

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

Parches a base de mecanogeles de quitosano y pectina con potencial aplicación en la encapsulación y administración transdermal de fármacos.

Karen Marcela Calvopiña Esparza

Ingeniería Química

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
Ingeniera Química

Quito, 19 de diciembre de 2022

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

**HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA**

**Parches a base de mecanogeles de quitosano y pectina con potencial
aplicación en la encapsulación y liberación de fármacos.**

Karen Marcela Calvopiña Esparza

José Álvarez, PhD

José Mora, PhD

Quito, 19 de diciembre de 2022

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Karen Marcela Calvopiña Esparza

Código: 00207265

Cédula de identidad: 0604621193

Lugar y fecha: Quito, 19 de diciembre de 2022

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

RESUMEN

En el presente estudio se planteó elaborar parches a base de mecanogeles de quitosano y pectina plastificados con glicerina con potencial encapsulación y liberación de fármacos. Se inició con el planteamiento y selección del protocolo de plastificación entre dos propuestas: adición del plastificante previo al entrecruzamiento en el buffer, y post entrecruzamiento en un proceso de rehidratación. Para evaluar la eficiencia de los protocolo se analizó la capacidad de hinchamiento y formación del parche mediante FTIR. Así, se determinó que el protocolo de adición de glicerina previo al entrecruzamiento es el más eficiente. Posterior a ello, se variaron las relaciones poliméricas de quitosano y pectina, al igual que la concentración de la glicerina con el fin de determinar la mejor relación estabilidad y formación del parche mediante pruebas de hinchamiento, FTIR, análisis termogravimétrico, y SEM. Demostrando que la mejor concentración de glicerina es de 5% debido a que hay mayor formación de enlaces y un buen porcentaje de hinchamiento. En cuanto a las relaciones poliméricas se observó que los parches elaborados con 65:35 y 50:50 son estadísticamente iguales y presentan la mejor estabilidad. Finalmente se evaluó el perfil de liberación de acetaminofén como fármaco modelo en los parches con tres relaciones poliméricas y 5% de glicerina como plastificante. En donde se encontró una alta variabilidad en el porcentaje de masa del fármaco liberado durante las dos primeras horas, y alta desviación, especialmente en la relación polimérica 35:65 y 65:35. Demostrando así que la mejor relación polimérica para la liberación de fármacos es 50:50 quitosano: pectina con una concentración de 5% de plastificante.

Palabras clave: parches, quitosano, pectina, glicerina, plastificación, mecanismo de liberación.

ABSTRACT

The present study aimed to elaborate patches based on chitosan and pectin mechanogels plasticized with glycerin with potential drug encapsulation and release. This process started with the approach and selection of the plasticization protocol between two proposals: the addition of the plasticizer before crosslinking in the buffer, and the post-crosslinking addition in a rehydration process. The swelling and patch formation capacity was analyzed by FTIR to evaluate the efficiency of the protocols. Thus, it was determined that the glycerin addition protocol before crosslinking is the most efficient. Subsequently, the polymeric ratios of chitosan and pectin were varied, as well as the concentration of glycerin to determine the best stability and patch formation ratio employing swelling tests, FTIR, thermogravimetric analysis, and SEM. Demonstrating the best glycerin concentration is 5% due to higher bond formation and good swelling percentage, despite not being the highest. Regarding polymeric ratios, it was observed that the patches elaborated with 65:35 and 50:50 are statistically equal and present the best stability. Finally, the release profile of acetaminophen was evaluated as a model drug in the patches with three polymeric ratios and 5% glycerin as the plasticizer. High variability was found in the percentage of drug mass released during the first two hours, and high deviation, especially in the polymeric ratio 35:65 and 65:35. Thus demonstrating that the best polymeric ratio for drug release is 50:50 chitosan: pectin with a concentration of 5% plasticizer.

Key words: patches, chitosan, pectin, glycerin, plasticization, drug release mechanism.

TABLA DE CONTENIDO

1. <i>Introducción</i>	11
2. <i>Metodología</i>	15
2.1 Elaboración de hidrogeles	15
2.1.1. Plastificación durante el entrecruzamiento.....	15
2.1.2. Plastificación post entrecruzamiento	15
2.2. Caracterización de Hidrogeles.....	16
2.2.1. Grado de hinchamiento.....	16
2.2.2. Microscopía electrónica de barrido.	16
2.2.3. Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).	17
2.2.4. Análisis termogravimétrico.	17
2.3. Encapsulación y liberación de acetaminofén como fármaco modelo.....	17
2.4. Análisis estadístico (ANOVA).....	18
3. <i>Resultados</i>	18
3.1. Definición del Protocolo de plastificación de hidrogeles.....	19
3.2. Caracterización de hidrogeles.....	21
3.2.1. Estabilidad en condiciones fisiológicas.....	21
3.2.2. Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).	26
3.2.3. Estabilidad térmica	28
3.2.4. Topografía de los parches.....	30

3.3. Modelo de liberación de acetaminofén.....	32
4. <i>Discusión</i>	33
5. <i>Conclusiones y recomendaciones</i>	40
6. <i>Referencias bibliográficas</i>	42
7. <i>Anexo A: ANOVA y comparación de tukey</i>	48
8. <i>Anexo B: Espectros FTIR: diferentes relaciones poliméricas</i>	54
9. <i>Anexo C: primera derivada de TGA</i>	55
10. <i>Anexo D: Espectro FTIR control</i>	57
11. <i>Anexo D: Curva de calibración de acetaminofén</i>	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Efecto del protocolo de plastificación en la estabilidad de los parches en condiciones fisiológicas. Curva de hinchamiento de parches con dos tipos de adición de plastificante (glicerina 5%), con una relación quitosano/pectina 50:50.	19
Figura 2. Espectros FTIR de parches con dos tipos de adición de plastificante (glicerina 5%), con una relación quitosano/pectina 50:50.	20
Figura 3. Curva de hinchamiento de parches con diferentes concentraciones de glicerina, y tres relaciones quitosano/pectina. [A] 50:50. [B] 65:35. [C] 35:65.	22
Figura 4. Curvas de hinchamiento de parches control a diferentes concentraciones de glicerina. [A] Pectina. [B] Quitosano.	24
Figura 5. Curva de hinchamiento de parches con diferentes relaciones poliméricas, 5% glicerina, con y sin tratamiento mecánico, a diferentes proporciones.	25
Figura 6. Espectros FT-IR de parches con una relación quitosano: pectina 50:50	26
Figura 7. Espectro FT-IR de parches con diferentes relaciones de quitosano/pectina con 5% de glicerina.	27
<i>Figura 8. Estabilidad térmica de parches con diferentes concentraciones de glicerina y tres relaciones quitosano/pectina. [A] 50:50. [B] 65:35. [C] 35:65.</i>	<i>29</i>
Figura 9. Primera derivada de la estabilidad térmica de parches con una relación quitosano:pectina 50:50 con diferentes concentraciones de glicerina. [A] 0%. [B] 2.5%. [C] 5%. [D] 7.5%.	29
Figura 10. Primera derivada de la estabilidad térmica de parches con una concentración de 5% glicerina, a diferentes proporciones. [A] 50:50. [B] 65:35. [C] 35:65.	30

Figura 11. Micrografías electrónicas de barrido de parches con una relación quitosano/pectina de 50:50 con diferentes concentraciones de glicerina. [A] 0% glicerina, aumento de 200x y barra de escala de 100 μm . [B] 2.5% glicerina, aumento de 200x y barra de escala de 100 μm . [C] 5% glicerina, aumento de 200x y barra de escala de 100 μm [D] 7.5% glicerina, aumento de 200x y barra de escala de 100 μm	31
Figura 12. Perfil de liberación de acetaminofén de parches con diferentes relaciones poliméricas y 5% de glicerina.	32
Figura 13. Mecanismo de reacción entre el quitosano y la pectina (d-galacturonato de metilo).....	37
Figura 14. Espectro FT-IR de parches con una relación quitosano/pectina 65:35.	54
Figura 15. Espectro FT-IR de parches con una relación quitosano/pectina 35:65.	54
Figura 16. Primera derivada de la estabilidad térmica de parches con una relación quitosano:pectina 65:35 con diferentes concentraciones de glicerina. [A] 0%. [B] 2.5%. [C] 5%.	55
Figura 17. Primera derivada de la estabilidad térmica de parches con una relación quitosano:pectina 35:65 con diferentes concentraciones de glicerina. [A] 0%. [B] 2.5%. [C] 5%. [D]7.5%.	56
Figura 18. Espectros FTIR de diferentes polímeros.[A] Alginato, [Q] Quitosano y [P] Pectina.	57
Figura 19. Espectro FTIR de pectina cítrica comercial.	58
Figura 20. Curva de calibración de acetaminofén en PBS 1X.	59

1. INTRODUCCIÓN

La liberación de fármacos mediante rutas transdérmicas es de gran importancia para el tratamiento de diversas enfermedades, tales como: diabetes, infecciones de la piel, infecciones bacterianas causadas por *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, tratamiento del dolor, entre otras [1]. Un ejemplo de esta ruta son los parches transdérmicos formados por tres principales capas: una lámina protectora que evita que ingresen partículas del ambiente hacia la herida, y protege a los demás componentes del parche; la matriz polimérica en la cual se encapsula el fármaco; y, finalmente una lámina adhesiva que sirve de soporte para que el parche se mantenga ligado a la piel [2]. En este trabajo la estructura objeto de estudio será la matriz polimérica. Los fármacos son liberados hacia la piel gracias a la difusión pasiva; de esta manera, la molécula de interés pasa del parche hacia la piel, y después al torrente sanguíneo sirve de transporte hasta el órgano objetivo [3]. Gracias a este mecanismo la ruta transdérmica es altamente efectiva, incrementando la biodisponibilidad del fármaco [4].

Dentro de las ventajas principales de la ruta de liberación de fármacos transdérmica se encuentran: menor citotoxicidad debido a que la dosis efectiva es menor, liberación controlada, mayor tolerancia y disminución de efectos secundarios. Por otro lado, el uso de parches como matrices de encapsulación y liberación de fármacos representa una posibilidad de administración de fármacos menos costosa y más accesible para poblaciones rurales con poco acceso a centros de salud [4]. Por ejemplo, el caso de la leishmaniasis cutánea requiere de un tratamiento de 10 a 20 días continuos en donde se suministra 20mg/kg de estibogluconato de sodio por la vía parental [5]. De esta manera, el uso de parches cargados con antimoniales y otros fármacos representa una alternativa menos costosa y accesible

Actualmente, existen parches que se encuentran disponibles en el mercado en Ecuador bajo el nombre de TRANSTEC® los cuales contienen Buprenorfina en dosis de 20 g por 25 cm² y se usa para aliviar el dolor oncológico moderado y severo [6]. Asimismo, existen productos en fase de desarrollo como son los hidrogeles de PVA elaborados por la técnica de fundición (casting technique) los cuales encapsulan anfotericina B, un potente fármaco con alta actividad anti leishmanicida [7]. Los materiales usados en estos dispositivos médicos comerciales son cloruro de polivinilo (PVC), polivinilo de alcohol (PVA), poliuria, poliuretano (PU), PEG entrecruzado y polihidroxietil metacrilato, entre otros [8]. Sin embargo, el uso de polímeros sintéticos presenta desventajas debido principalmente a los problemas ambientales y sociales que estos ocasionan. Como ejemplo de los problemas ambientales, se puede destacar la presencia de microplásticos en las aguas, los cuales adsorben y tienen alta capacidad de transporte de metales y compuestos orgánicos contaminantes. Esto afecta al crecimiento y reproducción de organismos acuáticos, provocando bioacumulación de microplásticos en la cadena trófica [9]. Actualmente se han hallado polímeros sintéticos solubles en diferentes zonas como en efluentes y lodos de plantas de tratamiento de agua (PVP), y en nieve (PEG) [10]. Según [11] alrededor del 61% de PVA no se degrada en las plantas de tratamiento de aguas residuales y termina en el ambiente contenido en los lodos que se desechan, o en la fase acuosa. Es así que se evidencia que a pesar de que existen esfuerzos en el campo de biorremediación, los polímeros sintéticos son difíciles de degradar.

En relación al impacto social de los plásticos sintéticos, se conoce que el 80% de los desechos plásticos se acumulan en vertederos y/o zonas naturales [12] que afectan a las poblaciones que se encuentran en asentamiento ilegales cercanos a estos vertederos con altas

concentraciones de microplástico. Por otro lado, el proceso de producción de plásticos genera impactos sociales y ambientales negativos debido a la extracción de petróleo, materia prima en la elaboración de polímeros como el polietileno, PVA, EVA y PVC [13].

Como posible solución a esta problemática, comienzan a ganar terreno los polímeros naturales, tales como el alginato, colágeno, fibrina, quitosano, gelatina y ácido hialurónico que son altamente biodegradables, abundantes y amigables con el medio ambiente. Uno de los mayores beneficios de los polímeros naturales es su alto nivel de biocompatibilidad al promover adhesión celular al material, y deposición de matriz [14], respuesta inmune baja lo cual evita su degradación e incrementa su biodisponibilidad [6]. Su desventaja son sus propiedades mecánicas pobres y baja estabilidad [15]; sin embargo, es posible mejorar la estabilidad mecánica, térmica y etc. mediante el entrecruzamiento y adición de otros polímeros [6]. Más aún, es posible añadir plastificantes como la gelatina y glicerol. Estos compuestos brindan flexibilidad a la matriz entrecruzada de polímeros mediante el rompimiento de los enlaces de hidrógeno evitando la formación de una estructura cristalina [16].

El quitosano, producto de la desacetilación de la quitina, es uno de los polímeros naturales más abundantes presentes en el planeta, especialmente en el ambiente marino [17]. El quitosano presenta grandes beneficios por su alta actividad antimicrobiana y capacidad de formar complejos, característica indispensable para la formación de parches; esto se debe a la presencia de grupos aminos libres. Otro ejemplo es la pectina, un polisacárido localizado en la pared celular de plantas, especialmente en frutas como las manzanas, naranjas, limones, entre otros [18]. Así, los polímeros naturales se posicionan como una alternativa a sus análogos sintéticos.

A pesar de que el costo de biopolímeros como el quitosano son mayores a los sintéticos (PVA, PVC y PE) entre 10 a 40 veces más [19]. Se ha evidenciado un incremento en el mercado de biopolímeros como el quitosano. Se estima que para 2027, el tamaño del mercado sea de alrededor de \$30 billones con un crecimiento anual (CAGR) de 24.7% [20]. Contrario a esto, el mercado de polímeros sintéticos presentan un menor crecimiento anual. Se estima que el mercado de PVA en 2027 será de \$1.4 billones con un CAGR de 5.77% [21]. Es así, que el uso de biopolímeros además de presentar beneficios en la salud y el medio ambiente, posee un alto valor económico.

Actualmente, se encontró la elaboración de hidrogeles con alcohol polivinílico oxidado y quitosano con posible aplicación en la liberación controlada de fármacos [22]; films de quitosano, pectina, y quitosano/pectina con extracto de noni [23]; plásticos biodegradables de quitosano, almidón de yuca, PVA y glicerol como alternativa a polímeros sintéticos utilizados en empaques de comida [24]. De igual forma, existen estudios respecto a la caracterización mecánica y perfil de hinchamiento de perlas de gel a base de glicerol y pectina como sistema de liberación de fármacos en el sistema digestivo [25]. Por otro lado, dentro del Laboratorio de Biomateriales de Ingeniería Química en la USFQ, Stacey en 2019 [26] desarrolló un protocolo para la elaboración de hidrogeles estables mediante mecanoquímica empleando quitosano y pectina extraída de tres diferentes frutas.

Es por ello que en este trabajo se plantea elaborar parches a base de mecanogel de quitosano y pectina plastificados con glicerina con potencial encapsulación y liberación de fármacos. Para ello se debió definir protocolos de plastificación de mecanogel de quitosano y pectina con el uso de glicerina; determinar la concentración adecuada de quitosano, pectina y glicerina para la mejor relación entre estabilidad y formación del parche; y, finalmente evaluar el perfil de liberación de un fármaco modelo encapsulado en parches seleccionados.

2. METODOLOGÍA

Los materiales usados en la formulación de parches fueron quitosano (extraído de cáscara de camarones, grado de desacetilación $\geq 75\%$) obtenido de Sigma-Aldrich, pectina cítrica brasileña de 'La casa de los Químicos', y glicerol 99.5% de grado USP obtenido de Loba Chemie.

2.1 Elaboración de hidrogeles

2.1.1. Plastificación durante el entrecruzamiento.

De acuerdo con trabajos previos en el Laboratorio de Biomateriales de la Universidad San Francisco de Quito, se estableció la relación de concentración entre quitosano y pectina cítrica (50:50 / 65:35 / 35:65) y se pesó la mezcla. Posteriormente, se dio tratamiento mecánico con el uso de un mortero y pistilo durante 15 minutos [26]. Se colocó un buffer de acetato de sodio (1.0 N, pH 2) con distintas concentraciones de glicerina (0 – 2.5 – 5 - 7.5 % v/v) en placas de 24 pocillos, posteriormente se vertió el quitosano y pectina tratados mecánicamente para obtener una concentración final de 10% p/v. Se mezcló la solución por 30-60 segundos, y se permitió la formación del hidrogel durante 2 horas. Posterior a este tiempo, se secaron los hidrogeles a 40 °C.

2.1.2. Plastificación post entrecruzamiento

Se utilizaron las mismas proporciones y condiciones de tratamiento mecánico previamente especificadas y se formaron los hidrogeles en ausencia de glicerol. Luego del secado, los materiales fueron rehidratados con mezclas acuosas de glicerina a distintas concentraciones (0 – 2.5 – 5- 7.5 % v/v) durante 1 hora. Finalmente, los hidrogeles se secaron nuevamente a 40 °C.

La comprobación de la plastificación de los mecanogeles se realizó mediante dos mecanismos: grado de hinchamiento y espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier, descritas en la siguiente sección.

2.2. Caracterización de Hidrogeles.

2.2.1. Grado de hinchamiento

El comportamiento de hinchamiento es una propiedad innata de hidrogeles que permite evaluar la interacción del solvente al penetrar los espacios vacíos de la matriz polimérica [27]. Esta prueba se realizó sumergiendo los mecanogeles en un buffer fosfato salino (PBS) a 30 °C, temperatura de la piel [26], [28]. Se pesaron las muestras a los siguientes tiempos 2, 4, 24, 72 y 168 horas. Para determinar el porcentaje de hinchamiento se utilizó la ecuación 1.

$$\%hinchamiento = \frac{m_t}{m_i} * 100 \quad (1)$$

En donde m_t es la masa del mecanogel en un tiempo definido, y m_i es el peso inicial del mismo

2.2.2. Microscopía electrónica de barrido.

El microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-IT300 se utilizó para analizar la topografía de los hidrogeles en función del cambio de concentraciones. Los mecanogeles fueron secados previamente a 40 °C durante 24 horas. Las muestras, pedazos de aproximadamente 5 mm², fueron fijadas con cinta adhesiva al disco porta muestras. Los registros se hicieron en resoluciones de 200x, 500x y 1000x con un voltaje de 20.0 kV y presión de 30 Pa.

2.2.3. Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).

Los espectros fueron tomados con el equipo Agilent Cary 630 FTIR, el cual posee un módulo de reflectancia total atenuada (ATR) con punta de diamante. El gain fue de 222 en un rango de número de onda de 650 a 4000 cm^{-1} . Las muestras analizadas fueron aquellas con concentraciones quitosano/pectina 50:50, 35:65 y 65/35. En las que se varió la concentración de glicerina en buffer de 0 a 7.5% en pasos de 2.5.

2.2.4. Análisis termogravimétrico.

El análisis de estabilidad térmica se realizó con un flujo de nitrógeno de 40 mL/min con un rango de temperatura entre 25 – 650 °C con una velocidad de cambio de 10 °C/min. El peso de cada muestra que ingresó al análisis fue de 8 mg [29]. El equipo utilizado fue un analizador térmico (STA) 8000 de la marca Perkin Elmer.

2.3. Encapsulación y liberación de acetaminofén como fármaco modelo

Se siguió el mismo protocolo de elaboración de hidrogeles, incorporando el fármaco acetaminofén, usado como fármaco modelo, en una concentración de 5% w/w con respecto a la masa de los polímeros. Las relaciones de polímeros (quitosano/pectina) usadas son 50:50, 65:35, y 35:65; con una concentración de 5% plastificante, de acuerdo con los resultados previos.

Para evaluar la liberación se colocó el parche formado en 7 mL de PBS [30], y se retiró 0.5 mL del medio en los siguientes intervalos de tiempo: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 24, 48 y 72 horas, siendo reemplazado por el mismo volumen de PBS fresco. El fármaco modelo se cuantificó con el uso de un espectrómetro UV/vis a una longitud de onda de 244 nm. Para la

curva de calibración (Anexo 1), se utilizaron estándares de acetaminofén con un rango de cuantificación entre 0.03 y 0.005 mg/mL, en PBS

2.4. Análisis estadístico (ANOVA)

Todos los valores se presentan como el promedio \pm desviación estándar, con $n=3$. Para el análisis estadístico se realizó un análisis de varianza, ANOVA, con el modelo lineal general en el software Minitab, usando un intervalo de confianza de 95% en el test de comparación de pares por Tukey. Los resultados del cual se presentan en los anexos.

3. RESULTADOS

Actualmente se han reportado el desarrollo hidrogel con diferentes biopolímeros como una alternativa al uso de polímeros sintéticos altamente contaminantes, desde su proceso de producción hasta su degradación post uso. Un ejemplo de ello, son los hidrogel elaborados por Stacey en 2019 [26] con quitosano y pectina mediante mecano química. Se ha comprobado la formación y estabilidad de estos; sin embargo, esta matriz polimérica no cuenta con la elasticidad necesaria para utilizarlos en parches transdérmicos. Es por ello, que este estudio se centra en la plastificación de hidrogel de quitosano y pectina mediante un análisis de estabilidad, formación, encapsulación y administración controlada de fármacos.

3.1. Definición del Protocolo de plastificación de hidrogeles

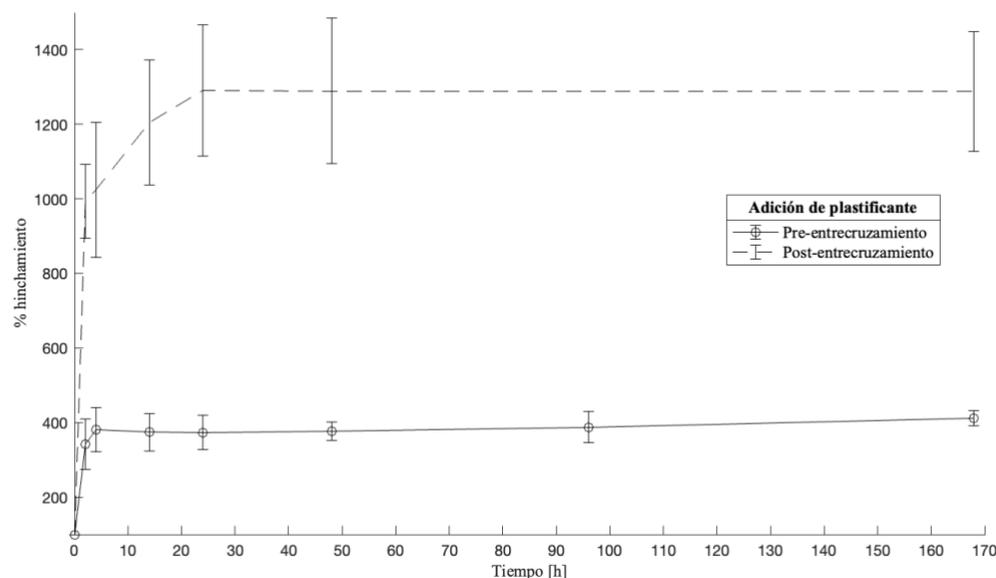


Figura 1. Efecto del protocolo de plastificación en la estabilidad de los parches en condiciones fisiológicas. Curva de hinchamiento de parches con dos tipos de adición de plastificante (glicerina 5%), con una relación quitosano/pectina 50:50.

Una forma de evaluar el comportamiento de hidrogeles es su estabilidad y para ello se utilizan curvas de hinchamiento como la figura 1, en donde la variable independiente es el tiempo (eje x) que en este experimento varió de 0 a 166 horas. En este rango de tiempo se evaluó el cambio en la masa del hidrogel debido al ingreso de PBS a la matriz obteniendo así un porcentaje de hinchamiento (eje y). En la figura 1, se observa la comparación entre dos protocolos utilizados para la plastificación de parches en donde uno de ellos se añadió el plastificante previo al entrecruzamiento en el buffer, mientras que el segundo fue después del entrecruzamiento en un proceso de rehidratación. A partir de ello, se evidencia que el protocolo de adición pre-entrecruzamiento posee menor grado de hinchamiento, con un valor final de alrededor de 400%, comparado con 1250% para la adición post-entrecruzamiento. Esta diferencia es estadística según la prueba ANOVA y

comparación de Tukey realizado con un nivel de confianza de 95% (Anexo A.1). En cuanto a la desintegración, en el medio de hinchamiento de ambas formulaciones se distingue mayor turbidez a mayor tiempo de incubación correspondiente a restos de los parches. Sin embargo, la curva más estable es la que posee menor hinchamiento, y muestra desviaciones menores. Asimismo, a partir del análisis estadístico se revela que el hinchamiento se estabiliza a las 24 horas.

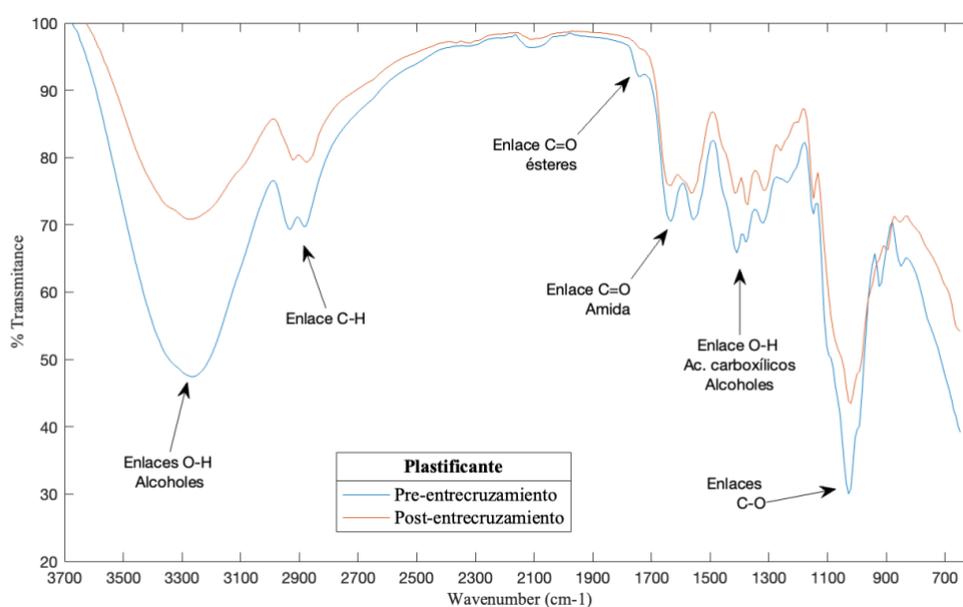


Figura 2. Espectros FTIR de parches con dos tipos de adición de plastificante (glicerina 5%), con una relación quitosano/pectina 50:50.

En la figura 2, se evaluaron dos muestras correspondientes a dos protocolos utilizados para la plastificación de parches: pre-entrecruzamiento en el buffer, y post-entrecruzamiento en un proceso de rehidratación. De esta manera, se exhibe que en ambos protocolos aparecen los mismos picos característicos, correspondientes a la formación de enlaces como: C-O (1028 cm⁻¹), O-H de ácidos carboxílicos y alcoholes (1480 cm⁻¹), C=O de amida primaria (1640 cm⁻¹), N-H de amida secundaria (1550 cm⁻¹), y enlace O-H de

alcoholes (3272 cm^{-1}). Existen dos diferencias evidentes entre los dos protocolos de formación: la primera, la presencia del enlace C=O correspondiente a ésteres (1750 cm^{-1}) en el parche plastificado en el pre-entrecruzamiento; y la segunda, es visible en el rango de $1640 - 1550\text{ cm}^{-1}$ en donde los picos correspondientes a amidas son más pronunciados y definidos en el protocolo de adición pre-entrecruzamiento. Asimismo, se evidencia un patrón de dos picos unidos en el rango de $2810-2950\text{ cm}^{-1}$ característico del enlace C-H presente en polisacáridos como los tres componentes de los parches: quitosano, pectina y glicerina.

3.2. Caracterización de hidrogeles

3.2.1. Estabilidad en condiciones fisiológicas

En la figura 3, se observa la comparación entre 4 concentraciones de glicerina utilizadas para la plastificación de parches. El plastificante se añadió previo al entrecruzamiento en el buffer debido a los resultados encontrados en el apartado de protocolo de plastificación (3.1). A partir de ello se evidencia una relación inversamente proporcional entre la concentración de plastificante y porcentaje de hinchamiento en todas las relaciones de polímeros utilizadas.

Asimismo, se observa que, para todas las relaciones de quitosano y pectina, las curvas correspondientes a la adición de 5% de glicerina presentan un comportamiento más estable. En cuanto al análisis estadístico se establece con un nivel de confianza de 95% que en la figura 3 existe una diferencia estadística hasta la concentración de 5% de glicerina, sin embargo, entre el 5% y 7.5% de adición de plastificante la diferencia no es significativa (Anexo A.2). Se distingue que la curva se estabiliza a las 24 horas, con cambios

estadísticamente no significativos en el hinchamiento más allá de este tiempo. Es importante mencionar que, a pesar del incremento en la concentración del plastificante, el porcentaje de hinchamiento sigue siendo superior ya que llega hasta 4 veces su peso inicial.

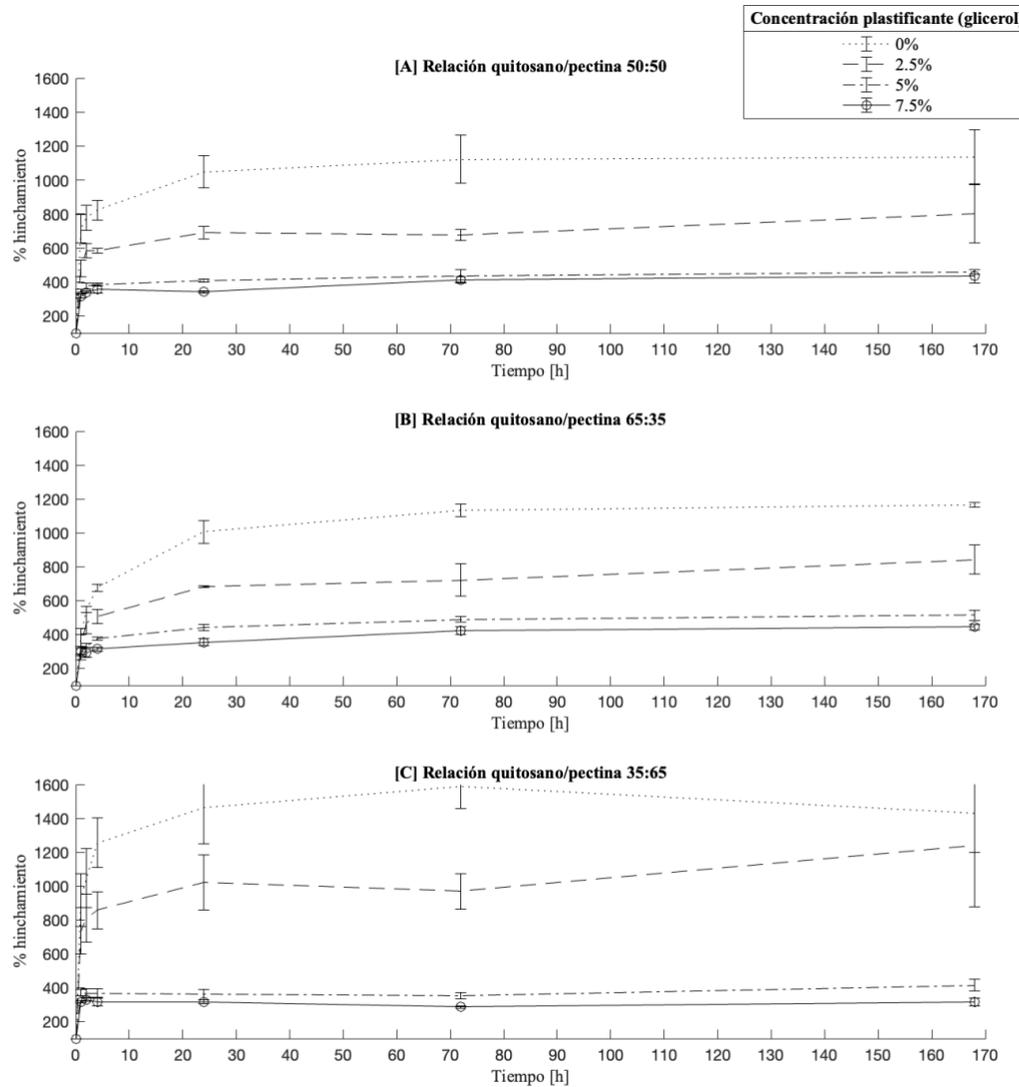


Figura 3. Curva de hinchamiento de parches con diferentes concentraciones de glicerina, y tres relaciones quitosano/pectina. [A] 50:50. [B] 65:35. [C] 35:65.

Finalmente, al comparar las tres figuras, la relación polimérica con mayor hinchamiento cuando la concentración de glicerina es de 0 y 2.5% es la de 35:65 con un porcentaje de hinchamiento final de 1429%. Sin embargo, cuando la concentración de glicerina incrementa a 5 y 7.5 % el mayor hinchamiento se da cuando la relación polimérica es de 65:35 y 50:50. Estadísticamente las relaciones poliméricas de 65:35 y 50:50 son iguales, y la única que difiere es la relación quitosano: pectina 35:65.

Como parte de los experimentos de control se analizó la estabilidad de parches 100% quitosano y 100% pectina (figura 3A), lo cual muestra que para los parches de quitosano existe una diferencia significativa del porcentaje de hinchamiento entre todos los intervalos de tiempo (Anexo 2.3). Es decir que el hinchamiento de la matriz no se estabiliza, y va a continuar hinchándose si se somete a mayor tiempo. Sin embargo, el hinchamiento es significativamente menor comparado a los porcentajes de los parches con diferentes relaciones poliméricas (figura 3). En cuanto a la concentración de glicerina se distingue un comportamiento similar para los parches con quitosano y pectina, en donde las concentraciones de 0 y 2.5 % son estadísticamente iguales, pero diferentes a las concentraciones de 5 y 7.5%.

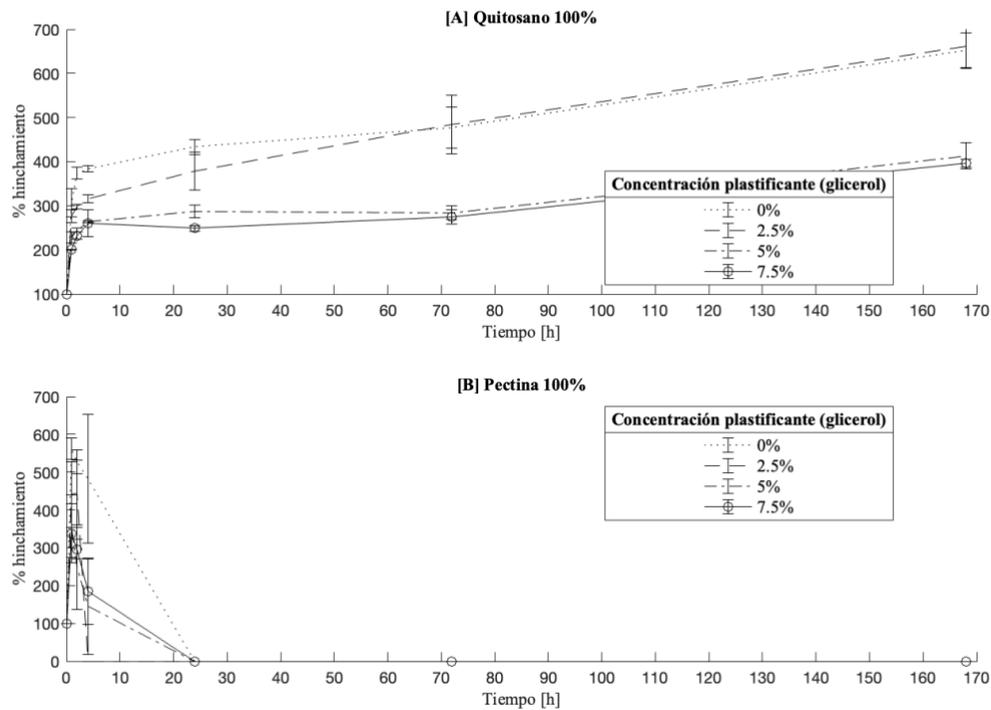


Figura 4. Curvas de hinchamiento de parches control a diferentes concentraciones de glicerina. [A] Pectina. [B] Quitosano.

De forma contraria, los parches control de 100% pectina presentan una estabilidad baja ya que, como se observa en la figura 7B, su máximo hinchamiento se da a entre la primera y segunda hora, pero a las 24 horas se desintegra al 100% en el medio. En cuanto al plastificante en estos parches control existe una diferencia significativa entre todas las concentraciones a excepción de las concentraciones 2.5 y 7.5%. Una diferencia importante respecto a las otras curvas de hinchamiento es que en el caso de los parches de pectina el menor hinchamiento se da cuando la concentración de glicerina es de 5% y no 7.5%, contrario a todos los otros casos en donde la diferencia entre estas concentraciones no es significativa.

Por otro lado, se realizaron otros controles para comprobar la importancia del tratamiento mecánico. En la figura 8 se muestran curvas de hinchamiento para parches con y sin tratamiento mecánico, a su vez se trabajó con tres relaciones y 5% de plastificante. Se decidió analizar únicamente el hinchamiento los parches de 5% de glicerina debido a que estos son los que posiblemente presenten mejor elasticidad. De esta forma, se constata con un nivel de confianza de 95% que existe una diferencia significativa en el hinchamiento en ausencia del tratamiento mecánico el cual es menor para todas las relaciones poliméricas. Es importante mencionar que durante el experimento se evidenció que aquellos parches elaborados sin tratamiento mecánico eran difíciles de desmoldar, por lo que muchos de ellos se rompieron en este proceso.

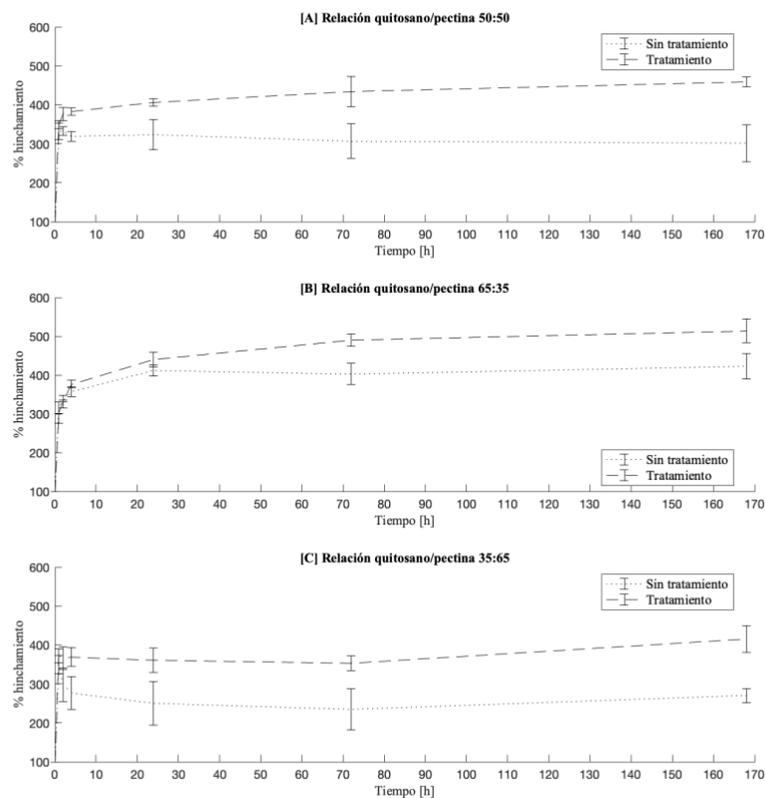


Figura 5. Curva de hinchamiento de parches con diferentes relaciones poliméricas, 5% glicerina, con y sin tratamiento mecánico, a diferentes proporciones.

3.2.2. Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).

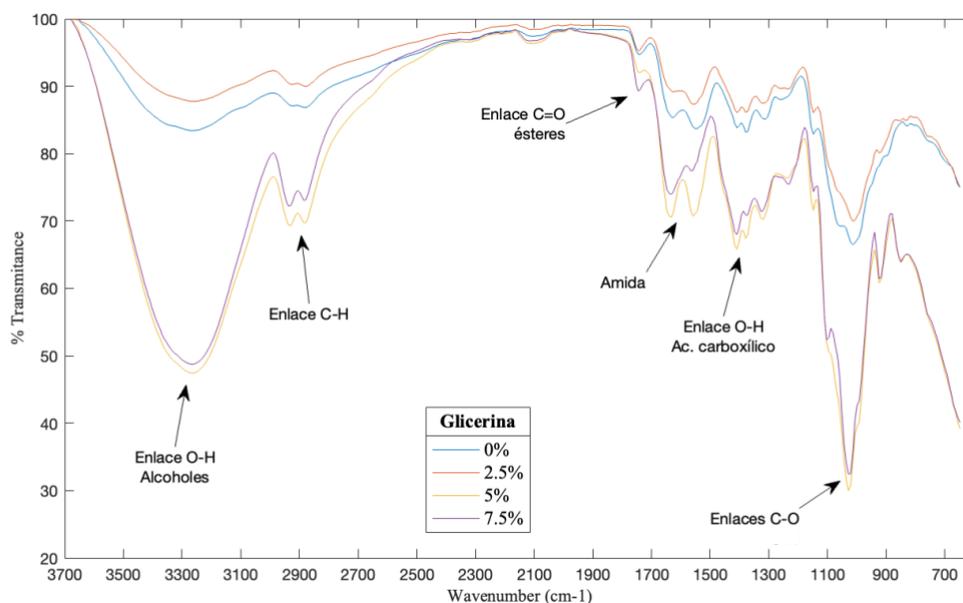


Figura 6. Espectros FT-IR de parches con una relación quitosano: pectina 50:50

En las figuras 6 y 7 se muestran los espectros FT-IR de parches con tres diferentes relaciones poliméricas y cuatro diferentes concentraciones de plastificante, al igual que se realizó en las pruebas de estabilidad. En cuanto a la variación de contenido de glicerina, los espectros FTIR (fig 6) muestran que esta no provoca un cambio en la formación de los parches debido a que en las cuatro concentraciones de plastificante se observan los mismos picos característicos: enlaces C-O (1028 cm^{-1}), enlace O-H de ácidos carboxílicos y alcoholes (1408 cm^{-1}), enlace C=O de amida primarias (1640 cm^{-1}), C-N en 1550 cm^{-1} de amidas secundarias, enlace O-H de alcoholes (3272 cm^{-1}), enlace C=O correspondiente a ésteres (1750 cm^{-1}) y un patrón de dos picos unidos en el rango de $2810\text{-}2950\text{ cm}^{-1}$ característico del enlace C-H. La única diferencia importante se refleja en el número de onda de 1028 cm^{-1} , en donde los parches plastificados con 5 y 7.5% presentan un pico más fuerte y pronunciado respecto a las otras dos concentraciones.

Por otro lado, la figura 7 exhibe la incidencia del cambio en las proporciones poliméricas. Se observa que en todas las relaciones poliméricas aparecen picos en los mismos números de onda correspondientes a los enlaces C-O (1028 cm^{-1}), enlace O-H de ácidos carboxílicos y alcoholes (1408 cm^{-1}), enlace O-H de alcoholes (3272 cm^{-1}), y un patrón de dos picos unidos en el rango de $2810\text{-}2950\text{ cm}^{-1}$ característico del enlace C-H. Sin embargo, existen dos diferencias importantes que se distinguen en el espectro de la relación polimérica 35:65: no presenta los dos picos característicos de las amidas (1640 y 1550 cm^{-1}), sino solo un pico en 1610 cm^{-1} ; y, el pico del enlace C=O correspondiente a ésteres (1750 cm^{-1}) presenta un cambio en su forma, es más pronunciado respecto a las otras proporciones.

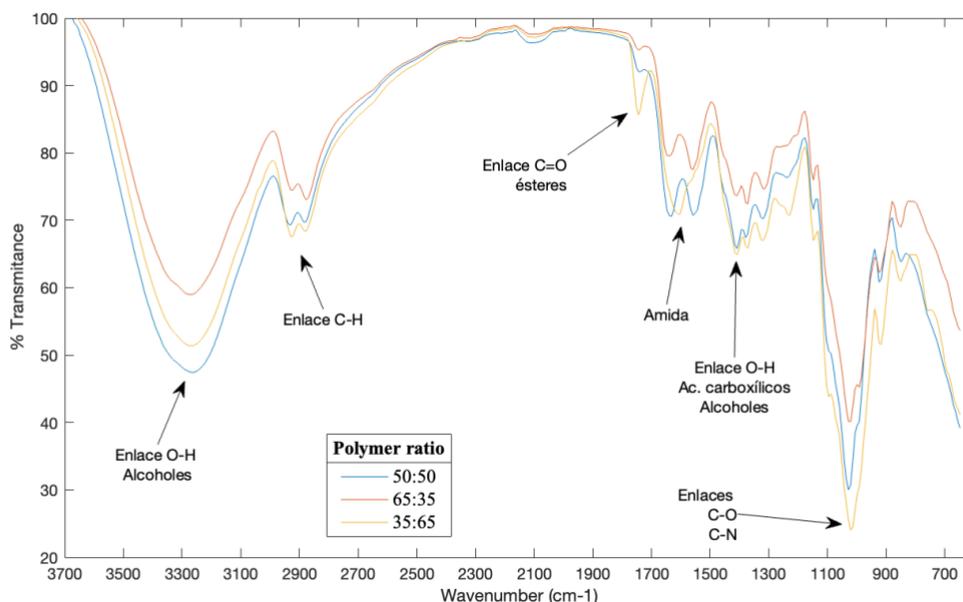


Figura 7. Espectro FT-IR de parches con diferentes relaciones de quitosano/pectina con 5% de glicerina.

3.2.3. Estabilidad térmica

Otra forma de analizar el comportamiento de matrices poliméricas es mediante la evaluación de su estabilidad térmica la cual brinda información sobre las interacciones de los materiales de los parches. En la figura 8, se muestran curvas correspondientes a diferentes concentraciones añadidas de plastificante, a diferentes proporciones de quitosano y pectina. De forma general, en todas las figuras se observa que la pérdida de peso es baja en un rango de temperatura entre 25 y 150 °C; esto es posible comprobarlo al observar la primera derivada del cambio de la masa en función de la temperatura mostrado en la figura 9 en donde en estas temperaturas el pico no es pronunciado. De forma contraria, entre 175 y 300 °C, la pendiente es mayor implicando una degradación térmica de la muestra. De igual forma, esto se vuelve evidente en la figura 9, en donde se distingue que la mayor degradación de la matriz plastificada se da a los 200 °C. Asimismo, el cambio en el porcentaje del peso desde los 350 °C no es pronunciado como en rangos de temperatura previos.

Al analizar la incidencia del cambio en las proporciones de los polímeros usados, la figura 8 muestra que la menor degradación térmica final se da en la relación 50:50 y 65:35. Sin embargo, el patrón de degradación es diferente, ya que para la relación 50:50 (Fig. 10A) la degradación en 250 °C es más pronunciada que en la proporción 65:35 (Fig. 10B).

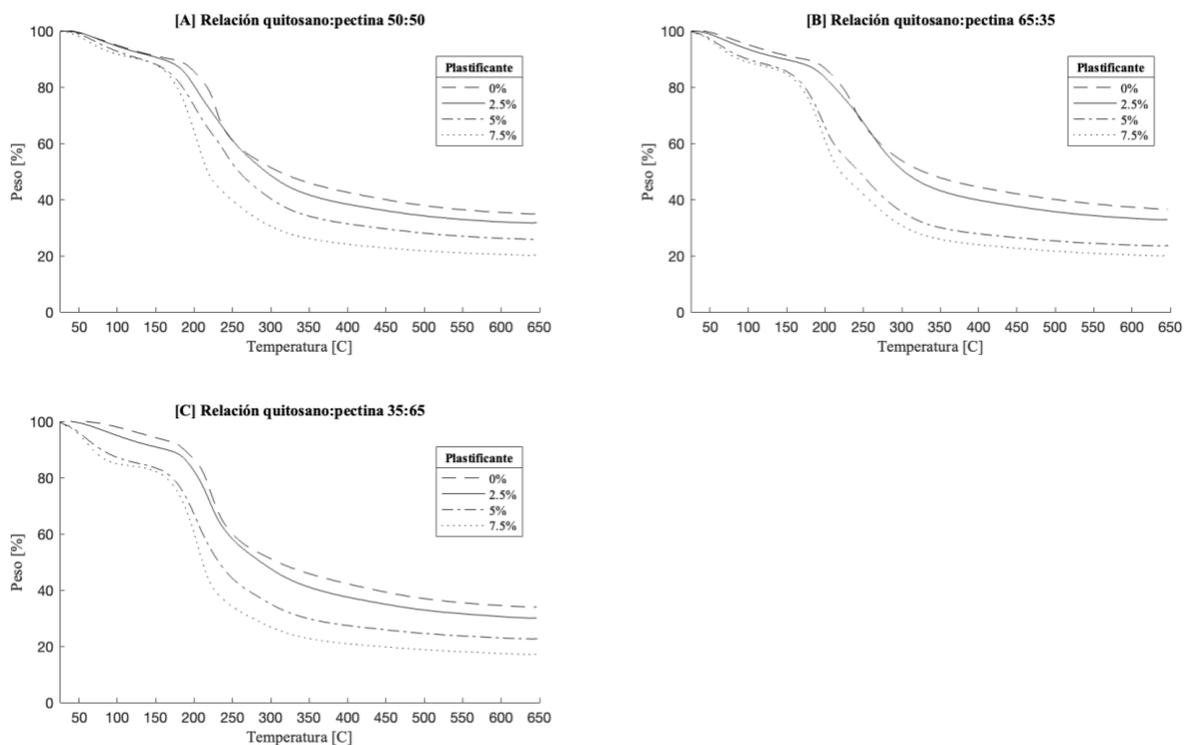


Figura 8. Estabilidad térmica de parches con diferentes concentraciones de glicerina y tres relaciones quitosano/pectina. [A] 50:50. [B] 65:35. [C] 35:65.

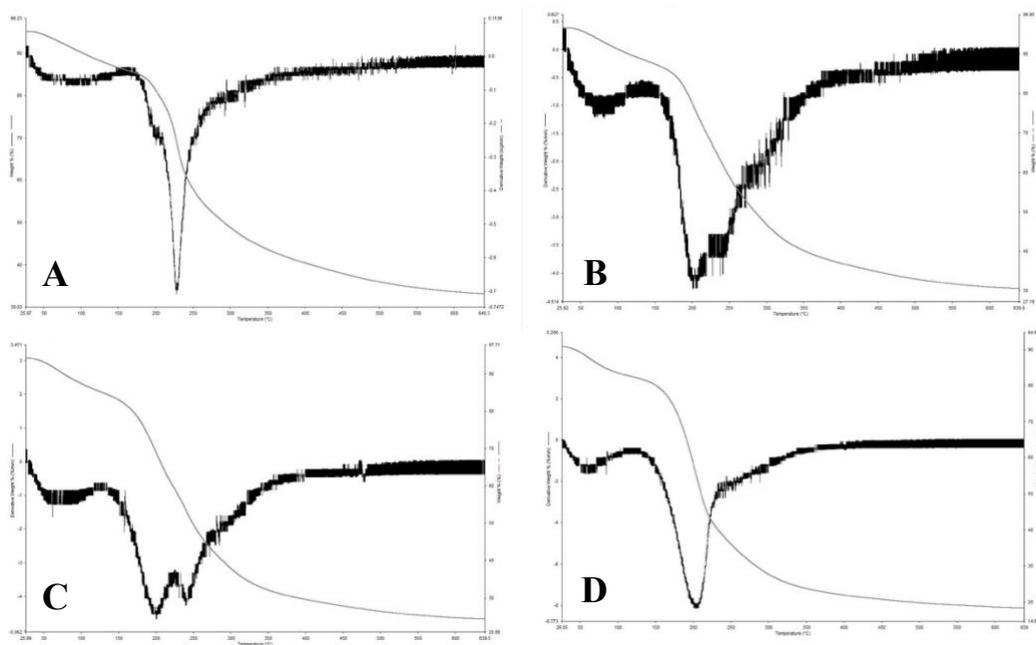


Figura 9. Primera derivada de la estabilidad térmica de parches con una relación quitosano:pectina 50:50 con diferentes concentraciones de glicerina. [A] 0%. [B] 2.5%. [C] 5%. [D] 7.5%.

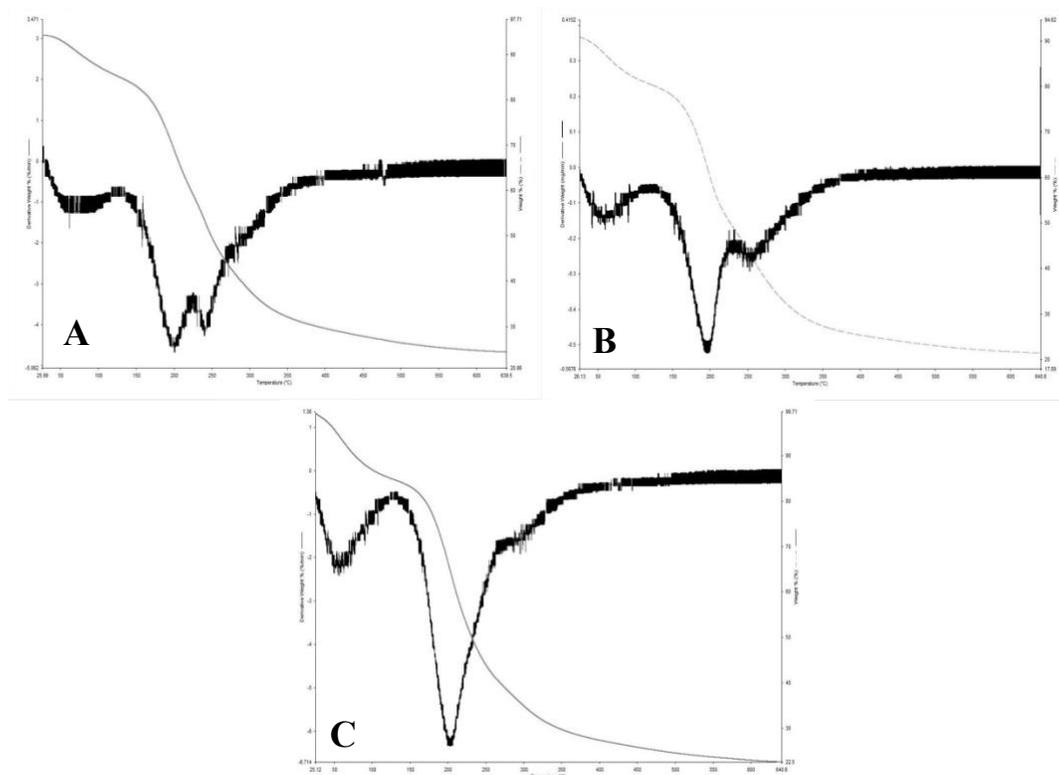


Figura 10. Primera derivada de la estabilidad térmica de parches con una concentración de 5% glicerina, a diferentes proporciones. [A] 50:50. [B] 65:35. [C] 35:65..

La figura 8 muestra que existe una relación directa entre la pérdida de masa y la concentración de plastificante; así, cuando la concentración de glicerina es de 7.5% el parche correspondiente es aquel que posee la mayor pérdida de masa en todo el rango de temperatura. A la temperatura más alta, 600°C, el porcentaje del peso del parche va desde 35% hasta 20% del mismo, en donde el mayor porcentaje corresponde a la menor concentración de glicerina. El cambio de concentración del plastificante presenta cambios en el comportamiento de degradación, especialmente a 5% de glicerina, en donde se muestra la presencia de un doble pico, esto es evidente en las relaciones poliméricas 50:50 y 65:35 (Fig. 10).

3.2.4. Topografía de los parches

La microscopía electrónica de barrido (SEM) permite observar la micro-topografía de la superficie de los materiales. De esta manera, se registraron las imágenes de parches elaborados con 50:50 con las cuatro diferentes concentraciones de glicerina en la figura 16. De forma general, en todas las imágenes se encontraron superficies poco porosas e irregularidades. Se evidencia que existe mayor rugosidad a medida de que se incrementa el contenido del plastificante, esto es distinguible al comparar las formulaciones con 2.5 y 5% de glicerina (Fig. 11B y C). Asimismo, las microscopías muestran que a una concentración baja del plastificante, el material tiende a ordenarse en manera de fibras.

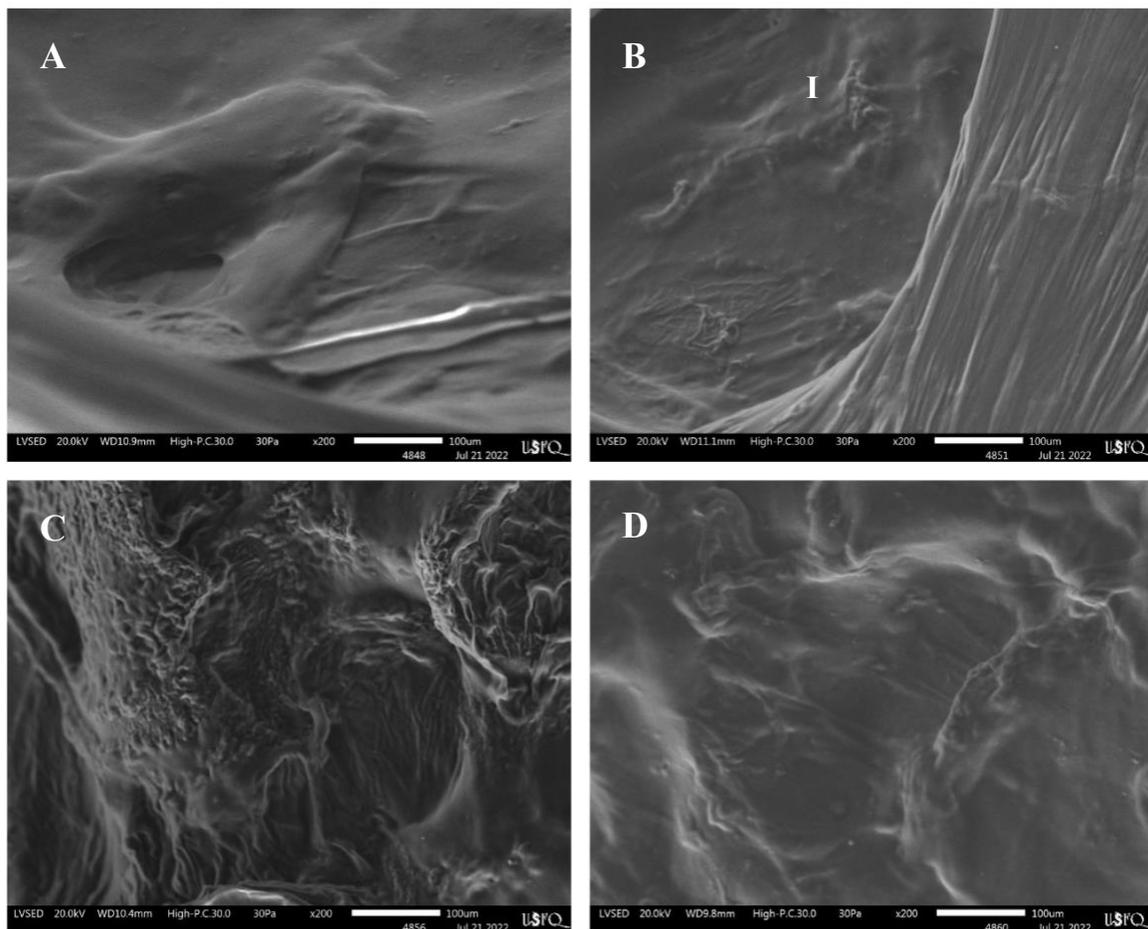


Figura 11. Micrografías electrónicas de barrido de parches con una relación quitosano/pectina de 50:50 con diferentes concentraciones de glicerina. [A] 0% glicerina, aumento de 200x y barra de escala de 100 μm . [B] 2.5% glicerina, aumento de 200x y barra de escala de 100 μm . [C] 5% glicerina, aumento de 200x y barra de escala de 100 μm [D] 7.5% glicerina, aumento de 200x y barra de escala de 100 μm .

3.3. Modelo de liberación de acetaminofén

Los parches, al ser sistemas de liberación de fármacos, deben presentar, idealmente, una liberación estable; eso permite un aprovechamiento más eficiente del fármaco y obtener la administración de dosis más esporádicas, aumentando la conformidad del paciente. Es por esto, importante los perfiles de liberación del fármaco. En este caso, se utilizó acetaminofén como fármaco modelo, en parches con tres relaciones poliméricas y una concentración de plastificante de 5%. Se decidió utilizar esta cantidad debido a que, de acuerdo con las curvas de hinchamiento, a esta concentración de plastificante, las matrices resultaron más estables (figura 3).

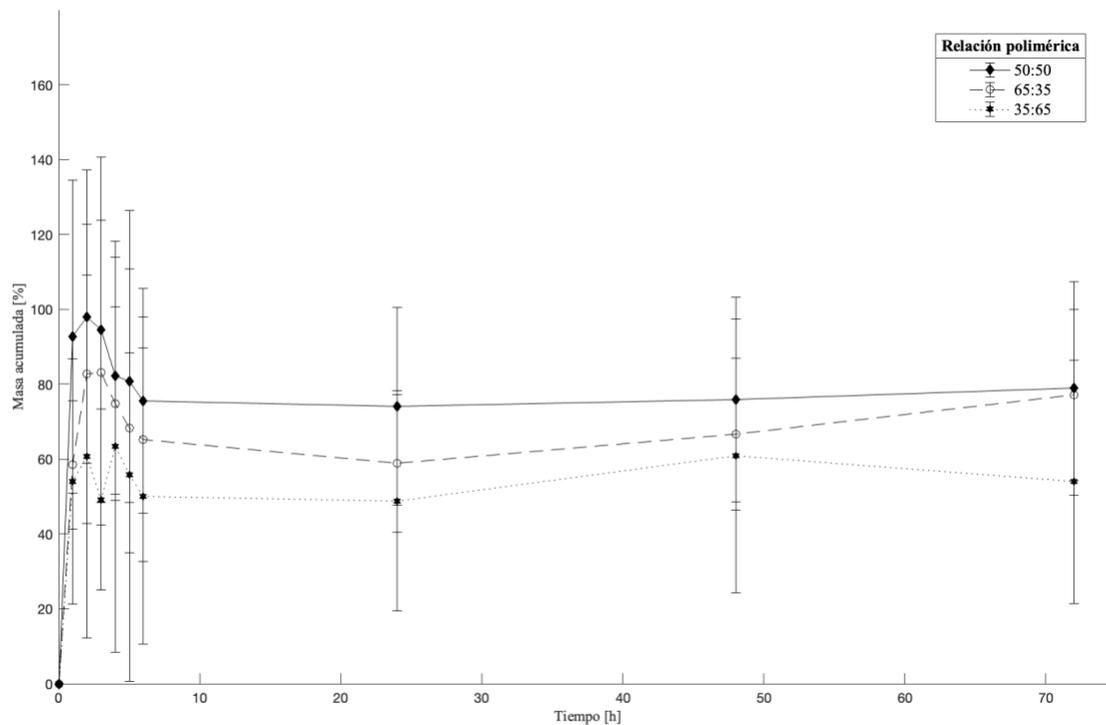


Figura 12. Perfil de liberación de acetaminofén de parches con diferentes relaciones poliméricas y 5% de glicerina.

En la figura 12 se muestran los perfiles de liberación bajo estas condiciones, en un período de 72 horas. De forma general, las curvas presentan un comportamiento inestable ya que se libera la mayoría del fármaco al inicio y luego hay oscilaciones de crecimiento y decrecimiento hasta estabilizarse. Se observa que el mayor porcentaje de masa liberado final se da con la relación polimérica 50:50 y 65:35, pero la primera es la curva más estable. Al comparar el perfil de liberación de las tres relaciones poliméricas se constata una diferencia significativa entre el perfil de liberación de los tres parches. La curva de liberación de 65:35 y 50:50 poseen un patrón similar. Por el contrario, la curva correspondiente a la relación 35:65 presenta dos picos a la segunda y cuarta hora por lo que estos parches resultan más inestables para la liberación de acetaminofén.

4. DISCUSIÓN

Debido a la importancia de desarrollar sistemas de administración de fármacos eficientes para el tratamiento de enfermedades que requieren una constante ingesta de fármacos y en la que los pacientes cuentan con un acceso limitado a hospitales y/o centros de salud, el presente trabajo elaboró y caracterizó parches a base de mecanogeles de quitosano y pectina plastificados con glicerina como potenciales matrices de encapsulación y administración controlada de fármacos. Estos parches se basaron en el desarrollo previo, dentro del grupo de investigación, de hidrogeles de quitosano y pectina con un entrecruzamiento mediado por mecanismos de mecano-química, llamados en este trabajo como mecanogeles [26].

El primer paso para lograr el desarrollo de estos nuevos parches fue definir un protocolo para plastificar los mecanogeles, con la finalidad de conferirles elasticidad que facilite su uso tópico. De esta manera, al evaluar la estabilidad y espectros FTIR de los parches de los protocolos de adición de plastificante pre y post entrecruzamiento, existe un indicio de que, al realizar la plastificación por rehidratación (post entrecruzamiento), la concentración de glicerina que ingresa en los mecanoleges es menor. Esto se debe a que el gel ya se encuentra formado, y el flujo de glicerina experimenta resistencia para difundirse en la matriz polimérica dependiendo del coeficiente de difusión de la glicerina, temperatura del medio y tiempo de interacción con el material.

En los resultados se distingue que existe un menor hinchamiento cuando el mecanogel es plastificado pre-entrecruzamiento; esto podría deberse a una mayor concentración de glicerina con respecto a la plastificación durante re-hidratación. En 2017, Marcilla y Beltran [31] mencionaron que existen tres diferentes teorías que describen posibles mecanismos de plastificación: teoría de lubricante, teoría de gel, y teoría mecánica. La primera teoría propone que el plastificante llena los espacios vacíos entre los planos libres de las cadenas poliméricas y permite que estas se deslizen cuando exista contacto en lugar de generar fricción que desencadene en una ruptura; es así que el plastificante actúa como lubricante. Este proceso de adición de plastificante tiene incidencia en la acción del solvente (medio en donde se encuentra el parche) y lubricación de la matriz polimérica. Los resultados de estos cambios dependerán de las polaridades del plastificante y polímeros.

Asimismo, esta teoría explica que, cuando los enlaces poliméricos están holgados, va a existir mayor hinchamiento, mientras que, si los enlaces polímero-polímero se encuentran debilitados, el hinchamiento es bajo. Esto podría explicar el cambio en el hinchamiento en los dos protocolos. En la adición post entrecruzamiento al existir menor cantidad de

glicerina hay mayor hinchamiento ya que hay una menor incidencia en el cambio de la acción del solvente, el PBS ingresa con mayor facilidad por la menor concentración de glicerina que implica mayor espacio libre entre las cadenas poliméricas. Por otro lado, en la adición pre-entrecruzamiento al existir mayor glicerina el PBS posee mayor resistencia al ingresar por el espacio que ocupa la glicerina. La glicerina forma puentes de hidrógeno con el quitosano y pectina debido a su naturaleza hidrofílica que le permite ocupar fácilmente el espacio libre entre los polímeros. Esto es congruente con lo estudiado por Verhoeck quien al medir las presiones de vapor de diferentes plastificantes demostró que la presencia de este tipo de compuestos disminuye la retención del solvente en la matriz polimérica [31].

El segundo mecanismo se explica por la teoría de gel en donde se plantea que el plastificante reduce el número relativo de enlaces entre polímero-polímero con lo cual genera estructuras menos ordenadas y disminuye la rigidez del material. Esta teoría es similar a la previamente mencionada; la presencia del plastificante rompe y disminuye los enlaces entre polímeros pero a su vez incrementa los enlaces de interacción con lo cual se justifica que haya menos espacio para el ingreso del solvente. La disminución de los enlaces polímero-polímero se evidencia en los espectros FT-IR (Fig. 2) en donde no hay presencia de grupos COO^- (1720 cm^{-1}), y enlaces $\text{COOH} / \text{COOCH}_3$ (1601 cm^{-1}) correspondientes a la pectina (Anexo 10). Por el contrario, se observan interacciones intramoleculares como el pico ancho y fuerte en 3281 cm^{-1} correspondiente a grupos OH que posiblemente resultan de la interacción del plastificante con las cadenas poliméricas de quitosano y pectina formando puentes de hidrógeno [32].

Por otro lado, únicamente en el espectro de la adición pre-entrecruzamiento, se distinguen enlaces $\text{C}=\text{O}$ (1750 cm^{-1}) que sugieren la formación de ésteres debido a la interacción entre la pectina con el quitosano y, especialmente la glicerina que se encuentra

en mayor concentración. Asimismo, se sugiere que en presencia de mayor concentración de glicerina, protocolo de entrecruzamiento, la formación de amidas es mayor. Esto es posible concluir debido a que hay cambios en la forma de los picos correspondientes a las amidas ($1640 - 1550 \text{ cm}^{-1}$) entre ambos protocolos. La mayor presencia de amidas en el parche plastificado en el pre-entrecruzamiento puede deberse a que el quitosano al competir con la glicerina para atacar la pectina, pierde, por lo que los enlaces amidas se mantienen en lugar de contribuir en la formación de ésteres con la pectina.

Es importante mencionar que la presencia del pico correspondiente al enlace $\text{C}=\text{O}$ de ésteres (1750 cm^{-1}) implica que el mecanismo por el cuál se entrecruza la pectina y el quitosano es, en efecto, el que menciona Terán [33] y se muestra en la figura 13 en donde se forma un enlace $\text{C}=\text{O}$ entre la pectina y el quitosano.

A partir de lo antes mencionado, y considerando que el objetivo es plastificar el mecanogel se escogió el protocolo en donde hay mayor incidencia de la glicerina que es en la adición pre-entrecruzamiento. Se determinó la concentración adecuada de quitosano, pectina y glicerina para la mejor relación entre estabilidad y formación del parche mediante diferentes pruebas.

El primer test realizado fue la estabilidad en condiciones fisiológicas en donde se distingue que, a mayor concentración de glicerina, disminuye el porcentaje de hinchamiento, al igual que en el análisis de selección de protocolos de plastificación. El cambio en el hinchamiento es significativo hasta el 5% de glicerina lo cual tiene sentido al observar los espectros FTIR de las diferentes relaciones poliméricas en donde se evidencia que existe un cambio importante en el número de onda de 1028 cm^{-1} en las concentraciones 5-7.5% en donde el pico es más pronunciado y con menor ancho de banda. Esto es congruente con la teoría de lubricante en donde, en presencia de menor cantidad de

glicerina, hay mayor hinchamiento debido a la menor cantidad de interacciones entre los polímeros y el plastificante; esto disminuye la resistencia del solvente para ingresar a la matriz polimérica.

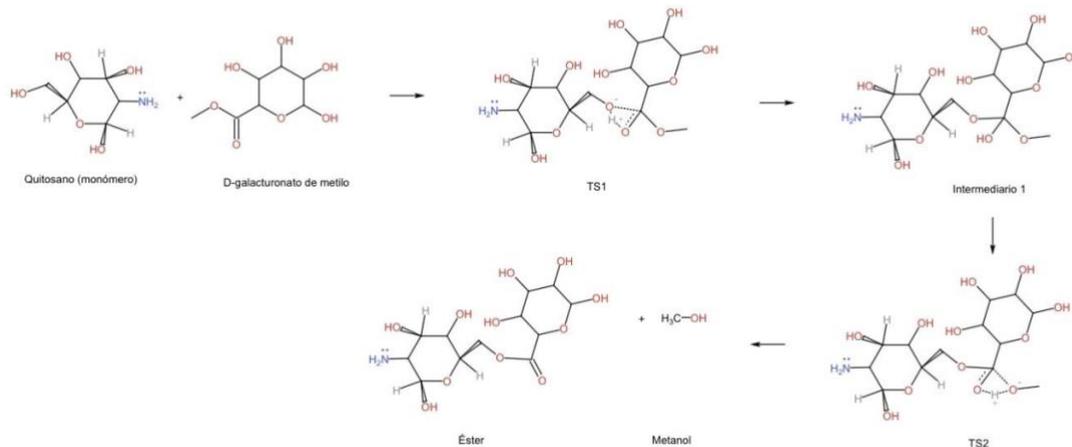


Figura 13. Mecanismo de reacción entre el quitosano y la pectina (d-galacturonato de metilo)

Tomada de “Estudio computacional de los mecanismos entrecruzamiento en los sistemas quitosano-almidón y quitosano-pectina.” Por S. Terán Barros, 2020, Quito. Available: <http://bit.ly/COPETheses> [33].

Este incremento en glicerina, y con ello, la formación de enlaces (C=O, O-H y C-O) entre los polímeros y plastificante resulta en lo esperado respecto a los postulados establecidos en la teoría de lubricante y gel en donde la presencia del plastificante genera estructuras desordenadas que disminuyen el espacio disponible y con ello hay menor hinchamiento. Asimismo, este desordenamiento que experimentan las matrices poliméricas se muestra en las microscopías obtenidas por SEM en donde hay mayor irregularidad en las formulaciones de parches con 5 y 7.5% de plastificante.

En cuanto a las diferentes relaciones poliméricas, los parches elaborados con 35:65 muestran una diferencia significativa en el hinchamiento respecto a las otras dos relaciones. Este fenómeno se puede explicar con el cambio en la forma del pico del enlace C=O en donde al ser más pronunciado sugiere una mayor formación de enlaces ésteres producto del incremento de la interacción de la pectina con el quitosano. Esto a su vez incide en la desaparición de los dos picos representantes de las amidas en 1640 y 1550 cm^{-1} , y la presencia del pico en 1610 cm^{-1} .

Otra prueba para determinar la mejor relación polimérica y concentración de plastificante es el análisis termogravimétrico que analiza la velocidad de degradación de los parches a diferentes temperaturas. De forma general se evidenciaron dos etapas de pérdida de peso: la primera, entre 30 – 175 °C en donde la pérdida no es pronunciada y puede deberse a la descomposición de compuestos de bajo peso molecular y alta volatilidad como la glicerina y el agua [34]; la segunda, y más pronunciada se debe a compuestos más complejos como la descomposición de las unidades desacetiladas del quitosano [35]. Este comportamiento es adecuado ya que a temperaturas menores a 50°C no hay una degradación pronunciada, lo cual es compatible con el uso de los parches que se dará a temperatura corporal de 30-37 °C.

Las diferentes concentraciones de plastificante generaron una diferencia, en donde a mayor concentración de glicerina, mayor descomposición, hecho que se explica con el incremento de compuestos volátiles y de bajo peso molecular. Este comportamiento es similar al encontrado por Ma et al. [35] en donde se añadieron diferentes plastificantes y estos aumentaron el porcentaje de degradación de parches de quitosano. Debido a los resultados previamente discutidos, se decidió escoger la concentración de plastificante de

5% para evaluar el perfil de liberación del acetaminofén en las tres diferentes relaciones poliméricas.

Finalmente, el perfil de liberación exhibe una alta irregularidad en las primeras 6 horas en donde hay oscilaciones en la masa liberada. Esto puede deberse a la inestabilidad del parche en el medio, en el estudio realizado por Čierna et al. en 2022 [36] se evidencia que cuando se coloca una matriz de gelatina que limita el movimiento de las partículas cargadas con el fármaco, las oscilaciones disminuyen. En este caso, se especula que hubo una perturbación en la matriz debido al proceso de homogenización antes de tomar la alícuota para el análisis del fármaco liberado. Esto causa que el transporte de masa se vea afectado en el sitio en donde se realiza la homogenización e incrementa solo en ciertas zonas. Además, las imágenes SEM reflejan que la rugosidad de los hidrogeles es alta debido a la adición del plastificante por lo cual, con la perturbación del medio, la variabilidad de la concentración del fármaco incrementa. De igual forma, esto es evidente en las primeras 6 horas ya que según las pruebas de hinchamiento la estabilización se llega en las primeras 24 horas.

En cuanto, a la diferencia de relaciones poliméricas se evidencia que aquella con mayor estabilidad es la de 50:50 quitosano: pectina, lo cual es congruente con las gráficas de hinchamiento (figura 3). Asimismo, el estudio ‘Elaboración de hidrogeles en base al entrecruzamiento entre pectina extraída de 3 frutas y quitosano para la liberación controlada de una proteína modelo’ [26] exhibe que los mecanogeles con mayor porcentaje de liberación son aquellos que poseen un mayor porcentaje de hinchamiento. Esto coincide con los resultados del presente estudio ya que se evidencia que la proporción 50:50 exhibe el porcentaje hinchamiento más alto al igual que el porcentaje acumulado de masa.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se elaboraron parches a base de mecanogeles de quitosano y pectina plastificados con glicerina con potencial encapsulación y administración transdermal de fármacos. De esta manera se aportó al desarrollo de mecanismos de liberación de fármacos con nuevos materiales biocompatibles y biodegradables. Asimismo, es un avance hacia la generación de soluciones a la falta de acceso a la salud en zonas rurales que son altamente vulnerables a fallecer por falta de tratamientos eficaces.

De esta manera se estableció un protocolo de plastificación mediante la adición de la glicerina en el buffer en un proceso previo al entrecruzamiento. Asimismo, se logró encontrar la concentración adecuada de quitosano, pectina y glicerina para la mejor relación entre estabilidad y formación del parche que es 50:50 quitosano: pectina con 5% de glicerina como plastificante. Finalmente, se encontró que la liberación de acetaminofén fue alta en las primeras horas y se mantuvo constante a partir de las 24 horas, sin embargo, existe oscilaciones hasta estabilizarse.

Es así que se comprueba la viabilidad de elaborar parches a base de biopolímeros que ayudan a combatir el problema de desecho plásticos en el medioambiente. Asimismo, este estudio presenta un potencial protocolo para plastificar hidrogeles de diferentes polímeros, diferentes a la pectina y quitosano. Sin embargo, se debe optimizar el proceso de administración de fármacos para que la dosis sea la ideal para el paciente.

Como recomendaciones se propone realizar pruebas mecánicas con el fin de evaluar el incremento de elasticidad que se espera según las teorías sobre los mecanismos de plastificación. En cuanto a la encapsulación de fármacos se recomienda trabajar con otros fármacos más específicos como la anfotericina que además al ser de naturaleza hidrofóbica

se requiere establecer un nuevo protocolo de encapsulación. Finalmente, se sugiere evitar movimiento y perturbaciones en el medio líquido al realizar el experimento del perfil de liberación con el fin de evitar las oscilaciones en el tiempo inicial.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] J. Ma, Y. Wang, and R. Lu, “Mechanism and Application of Chitosan and Its Derivatives in Promoting Permeation in Transdermal Drug Delivery Systems: A Review,” *Pharmaceuticals*, vol. 15, no. 4, Apr. 2022, doi: 10.3390/PH15040459.
- [2] O. A. al Hanbali, H. M. S. Khan, M. Sarfraz, M. Arafat, S. Ijaz, and A. Hameed, “Transdermal patches: Design and current approaches to painless drug delivery,” *Acta Pharmaceutica*, vol. 69, no. 2. Sciendo, pp. 197–215, Jun. 01, 2019. doi: 10.2478/acph-2019-0016.
- [3] M. N. Pastore, Y. N. Kalia, M. Horstmann, and M. S. Roberts, “Transdermal patches: history, development and pharmacology,” *Br J Pharmacol*, vol. 172, no. 9, p. 2179, Jan. 2015, doi: 10.1111/BPH.13059.
- [4] M. Isaac and C. Holvey, “Transdermal patches: the emerging mode of drug delivery system in psychiatry,” *Ther Adv Psychopharmacol*, vol. 2, no. 6, p. 255, 2012, doi: 10.1177/2045125312458311.
- [5] D. P. Eiras, L. A. Kirkman, and H. W. Murray, “Cutaneous Leishmaniasis: Current Treatment Practices in the USA for Returning Travelers,” *Curr Treat Options Infect Dis*, vol. 7, no. 1, p. 52, Mar. 2015, doi: 10.1007/S40506-015-0038-4.
- [6] A. Przeklasa-Muszyńska and J. Dobrogowski, “Transdermal buprenorphine in the treatment of cancer and non-cancer pain - the results of multicenter studies in Poland,” *Pharmacol Rep*, vol. 63, no. 4, pp. 935–948, 2011, doi: 10.1016/S1734-1140(11)70609-0.

- [7] F. Alexandrino-Junior *et al.*, “A functional wound dressing as a potential treatment for cutaneous leishmaniasis,” *Pharmaceutics*, vol. 11, no. 5, May 2019, doi: 10.3390/PHARMACEUTICS11050200.
- [8] M. P. Hashmi and T. M. Koester, “Applications of Synthetically Produced Materials in Clinical Medicine,” *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*, 2018, doi: 10.1016/B978-0-12-803581-8.10258-9.
- [9] T. Atugoda *et al.*, “Nanoplastic occurrence, transformation and toxicity: a review,” *Environmental Chemistry Letters 2022*, vol. 1, pp. 1–19, Aug. 2022, doi: 10.1007/S10311-022-01479-W.
- [10] S. Mondellini, M. Schott, M. G. J. Löder, S. Agarwal, A. Greiner, and C. Laforsch, “Beyond microplastics: Water soluble synthetic polymers exert sublethal adverse effects in the freshwater cladoceran *Daphnia magna*,” *Science of The Total Environment*, vol. 847, p. 157608, Nov. 2022, doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2022.157608.
- [11] C. Rolsky and V. Kelkar, “Degradation of polyvinyl alcohol in us wastewater treatment plants and subsequent nationwide emission estimate,” *Int J Environ Res Public Health*, vol. 18, no. 11, Jun. 2021, doi: 10.3390/IJERPH18116027/S1.
- [12] N. Evode, S. A. Qamar, M. Bilal, D. Barceló, and H. M. N. Iqbal, “Plastic waste and its management strategies for environmental sustainability,” *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, vol. 4, p. 100142, Dec. 2021, doi: 10.1016/J.CSCEE.2021.100142.
- [13] R. Singh, S. Gautam, B. Sharma, P. Jain, and K. D. Chauhan, “Biopolymers and their classifications,” *Biopolymers and their Industrial Applications*, pp. 21–44, Jan. 2021, doi: 10.1016/B978-0-12-819240-5.00002-X.

- [14] K. M. Pawelec, A. A. White, and S. M. Best, “Properties and characterization of bone repair materials,” *Bone Repair Biomaterials*, pp. 65–102, Jan. 2019, doi: 10.1016/B978-0-08-102451-5.00004-4.
- [15] P. P. D. Kondiah *et al.*, “Nanotechnological paradigms for neurodegenerative disease interventions,” *Advanced 3D-Printed Systems and Nanosystems for Drug Delivery and Tissue Engineering*, pp. 277–292, Jan. 2020, doi: 10.1016/B978-0-12-818471-4.00010-8.
- [16] Q. Duan, Y. Chen, L. Yu, and F. Xie, “Chitosan–Gelatin Films: Plasticizers/Nanofillers Affect Chain Interactions and Material Properties in Different Ways,” *Polymers 2022, Vol. 14, Page 3797*, vol. 14, no. 18, p. 3797, Sep. 2022, doi: 10.3390/POLYM14183797.
- [17] G. Crini, “Historical review on chitin and chitosan biopolymers,” *Environmental Chemistry Letters 2019 17:4*, vol. 17, no. 4, pp. 1623–1643, Jul. 2019, doi: 10.1007/S10311-019-00901-0.
- [18] D. Mudgil, “The Interaction Between Insoluble and Soluble Fiber,” *Dietary Fiber for the Prevention of Cardiovascular Disease: Fiber’s Interaction between Gut Microflora, Sugar Metabolism, Weight Control and Cardiovascular Health*, pp. 35–59, Jan. 2017, doi: 10.1016/B978-0-12-805130-6.00003-3.
- [19] SigmaAldrich, “Chitosan medium molecular weight 9012-76-4,” 2022. <https://www.sigmaaldrich.com/EC/es/product/aldrich/448877> (accessed Sep. 24, 2022).
- [20] Research and Markets, *Chitosan Market Size, Share & Trends Analysis Report by Application (Pharmaceutical & Biomedical, Water Treatment, Cosmetics, Food & Beverage), by Region (APAC, North America, Europe, MEA), and Segment*

Forecasts, 2020 - 2027, 1st ed. 2020. Accessed: Sep. 25, 2022. [Online]. Available: <https://www.researchandmarkets.com/reports/4076513/chitosan-market-size-share-and-trends-analysis#product--related-products>

- [21] “Polyvinyl Alcohol (PVA) Market: Global Industry Trends, Share, Size, Growth, Opportunity and Forecast 2022-2027.”

<https://www.researchandmarkets.com/reports/5656355/polyvinyl-alcohol-pva-market-global-industry#src-pos-3> (accessed Sep. 25, 2022).

- [22] María Maldonado, “Formación de hidrogeles con alcohol polivinílico oxidado y quitosano con posible aplicación en la liberación controlada de fármacos,” 2020.

Accessed: Sep. 17, 2022. [Online]. Available:

<https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/9241/1/130415.pdf>

- [23] X. Lin, S. Chen, R. Wang, C. Li, and L. Wang, “Fabrication, characterization and biological properties of pectin and/or chitosan-based films incorporated with noni (*Morinda citrifolia*) fruit extract,” *Food Hydrocoll*, vol. 134, p. 108025, Jan. 2023, doi: 10.1016/J.FOODHYD.2022.108025.

- [24] S. N. Ayyubi, A. Purbasari, and Kusmiyati, “The effect of composition on mechanical properties of biodegradable plastic based on chitosan/cassava starch/PVA/crude glycerol: Optimization of the composition using Box Behnken Design,” *Mater Today Proc*, vol. 63, pp. S78–S83, Jan. 2022, doi: 10.1016/J.MATPR.2022.01.294.

- [25] F. v. Vityazev *et al.*, “Pectin–glycerol gel beads: Preparation, characterization and swelling behaviour,” *Carbohydr Polym*, vol. 238, p. 116166, Jun. 2020, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2020.116166.

- [26] A. Stacey Borja, “Elaboración de hidrogeles en base al entrecruzamiento entre pectina extraída de 3 frutas y quitosano para la liberación controlada de una proteína modelo,” Quito, 2019.
- [27] R. K. Kankala, S. bin Wang, A. Z. Chen, and Y. S. Zhang, “Self-Assembled Nanogels: From Particles to Scaffolds and Membranes,” *Handbook of Nanomaterials for Cancer Theranostics*, pp. 33–62, Jan. 2018, doi: 10.1016/B978-0-12-813339-2.00002-5.
- [28] G. S. Patience and P. A. Patience, “Temperature,” *Experimental Methods and Instrumentation for Chemical Engineers*, pp. 159–199, Jan. 1990, doi: 10.1016/B978-0-44-463782-6.00006-9.
- [29] A. G. Rusu, M. I. Popa, G. Lisa, and L. Vereștiuc, “Thermal behavior of hydrophobically modified hydrogels using TGA/FTIR/MS analysis technique,” *Thermochim Acta*, vol. 613, no. 1, pp. 28–40, 2015, doi: 10.1016/J.TCA.2015.05.018.
- [30] C. Garrido Gutiérrez, “Extracción y modificación de pectina para la formación de hidrogeles con potencial para la administración controlada de fármacos,” Quito, 2017.
- [31] A. Marcilla and M. Beltrán, “MECHANISMS OF PLASTICIZERS ACTION,” *Handbook of Plasticizers: Third Edition*, pp. 119–134, Jan. 2017, doi: 10.1016/B978-1-895198-97-3.50007-X.
- [32] J. J. Cedillo-Portillo, A. O. Castañeda-Facio, S. C. Esparza-González, and A. Sáenz-Galindo, “Estudio del entrecruzamiento de películas a base de quitosano con glicerina y la integración de nanotubos de carbono de pared múltiple,” *Afinidad*.

Journal of Chemical Engineering Theoretical and Applied Chemistry, vol. 77, no. 590, Jul. 2020, doi: 10.1038/NATURE.2012.9872.

- [33] S. Terán Barros, “Estudio computacional de los mecanismos entrecruzamiento en los sistemas quitosano-almidón y quitosano-pectina. .,” USFQ, Quito, 2020. Accessed: Dec. 05, 2022. [Online]. Available: <http://bit.ly/COPETheses>.
- [34] A. Y. Guadarrama-Lezama, J. Castaño, G. Velázquez, H. Carrillo-Navas, and J. Alvarez-Ramírez, “Effect of nopal mucilage addition on physical, barrier and mechanical properties of citric pectin-based films,” *J Food Sci Technol*, vol. 55, no. 9, p. 3739, Sep. 2018, doi: 10.1007/S13197-018-3304-X.
- [35] X. Ma, C. Qiao, X. Wang, J. Yao, and J. Xu, “Structural characterization and properties of polyols plasticized chitosan films,” *Int J Biol Macromol*, vol. 135, pp. 240–245, Aug. 2019, doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2019.05.158.
- [36] M. Čierna, P. Mučaji, M. Špaglová, M. Čuchorová, and O. Macho, “Chitosan and Sodium Alginate Implementation as Pharmaceutical Excipients in Multiple-Unit Particulate Systems,” *Polymers (Basel)*, vol. 14, no. 14, Jul. 2022, doi: 10.3390/polym14142822.
- [37] M. Danish, T. Umer Rashid, C. J. Mai Sci, M. Waseem Mumtaz, M. Fakhar, and U. Rashid, “Response Surface Methodology: An Imperative Tool for the Optimized Purification of the Residual Glycerol from Biodiesel Production Process,” 2016. [Online]. Available: <http://epg.science.cmu.ac.th/ejournal/>

7. ANEXO A: ANOVA Y COMPARACIÓN DE TUKEY

Anexo A.1. Hinchamiento para dos protocolos de adición de plastificante a diferente tiempo.

Método de Tukey y una confianza de 95% para diferentes tiempos

Tiempo	N	Media	Agrupación	
168	8	849.750	A	
48	8	832.500	A	
24	8	832.000	A	
4	8	702.000	A	
2	8	668.125	A	
0	8	100.000		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Método de Tukey y una confianza de 95% para diferentes protocolos

Protocolo	N	Media	Agrupación	
2	24	997.500	A	
1	24	330.625		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

- 1 Pre-entrecruzamiento
- 2 Post-entrecruzamiento

Anexo A.2. Hinchamiento para diferentes relaciones de polímeros, porcentaje de glicerina y diferente tiempo.

Método de Tukey y una confianza de 95% para diferentes relaciones de polímeros

<i>Polymer ratio</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Agrupación</i>	
35 65	72	727.375	A	
50 50	72	585.500		B
65 35	72	543.611		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Método de Tukey y una confianza de 95% para concentraciones de glicerina.

<i>Glicerina %</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Agrupación</i>		
0.0	54	1013.02	A		
2.5	54	722.28		B	
5.0	54	394.30			C
7.5	54	345.72			C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Método de Tukey y una confianza de 95% para diferentes tiempos.

<i>Tiempo</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Agrupación</i>		
168	36	766.667	A		
72	36	717.611	A		
24	36	677.917	A		
4	36	568.306		B	
2	36	522.722		B	C
1	36	459.750			C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Método de Tukey y una confianza de 95% para relación de polímeros con 5% de glicerina

Polymer ratio	N	Media	Agrupación	
65 35	18	409.111	A	
50 50	18	401.056	A	B
35 65	18	372.722		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo A.3. Hinchamiento para parches controles de quitosano y pectina.

Parches de Quitosano

Método de Tukey y una confianza de 95% para concentraciones de glicerina

<i>Glicerina</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Agrupación</i>	
0.0	18	438.278	A	
2.5	18	402.722	A	
5.0	18	286.667		B
7.5	18	268.944		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Método de Tukey y una confianza de 95% para diferentes tiempos

<i>Tiempo</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Agrupación</i>			
168	12	530.917	A			
72	12	380.000		B		
24	12	337.167		B	C	
4	12	305.917			C	D
2	12	287.500			C	D
1	12	253.417				D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Método de Tukey y una confianza de 95% para relaciones poliméricas

<i>Polymer Ratio</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Agrupación</i>		
35.65	72	727.375	A		
50.50	72	585.500		B	
65.35	72	543.611		B	
100.00	72	349.153			C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Parches de Pectina

Método de Tukey y una confianza de 95% para concentraciones de glicerina

<i>Glicerina</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Agrupación</i>		
0.0	12	392.750	A		
2.5	12	290.917		B	
7.5	12	204.333		B	C
5.0	12	195.917			C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Método de Tukey y una confianza de 95% para diferentes tiempos.

<i>Tiempo</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Agrupación</i>		
1	12	424.500	A		
2	12	378.750	A		
4	12	280.667		B	
24	12	0.000			C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo A.4. Hinchamiento para parches controles de tratamiento mecánico

Método de Tukey y una confianza de 95%

<i>Tratamientos</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Agrupación</i>	
1	54	394.296	A	
2	54	324.426		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

1 con tratamiento

2 sin tratamiento

Anexo A.5. Porcentaje acumulado de masa liberada

Método de Tukey y una confianza de 95% para diferentes tiempos

<i>Tiempo</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Agrupación</i>	
2	3	80.6667	A	
3	3	75.6667	A	B
4	3	73.3333	A	B
72	3	70.0000	A	B
1	3	68.3333	A	B
5	3	68.3333	A	B
48	3	68.0000	A	B
6	3	63.3333	A	B
24	3	60.6667		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

M método de Tukey y una confianza de 95% para diferentes relaciones poliméricas.

<i>Polymer</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Agrupación</i>		
50 50	9	83.6667	A		
65 35	9	70.5556		B	
35 65	9	55.2222			C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

8. ANEXO B: ESPECTROS FTIR: DIFERENTES RELACIONES POLIMÉRICAS

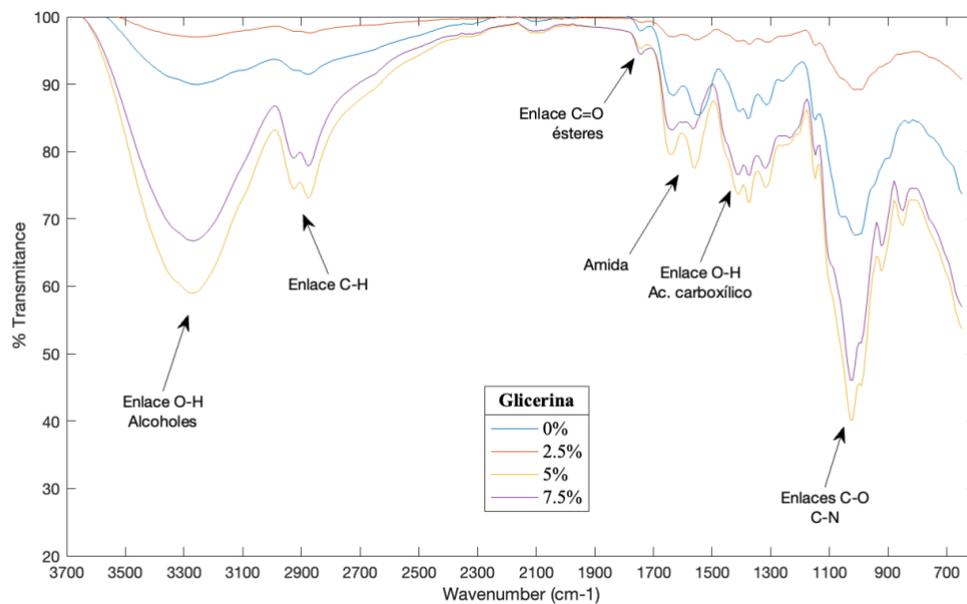


Figura 14. Espectro FT-IR de parches con una relación quitosano/pectina 65:35.

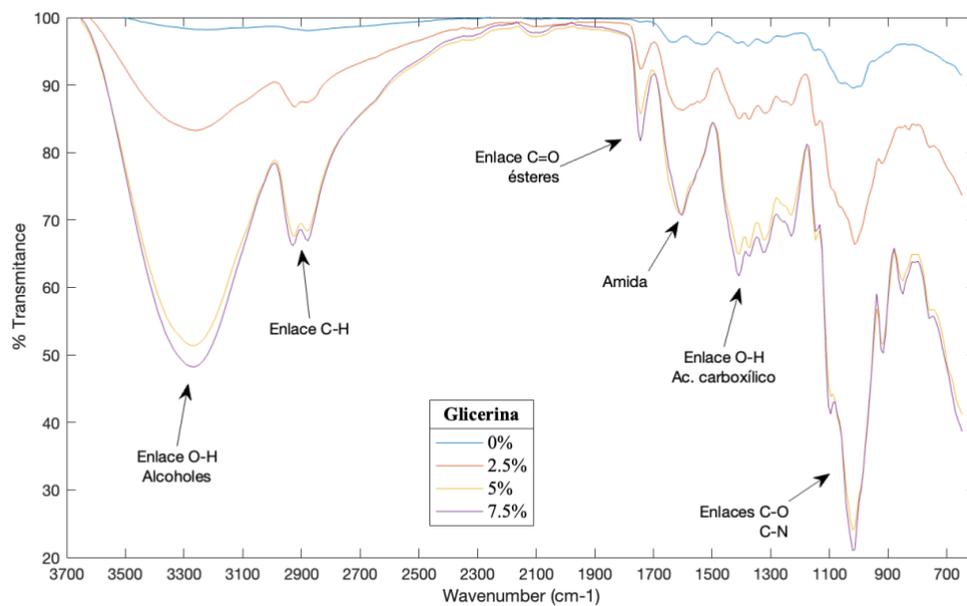


Figura 15. Espectro FT-IR de parches con una relación quitosano/pectina 35:65.

9. ANEXO C: PRIMERA DERIVADA DE TGA

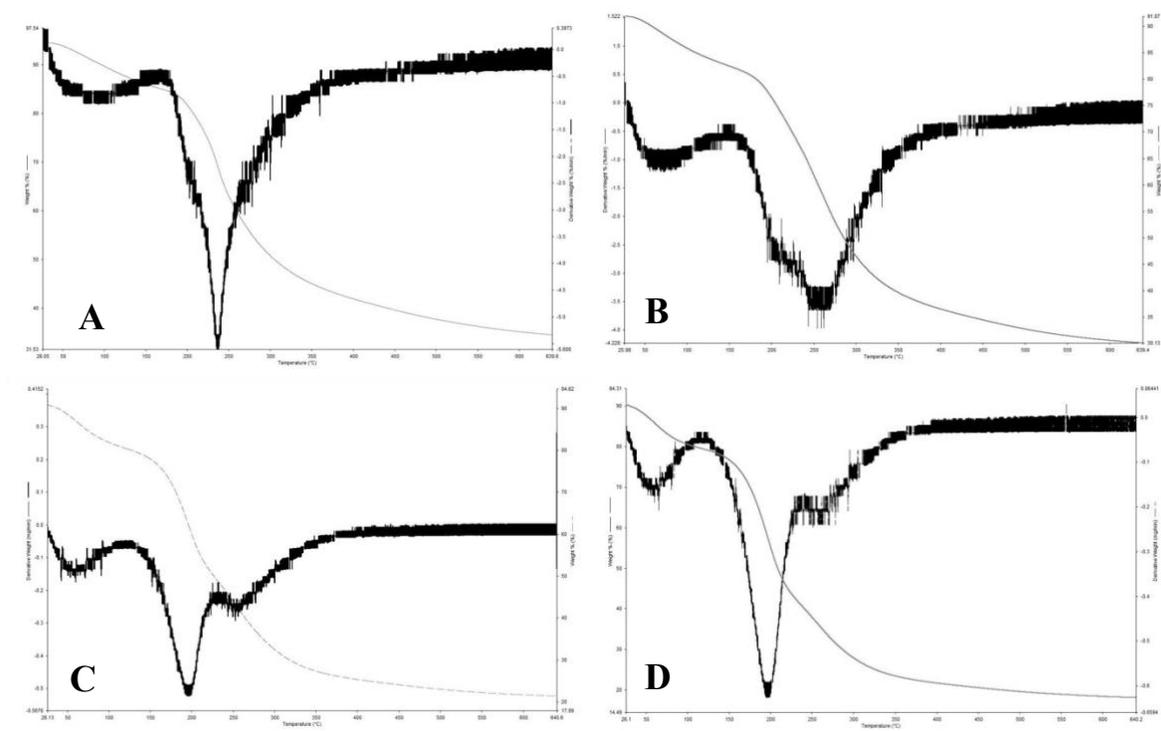


Figura 16. Primera derivada de la estabilidad térmica de parches con una relación quitosano:pectina 65:35 con diferentes concentraciones de glicerina. [A] 0%. [B] 2.5%. [C] 5%.

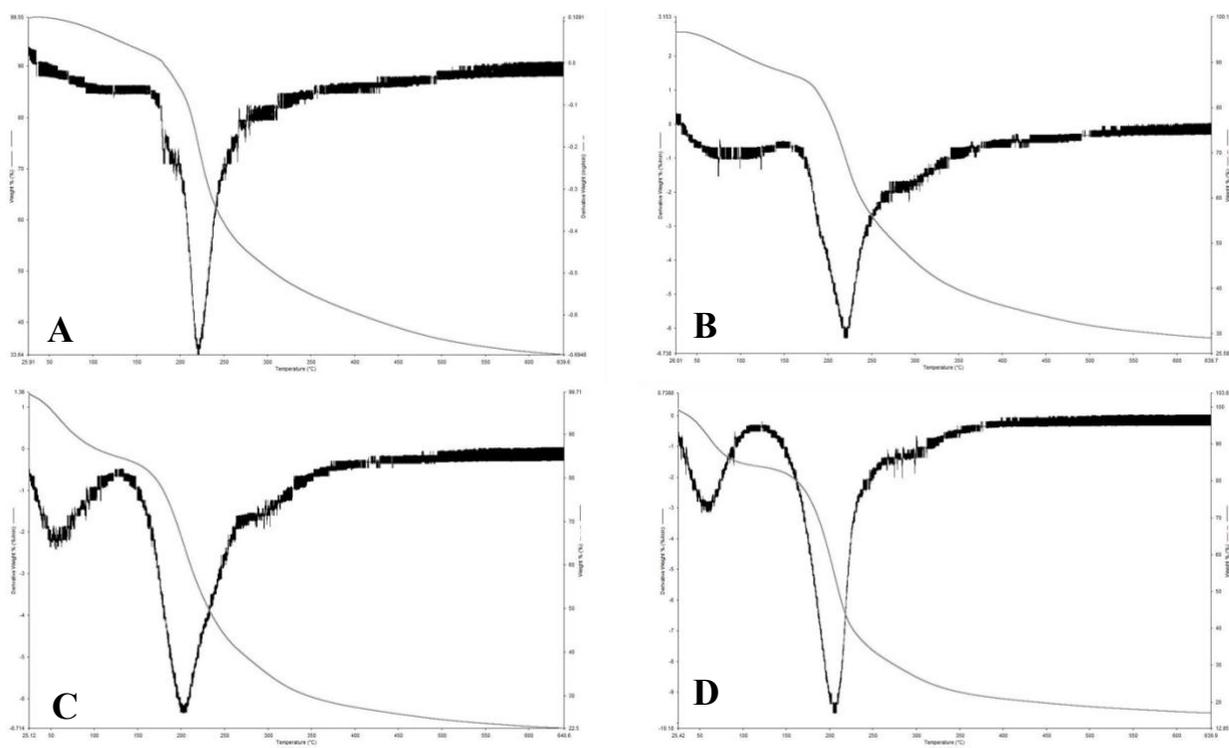


Figura 17. Primera derivada de la estabilidad térmica de parches con una relación quitosano:pectina 35:65 con diferentes concentraciones de glicerina. [A] 0%. [B] 2.5%. [C] 5%. [D] 7.5%.

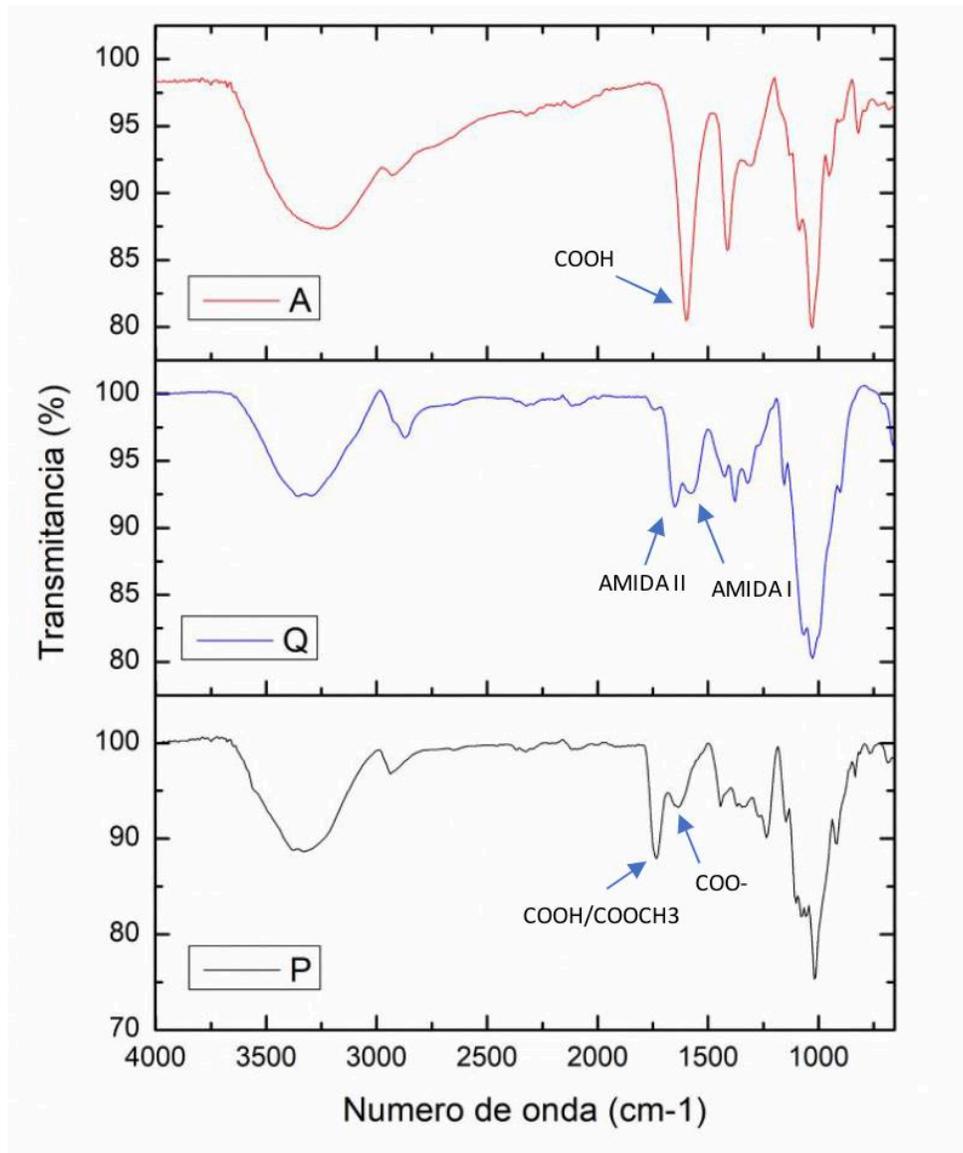
10. ANEXO D: ESPECTRO FTIR CONTROL

Figura 18. Espectros FTIR de diferentes polímeros. [A] Alginato, [Q] Quitosano y [P] Pectina.

Tomada de “Elaboración de hidrogeles en base al entrecruzamiento entre pectina extraída de 3 frutas y quitosano para la liberación controlada de una proteína modelo,” Por A. Stacey Borja, Quito, 2019. Available: <http://bit.ly/COPETheses> [26].

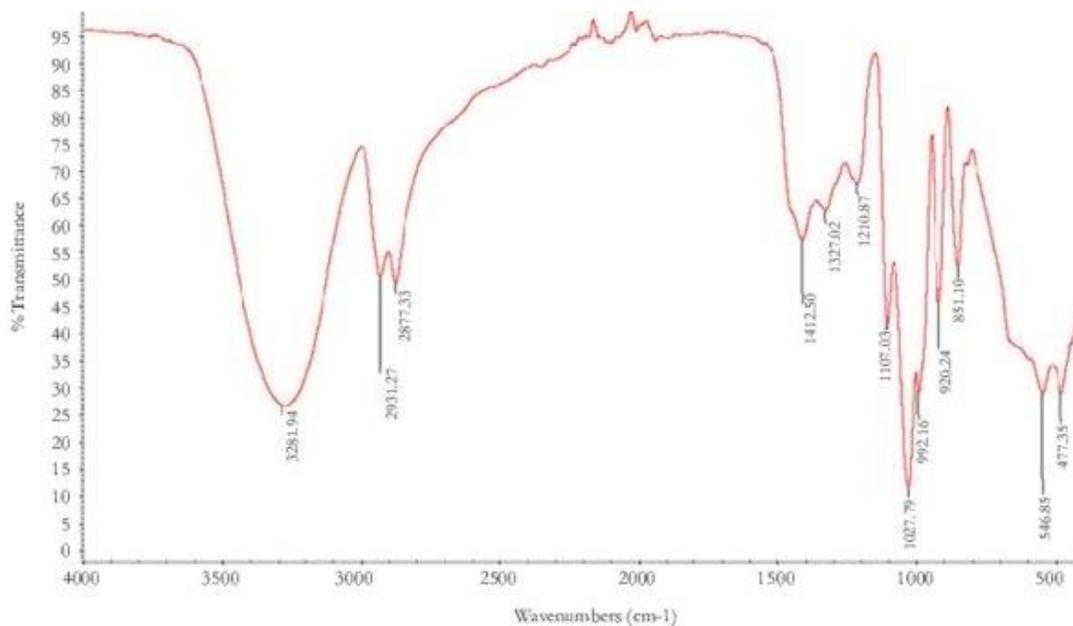


Figura 19. Espectro FTIR de pectina cítrica comercial.

Tomado de “Response Surface Methodology: An Imperative Tool for the Optimized Purification of the Residual Glycerol from Biodiesel Production Process,” Por M. Danish, T. Umer Rashid, C. J. Mai Sci, M. Waseem Mumtaz, M. Fakhar, and U. Rashid, 2016. [Online]. Available: <http://epg.science.cmu.ac.th/ejournal/> [37]

11. ANEXO D: CURVA DE CALIBRACIÓN DE ACETAMINOFÉN

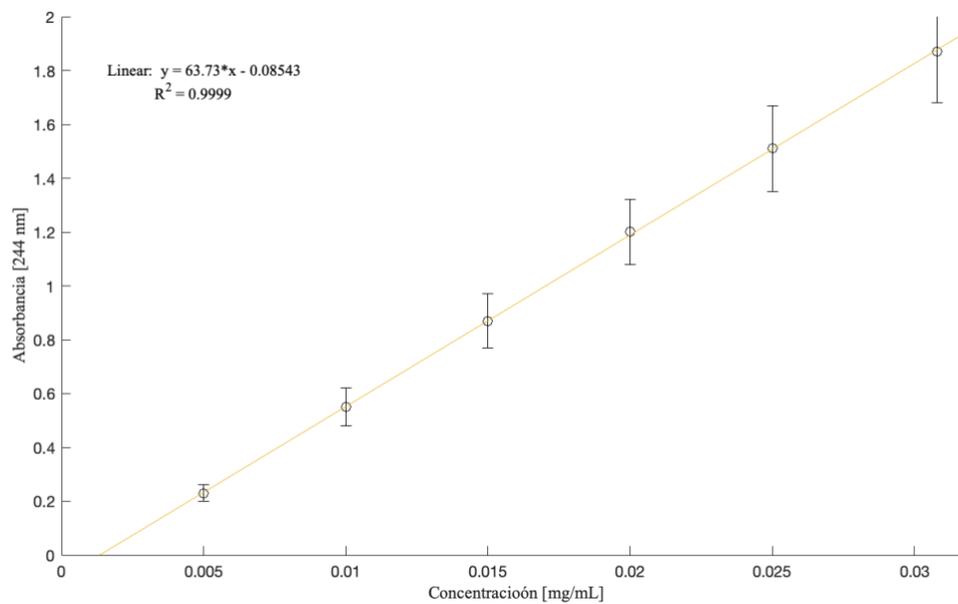


Figura 20. Curva de calibración de acetaminofén en PBS IX.