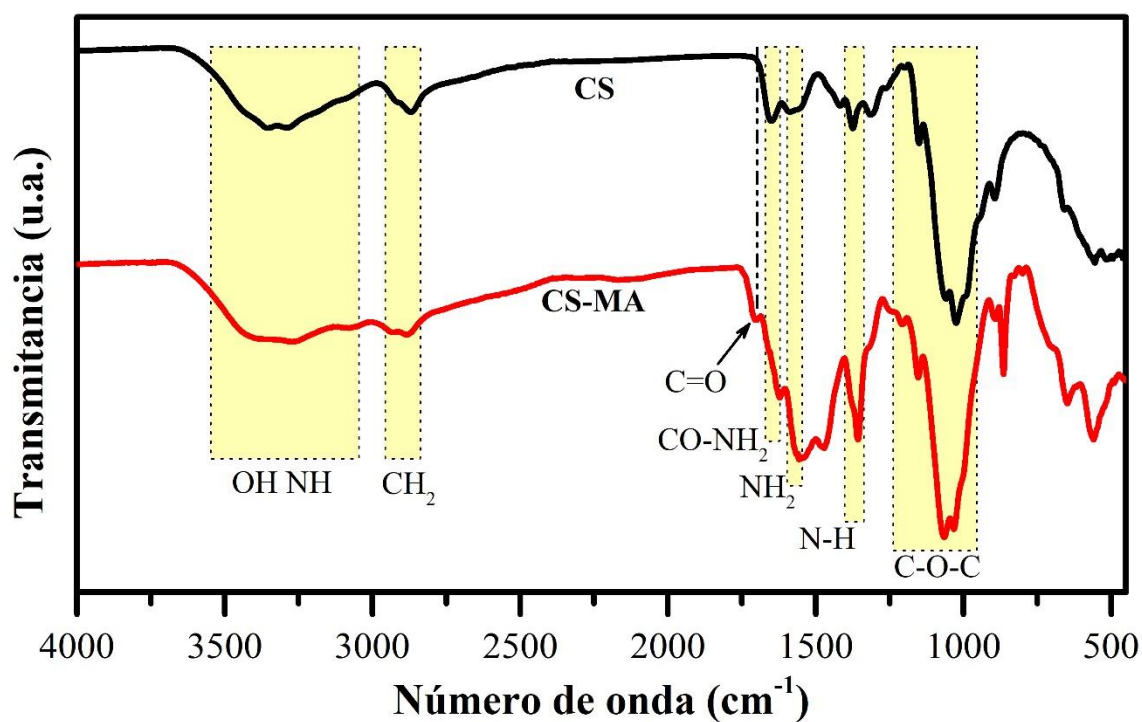


Figura 19. Espectro de FTIR-ATR de modificación de CS con MA.

8.3 Preparación de hidrogeles de poli(DexGMA-co-MAA)

Se prepararon hidrogeles mediante el método de polimerización vía radicales libres utilizando MAA y DexGMA como los monómeros para la síntesis del hidrogel, así como

CS-MA como agente entrecruzante y APS como iniciador. Primeramente, el APS se disocia formando radicales libres que se adicionan a los enlaces C=C de DexGMA, MAA y CS-MA para formar la estructura propuesta en la Figura 15. Antes de planear las formulaciones de los hidrogeles se realizaron reacciones preliminares en las que se observó que alrededor de las 3 h de reacción se formaba el hidrogel mientras que a un tiempo más prolongado (aproximadamente a 5 h) se observaba que el hidrogel comenzaba a perder su consistencia. Adicionalmente, empleando 10% de concentración de comonomeros y 5 % de CS-MA, los hidrogeles resultantes eran suaves y frágiles. Considerando las pruebas anteriores y dado el interés de sintetizar hidrogeles con la mayor cantidad posible de dextrano, se decidió establecer la relación másica DexGMA:MAA en 1:1. Siendo así, la reacción típica o base fue con la siguiente formulación: relación DexGMA:MAA 1:1, concentración comonomérica de 20%, concentración de entrecruzante de 10% respecto a los monómeros y tiempo de reacción de 3 h. En la Tabla 3 se especifican los parámetros de síntesis de los hidrogeles sintetizados en este trabajo con la finalidad de estudiar el efecto de los siguientes parámetros: relación másica DexGMA:MAA, concentración comonomérica, concentración de agente entrecruzante y tiempo de reacción.

El primer parámetro que se varió fue la relación DexGMA:MAA. Al estudiar este parámetro se observó que el rendimiento de reacción (R) incrementó a mayor proporción inicial de MAA obteniendo rendimientos superiores al 90 % con la relación 1:1, los cuales se mantuvieron al incrementar el contenido de MAA. La consistencia observada del hidrogel se vio mejorada bajo la misma tendencia, es decir, la consistencia del gel mejoró a medida que se incrementaba el contenido inicial de MAA. Por otro lado, el producto obtenido a la relación DexGMA:MAA 1:0 (R=51%) después de los lavados realizados no fue posible evaluarlo en pruebas de hinchamiento debido a que resultó ser un hidrogel frágil. De esta manera se eligió la relación másica de DexGMA:MAA de 1:1 para continuar el estudio de los siguientes parámetros.

Posteriormente, se prepararon hidrogeles variando la concentración de comonomeros empleando 10 % de concentración de agente entrecruzante y un tiempo de reacción de 3 h. Durante el estudio de este parámetro se observó que a mayor concentración aumentaba el rendimiento de reacción y además mejoraba la consistencia del hidrogel. De esta manera se

determinó que un 20% de concentración de la mezcla de DexGMA/MAA era la adecuada para la formación del hidrogel.

Por otro lado, al estudiar la variación de concentración de agente entrecruzante se observó que al utilizar 0 y 5 % de CS-MA, el rendimiento fue similar (~85 %) mientras que a 10 % de CS-MA se alcanzó 98% de rendimiento. Esto indica que la presencia de CS-MA influyó en la formación del hidrogel. Por lo tanto una concentración de CS-MA de 10 % fue seleccionada como la adecuada para la formación de hidrogel de poli(DexGMA-co-MAA).

Por último, se varió el tiempo de reacción empleando una relación másica de DexGMA:MAA de 1:1, una concentración de monómeros de 20% y una concentración de agente entrecruzante de 10 %. Los resultados mostraron que el rendimiento incrementó al aumentar el tiempo de reacción de 0.5 a 3 h. Por lo tanto, un tiempo de 3 h fue el adecuado para la formación del hidrogel de poli(DexGMA-co-MAA).

Tabla 3. Formulaciones y parámetros de proceso para la preparación de los hidrogeles de poli(DexGMA-co-MAA) con los rendimientos obtenidos.

Relación DexGMA:MAA (m:m)	[Comonómeros] (%)	[CS-MA] (%)	[APS] (%)	T (°C)	t (h)	R (%)
1:0	20	10	5	60	3	51
3:1	20	10	5	60	3	83
1:1	20	10	5	60	3	98
1:3	20	10	5	60	3	96
1:7	20	10	5	60	3	91
0:1	20	10	5	60	3	92
1:1	5	10	5	60	3	64
1:1	10	10	5	60	3	82
1:1	20	0	5	60	3	85
1:1	20	5	5	60	3	84
1:1	20	10	5	60	0.5	70
1:1	20	10	5	60	1.5	80

8.4 Caracterización de hidrogeles de poli(DexGMA-co-MAA)

A continuación se muestran los resultados obtenidos mediante la caracterización fisicoquímica de los hidrogeles poli(DexGMA-co-MAA) así como en pruebas de hinchamiento y estudios de carga y liberación.

8.4.1 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

En la Figura 20 se presentan los espectros de FTIR de los hidrogeles obtenidos a diferente relación másica DexGMA:MAA. Primeramente, para el hidrogel preparado con una relación DexGMA:MAA 0:1, es decir, un hidrogel de PMAA, se identificaron las señales en 1690 cm^{-1} que corresponden a vibración de estiramiento de C=O, así como 1250 y 1155 cm^{-1} debido a vibraciones de estiramiento simétricas y asimétricas de C-O respectivamente [99]. Por otro lado, en el espectro del hidrogel preparado solamente empleando DexGMA (relación 1:0) se observaron bandas en 1175 - 1000 cm^{-1} , así como la banda asociada a vibraciones del enlace O-H en 3350 cm^{-1} debidas a los grupos hidroxilos del dextrano.

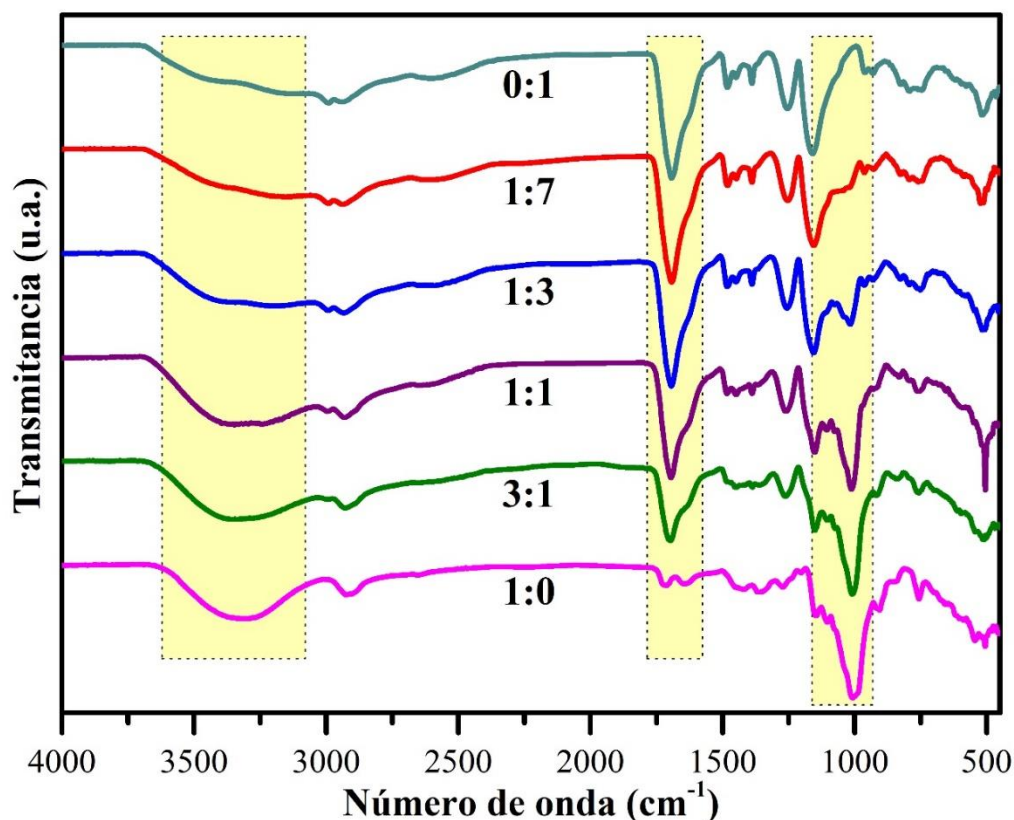


Figura 20. Espectros de FTIR-ATR de los hidrogeles poli(DexGMA-co-MAA) variando la relación másica DexGMA:MAA.

Además, se aprecia que al aumentar la proporción de DexGMA en la mezcla de reacción, la señal en 1000 cm^{-1} (proveniente del DexGMA, vibraciones del enlace glucosídico C-O-C) empieza a intensificarse, observándose en el espectro del hidrogel sintetizado con una relación de 1:7, como una pequeña señal e intensificándose para el copolímero obtenido con una relación de DexGMA:MAA 1:3. Asimismo, al seguir incrementando la cantidad de DexGMA (relaciones 1:1 y 1:3), se observa que las señales debidas al PMAA pierden intensidad mientras que las señales debidas al DexGMA se intensifican (3350 y $1475\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$).

8.4.2 Análisis termogravimétrico (TGA)

Se estudió la estabilidad térmica de los hidrogeles obtenidos a diferente relación monomérica mediante TGA y los resultados se muestran en la Figura 21. Primeramente, el termograma del CS-MA mostró una pérdida de peso de 9.6 % en $25\text{-}100\text{ °C}$ debido a humedad físicamente adsorbida en la muestra, así como pérdidas en el intervalo de temperatura de $150\text{-}270\text{ °C}$ (13.5 %) que se asocia a la descomposición del MA injertado sobre la cadena polimérica del quitosano (ver Figura 13) y de $270\text{-}400\text{ °C}$ (40 %) debida a la descomposición de la cadena principal del quitosano [100]. En cuanto a la curva de TGA del DexGMA, se observaron pérdidas de peso en los intervalos de $25\text{-}120\text{ °C}$ (11.6 %) y $200\text{-}290\text{ °C}$ (4.9 %) debidas al agua físicamente absorbida y pérdida de grupos carboxílicos provenientes del GMA respectivamente. Posteriormente, se observó una pérdida abrupta en $300\text{-}350\text{ °C}$ (62.9 %) debido a la descomposición de unidades glucosas del dextrano [101].

Por otro lado, al analizar los termogramas de los hidrogeles preparados a diferente relación másica de DexGMA:MAA, se pueden observar de forma general cuatro pérdidas de masa. La primera pérdida ($25\text{-}190\text{ °C}$) se asocia a la remoción de agua físicamente adsorbida mientras que la segunda ($190\text{-}290\text{ °C}$) se debe a la descarboxilación del PMAA, así como de los grupos colgantes presentes en el DexGMA y CS-MA. Finalmente, la tercera pérdida de peso ($290\text{-}380\text{ °C}$) corresponde a la descomposición de DexGMA mientras que la cuarta ($380\text{-}470\text{ °C}$) es causada por la degradación de la cadena principal de PMAA [99].

Retomando las pérdidas observadas en los hidrogeles de la Figura 21, se tiene que en el intervalo de $290\text{-}380\text{ °C}$ asociado principalmente al DexGMA se observaron pérdidas para las relaciones de 0:1, 1:7, 1:3, 1:1 y 3:1 de 2, 2, 4, 6 y 10 % respectivamente. Mientras que

en el intervalo de 380-470 °C que corresponde a la descomposición del PMAA se presentaron pérdidas de 65, 65, 53, 40 y 28 % respectivamente. Estos resultados mostraron que al aumentar el contenido de MAA existe una mayor pérdida en el intervalo mencionado, mientras que a mayor contenido de DexGMA se observó una pérdida mayor en el intervalo de 290-380 °C. Esto comprueba nuevamente la formación del hidrogel de poli(DexGMA-co-MAA).

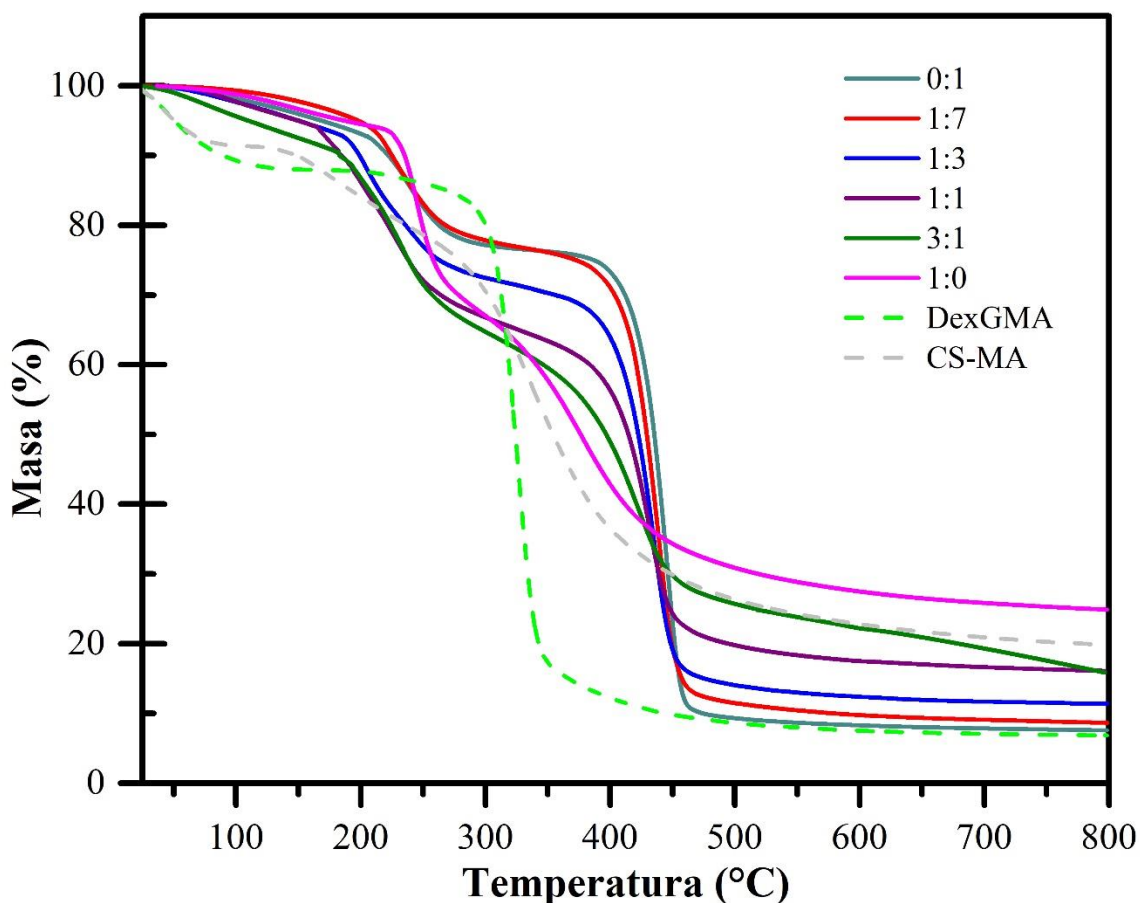


Figura 21. Termogramas de TGA de hidrogeles poli(DexGMA-co-MAA) sintetizados a diferente relación másica DexGMA:MAA

8.4.3 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Los termogramas de DSC de los hidrogeles obtenidos a diferente relación DexGMA:MAA se muestran en la Figura 22a. Primeramente, el termograma del CS-MA mostró picos

endotérmicos en 100 y 175 °C asociados a la evaporación de agua [102] y probablemente a la degradación de los grupos de MA respectivamente, mientras que el DexGMA presentó transiciones en 90 y 300 °C que corresponden a la Tg y degradación de la cadena de dextrano respectivamente [101]. Mahmood y col. reportaron que la Tg del PMAA se presenta alrededor de 170 °C y que los hidrogeles de pectina-co-poli(MAA) que prepararon mostraban un pico endotérmico en 248 °C que identificaron como la Tg del hidrogel. Similarmente, en este trabajo, los hidrogeles poli(DexGMA-co-MAA) mostraron una transición en 245 °C, la cual se atribuye a la Tg del PMAA. Este incremento en la Tg indica un entrecruzamiento por parte del PMAA con el DexGMA [103].

Los hidrogeles no son homogéneos y se pueden encontrar regiones con diferente composición y entrecruzamiento, por lo que los termogramas de DSC indicaron que se trata de copolímeros debido a los desplazamientos de picos endotérmicos observados respecto a los que se observan en los hidrogeles de relación másica DexGMA:MAA 0:1 y 1:0.

En la Figura 22a se observan los termogramas de DSC de los copolímeros sintetizados variando la relación DexGMA:MAA. Estos termogramas mostraron picos endotérmicos en el intervalo de temperatura de 170-250 °C. Estas transiciones fueron asociadas a los comonomeros y al CS-MA. Los picos cercanos a 200 °C se sugieren que puedan deberse a la degradación de los grupos añadidos en la modificación de dextrano y quitosano, así como la descarboxilación de PMAA. Se presentaron casos en los que se observan 2 o más picos entre 200 y 240 °C. Cuando están dos picos definidos seguidos se atribuyen a la presencia de DexGMA y CS-MA, mientras que la señal ancha corresponde a la degradación del PMAA. El termograma del hidrogel sintetizado a una relación DexGMA:MAA 0:1 mostró un pico en 245 °C con una señal débil en 210 °C que pudiera deberse a la presencia de CS-MA mientras que para el hidrogel preparado con una relación 1:7 se observa un pico más ancho (de 210 a 240 °C). Al ser comparado con el termograma del hidrogel de DexGMA:MAA 0:1 y adicionalmente al pico asociado al PMAA se logran observar dos picos en 210 y 220 °C probablemente debidos al DexGMA y CS-MA respectivamente. Por otro lado, cuando la relación es de 1:3, se observan dos picos en 200 y 240 °C asociados al DexGMA y PMAA respectivamente.

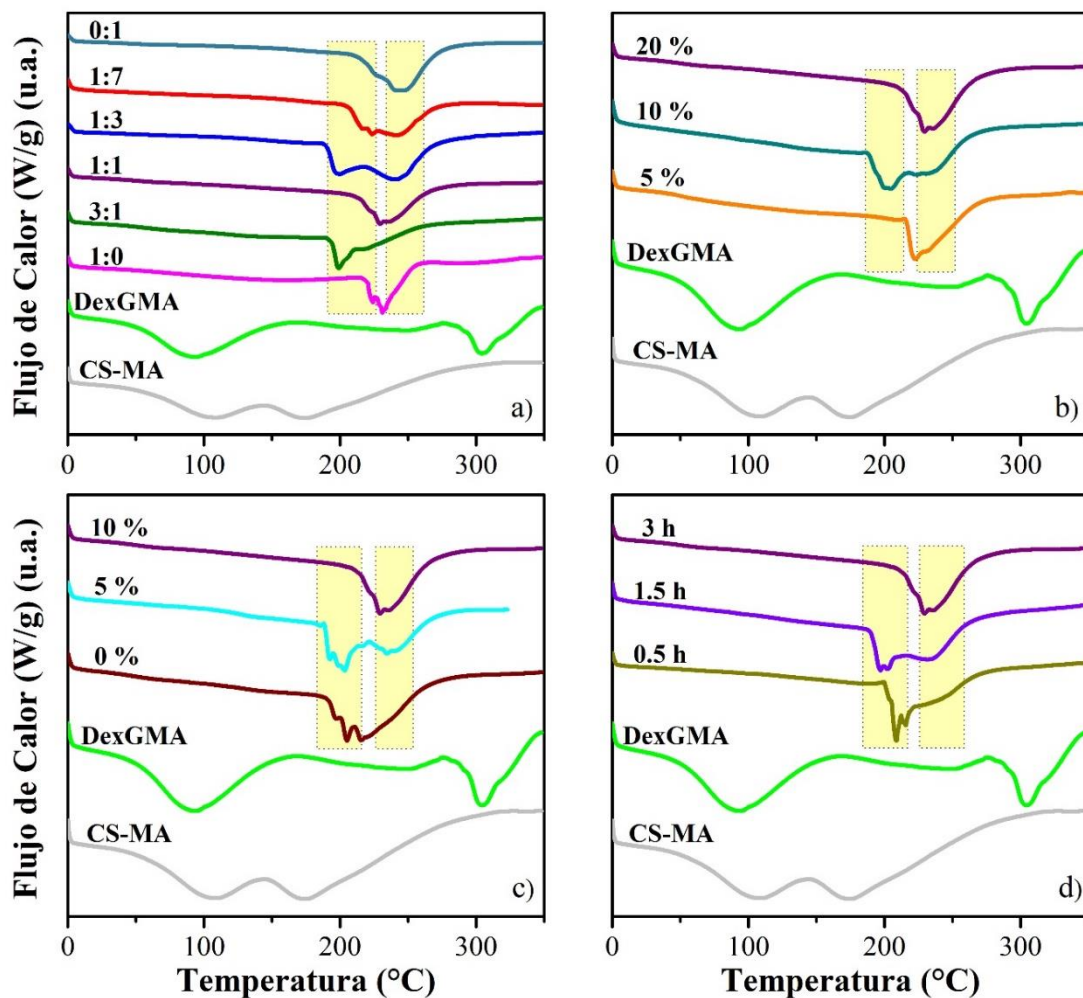


Figura 22. Termogramas DSC de hidrogeles poli(DexGMA-co-MAA) variando a) relación monomérica, b) concentración comonomérica, c) concentración de agente entrecruzante y d) tiempo de reacción.

Por otro lado, en el termograma del hidrogel sintetizado con una relación DexGMA 1:1, 20 % comonomeros, 10 % CS-MA y 3 h de reacción, se observaron picos endotérmicos en 230 y 237 °C. Caso opuesto, para el hidrogel obtenido con una relación 3:1, se observó un pico más definido en 200 °C que puede deberse a que existe un mayor contenido de DexGMA mientras que la señal asignada a la degradación del PMAA se desplazó a 220 °C. Por último, el hidrogel empleando solamente DexGMA mostró dos picos a 224 y 231 °C los cuales fueron asociados al CS-MA y DexGMA respectivamente.

Los termogramas de los hidrogeles de poli(DexGMA-co-MAA) sintetizados a una relación de DexGMA:MAA 1:1 a diferente concentración comonomérica se muestran en la Figura 22b. De esta Figura se puede apreciar que el hidrogel sintetizado con 20 % mostró picos de 200 a 250 °C mientras que a 10 % se observan dos picos en 205 y 223 °C que se asignan a transiciones derivadas del DexGMA y PMAA respectivamente. Por su parte, el hidrogel sintetizado empleando 5 % de concentración solo mostró un pico a 223 °C debido a la transición derivada del DexGMA y PMAA.

En la Figura 22c se muestran los termogramas a diferente concentración de CS-MA. Cuando el hidrogel se sintetizó con 5 % de CS-MA, el termograma mostró picos en 185, 203 y 235 °C los cuales fueron asociados al CS-MA, DexGMA y PMAA respectivamente. Mientras que a 0 % de [CS-MA] se presentaron transiciones alrededor de 182, 205 y 216 °C. Los picos mencionados anteriormente no se observan para el caso de 10 %, pero si se presta atención en el intervalo de 215 a 250 °C hay presentes pequeñas señales en 221, 229 y 240 °C por lo que se espera que estén menos copolimerizados o integrados entre si los comonomeros. Considerando que se tratan de las Tg y que es similar al termograma del hidrogel de relación 0:1, nos sugiere que se trata de un hidrogel más homogéneo. Mientras que la separación de picos nos indica de la presencia de micro fases en el hidrogel [104,105].

Respecto al efecto del tiempo de reacción sobre los termogramas de los hidrogeles (Figura 22d), se observa que a menor tiempo de reacción (0.5 y 1.5 h) los picos asociados a DexGMA y CS-MA están mejor definidos. Esto podría deberse a que el MAA no reaccionó por completo, lo que tiene sentido al analizar los rendimientos de estos hidrogeles (Tabla 3) siendo de 70, 80 y 98 % para 0.5, 1.5 y 3 h de reacción. La aparición de picos que no se observaban en los comonomeros, así como el desplazamiento de estos sugiere que no se trata de una mezcla y que efectivamente se obtuvo el copolímero de DexGMA y MAA.

8.4.4 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

Se analizaron los hidrogeles mediante SEM para observar el efecto de relación másica DexGMA:MAA, concentración de agente entrecruzante y tiempo de reacción en su morfología, así como el tamaño de poro. Previamente, los hidrogeles se sumergieron en

agua Milli-Q durante 24 h para después liofilizar las muestras. En la Figura 23 se muestran las micrografías junto a los histogramas de distribución de tamaño de poro de los hidrogeles poli(DexGMA-co-MAA) sintetizados a diferente relación másica DexGMA:MAA. El hidrogel de poli(DexGMA-co-MAA) sintetizado con relación DexGMA:MAA de 1:1 mostró poros cerrados con poca homogeneidad y un tamaño promedio de 34.97 μm (Figura 23a). Por su parte, el hidrogel preparado con relación una relación másica de 1:3, presentó poros menos homogéneos, pero con la particularidad que entre los poros se forman pequeños espacios huecos que dificultaron el conteo de tamaño de poro, resultando un promedio de 84.04 μm (Figura 23b). Por otro lado, para los hidrogeles con mayor contenido de PMAA (1:7, 0:1) se observó una mayor homogeneidad respecto al hidrogel preparado con una relación 1:1. Además, mostraron paredes más delgadas entre poros y tamaños de poro menores de 22.10 y 19.93 μm para los hidrogeles con relaciones de 1:7 y 0:1 respectivamente. De esta forma se puede observar que en general al aumentar el contenido inicial de MAA, los hidrogeles presentarán tamaños de poro menor.

Los hidrogeles con más contenido de DexGMA resultaron en mayor tamaño de poro, esto posiblemente se deba al DS del DexGMA. Plieva y col. reportan que los HGs obtenidos al utilizar DexGMA con DS=42 fueron más rígidos a pesar de tener porosidad de 88-90 %. Por otro lado, al utilizar DexGMA con menor sustitución (DS= 11) se obtienen HGs más frágiles con menor entrecruzamiento. Este efecto es lo que se está observando en los hidrogeles poli(DexGMA-co-MAA) con mayor proporción de DexGMA, al tener menor DS durante la síntesis hay menos sitios por donde el DexGMA va a polimerizar y por esto se observan poros de mayor tamaño[95].

Los tamaños de poro observados indican que se trata de hidrogeles macroporosos, estos tienen poros con diámetro de 10 a 100 μm [106]. Recientemente Luca y col. sintetizaron hidrogeles a base de biopolímero entre ellos dextrano y los tamaños de poro reportados (min: 27.75 μm , max: 80.95 μm) son similares a los de este trabajo [64].

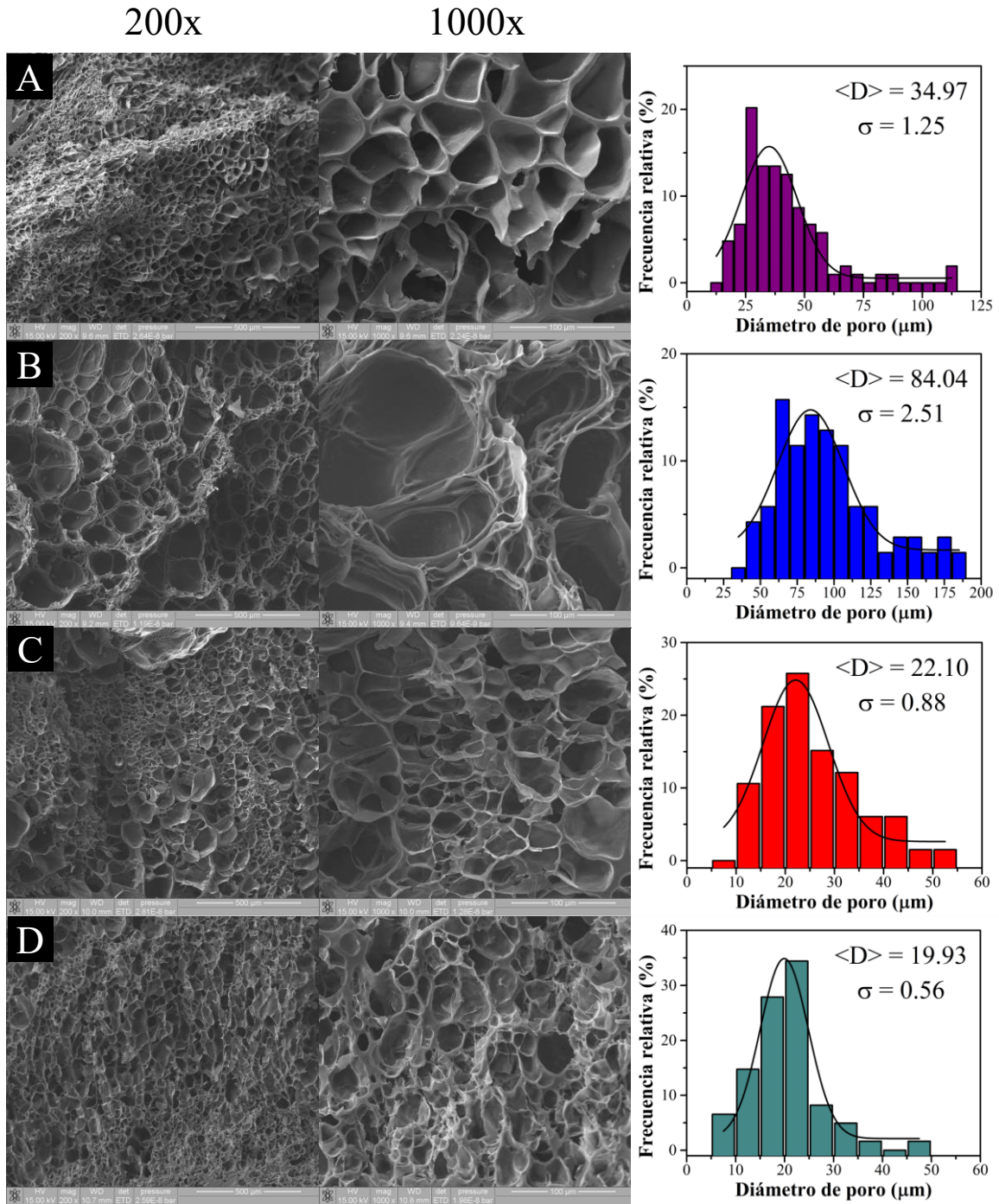


Figura 23. Micrografías SEM de corte transversal e histogramas de distribución de tamaño de poro de los hidrogeles poli(DexGMA-co-MAA) preparados con diferente relación másica de DexGMA:MAA. a) 1:1, b) 1:3, c) 1:7 y d) 0:1.

Adicionalmente se decidió observar el efecto de la concentración de agente entrecruzante y tiempo de reacción sobre la morfología de los hidrogeles (Figura 24). Se observó que al variar la concentración de agente entrecruzante resultó un tamaño de poro de $45.06 \mu\text{m}$ con 5 % [CS-MA]. Por otro lado, el hidrogel con 1.5 h de reacción además de tener zonas en las que no se formaron poros, presentó poros interconectados con tamaño de $9.89 \mu\text{m}$. Al comparar esto con el hidrogel de relación 1:1, 10 % [CS-MA] y 3 h de reacción (Figura 23a) se observa que al disminuir [CS-MA] resulta en el aumento del tamaño de poro, mientras que al disminuir el tiempo de reacción se obtuvo un menor tamaño de poro. Esto pudiera ser debido al hecho de que al disminuir la concentración de CS-MA, la formación de la red tridimensional del hidrogel se ve menos favorecida lo cual resulta en la formación de redes 3D con tamaños de poro mayor.

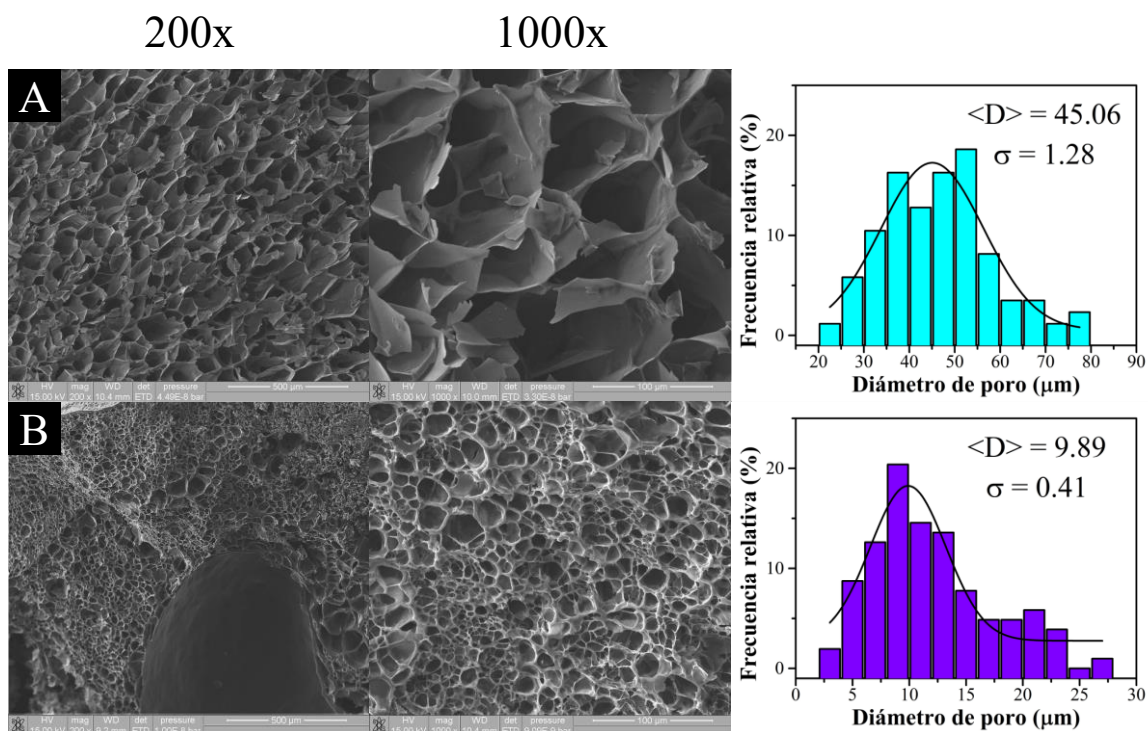


Figura 24. Micrografías de SEM de corte transversal e histogramas de distribución de tamaño de poro de los hidrogeles poli(DexGMA-co-MAA) (DexGMA:MAA 1:1) sintetizados a a) 5 % [CS-MA] y b) 1.5 h.

8.4.5 Pruebas de hinchamiento

Se llevaron a cabo pruebas de hinchamiento para los diversos hidrogeles obtenidos bajo diferentes condiciones de reacción y los resultados son mostrados en la Figura 25. Para el caso de los hidrogeles preparados con diferente relación másica de monómeros (Figura 25a), se observó que el hinchamiento del hidrogel con una relación DexGMA:MAA 0:1 es más lento respecto a los demás, pero se hinchó hasta un 790 %. Con un incremento en la proporción inicial de DexGMA (relación 1:3) se obtuvo un hidrogel de buena consistencia que alcanza un hinchamiento máximo de 479 % a 50 h apreciándose además un incremento en la rapidez de hinchamiento inicial. Por último, se observó que el hidrogel con una relación DexGMA:MAA de 1:7 presentó un hinchamiento inicial similar a los de mayor contenido de dextrano, sin embargo este alcanzó un mayor hinchamiento (2250 %). Con respecto a los hidrogeles preparados con las relaciones 1:1 y 3:1 se observa un incremento en la rapidez de hinchamiento, sin embargo, en esta última, el hidrogel comienza a tener una consistencia muy blanda. A partir de estos resultados, se sugiere que la presencia de dextrano en el hidrogel incrementa la tasa de hinchamiento, esto debido al aspecto hidrofílico que aporta mientras que el PMAA le concede una mejor consistencia al hidrogel y posiblemente favorece a que presente mayor capacidad de hinchamiento.

Al variar la concentración comonomérica (Figura 25b), el hidrogel preparado con 10 % mostró un mayor hinchamiento que el sintetizado con 20 %. Sin embargo, ambos materiales mostraron hinchamientos máximos similares y el hidrogel sintetizado con 20 % presentó una mejor consistencia al final de la prueba. De estos resultados, se infiere que a mayor concentración de monómeros se alcanza un mejor entrecruzamiento y esa sería además una razón por la cual este copolímero mostró una menor capacidad de absorción de agua.

En la Figura 25c, se muestra el comportamiento de hinchamiento de los hidrogeles sintetizados con diferente concentración de agente entrecruzante. Se observó que el hidrogel preparado sin entrecruzante hinchó más rápido mostrando hinchamientos en agua de hasta 2300 %, no obstante, conforme pasa el tiempo se vuelve frágil y de mala consistencia. Por otro lado, el hidrogel con 5 % de CS-MA mostró un hinchamiento de hasta 1020 %. Sin embargo, a pesar de que el hidrogel con 10 % de CS-MA es el que mostró menor capacidad de hinchamiento (545 %), fue el que presentó mejor consistencia

después de esta prueba. Estos resultados indican que una mayor concentración de CS-MA provoca un mayor entrecruzamiento disminuyendo el tamaño de poro de los hidrogeles (como se observó en los resultados de SEM) y por ende la capacidad de alojar agua en su interior. Esto, podría conferir al hidrogel mejores propiedades mecánicas y al mismo tiempo reducir la capacidad máxima de hinchamiento [107].

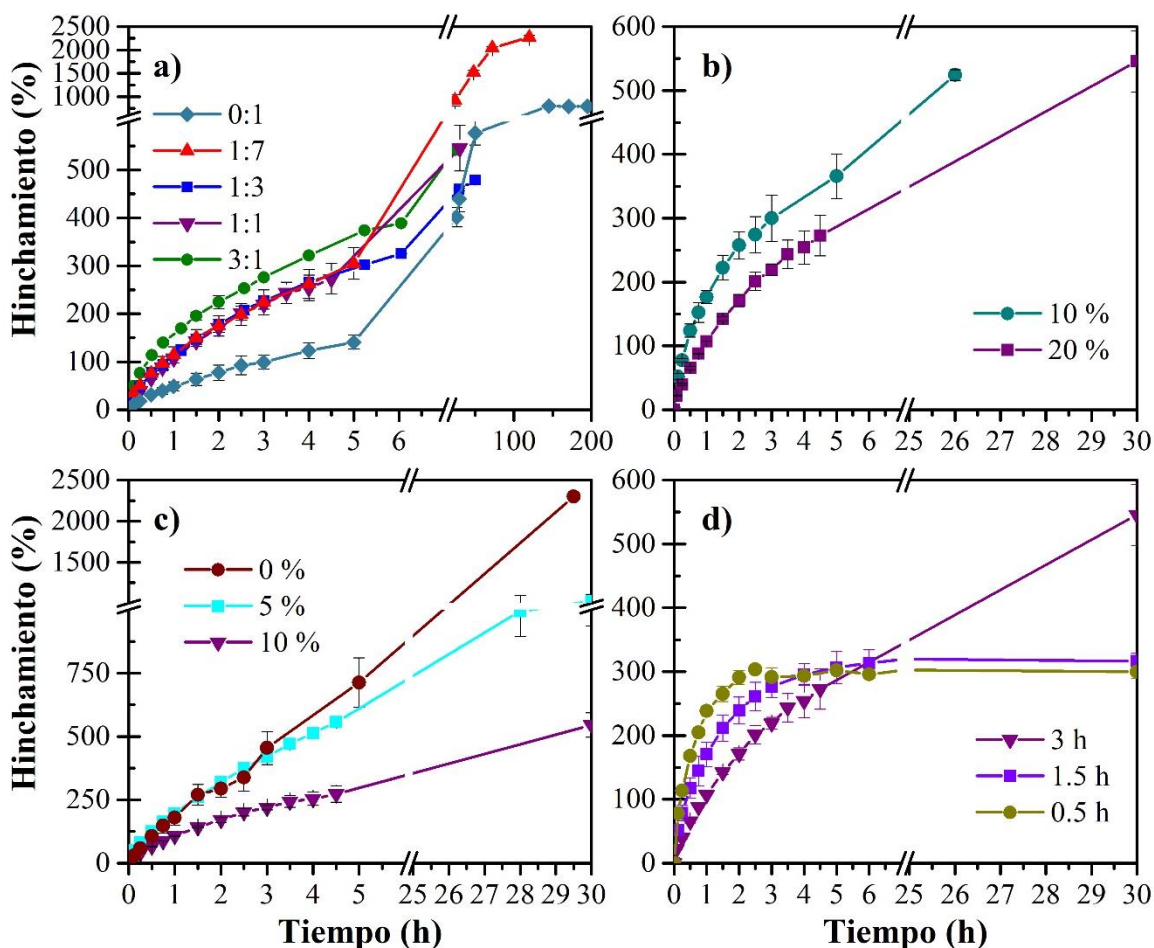


Figura 25. Pruebas de hinchamiento de los hidrogeles preparados a diferentes parámetros de síntesis a) relación monomérica (DexGMA:MAA), b) concentración comonomérica, c) concentración de entrecruzante y d) tiempo de reacción.

Por último, en la Figura 25d se muestran los hinchamientos mostrados por los hidrogeles preparados a diferente tiempo de reacción. Se observa que, a menor tiempo de reacción (0.5 y 1.5 h), los hidrogeles presentan un hinchamiento más rápido en las primeras horas, sin embargo, mostraron hinchamientos máximos de ~320 %, esto posiblemente debido a un

menor tamaño de poro y material sin formar poros, como se pudo observar en los resultados de la Figura 24b.

8.4.6 Determinación de pH de respuesta

Por cuestiones de simplicidad de las pruebas de hinchamiento a diferente pH, se consideró un tiempo de hinchamiento límite de 24 h. En la Figura 26 se muestra la dependencia del hinchamiento en agua con respecto al pH de diferentes hidrogeles preparados a diferente relación monomérica DexGMA:MAA. Estas pruebas fueron realizadas para determinar el pH crítico o pH de respuesta de los hidrogeles preparados. Al elevar el pH (>5) es evidente el aumento en el hinchamiento de los hidrogeles. Esto se debe a que las cadenas de PMAA comienzan a ionizarse, debido a la repulsión entre cadenas de PMAA se expande el hidrogel permitiendo alojar más agua en la red tridimensional. Sin embargo, el hidrogel sintetizado con una relación DexGMA:MAA de 3:1 presenta un cambio menos brusco en su hinchamiento debido a que su contenido de MAA es menor. Cabe destacar que los grupos carboxilo del PMAA (-COOH) se ionizan a pH superiores a 4.8 [108] por esta razón se ve un incremento en la capacidad de hinchamiento al aumentar el pH.

Por otro lado, se puede observar cómo la mayoría de los hidrogeles evaluados se presenta un ligero aumento en el hinchamiento a pH 3 respecto a pH 4. No se debe olvidar la presencia de CS-MA como agente entrecruzante, cuyo aporte en el hinchamiento se observa en el intervalo mencionado anteriormente. Se ha reportado que el CS protona a pH 6.5, por lo que se podría esperar que la respuesta al pH en el intervalo de 4.5 a 7 se deba como efecto de ambos componentes estímulo sensibles (Figura 27). Siendo así, el pH crítico del hidrogel determinado fue de 5.4 aproximadamente. De esta manera se puede observar que los hidrogeles de poli(DexGMA-co-MAA) sintetizados con las relaciones DexGMA:MAA de 1:7, 1:3 y 1:1 mostraron una mejor respuesta y por esta razón serán evaluadas en pruebas de carga y liberación de DOX.

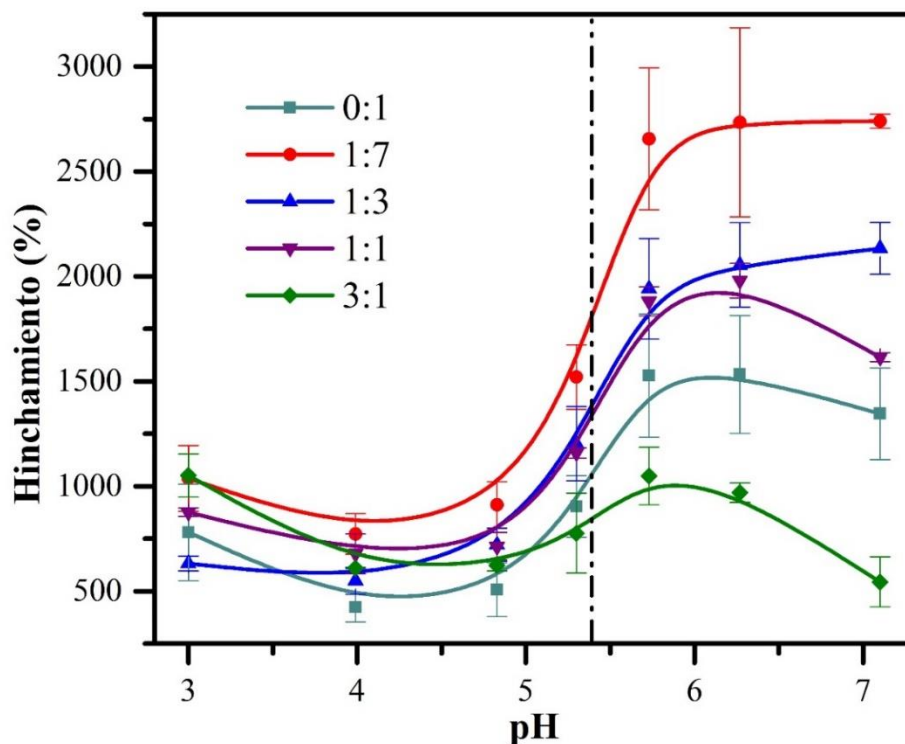


Figura 26. Determinación del pH crítico para hidrogeles de poli(DexGMA-co-MAA) sintetizados a diferente relación DexGMA:MAA.

8.4.7 Estudios de carga y liberación de doxorrubicina

Para realizar el estudio de carga y liberación de DOX se seleccionaron los hidrogeles que presentaron mejor respuesta al cambio de pH. Estos hidrogeles fueron aquellos sintetizados con relación DexGMA:MAA de 0:1, 1:7, 1:3 y 1:1. Los perfiles de carga se muestran en la Figura 28. De esta figura se puede apreciar que una vez transcurridas 360 h del proceso de carga, el hidrogel que cargó más DOX (0.24 mgDOX/mgHG) fue aquel sintetizado con una relación de 1:7 seguido de aquellos con una relación de 1:3, 0:1 y 1:1 con una carga total de 0.19, 0.17 y 0.14 mgDOX/mgHG respectivamente. Estos resultados muestran que con proporciones mayores de PMAA en el hidrogel se obtiene una mejor carga de DOX, esto es debido a que la carga se está llevando a cabo aproximadamente a pH 7. A estas condiciones es cuando se alcanza un mayor hinchamiento debido a la ionización de los grupos carboxilo ($-\text{COO}^-$) del PMAA y por lo mismo se da una mejor interacción electrostática hidrogel-fármaco ya que la DOX se encuentra protonada (NH_3^+) ocurriendo la atracción de la DOX hacía el HG por las cadenas de PMAA ionizadas.

Por otro lado, se puede observar que durante las primeras 24 h los HG tienen una carga de DOX similar. Los hidrogeles con mayor proporción de MAA (0:1 y 1:7) comienzan a presentar diferencia en sus perfiles de carga de DOX a partir de 48 h, siendo el copolímero sintetizado con una relación DexGMA:MAA de 1:7 el que presenta una mayor carga de fármaco al final. Ahora bien, analizando los perfiles de carga para los hidrogeles con menor proporción de MAA (1:1 y 1:3), se observó que a partir de las 24 h de contacto difieren sus perfiles de carga. El hidrogel sintetizado con una relación 1:3 logró cargar más DOX que el hidrogel con mayor contenido de DexGMA, inclusive superó la cantidad de fármaco absorbida por el hidrogel sintetizado con una relación DexGMA:MAA de 0:1. Con lo anterior se puede sugerir que el PMAA tienen un papel importante en la carga de DOX debido a la cadena ionizada, sin embargo el DexGMA también aporta sitios disponibles para el cargado del fármaco, esto posiblemente se deba a su naturaleza hidrofílica.

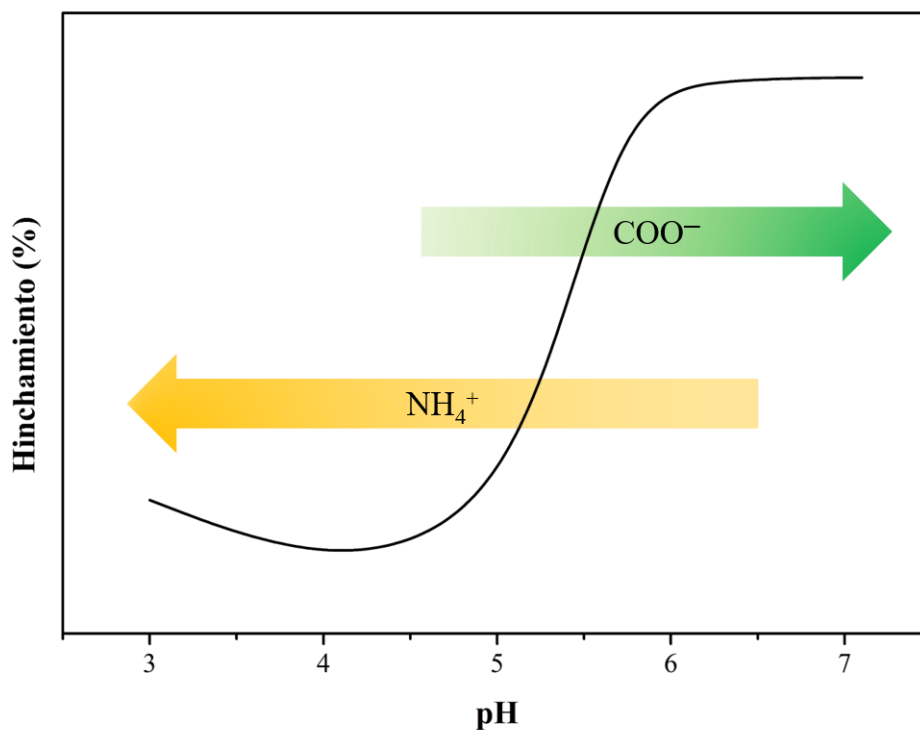


Figura 27. Esquema que representa el comportamiento del hinchamiento con respecto al pH para los hidrogeles sintetizados de poli(DexGMA-co-MAA) de acuerdo a los grupos funcionales presentes.

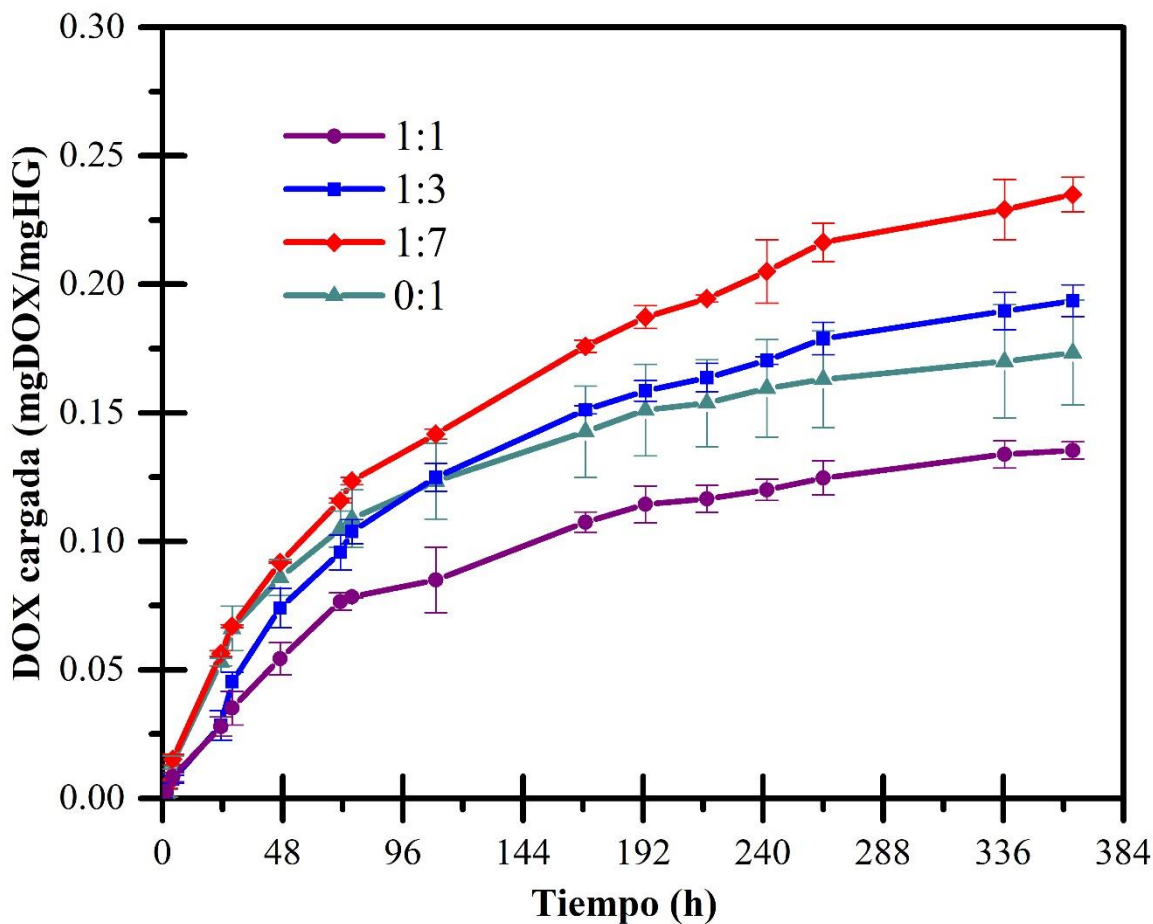


Figura 28. Perfiles de carga de DOX para los hidrogeles de poli(DexGMA-co-MAA) sintetizados con diferente relación DexGMA:MAA.

En la Figura 29 se muestran los perfiles de liberación de DOX realizados a valores de pH de 5.0 y 7.4 para los hidrogeles de poli(DexGMA-co-MAA) cargados previamente con el fármaco. De esta figura se puede apreciar que bajo ambas condiciones de pH se presentó una liberación rápida dentro de las primeras 5 h para todos los hidrogeles. A pH 5.0, se liberó alrededor de 5.0 % (Figura 29a) mientras que a pH 7.4 (Figura 29b) se liberó alrededor de 10%. Inicialmente se liberó el doble a pH de 7.4 respecto a pH de 5.0 y a partir de 24 h la tasa de liberación comenzó a disminuir, liberando de manera sostenible. Los % de DOX liberada a pH 5.0 fueron de 10.45, 9.07, 14.30 y 18.28 % a las 72 h para los hidrogeles sintetizados con relaciones DexGMA:MAA de 1:1, 1:3, 1:7 y 0:1 respectivamente. Por otro lado, para pH 7.4, el % de DOX liberada fue de 14.35, 15.86, 15.81 y 21.96 % para los hidrogeles de poli(DexGMA-co-MAA) con relaciones de 1:1, 1:3,

1:7 y 0:1 respectivamente. Estos resultados contrastan con los obtenidos por Wei y col. quienes sintetizaron hidrogeles con PMAA para la liberación de DOX observando una mayor liberación de DOX a pH 5.0 (~70 %) que a 7.4 (25 %) [109].

Se observó una relación directa entre la proporción de PMAA y la DOX liberada, donde a mayor relación de PMAA se liberó más DOX. Ahora bien, que se haya liberado menos DOX a pH 5.0 puede deberse a que bajo estas condiciones de pH, las cadenas de PMAA no se encuentran ionizadas y por lo tanto las cadenas en el hidrogel se encuentran en estado contraído encapsulando el fármaco lo cual dificultaría la difusión del fármaco hacia el medio de liberación (Figura 30a).

Por otro lado, a pH 7.4 los grupos carboxilo de PMAA se ionizan ocasionando que el hidrogel se hinche más rápido, en este estado los poros tienen mayor tamaño y da lugar a que la DOX encapsulada difunda con mayor facilidad (Figura 30b). En este caso se observa el efecto de las interacciones electroestáticas HG-DOX después de 24 h de liberación. Se propone que la liberación principal a 5 h se debe a la DOX interaccionado con la superficie externa del HG y a la difusión de este al relajarse las cadenas de PMAA a pesar de existir la interacción HG-DOX.

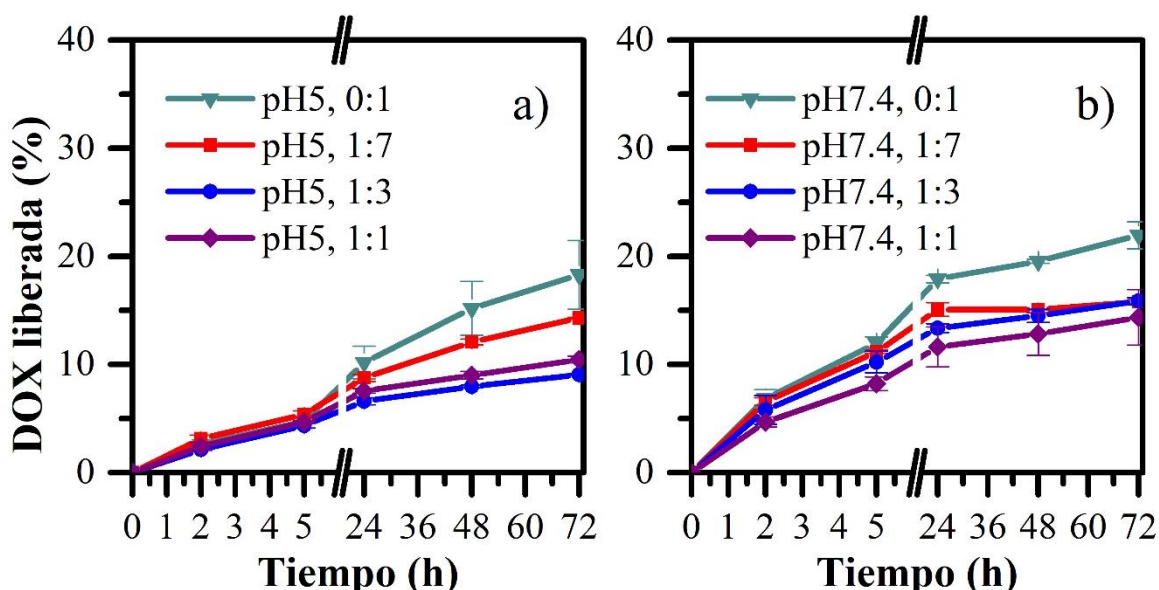


Figura 29. Liberación de DOX variando relación DexGMA:MAA. a) pH 5.0 y b) 7.4.

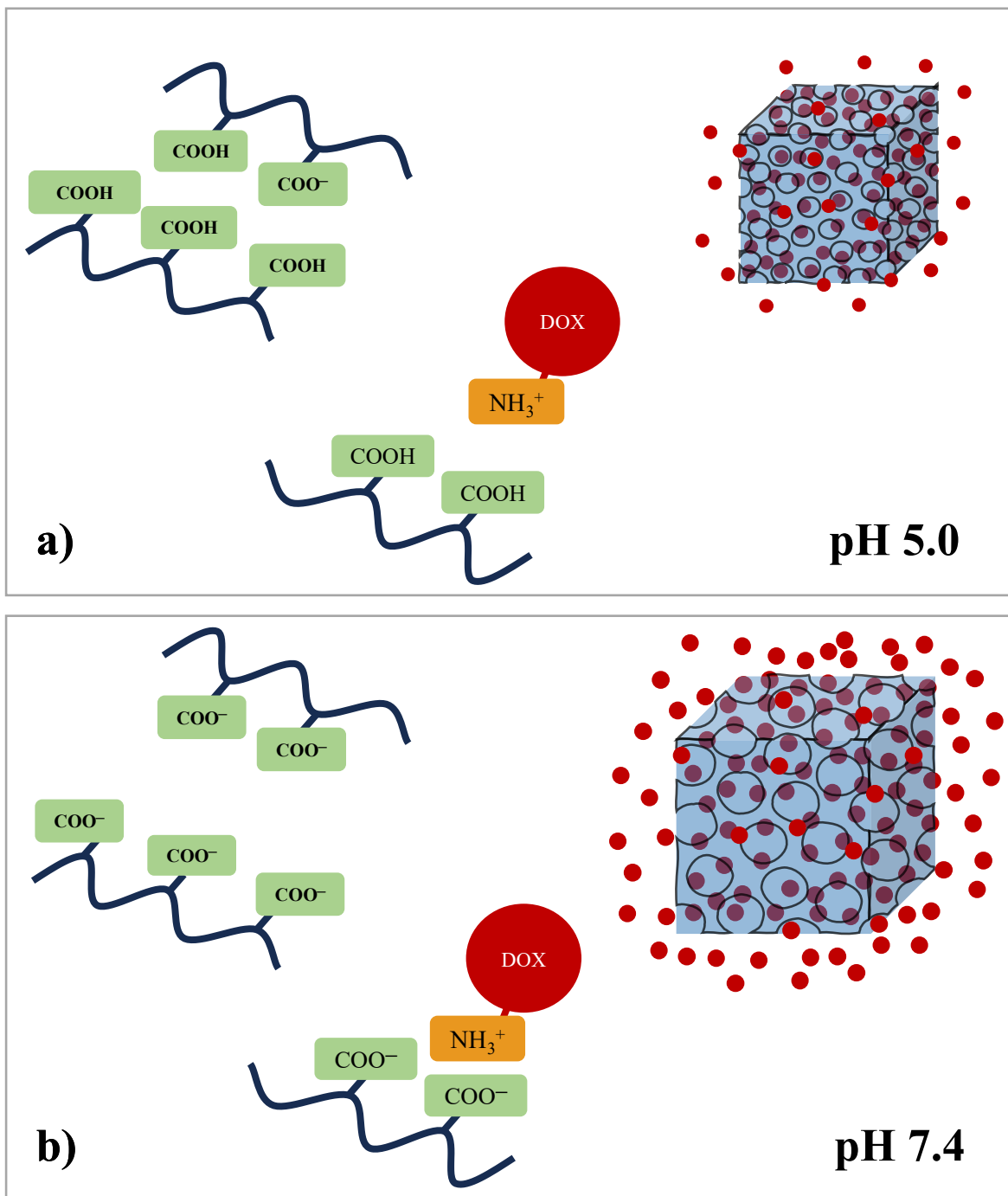


Figura 30. Esquema que representa las interacciones de la DOX con el hidrogel a diferentes pH.

A continuación, en la Tabla 4, se muestran algunos trabajos sobre hidrogeles basados en polisacáridos o que son pH responsivos para la liberación de DOX. Respecto a otros trabajos los porcentajes de liberación en este trabajo fueron menores. Generalmente el

método de carga y la forma en la que se reporta la cantidad de fármaco cargada difieren, considerando este aspecto el trabajo más comparable es el de Onder y col. donde se liberó aproximadamente el 30% con mayor liberación a pH 6.5. En este trabajo la liberación fue menor, sin embargo, al considerar la DOX cargada se liberaron cantidades similares de DOX. Siendo así, la cantidad de DOX liberada podría considerarse similar en algunos casos con la diferencia que en este trabajo se le dio prioridad al uso de polisacáridos en la preparación de hidrogeles estímulo sensibles.

Tabla 4. Trabajos recientes de hidrogeles para la liberación de DOX.

Autores	Polímero	Agente entrecruzante	DOX cargada	% Liberación	Ref.
Este trabajo	Poli(DexGMA-co-MAA)	CS-MA	0.14 mgDOX/mgHG	pH 7.4: 14.35 (72 h) pH 5.0: 10.45 (72 h)	-
Onder y col.	Poli(ácido acrílico-co-2-hidroxiethyl metacrilato)	NMBA Rutina	0.035 mgDOX/mgHG	pH 7.4: 30.18 (24 h) pH 6.5: 31.70 (24 h)	[110]
Luca y col.	Poli(DexMA-co-CsMA)	NMBA	-	pH 7.2: 45 (120 h)	[64]
Peng y col.	Poli(MAA-co-NIPAM)	NMBA	-	pH 7.4: 3 (20 h) pH 5.0: 23 (20 h)	[111]
Anirudhan y col.	Poli(CS-NSA/A-HA)	-	-	pH 7.4: 42.0 (50 h) pH 5.5: 89.0 (50 h)	[112]

Aunque las liberaciones de DOX no superaron el 25 %, estas son significativas considerando que los hidrogeles cargaron de 0.14 a 0.24 mgDOX/mgHG. Siendo así, la cantidad liberada es significativa para matar células cancerígenas de melanoma que tienen un IC₅₀ (concentración de fármaco necesaria para reducir el crecimiento celular en 50 %) de 7.6 µg/mL [113]. Adicionalmente, el sistema de liberación reportado por Huang y col. se cargó con 50 µg para realizar estudios de viabilidad celular. Por lo tanto, los hidrogeles obtenidos en este trabajo podrían usarse como base para el desarrollo en aplicaciones similares.

A pesar de que los hidrogeles con mayor contenido de MAA mostraron mayor carga y liberación de DOX, se ha observado que los hidrogeles a base de polisacáridos presentan mejor biocompatibilidad. Particularmente se preparan hidrogeles de dextrano por su biocompatibilidad y biodegradabilidad. Por esta razón los hidrogeles con más DexGMA son de mayor importancia debido a que en principio se liberará un agente antineoplásico, pero se busca que se dañe lo menos posible la piel con uso de polisacáridos que ayuden a sanar la herida [114,115].

Adicionalmente los datos obtenidos con la liberación de DOX a pH 5.0 y 7.4 se ajustaron a cuatro modelos cinéticos de liberación (Tabla 4 y 5). El análisis mostró que los datos experimentales se ajustaron en mejor medida a los modelos de Higuchi y Korsmeyer-Peppas. Ambos modelos nos indican que el mecanismo de liberación se rige por el mecanismo de difusión, sin embargo, el modelo de Korsmeyer-Peppas nos da más información debido al parámetro n según el valor de este. Siendo así, los valores obtenidos en la mayoría de los hidrogeles fueron menores a 0.45, indicando que la liberación es por difusión. Mientras que los datos obtenidos para la liberación llevada a cabo a pH 5.0 con el hidrogel sintetizado con una relación DexGMA:MAA de 0:1 mostró un valor de $n=0.52$ en este modelo que corresponde al mecanismo de liberación anómalo (difusión e hinchamiento). Sin embargo, este valor numérico es más cercano a $n=0.45$ (difusión de Fick) que a 0.89 (por hinchamiento) por lo tanto tiene un comportamiento que tiende más a de difusión.

Tabla 5. Parámetros cinéticos de modelos de liberación de los hidrogeles poli(DexGMA-co-MAA) a pH 5.0 y 37°C.

Modelo cinético		Orden cero		Primer orden		Higuchi		Korsmeyer-Peppas		
Parámetro		k (h ⁻¹)	R ²	k (h ⁻¹)	R ²	k (h ^{-1/2})	R ²	k (h ⁻ⁿ)	n	R ²
Relación DexGMA:MAA (m:m)	1:1	0.172	0.907	0.035	0.781	1.338	0.981	2.424	0.344	0.995
	1.3	0.150	0.897	0.034	0.774	1.174	0.976	2.245	0.329	0.993

	1:7	0.229	0.945	0.039	0.821	1.751	0.994	2.562	0.400	0.998
	0:1	0.286	0.971	0.042	0.842	2.149	0.999	1.962	0.524	0.999

Tabla 6. *Parámetros cinéticos de modelos de liberación de los hidrogeles poli(DexGMA-co-MAA) a pH 7.4 y 37°C.*

Modelo cinético		Orden cero		Primer orden		Higuchi		Korsmeyer-Peppas		
Parámetro		k (h ⁻¹)	R ²	k (h ⁻¹)	R ²	k (h ^{-1/2})	R ²	k (h ⁻ⁿ)	n	R ²
Relación DexGMA:MAA (m:m)	1:1	0.244	0.845	0.040	0.693	1.937	0.947	4.860	0.257	0.991
	1:3	0.275	0.809	0.041	0.649	2.196	0.923	6.244	0.223	0.988
	1:7	0.283	0.752	0.041	0.576	2.297	0.887	7.319	0.192	0.980
	0:1	0.374	0.854	0.045	0.681	2.953	0.953	7.047	0.270	0.992

7. Conclusiones

En base a los objetivos establecidos del presente trabajo y en los resultados obtenidos, se concluye que:

- Con la metodología planteada fue posible modificar dextrano con GMA para obtener DexGMA con DS= 9 % que es capaz de polimerizar vía radicales libres.
- Los parámetros de síntesis con un mayor efecto en las pruebas de hinchamiento fueron la relación másica de monómeros y concentración de agente entrecruzante.
- Los hidrogeles obtenidos con mejor consistencia con la siguiente formulación: relación másica DexGMA:MAA 1:7, 1:3 y 1:1; concentración comonomérica de 20 %; concentración de agente entrecruzante de 10 %. Siendo el de relación 1:1 la mejor opción debido a tener mayor contenido de DexGMA que debería conferirle mejor biocompatibilidad y biodegradabilidad.
- El CS-MA cumplió su función como agente entrecruzante al ayudar en el control en el hinchamiento del hidrogel, así como en el tamaño de poro. Se observó que al utilizar más CS-MA disminuyó el hinchamiento máximo de los hidrogeles mientras que en las micrografías de SEM se observó un menor tamaño de poro y una morfología más rígida.
- Se prepararon hidrogeles de poli(DexGMA-co-GMA) capaces de cargar y liberar DOX de manera controlada, los cuales presentaron respuesta al pH con un pH crítico de 5.4.
- La carga de DOX fue dependiente de la relación másica DexGMA:MAA obteniendo mayor carga con mayor proporción de MAA.
- Tanto la proporción inicial de MAA como el pH del medio de liberación presentaron un papel significativo en los perfiles de liberación de DOX de los hidrogeles poli(DexGMA-co-MAA). Adicionalmente, modelos cinéticos indicaron que el mecanismo de liberación predominante es por difusión.

9. Referencias

- [1] M. Bilusic, R.A. Madan, J.L. Gulley, Immunotherapy of prostate cancer: Facts and hopes, *Clinical Cancer Research*. 23 (2017) 6764–6770. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-0019>.
- [2] W. Liang, Y. Zheng, J. Zhang, X. Sun, Multiscale modeling reveals angiogenesis-induced drug resistance in brain tumors and predicts a synergistic drug combination targeting EGFR and VEGFR pathways, *BMC Bioinformatics*. 20 (2019) 203. <https://doi.org/10.1186/s12859-019-2737-1>.
- [3] S. Bhatnagar, N.G. Bankar, M.V. Kulkarni, V.V.K. Venuganti, Dissolvable microneedle patch containing doxorubicin and docetaxel is effective in 4T1 xenografted breast cancer mouse model, *Int J Pharm*. 556 (2019) 263–275. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.12.022>.
- [4] K. Renu, A. V.G., T.P. P.B., S. Arunachalam, Molecular mechanism of doxorubicin-induced cardiomyopathy – An update, *Eur J Pharmacol*. 818 (2018) 241–253. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.10.043>.
- [5] N.R. Mathias, M.A. Hussain, Non-invasive Systemic Drug Delivery: Developability Considerations for Alternate Routes of Administration, *J Pharm Sci*. 99 (2010) 1–20. <https://doi.org/10.1002/JPS.21793>.
- [6] H.A.E. Benson, J.E. Grice, Y. Mohammed, S. Namjoshi, M.S. Roberts, Topical and Transdermal Drug Delivery: From Simple Potions to Smart Technologies, *Curr Drug Deliv*. 16 (2019) 444–460. <https://doi.org/10.2174/1567201816666190201143457>.
- [7] A. Nair, S.C. Nair, A. Banerji, R. Biswas, U. Mony, Development and evaluation of plumbagin loaded chitin hydrogel for the treatment of skin cancer, *J Drug Deliv Sci Technol*. 66 (2021) 102804. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102804>.
- [8] M. Zagórska-Dziok, M. Sobczak, Hydrogel-Based Active Substance Release Systems for Cosmetology and Dermatology Application: A Review, *Pharmaceutics*. 12 (2020) 396. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12050396>.
- [9] S. Kudłacik-Kramarczyk, M. Głąb, A. Drabczyk, A. Kordyka, M. Godzierz, P.S. Wróbel, M. Krzan, M. Uthayakumar, M. Kędzierska, B. Tyliczszak, Physicochemical Characteristics of Chitosan-Based Hydrogels Containing Albumin Particles and Aloe vera Juice as Transdermal Systems Functionalized in the Viewpoint of Potential Biomedical Applications, *Materials*. 14 (2021) 5832. <https://doi.org/10.3390/ma14195832>.
- [10] S. Huang, H. Liu, S. Huang, T. Fu, W. Xue, R. Guo, Dextran methacrylate hydrogel microneedles loaded with doxorubicin and trametinib for continuous transdermal administration of melanoma, *Carbohydr Polym*. 246 (2020) 116650. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116650>.

- [11] R. Pushpalatha, S. Selvamuthukumar, D. Kilimozhi, Cyclodextrin nanosponge based hydrogel for the transdermal co-delivery of curcumin and resveratrol: Development, optimization, in vitro and ex vivo evaluation, *J Drug Deliv Sci Technol.* 52 (2019) 55–64. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.04.025>.
- [12] M. McKenzie, D. Betts, A. Suh, K. Bui, L. Kim, H. Cho, Hydrogel-Based Drug Delivery Systems for Poorly Water-Soluble Drugs, *Molecules.* 20 (2015) 20397–20408. <https://doi.org/10.3390/molecules201119705>.
- [13] A. Fahr, X. Liu, Drug delivery strategies for poorly water-soluble drugs, *Expert Opin Drug Deliv.* 4 (2007) 403–416. <https://doi.org/10.1517/17425247.4.4.403>.
- [14] Y. Chen, L. Wu, P. Li, X. Hao, X. Yang, G. Xi, W. Liu, Y. Feng, H. He, C. Shi, Polysaccharide Based Hemostatic Strategy for Ultrarapid Hemostasis, *Macromol Biosci.* 20 (2020) 1900370. <https://doi.org/10.1002/mabi.201900370>.
- [15] Q. Hu, Y. Lu, Y. Luo, Recent advances in dextran-based drug delivery systems: From fabrication strategies to applications, *Carbohydr Polym.* 264 (2021) 117999. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117999>.
- [16] T.S. Anirudhan, Binusreejayan, Dextran based nanosized carrier for the controlled and targeted delivery of curcumin to liver cancer cells, *Int J Biol Macromol.* 88 (2016) 222–235. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.03.040>.
- [17] J.A. Cadée, M.J.A. van Luyn, L.A. Brouwer, J.A. Plantinga, P.B. van Wachem, C.J. de Groot, W. den Otter, W.E. Hennink, In vivo biocompatibility of dextran-based hydrogels, (2000). [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(20000605\)50:3](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(20000605)50:3).
- [18] J. Wang, N. Huang, Q. Peng, X. Cheng, W. Li, Temperature/pH dual-responsive and luminescent drug carrier based on PNIPAM-MAA/lanthanide-polyoxometalates for controlled drug delivery and imaging in HeLa cells, *Mater Chem Phys.* 239 (2020). <https://doi.org/10.1016/J.MATCHEMPHYS.2019.121994>.
- [19] H. Farmanbordar, M.S. Amini-Fazl, R. Mohammadi, Synthesis of core-shell structure based on silica nanoparticles and methacrylic acid via RAFT method: An efficient pH-sensitive hydrogel for prolonging doxorubicin release, *J Drug Deliv Sci Technol.* 66 (2021) 102896. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102896>.
- [20] J. Shen, Y. Li, Y. Zuo, Q. Zou, J. Li, D. Huang, X. Wang, Characterization and cytocompatibility of surface modified polyamide66, *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 91B (2009) 897–904. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31472>.
- [21] Y.-L. Luo, F. Xu, Q.-S. Feng, Y.-S. Chen, C. Ma, Preparation and characterization of PMAA/MWCNTs nanohybrid hydrogels with improved mechanical properties, *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 92B (2010) 243–254. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31511>.

- [22] S.-Y. Kim, Cancer Metabolism: Strategic Diversion from Targeting Cancer Drivers to Targeting Cancer Suppliers, *Biomol Ther* (Seoul). 23 (2015) 99–109. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2015.013>.
- [23] American Cancer Society, What is Cancer? | Cancer Basics | American Cancer Society, (n.d.). <https://www.cancer.org/treatment/understanding-your-diagnosis/what-is-cancer.html> (accessed April 20, 2022).
- [24] S. McKenzie, N. Kyprianou, Apoptosis evasion: The role of survival pathways in prostate cancer progression and therapeutic resistance, *J Cell Biochem*. 97 (2006) 18–32. <https://doi.org/10.1002/jcb.20634>.
- [25] H. Sung, J. Ferlay, R.L. Siegel, M. Laversanne, I. Soerjomataram, A. Jemal, F. Bray, Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries, *CA Cancer J Clin*. 71 (2021) 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>.
- [26] M.C.F. Simões, J.J.S. Sousa, A.A.C.C. Pais, Skin cancer and new treatment perspectives: A review, *Cancer Lett*. 357 (2015) 8–42. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2014.11.001>.
- [27] E. Craythorne, P. Nicholson, Diagnosis and management of skin cancer, *Medicine*. 49 (2021) 435–440. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2021.04.007>.
- [28] R. Gordon, Skin Cancer: An Overview of Epidemiology and Risk Factors, *Semin Oncol Nurs*. 29 (2013) 160–169. <https://doi.org/10.1016/j.soncn.2013.06.002>.
- [29] J.M. Sanz, A.M.G. Lahoz, A. Silva, El sistema inmune y el microambiente tumoral: componentes y función, *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*. 13 (2021) 1932–1941. <https://doi.org/10.1016/J.MED.2021.05.006>.
- [30] M.-Z. Jin, W.-L. Jin, The updated landscape of tumor microenvironment and drug repurposing, *Signal Transduct Target Ther*. 5 (2020) 166. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00280-x>.
- [31] B.A. Webb, M. Chimenti, M.P. Jacobson, D.L. Barber, Dysregulated pH: a perfect storm for cancer progression, *Nat Rev Cancer*. 11 (2011) 671–677. <https://doi.org/10.1038/nrc3110>.
- [32] L.A. Hansen, Skin Cancer, Reference Module in Biomedical Sciences. (2015). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.05303-4>.
- [33] National Cancer Institute, Skin Cancer Treatment (PDQ®), Board, PDQ Adult Treatment Editorial. 2 (2021) 1–9. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK65824/> (accessed April 21, 2022).
- [34] PDQ Adult Treatment Editorial Board, Melanoma Treatment (PDQ®): Health Professional Version, PDQ Cancer Information Summaries. (2002).

<https://www.cancer.gov/types/skin/hp/melanoma-treatment-pdq> (accessed May 30, 2023).

- [35] PDQ® Adult Treatment Editorial Board, PDQ Skin Cancer Treatment, Bethesda, MD: National Cancer Institute. Updated 02/03/2023. Available at: <https://www.cancer.gov/types/skin/hp/skin-treatment-pdq>. Accessed 20/03/2023. [PMID: 26389366]. (2023). <https://www.cancer.gov/types/skin/hp/skin-treatment-pdq> (accessed May 30, 2023).
- [36] V. Satyanarayana Reddy Karri, G. Vinothkumar, R. Sivarajakumar, V. Venkata Satyanarayana Reddy Karri, Skin Cancer: Current Treatments, Limitations and the Role of Polymeric Nano Particles for the Effective Treatment of Skin Cancer, *JSM Nanotechnol Nanomed.* 5 (2017) 1055.
- [37] B.S. Kalal, D. Upadhyaya, V.R. Pai, Chemotherapy resistance mechanisms in advanced skin cancer, *Oncol Rev.* (2017). <https://doi.org/10.4081/oncol.2017.326>.
- [38] M. Verma, P. Sheoran, A. Chaudhury, Application of nanotechnology for cancer treatment, in: *Advances in Animal Biotechnology and Its Applications*, Springer Singapore, 2018: pp. 161–178. https://doi.org/10.1007/978-981-10-4702-2_10.
- [39] K.K. Kwok, E.C. Vincent, J.N. Gibson, Antineoplastic Drugs, in: *Pharmacology and Therapeutics for Dentistry*, Elsevier, 2017: pp. 530–562. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-39307-2.00036-9>.
- [40] H. Sadeghi-Abandansari, S. Pakian, M.R. Nabid, M. Ebrahimi, A. Rezalotfi, Local co-delivery of 5-fluorouracil and curcumin using Schiff's base cross-linked injectable hydrogels for colorectal cancer combination therapy, *Eur Polym J.* 157 (2021) 110646. <https://doi.org/10.1016/J.EURPOLYMJ.2021.110646>.
- [41] A. Psyrrri, G. Pizzorno, Pyrimidine Antimetabolites, *Encyclopedia of Cancer.* (2002) 527–534. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227555-1/00195-7>.
- [42] A. Murray, Dacarbazine, in: *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition*, Elsevier, 2014: pp. 1132–1134. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.01213-6>.
- [43] K.D. Tew, Paclitaxel☆, in: *Reference Module in Biomedical Sciences*, Elsevier, 2016. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.99393-0>.
- [44] I.D.L. Cavalcanti, J.C.S. Soares, S.M. de F.R. dos S. Medeiros, I.M.F. Cavalcanti, M.C. de B. Lira Nogueira, Can antioxidant vitamins avoid the cardiotoxicity of doxorubicin in treating breast cancer?, *PharmaNutrition.* 16 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.phanu.2021.100259>.
- [45] T. Betancourt, B. Brown, L. Brannon-Peppas, Doxorubicin-loaded PLGA nanoparticles by nanoprecipitation: Preparation, characterization and in vitro evaluation, *Nanomedicine.* 2 (2007) 219–232. <https://doi.org/10.2217/17435889.2.2.219>.

- [46] D. Banerjee, S. Bose, Effects of polymer chemistry, concentration, and pH on doxorubicin release kinetics from hydroxyapatite-PCL-PLGA composite, *J Mater Res.* 34 (2019) 1692–1703. <https://doi.org/10.1557/jmr.2019.120>.
- [47] B.S. Padya, A. Pandey, M. Pisay, K.B. Koteswara, R. Chandrashekar Hariharapura, K.U. Bhat, S. Biswas, S. Mutalik, Stimuli-responsive and cellular targeted nanoplatforams for multimodal therapy of skin cancer, *Eur J Pharmacol.* 890 (2021) 173633. <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2020.173633>.
- [48] M.A. Safwat, G.M. Soliman, D. Sayed, M.A. Attia, Fluorouracil-Loaded Gold Nanoparticles for the Treatment of Skin Cancer: Development, in Vitro Characterization, and in Vivo Evaluation in a Mouse Skin Cancer Xenograft Model, *Mol Pharm.* 15 (2018) 2194–2205. <https://doi.org/10.1021/ACS.MOLPHARMACEUT.8B00047>.
- [49] M. Rizzi, S. Tonello, B.M. Estevão, E. Gianotti, L. Marchese, F. Renò, Verteporfin based silica nanoparticle for in vitro selective inhibition of human highly invasive melanoma cell proliferation, *J Photochem Photobiol B.* 167 (2017) 1–6. <https://doi.org/10.1016/J.JPHOTOBIOL.2016.12.021>.
- [50] Y. Mi, P. Li, Q. Liu, J. Xu, Q. Yang, J. Tang, Multi-Parametric Study of the Viability of *in Vitro* Skin Cancer Cells Exposed to Nanosecond Pulsed Electric Fields Combined With Multi-Walled Carbon Nanotubes, *Technol Cancer Res Treat.* 18 (2019) 153303381987691. <https://doi.org/10.1177/1533033819876918>.
- [51] O.M. Daraba, A.N. Cadinoiu, D.M. Rata, L.I. Atanase, G. Vochita, Antitumoral Drug-Loaded Biocompatible Polymeric Nanoparticles Obtained by Non-Aqueous Emulsion Polymerization, *Polymers* 2020, Vol. 12, Page 1018. 12 (2020) 1018. <https://doi.org/10.3390/POLYM12051018>.
- [52] S. Battah, S. Balaratnam, A. Casas, S. O'Neill, C. Edwards, A. Batlle, P. Dobbin, A.J. MacRobert, Macromolecular delivery of 5-aminolaevulinic acid for photodynamic therapy using dendrimer conjugates, *Mol Cancer Ther.* 6 (2007) 876–885. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-06-0359>.
- [53] N. Mehan, M. Kumar, S. Bhatt, R. Shankar, B. Kumari, R. Pahwa, D. Kaushik, Self-Assembly Polymeric Nano Micelles for the Futuristic Treatment of Skin Cancer and Phototoxicity: Therapeutic and Clinical Advancement, *Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems.* 39 (2022) 79–95. <https://doi.org/10.1615/CRITREVTHERDRUGCARRIERSYST.2021035589>.
- [54] A.S. Hoffman, Hydrogels for biomedical applications, *Adv Drug Deliv Rev.* 64 (2012) 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.010>.
- [55] H. Chamkouri, A Review of Hydrogels, Their Properties and Applications in Medicine, *Am J Biomed Sci Res.* 11 (2021) 485–493. <https://doi.org/10.34297/AJBSR.2021.11.001682>.

- [56] T. Thambi, Y. Li, D.S. Lee, Injectable hydrogels for sustained release of therapeutic agents, *Journal of Controlled Release*. 267 (2017) 57–66. <https://doi.org/10.1016/J.JCONREL.2017.08.006>.
- [57] M.C. Catoira, L. Fusaro, D. di Francesco, M. Ramella, F. Boccafoschi, Overview of natural hydrogels for regenerative medicine applications, *J Mater Sci Mater Med*. 30 (2019) 115. <https://doi.org/10.1007/s10856-019-6318-7>.
- [58] K. Song, H. Xu, B. Mu, K. Xie, Y. Yang, Non-toxic and clean crosslinking system for protein materials: Effect of extenders on crosslinking performance, *J Clean Prod*. 150 (2017) 214–223. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2017.03.025>.
- [59] L. Qi, C. Zhang, B. Wang, J. Yin, S. Yan, Progress in Hydrogels for Skin Wound Repair, *Macromol Biosci*. (2022) 2100475. <https://doi.org/10.1002/mabi.202100475>.
- [60] M. Bustamante-Torres, D. Romero-Fierro, B. Arcentales-Vera, K. Palomino, H. Magaña, E. Bucio, Hydrogels Classification According to the Physical or Chemical Interactions and as Stimuli-Sensitive Materials, *Gels*. 7 (2021) 182. <https://doi.org/10.3390/gels7040182>.
- [61] N. Alasvand, A.M. Urbanska, M. Rahmati, M. Saeidifar, P.S. Gungor-Ozkerim, F. Sefat, J. Rajadas, M. Mozafari, Therapeutic Nanoparticles for Targeted Delivery of Anticancer Drugs, in: *Multifunctional Systems for Combined Delivery, Biosensing and Diagnostics*, Elsevier, 2017: pp. 245–259. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-52725-5.00013-7>.
- [62] C.-C. Lin, A.T. Metters, Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling, *Adv Drug Deliv Rev*. 58 (2006) 1379–1408. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2006.09.004>.
- [63] M. Vigata, C. Meinert, D.W. Hutmacher, N. Bock, Hydrogels as Drug Delivery Systems: A Review of Current Characterization and Evaluation Techniques, *Pharmaceutics*. 12 (2020) 1188. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12121188>.
- [64] A. Luca, I. Nacu, S. Tanasache, C.A. Peptu, M. Butnaru, L. Verestiuc, New Methacrylated Biopolymer-Based Hydrogels as Localized Drug Delivery Systems in Skin Cancer Therapy, *Gels*. 9 (2023) 371. <https://doi.org/10.3390/gels9050371>.
- [65] Mathematical models of drug release, in: *Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems*, Elsevier, 2015: pp. 63–86. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100092-2.00005-9>.
- [66] S. Koltzenburg, M. Maskos, O. Nuyken, *Polymer Chemistry*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2017. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-49279-6>.
- [67] R. Gobi, P. Ravichandiran, R.S. Babu, D.J. Yoo, Biopolymer and Synthetic Polymer-Based Nanocomposites in Wound Dressing Applications: A Review,

Polymers 2021, Vol. 13, Page 1962. 13 (2021) 1962.
<https://doi.org/10.3390/POLYM13121962>.

- [68] L.S. Liu, J. Kost, F. Yan, R.C. Spiro, Hydrogels from Biopolymer Hybrid for Biomedical, Food, and Functional Food Applications, *Polymers* 2012, Vol. 4, Pages 997–1011. 4 (2012) 997–1011. <https://doi.org/10.3390/POLYM4020997>.
- [69] S. Maiti, S. Jana, Functional polysaccharides for biomedical applications, 2019. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/C2017-0-02347-9>.
- [70] R. Mehvar, Dextrans for targeted and sustained delivery of therapeutic and imaging agents, *Journal of Controlled Release*. 69 (2000) 1–25. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(00\)00302-3](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(00)00302-3).
- [71] R.A. Omer, A. Hughes, J.R. Hama, W. Wang, H. Tai, Hydrogels from dextran and soybean oil by UV photo-polymerization, *J Appl Polym Sci*. 132 (2015) n/a-n/a. <https://doi.org/10.1002/app.41446>.
- [72] S.A. Varghese, S.M. Rangappa, S. Siengchin, J. Parameswaranpillai, Natural polymers and the hydrogels prepared from them, *Hydrogels Based on Natural Polymers*. (2020) 17–47. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816421-1.00002-1>.
- [73] Y. Yu, Y. Li, L. Liu, C. Zhu, Y. Xu, Synthesis and characterization of pH- and thermoresponsive Poly(N-isopropylacrylamide-co-itaconic acid) hydrogels crosslinked with N-maleyl chitosan, *Journal of Polymer Research*. 18 (2011) 283–291. <https://doi.org/10.1007/s10965-010-9417-1>.
- [74] H.I. Meléndez-Ortiz, R. Betancourt-Galindo, B. Puente-Urbina, J.L. Sánchez-Orozco, A. Ledezma, Antimicrobial cotton gauzes modified with poly(acrylic acid-co-maltodextrin) hydrogel using chitosan as crosslinker, *Int J Biol Macromol*. 198 (2022) 119–127. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.12.083>.
- [75] F. Ofridam, M. Tarhini, N. Lebaz, É. Gagnière, D. Mangin, A. Elaissari, pH-sensitive polymers: Classification and some fine potential applications, *Polym Adv Technol*. 32 (2021) 1455–1484. <https://doi.org/10.1002/PAT.5230>.
- [76] J. Kost, R. Langer, Responsive polymeric delivery systems, *Adv Drug Deliv Rev*. 64 (2012) 327–341. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.014>.
- [77] J. Zhang, N.A. Peppas, Synthesis and Characterization of pH- and Temperature-Sensitive Poly(methacrylic acid)/Poly(N -isopropylacrylamide) Interpenetrating Polymeric Networks, *Macromolecules*. 33 (2000) 102–107. <https://doi.org/10.1021/ma991398q>.
- [78] J. Liu, C. Qi, K. Tao, J. Zhang, J. Zhang, L. Xu, X. Jiang, Y. Zhang, L. Huang, Q. Li, H. Xie, J. Gao, X. Shuai, G. Wang, Z. Wang, L. Wang, Sericin/Dextran Injectable Hydrogel as an Optically Trackable Drug Delivery System for Malignant Melanoma Treatment, *ACS Appl Mater Interfaces*. 8 (2016) 6411–6422.

https://doi.org/10.1021/ACSAMI.6B00959/SUPPL_FILE/AM6B00959_SI_001.PDF

- [79] S.M. Carvalho, A.A.P. Mansur, N.S.V. Capanema, I.C. Carvalho, P. Chagas, L.C.A. de Oliveira, H.S. Mansur, Synthesis and in vitro assessment of anticancer hydrogels composed by carboxymethylcellulose-doxorubicin as potential transdermal delivery systems for treatment of skin cancer, *J Mol Liq.* 266 (2018) 425–440. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2018.06.085>.
- [80] N.S.V. Capanema, I.C. Carvalho, A.A.P. Mansur, S.M. Carvalho, A.P. Lage, H.S. Mansur, Hybrid Hydrogel Composed of Carboxymethylcellulose-Silver Nanoparticles-Doxorubicin for Anticancer and Antibacterial Therapies against Melanoma Skin Cancer Cells, *ACS Appl Nano Mater.* 2 (2019) 7393–7408. https://doi.org/10.1021/ACSANM.9B01924/ASSET/IMAGES/LARGE/AN9B01924_0010.JPEG.
- [81] P. Li, Y. Li, R. Fu, Z. Duan, C. Zhu, D. Fan, NIR- and pH-responsive injectable nanocomposite alginate-graft-dopamine hydrogel for melanoma suppression and wound repair, *Carbohydr Polym.* 314 (2023) 120899. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.120899>.
- [82] N. Kochkina, M. Nikitina, M. Agafonov, E. Delyagina, I. Terekhova, iota-Carrageenan hydrogels for methotrexate delivery, *J Mol Liq.* 368 (2022) 120790. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.120790>.
- [83] H. Zheng, S. Wang, L. Zhou, X. He, Z. Cheng, F. Cheng, Z. Liu, X. Wang, Y. Chen, Q. Zhang, Injectable multi-responsive micelle/nanocomposite hybrid hydrogel for bioenzyme and photothermal augmented chemodynamic therapy of skin cancer and bacterial infection, *Chemical Engineering Journal.* 404 (2021) 126439. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2020.126439>.
- [84] R. Amatya, S. Hwang, T. Park, Y.J. Chung, S. Ryu, J. Lee, H. Cheong, C. Moon, K.A. Min, M.C. Shin, BSA/Silver Nanoparticle-Loaded Hydrogel Film for Local Photothermal Treatment of Skin Cancer, *Pharm Res.* 38 (2021) 873–883. <https://doi.org/10.1007/S11095-021-03038-4/FIGURES/9>.
- [85] H. Xu, Y. Wen, S. Chen, L. Zhu, R. Feng, Z. Song, Paclitaxel skin delivery by micelles-embedded Carbopol 940 hydrogel for local therapy of melanoma, *Int J Pharm.* 587 (2020) 119626. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2020.119626>.
- [86] Q. Lv, C. He, F. Quan, S. Yu, X. Chen, DOX/IL-2/IFN- γ co-loaded thermo-sensitive polypeptide hydrogel for efficient melanoma treatment, *Bioact Mater.* 3 (2018) 118–128. <https://doi.org/10.1016/J.BIOACTMAT.2017.08.003>.
- [87] J.W. Lu, Y. Miao, C.X. Guo, Q.F. Ke, J.H. Yin, S.M. Zhou, Y.P. Guo, Lanthanum-Doped Chitosan Hydrogels Promote the Apoptosis of Melanoma Cells by Bcl-2/Bax Pathway, *ACS Appl Bio Mater.* 1 (2018) 1468–1477.

https://doi.org/10.1021/ACSABM.8B00417/ASSET/IMAGES/LARGE/MT-2018-00417D_0007.JPEG.

- [88] T. Jiang, T. Wang, T. Li, Y. Ma, S. Shen, B. He, R. Mo, Enhanced Transdermal Drug Delivery by Transfersome-Embedded Oligopeptide Hydrogel for Topical Chemotherapy of Melanoma, *ACS Nano*. 12 (2018) 9. https://doi.org/10.1021/ACSNANO.8B03800/ASSET/IMAGES/MEDIUM/NN-2018-038009_M001.GIF.
- [89] Y. Sun, L. Du, Y. Liu, X. Li, M. Li, Y. Jin, X. Qian, Transdermal delivery of the in situ hydrogels of curcumin and its inclusion complexes of hydroxypropyl- β -cyclodextrin for melanoma treatment, *Int J Pharm*. 469 (2014) 31–39. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2014.04.039>.
- [90] E. Montanari, S. Capece, C. di Meo, M. Meringolo, T. Coviello, E. Agostinelli, P. Matricardi, Hyaluronic Acid Nanohydrogels as a Useful Tool for BSAO Immobilization in the Treatment of Melanoma Cancer Cells, *Macromol Biosci*. 13 (2013) 1185–1194. <https://doi.org/10.1002/MABI.201300114>.
- [91] A. V. Reis, A.R. Fajardo, I.T.A. Schuquel, M.R. Guilherme, G.J. Vidotti, A.F. Rubira, E.C. Muniz, Reaction of Glycidyl Methacrylate at the Hydroxyl and Carboxylic Groups of Poly(vinyl alcohol) and Poly(acrylic acid): Is This Reaction Mechanism Still Unclear?, *J Org Chem*. 74 (2009) 3750–3757. <https://doi.org/10.1021/jo900033c>.
- [92] W.N.E. van Dijk-Wolthuis, J.J. Kettenes-van den Bosch, A. van der Kerk-van Hoof, W.E. Hennink, Reaction of Dextran with Glycidyl Methacrylate: An Unexpected Transesterification, *Macromolecules*. 30 (1997) 3411–3413. <https://doi.org/10.1021/ma961764v>.
- [93] O. Carp, L. Patron, D.C. Culita, P. Budrugaec, M. Feder, L. Diamandescu, Thermal analysis of two types of dextran-coated magnetite, *J Therm Anal Calorim*. 101 (2010) 181–187. <https://doi.org/10.1007/s10973-009-0593-3>.
- [94] H.I. Meléndez-Ortiz, R. Betancourt-Galindo, B. Puente-Urbina, A. Ledezma, O. Rodríguez-Fernández, Synthesis and characterization of hydrogels based on maltodextrins with antimicrobial properties, *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. 71 (2022) 959–968. <https://doi.org/10.1080/00914037.2021.1931209>.
- [95] F. Plieva, A. Oknianska, E. Degerman, I.Yu. Galaev, B. Mattiasson, Novel supermacroporous dextran gels, *J Biomater Sci Polym Ed*. 17 (2006) 1075–1092. <https://doi.org/10.1163/156856206778530722>.
- [96] R. Saud, S. Pokhrel, P.N. Yadav, Synthesis, characterization and antimicrobial activity of maltol functionalized chitosan derivatives, *Journal of Macromolecular*

Science, Part A. 56 (2019) 375–383.
<https://doi.org/10.1080/10601325.2019.1578616>.

- [97] F.I. El-Dib, Gh. Eshaq, A.E. ElMetwally, H.H.H. Hefni, Enhancing the porous structure of swellable poly(acrylic acid-co-acrylamide) crosslinked by N-Maleyl chitosan via introducing foaming agents and non-ionic surfactant, *Advanced Industrial and Engineering Polymer Research*. 4 (2021) 9–18. <https://doi.org/10.1016/j.aiepr.2020.12.001>.
- [98] M.T. Nakhjiri, G.B. Marandi, M. Kurdtabar, Poly(AA-co-VPA) hydrogel cross-linked with N-maleyl chitosan as dye adsorbent: Isotherms, kinetics and thermodynamic investigation, *Int J Biol Macromol*. 117 (2018) 152–166. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.140>.
- [99] A. Lumbreras-Aguayo, H.I. Meléndez-Ortiz, B. Puente-Urbina, C. Alvarado-Canché, A. Ledezma, J. Romero-García, R. Betancourt-Galindo, Poly(methacrylic acid)-modified medical cotton gauzes with antimicrobial and drug delivery properties for their use as wound dressings, *Carbohydr Polym*. 205 (2019) 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.10.015>.
- [100] M.R. Septiawan, D. Permana, S.H. Sabarwati, L.O. Ahmad, L.O.A.N. Ramadhan, Functionalization of Chitosan with Maleic Anhydride for Proton Exchange Membrane, *Indonesian Journal of Chemistry*. 18 (2018) 313. <https://doi.org/10.22146/ijc.33141>.
- [101] H.K. Can, S. Kavlak, S. ParviziKhosroshahi, A. Güner, Preparation, characterization and dynamical mechanical properties of dextran-coated iron oxide nanoparticles (DIONPs), *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 46 (2018) 421–431. <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1315428>.
- [102] L. Neufeld, H. Bianco-Peled, Pectin–chitosan physical hydrogels as potential drug delivery vehicles, *Int J Biol Macromol*. 101 (2017) 852–861. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.167>.
- [103] A. Mahmood, A. Mahmood, R.M. Sarfraz, H. Ijaz, N. Zafar, M.U. Ashraf, Hydrogel-based intelligent delivery system for controlled release of diloxanide furoate, *Polymer Bulletin*. (2022). <https://doi.org/10.1007/s00289-022-04401-0>.
- [104] Z. Taherkhani, M. Abdollahi, A. Sharif, Proton conducting porous membranes based on poly(benzimidazole) and poly(acrylic acid) blends for high temperature proton exchange membranes, *Solid State Ion*. 337 (2019) 122–131. <https://doi.org/10.1016/j.ssi.2019.04.019>.
- [105] J. Son, T.N. Vo, S. Cho, A.N. Preman, I.T. Kim, S. Ahn, Acrylic random copolymer and network binders for silicon anodes in lithium-ion batteries, *J Power Sources*. 458 (2020) 228054. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2020.228054>.

- [106] C.S.A. de Lima, T.S. Balogh, J.P.R.O. Varca, G.H.C. Varca, A.B. Lugão, L. A. Camacho-Cruz, E. Bucio, S.S. Kadlubowski, An Updated Review of Macro, Micro, and Nanostructured Hydrogels for Biomedical and Pharmaceutical Applications, *Pharmaceutics*. 12 (2020) 970. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12100970>.
- [107] K. Kabiri, H. Omidian, S.A. Hashemi, M.J. Zohuriaan-Mehr, Synthesis of fast-swelling superabsorbent hydrogels: effect of crosslinker type and concentration on porosity and absorption rate, *Eur Polym J*. 39 (2003) 1341–1348. [https://doi.org/10.1016/S0014-3057\(02\)00391-9](https://doi.org/10.1016/S0014-3057(02)00391-9).
- [108] S. Steichen, C. O'Connor, N.A. Peppas, Development of a P((MAA-co-NVP)-g-EG) Hydrogel Platform for Oral Protein Delivery: Effects of Hydrogel Composition on Environmental Response and Protein Partitioning, *Macromol Biosci*. 17 (2017) 1600266. <https://doi.org/10.1002/mabi.201600266>.
- [109] X. Qi, W. Wei, J. Li, Y. Liu, X. Hu, J. Zhang, L. Bi, W. Dong, Fabrication and Characterization of a Novel Anticancer Drug Delivery System: Salecan/Poly(methacrylic acid) Semi-interpenetrating Polymer Network Hydrogel, *ACS Biomater Sci Eng*. 1 (2015) 1287–1299. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.5b00346>.
- [110] F.C. Onder, A. Onder, P. Ilgin, H. Ozay, O. Ozay, Preparation of antioxidant-biodegradable poly(acrylic acid-co-2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogel using rutin as a crosslinker: Drug release and anticancer activity, *React Funct Polym*. 190 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2023.105650>.
- [111] S. Peng, W. Xu, H. Liu, Drug controlled releasing system based on polypyrrole modified multi-responsive hydrogel constructed from methacrylic acid and N-isopropylacrylamide, *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*. 669 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2023.131514>.
- [112] T.S. Anirudhan, M. Mohan, M.R. Rajeev, Modified chitosan-hyaluronic acid based hydrogel for the pH-responsive Co-delivery of cisplatin and doxorubicin, *Int J Biol Macromol*. 201 (2022) 378–388. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.01.022>.
- [113] C.Y. Looi, B. Moharram, M. Paydar, Y.L. Wong, K.H. Leong, K. Mohamad, A. Arya, W.F. Wong, M.R. Mustafa, Induction of apoptosis in melanoma A375 cells by a chloroform fraction of *Centratherum anthelminticum* (L.) seeds involves NF-kappaB, p53 and Bcl-2-controlled mitochondrial signaling pathways, *BMC Complement Altern Med*. 13 (2013) 166. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-166>.
- [114] A. Luanda, V. Badalamoole, Past, present and future of biomedical applications of dextran-based hydrogels: A review, *Int J Biol Macromol*. 228 (2023) 794–807. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.12.129>.

- [115] R. Cui, L. Zhang, R. Ou, Y. Xu, L. Xu, X.-Y. Zhan, D. Li, Polysaccharide-Based Hydrogels for Wound Dressing: Design Considerations and Clinical Applications, *Front Bioeng Biotechnol.* 10 (2022). <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.845735>.