Centro de Investigación en Materiales Avanzados, S. C.

DOCTORADO EN CIENCIA DE MATERIALES

TESIS:

"Bioactivación de Polianilina para Aplicaciones Biomédicas"

Presenta:

M. en C. Cinthia Jhovanna Pérez Martínez

Asesores:

Dra. Tania E. Lara Ceniceros (CIMAV-Monterrey)

Dra. Teresa del Castillo Castro (UNISON)

Apodaca, Nuevo León, Junio del 2015.

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

CONTENIDO

		Página
	DEDICATORIA…….....	II
	AGRADECIMIENTO…….....	III
	LISTA DE FIGURAS…….....…….	VII
	LISTA DE TABLAS…….....……..	X
1.	RESUMEN……...……..……..……	XI
2.	HIPÓTESIS……..……..…….….	XIII
	2.1 Objetivo General……..…….…	XIII
	2.2 Objetivos Particulares……..…….	XIII
3.	ANTECEDENTES……..……..……...	1
	3.1 Polímeros electroconductores……..…….	1
	3.1.1 Estructura electrónica y mecanismo de conducción eléctrica……	2
	3.2 Polianilina…….	5
	3.2.1 Métodos de síntesis convencionales…….....	6
	3.2.2 Mecanismo de polimerización……..……..	9
	3.2.3 Métodos de síntesis de estructuras a escala nanométrica……...	10
	3.2.3.1 Uso de plantilla rígida……...……..	12
	3.2.3.2 Uso de plantilla suave…….	12
	3.2.3.3 Crecimiento de nanoetructuras de PANI sin uso de plantillas…….	13
	3.2.4 Propiedades……	14
	3.2.5 Aplicaciones…….....	16
	3.2.5.1 Aplicaciones en el área biomédica……...……...	17
	3.3 Hidrogeles…….	17
	3.3.1 Métodos de preparación……..	19
	3.3.2 Aplicaciones en el área biomédica……..	21
	3.3.3 Hidrogeles de poliacrilamida (PAAm)……...……	21
	3.4 Hidrogeles compuestos electroconductores……..	23
	3.4.1 Métodos de preparación……..	23
	3.5 Sistemas de liberación controlada…….	24
	3.5.1 Mecanismos de liberación……...…	25
	3.5.2 Sistemas de liberación controlada por estímulo eléctrico……	27
4.	EXPERIMENTAL……...	29
	4.1 Materiales……..	29
	4.2 Métodos…….	29
	4.2.1 Síntesis química de polianilina en presencia del ácido L-glutámico…	29
	4.2.3 Estudios de caracterización…….....	31
	4.2.3.1 Microscopía electrónica de barrido (SEM)……...…….	31
	4.2.3.2 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)….....	31
	4.2.3.3 Mediciones de conductividad eléctrica……...…	31
	4.2.3.4 Espectroscopia fotoelectrónica de rayos-X (XPS)……..	32
	4.2.3.5 Espectroscopia de infrarrojo (FTIR)……..	32
	4.2.3.6 Espectroscopia de absorción UV-vis……..	33
	4.2.3.7 Voltametría cíclica (CV)……...…….	33

4.2.4 Estudio de la interacción anilina-ácido glutámico…….. 33
4.2.5 Cargado de amoxicilina en las estructuras de polianilina.……... 34
4.2.5.1 Liberación de amoxicilina adsorbido frente a soluciones búfer……..... 35
4.2.6 Preparación de hidrogeles compuestos de poliacrilamida y polianilina cargada con amoxicilina para estudios de liberación frente a soluciones bufer……..……... 35
4.2.6.1 Estudio de la Cinética de hinchamiento de los hidrogeles compuestos.…… 37
4.2.6.2 Caracterización morfológica del hidrogel compuesto por microscopía electrónica de transmisión……..…... 37
4.2.7 Estudio de la liberación de amoxicilina desde los hidrogeles compuestos de poliacrilamida y polianilina frente a soluciones búfer…… 37
4.2.8 Preparación de hidrogeles compuestos de poliacrilamida y polianilina cargados con amoxicilina para estudios de liberación usando estímulos eléctricos……. 38
4.2.9 Estudio de la liberación de amoxicilina desde los hidrogeles compuestos de poliacrilamida y polianilina usando estímulos eléctricos……. 39
4.2.10 Estudio de totoxicidad de hidrogeles compuestos de poliacrilamida y polianilina…… 40
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN…….. 42
5.1 Síntesis química de polianilina en presencia del ácido L-glutámico…… 42
5.2 Estudios de caracterización……... 42
5.2.1 Microscopía electrónica de barrido (SEM)…… 42
5.2.2 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)……. 46
5.2.3 Propiedades eléctricas.……... 49
5.2.4 Espectroscopia fotoelectrónica de rayos-X (XPS)……. 50
5.2.5 Espectroscopia de infrarrojo (FTIR)…….. 55
5.2.6 Espectroscopia de absorción UV-vis…….. 58
5.2.7 Voltametría cíclica (CV).……... 61
5.3 Estudio de la interacción anilina-ácido glutámico…… 66
5.4 Liberación de fármaco adsorbido frente a soluciones búfer……... 69
5.5 Hidrogeles compuestos de poliacrilamida y polianilina cargada con fármaco…….……. 71
5.5.1 Caracterización morfológica…….…….. 72
5.5.2 Cinética de hinchamiento…….……... 73
5.5.3 Liberación *in vitro* de amoxicilina desde hidrogel compuesto de poliacrilamida y polianilina cargada con el fármaco usando agitación orbital…….. 75
5.5.4 Liberación *in vitro* de amoxicilina desde hidrogel compuesto de poliacrilamida y polianilina cargada con el fármaco usando estímulos eléctricos. ……... 82
5.5.5 Estudio de Citotoxicidad Celular…… 88
6. CONCLUSIONES…… 91

7. RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS……. 93
8. REFERENCIAS……... 94
9. ANEXOS…….. 100
9.1 Aproximacion semi-empirica de la interaccion polianilina-ácido glutámico……..... 100
9.2 Publicaciones Relacionadas con el proyecto de tesis……... 103

LISTA DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1	Representación esquemática del esqueleto conjugado de un ICP con alternancia entre enlaces sencillos y dobles. Adaptado de la referencia [21]..……	3
2	Esquema del mecanismo de formación de polarones a partir de unidades quinona-imina protonada y su deslocalización en la estructura para dar lugar a la esctructura polarónica [12]..……...	4
3	Evolución de la estructura de bandas del PANI con el dopaje: a) nivel bajo de dopaje con formación de polarón, b) nivel alto de dopado con formación de la banda polarónica. Adaptada de las referencias [18]……..	4
4	. Estados de oxidation de la PANI, a) completamente reducido, leucoemeraldina base, b) completamente oxidado, pernigranilina base, c) mitad oxidado mitad reducido, emeraldina base y d) forma conductora de emeraldina base, emeraldina sal. Adaptado de la referencia [35]…….	6
5	Posibles estructuras de los productos de protonación de la emeraldina base. Adaptado de la referencia [35]……..	7
6	Radical catiónico de anilina (anilinio), a) formación, b) estructuras de resonancia. Adaptada de la referencia [12]……...	9
7	Mecanismo de polimérisacion de polianilina. Adaptada de la referencia [43]…..	11
8	Mecanismo de reacción en la formación de hidrogeles de PAAm. Adaptada de la referencia [102]……	22
9	Esquema general de la preparación de hidrogeles electroconductores. Adaptada de la referencia [109]……	24
10	Representación esquemática de SLC por difusión, a) con núcleo interno y b) monolíticos. Adaptada de la referencia [113]……	26
11	Representación esquemática de SLC por hinchamiento. Adaptada de la referencia [113]……	26
12	. Representación esquemática de SLC por métodos químicos: a) bioerosionable, b) con cadena lateral. Adaptada de la referencia [113]……..	27
13	a) Modelo para medición de conductividada por el método de cuatro puntas, b) Circuito experimental usado para medición de conductividad……..	32
14	Representación del proceso de preparación del hidrogel compuesto PAAm/PANI/amoxicilina usado en la liberación frente a soluciones buffer…….	36
15	Representación del proceso de preparación del hidrogel compuesto PAAm/PANI/amoxicilina usado en la liberación frente a impulsos eléctricos……...	39
16	Imágenes por SEM de PANI sintetizada a relaciones molares anilina:AG:PSA de a) 1:0.13:1, b) 1:0.25:1, c) 1:0.38:1, d) 1:0.5:1, e) 1:0.25:0.6 y f) 1:0.25:1.4……..	43
17	. Imágenes por TEM de PANI sintetizada a relaciones molares anilina:AG:PSA de a) 1:0.13:1, b) 1:0.25:1, c) 1:0.38:1, d) 1:0.5:1, e) 1:0.25:0.6 f) 1:0.25:1.4……..	47
18	Imágenes por TEM de PANI sintetizada a relación molar anilina:AG:PSA de 1:0.25:1…….	48

19 Espectros *surveys* en XPS para síntesis con relaciones molares: a) 1:0.13:1, b) 1:0.25:1, c) 1:0.025:1 desdopada, d) 1:0.38:1, e) 1:0.38:1 desdopada, f) 1:0.5:1, g) 1:0.25:0.6, h) 1:0.25:1.4……... 51
20 Espectros XPS de alta resolución de PANI sintetizada en relación molar 1:0.25:1 en la región del a) N 1s y b) C 1s……. 53
21 Espectros XPS de alta resolución en la región del S 2p para las muestras de PANI a) 1:0.25:1, b) 1:0.25:1 desdopada, c) 1:0.38:1 y d) 1:0.38:1 desdopada……. 51
22 Espectros de FTIR de PANI sintetizada a diferentes relaciones molares de a) anilina:AG y b) anilina:PSA. El espectro de la muestra 1:0.25:1 se repite para comparación……. 56
23 Espectros de FTIR de PANI sintetizada con relación molar de anilina:AG:PSA de 1:0.25:1 con tratamiento de desdopaje. El espectro de la muestra 1:0.25:1 sin tratamiento se repite para comparación……. 58
24 Espectros de absorción UV-vis de PANI sintetizada a diferentes relaciones molares de (a) anilina:AG y (b) anilina:PSA. El espectro de la muestra 1:0.25:1 se repite para comparación…… 59
25 Diagrama de bandas para la PANI en su forma de emeraldina sal, a) conformación compacta, b) conformación extendida. Adaptado de referencia [148]……. 60
26 Voltamogramas cíclicos de PANI sintetizada a diferentes relaciones molares de anilina:AG:PSA. Curvas del 2do ciclo a 200 mV s^{-1}…….…… 62
27 Voltamogramas cíclicos de PANI sintetizada con relación molar de anilina:AG:PSA de 1:0.25:1 a diferentes velocidades en mV s^{-1}. Curvas del 2do ciclo a cada velocidad……... 64
28 Ajuste lineal de la intensidad de corriente *vs.* velocidad de barrido para (a) I_{a1}, (b) I_{a2}, (c) I_{c1} y (d) I_{c2}, en la muestra de PANI 1:0.25:1…….. 65
29 Voltamogramas cíclicos de PANI sintetizada con relación molar de anilina:AG:PSA de 1:0.25:1. Curvas superpuestas de 25 ciclos a 200 mV s^{-1}……. 65
30 Variación del pH durante la polimerización de anilina en presencia de AG para las diferentes relaciones molares anilina: AG: PSA…….. 66
31 Representación de las formas iónicas de la anilina, el AG y la PANI antes, durante y al finalizar el proceso de polimerización…….…….. 67
32 Curva de titulación por espectroscopía de absorción UV-vis de solución de anilina con solución de AG a pH de 5……...……..…. 69
33 Liberación de amoxicilina a partir de membranas de acetato de celulosa: a) 25°C y b) 37°C……..……..……...….. 70
34 Imagen de los hidrogeles compuestos, de izquierda a derecha, hidrogel A, B y C……... 72
35 Imágenes por TEM de la sección transversal de hidrogel compuesto PAAm/PANI (hidrogel B según Tabla 3, sección 4.2.6)……. 73
36 Porcentaje de hinchamiento de hidrogeles compuestos de PAAm/PANI/amoxicilina, a) gel A (relación AAm/BisAAm, 58:1), b) gel B (58:2), c) gel C (58:3) y d) gel D (58:2), en bufer de fostafo a pH 7 a temperatura ambiente.…….. 74

37 Cinética de liberación de amoxicilina a 37°C desde los hidrogeles A, B y C frente a pH de a) 5, b) 7 y c) 9……..……. 76
38 Cinética de liberación de amoxicilina a 37°C frente a pH de 5, 7 y 9, desde los hidrogeles a) A, b) B y c) C…….….. 77
39 Cinética de liberación de amoxicilina desde el hidrogel 58:2 a 25 y 37°C frente a pH de a) 5, b) 7 y c) 9……...……... 79
40 Cinética de liberación de amoxicilina a 37°C desde los hidrogeles B y D frente a pH de a) 5, b) 7 y c) 9……...…... 82
41 Liberación de amoxicilina desde hidrogeles compuestos E conectados al cátodo, mediante estimulación eléctrica de 5V. La flecha indica la aplicación de impulso..... 83
42 Liberación de amoxicilina desde hidrogeles compuestos E conectados al cátodo, mediante estimulación eléctrica de 4V. La flecha indica la aplicación de impulso……. 84
43 Liberación de amoxicilina desde hidrogeles compuestos E conectados al cátodo, mediante estimulación eléctrica de 3V. La flecha indica la aplicación de impulso……. 84
44 Liberación de amoxicilina desde hidrogeles compuestos E mediante estimulación eléctrica de 5V, cambiando la polaridad de los electrodos. La flecha indica la aplicación de impulso……... 86
45 Liberación de amoxicilina desde hidrogeles compuestos F mediante estimulación eléctrica de 5V, cambiando la polaridad de los electrodos. La flecha indica la aplicación de impulso……... 87
46 Porcentaje de viabilidad celular de hidrogeles de a) PAAm y b) PAAM/PANI sobre la línea celular normal L–929 (tejido subcutáneo normal de ratón). La barra de error representa la desviación estándar ($n \geq 3$). La significancia estadística ($*p < 0.05$) se determinó mediante ANOVA, prueba Dunnett…… 89
47 Imágenes de microscopía óptica de las células de fibroblastos de ratón incubadas en medio de cultivo normal (control) y 50% de medio acondicionado con hidrogeles de PAAm y PAAm/PANI……..... 90

LISTA DE TABLAS

Tabla	Título	Página
1	Relaciones molares de monómero:aminoácido:agente oxidante usadas en las síntesis de PANI…….…….....	30
2	Condiciones experimentales utilizadas en curva de titulación anilina:AG……..	34
3	Concentraciones y volúmenes para la preparación de los hidrogeles compuestos PAAm/PANI/amoxicilina y PAAm/amoxicilina usados en la liberación frente a soluciones buffer……	36
4	Concentraciones y volúmenes para la preparación de los hidrogeles compuestos PAAm/PANI/amoxicilina y PAAm/amoxicilina usados en la liberación frente a impulsos eléctricos…….	39
5	Conductividad eléctrica de PANI en función de la relación molar anilina:AG:PSA……...	49
6	Datos de XPS de PANI en función de las relación molar anilina: AG: PSA……	52
7	Liberación de amoxicilina a diferentes temperaturas desde membranas de acetato de celulosa……...	71
8	Liberación promedio de amoxicilina durante 8 ciclos de aplicación de potencial……...	85

1. RESUMEN

En este trabajo doctoral se presenta la síntesis química oxidativa de polianilina (PANI) en presencia de ácido glutámico (AG), utilizando persulfato de amonio (PSA) como agente oxidante. Se realizaron síntesis variando la relación molar de anilina:aminoácido:oxidante. Los productos de las diferentes reacciones se caracterizaron mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), microscopía electrónica de transmisión (TEM), mediciones de conductividad eléctrica, espectroscopia fotoelectrónica de rayos-X (XPS), espectroscopia de infrarrojo (FTIR), espectroscopia de absorción UV-vis y voltametría cíclica (VC).

Se observó que la relación molar de anilina:aminoácido:oxidante usada en la síntesis determina la composición y conformación del polímero resultante, así como sus propiedades morfológicas, eléctricas y electroquímicas. La muestra obtenida de la relación 1:0.25:1 presentó una morfología fibrilar con diámetros micrométricos, encontrándose también estructuras con diámetros nanométricos; en ambos casos se observó una relación longitud-diámetro mayor que en el resto de las muestras. Se comprobó la incorporación del aminoácido en todas las muestras, asi como especies iónicas que contienen azufre derivadas de la descomposición del PSA. Se observó que en la muestra 1:0.25:1, el AG interacciona con la PANI como co-dopante en presencia de aniones de especies de azufre. Lo anterior produjo una conformación extendida de las cadenas del polímero y un mecanismo *redox* definido, a diferencia del resto de las muestras en las que se observaron conformaciones compactas que dificultaron la transferencia de carga electrodo-polímero y/o la difusión de iones que acompaña a la oxidación-reducción durante los barridos de VC.

Adicionalmente se realizaron estudios de adsorción/liberación de amoxicilina sobre las nanoestructuras de PANI, para lo cual, una dosis terapéutica del fármaco en solución acuosa se mezcló con la muestra 1:0.25:1 en suspensión. Los resultados mostraron que las fibras sintetizadas adsorben de manera eficiente alrededor del 80% del fármaco. Los perfiles de liberación de amoxicilina fueron analizados en función del pH, desde las fibras de PANI contenidas en membrana de celulosa en soluciones buffers, encontrándose que la liberación de amoxicilina puede ser controlada en función del pH del medio de liberación.

Se prepararon hidrogeles compuestos mediante la incorporación *in situ* de las nanofibras de PANI cargadas con fármaco durante la polimerización y reticulación de acrilamida. Las imágenes por TEM de la sección transversal del hidrogel revelaron la formación de una red tridimensional de las nanofibras de PANI soportadas por la matriz aislante del hidrogel de poliacrilamida (PAAm).

Se estudió la liberación *in vitro* del fármaco desde los hidrogeles compuestos de PAAm/PANI frente a soluciones buffer a diferente pH (5, 7 y 9) y temperatura (25 y 37°C), usando agitación orbital. Se obtuvó una mayor liberación en el equilibrio a pH de 9 y temperatura de 37°C, lo que se atribuyó al proceso de desdopaje del polímero electroconductor, que ocasiona la salida del AG que puede estar interaccionando con el fármaco, así como a la mejor difusión de la amoxicilina desde el hidrogel al medio de liberación por efecto de una mayor temperatura.

Se realizaron estudios de liberación *in vitro* del antibiótico desde los hidrogeles compuestos de PAAm/PANI frente a soluciones de pH neutro, usando potenciales eléctricos de 3, 4 y 5 V. Los resultados mostraron que la amoxicilina se libera (o retiene) en respuesta de la aplicación (o eliminación) del estímulo eléctrico catódico. La cinética de liberación "ON/OFF" del fármaco se asoció al cambio de la carga neta global de la PANI tras su reducción electroquímica y la contracción de su volumen, lo que sinérgicamente condujo a la liberación del antibiótico unido de forma no covalente.

Por último, considerando el potencial mostrado por los hidrogeles compuestos de PAAm/PANI para la liberación controlada de fármacos, se realizó un estudio para evaluar su citotoxicidad frente a células de tejido subcutáneo normal de ratón. Las células fueron expuestas a diferentes concentraciones de un medio de cultivo que estuvo en contacto con los hidrogeles. Los resultados mostraron una viabilidad celular superior al 80% lo cual se ajusta al criterio de ausencia de citotoxicidad, según la norma ISO 10993-5.

2. HIPÓTESIS

La síntesis química de polianilina en presencia del ácido L-glutámico permitirá obtener estructuras fibrilares que conjuguen las propiedades eléctricas del polímero conductor con la funcionalidad e inocuidad del aminoácido, lo que potenciará sus aplicaciones dentro del área biomédica.

2.1 Objetivo General

Estudiar el proceso de incorporación de ácido glutámico en estructuras de polianilina sintetizadas mediante métodos químicos así como evaluar la capacidad del sistema polimérico para la liberación controlada de fármacos.

2.2. Objetivos Específicos

- Sintetizar químicamente estructuras de polianilina en presencia del ácido L-glutámico.
- Caracterizar los sistemas preparados mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), microscopía electrónica de transmisión (TEM), mediciones de conductividad eléctrica, espectroscopia fotoelectrónica de rayos-X (XPS), espectroscopia de infrarrojo (FTIR), espectroscopia de absorción UV-vis y voltametría cíclica (VC).
- Evaluar la incorporación y liberación *in vitro* de amoxicilina en los sistemas polianilina-ácido glutámico.
- Encapsular las estructuras de polianilina-ácido glutámico cargadas con amoxicilina en hidrogeles de poliacrilamida.
- Estudiar la cinética de liberación *in vitro* del fármaco desde las estructuras de polianilina-ácido glutámico encapsuladas en hidrogeles de poliacrilamida frente a soluciones buffer de diferente pH.

- Estudiar la cinética de liberación *in vitro* del fármaco desde las estructuras de polianilina-ácido glutámico encapsuladas en hidrogeles de poliacrilamida frente a estímulos eléctricos.
- Evaluar la citotoxicidad de los hidrogeles compuestos de estructuras de polianilina-ácido glutámico encapsuladas en matriz de poliacrilamida.

3. ANTECEDENTES

3.1 Polímeros electroconductores

Los primeros informes sobre polímeros electroconductores fueron reportados alrededor de 1977 cuando MacDiarmid, Shirakawa y Heeger reconocieron un incremento de 11 órdenes de magnitud en la conductividad de poliacetileno, después de ser dopado con yodo [1]. Desde entonces, los polímeros conductores han sido testigos de un aumento en el interés científico y tecnológico, debido principalmente a sus propiedades inusuales con respecto a los polímeros convencionales [2].

El término de polímero electroconductor se utiliza para definir a los materiales de naturaleza polimérica con la capacidad de conducir la corriente eléctrica. Una de las principales características de estos materiales, es la conservación de las propiedades mecánicas y la facilidad de procesamiento asociada generalmente a los polímeros convencionales [3]. En la literatura actual, el término se utiliza para los materiales poliméricos en los que la conductividad eléctrica es una propiedad inherente del material. Sin embargo, la forma correcta de nombrar a este tipo de polímeros es la de polímero conductores intrínsecos (ICP, por sus siglas en inglés). Los ICP presentan un sistema de enlaces π altamente conjugados a lo largo de toda la cadena polimérica. Esto les confiere inusuales propiedades electrónicas como conductividad eléctrica, transiciones ópticas de baja energía, bajo potencial de ionización y alta electroafinidad [4], las cuales se pueden controlar y modificar mediante estímulos de diferente naturaleza como por ejemplo, electricidad, luz y cambios de pH [5]. Los ICP pueden mostrar biocompatibilidad y biodegradabilidad, propiedades que pueden ser potenciadas al incorporar biomoléculas a su estructura [6]. La versatilidad de estos materiales ha permitido su implementación en el área biomédica para la fabricación de biosensores, regeneración de tejidos y su uso en sistemas de liberación de fármacos [7]. Actualmente, la polianilina (PANI), el polipirrol (PPy) y el politiofeno (PTh) se encuentran entre los ICP de mayor interés científico dentro de esta familia de polímeros [8-9].

3.1.1 Estructura electrónica y mecanismo de conducción eléctrica

En un polímero, la interacción entre los electrones de átomos vecinos conduce a la formación de bandas electrónicas. Los niveles electrónicos ocupados más altos constituyen la banda de valencia (BV) y los niveles más bajos no ocupados, la banda de conducción (BC). El espacio de energía entre la banda de valencia y la banda de conducción se denomina banda prohibida o *band gap*. La anchura del *band gap* determina las propiedades eléctricas intrínsecas del material [10]. En la mayoría de los ICP, el valor de energía del band *gap* es mayor a 1.5 eV; por ejemplo, para la PANI 3.8 eV [11].

Para explicar la conductividad eléctrica en los ICP es necesario recurrir a la teoría de bandas. Esta teoría menciona que los átomos de un sólido se encuentran tan estrechamente empaquetados que sus niveles electrónicos forman un continuo de estados energéticos, denominado bandas. Los niveles que contienen los electrones de valencia forman la BV mientras que los niveles energéticos superiores no ocupados forman la BC, el *band gap*, es el espacio entre BV y BC. Para que la conducción se lleve a cabo, ambas bandas deben estar parcialmente ocupadas por electrones. Cuando el intervalo de bandas es muy pequeño, la conducción es del tipo metálico y se puede dar a temperatura ambiente. Cuando la separación entre ambas bandas es mayor (> 5eV), el material se comporta como un aislante. En casos intermedios se habla de materiales semiconductores, donde la transiciones entre ambas bandas, requiere energía moderada (1-2 eV) [12]. En los ICP, la conductividad se produce debido a la facilidad con la que electrones saltan dentro y entre las cadenas poliméricas, por la combinación de varios factores, como la presencia de un esqueleto conjugado (Figura 1), lo que significa que la columna vertebral está formada por una serie alternada de enlaces sencillos (enlaces α) y dobles enlaces (enlaces π) [13]. En los enlaces π, los orbitales p se solapan entre sí permitiendo la deslocalización de electrones (los electrones ya no pertenecen a un solo átomo, sino a un grupo de átomos) y pueden moverse libremente entre ellos [14]. Como se mencionó anteriormente, en su estado fundamental presentan una separación entre la BV (π) y la BC (π*), que son el resultado de la combinación de estados de enlace y anti-enlace de los orbitales p de los átomos que conforman el esqueleto polimérico [10].

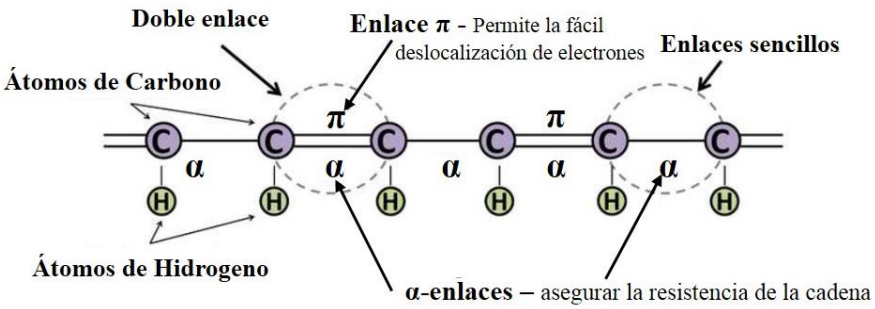

Figura 1. Representación esquemática del esqueleto conjugado de un ICP con alternancia entre enlaces sencillos y dobles. Adaptado de la referencia [21].

El mecanismo que activa la conducción en los ICP es el dopaje, proceso donde se introducen cargas móviles en el sistema π conjugado, lo cual se logra mediante un proceso de oxidación o reducción del polímero [13, 15]. Generalmente, el polímero se sintetiza en presencia de una molécula dopante (especie iónica de carga contraria a la generada en la cadena), lo que estabiliza la carga de la cadena polimérica [16]. El proceso de dopaje implica la introducción de portadores de carga en el sistema mediante la eliminación o la adición de electrones desde la cadena polimérica y la relocalización de estos sobre segmentos de la cadena, creando distorsiones electrónicas conocidas como polarones o bipolarones. La Figura 2, describe el mecanismo de la formación de polarones para la PANI. Se trata de una redistribución de las cargas en la unidad de quinona-imina protonada, que da lugar a la recuperación de la aromaticidad y la aparición de dos cationes radicales (polarones) situados en el nitrógeno adyacente, los cuales se estabilizan por deslocalización a lo largo de varios anillos. La repulsión electrónica entre las cargas iguales de los polarones es contrarrestada por el dopante, además la introducción de cargas móviles en el sistema π conjugado, distorsiona la geometría de las unidades monoméricas adyacentes, lo que también contribuye a estabilizar las cargas [12]. A medida que la oxidación avanza, estos portadores de carga se acumulan en la estructura hasta un máximo teórico de 2 polarones por cada 4 unidades. Bajo estas condiciones, los polarones forman una estructura totalmente conjugada conocida como estructura polarónica [12]. La formación de polarones o bipolarones se refleja en la aparición de estados electrónicos discretos en el *band gap*, como se representa en la Figura 3. La introducción de pocos portadores de carga no modifica sustancialmente la conductividad del ma del material, para alcanzar el estado conductor se requiere un alto grado de dopaje [17].

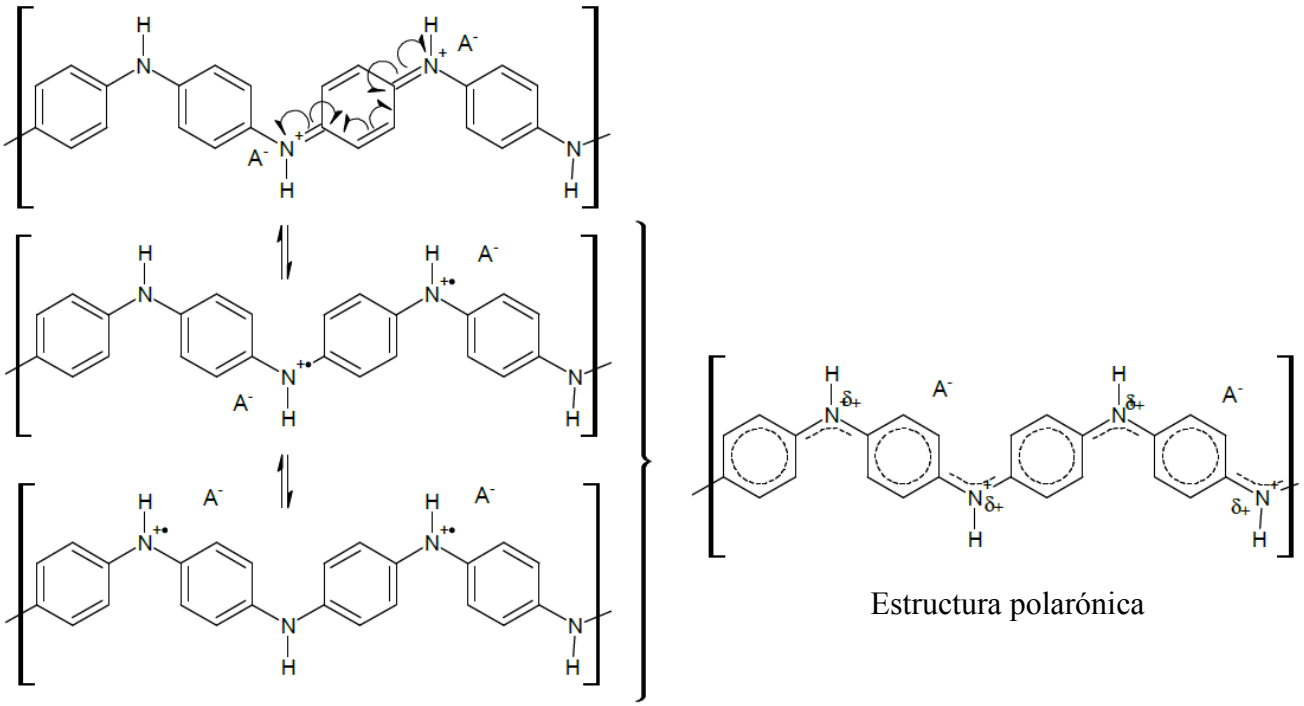

Figura 2. Esquema del mecanismo de formación de polarones a partir de unidades quinona-imina protonada y su deslocalización en la estructura para dar lugar a la esctructura polarónica [12].

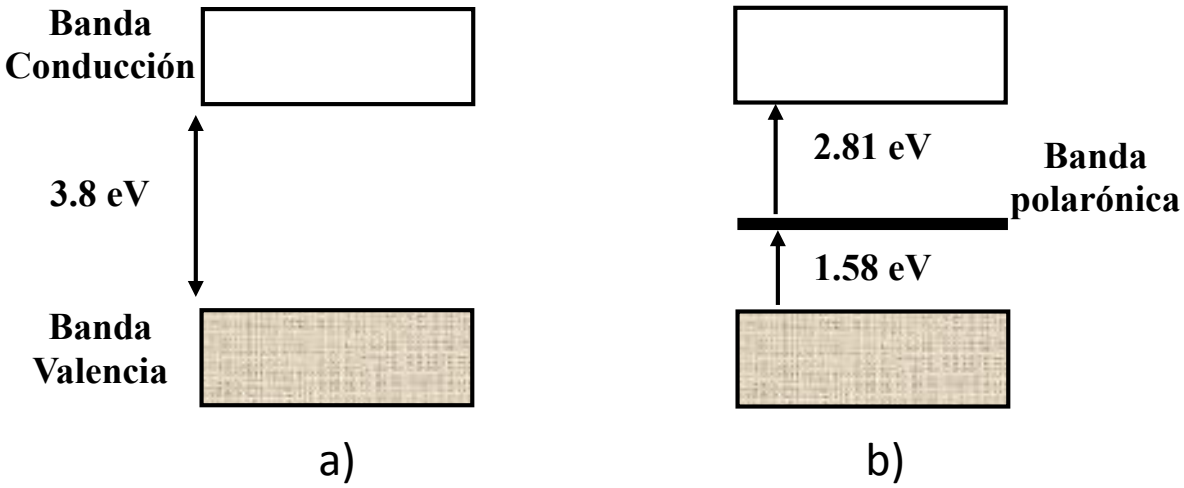

Figura 3. Evolución de la estructura de bandas del PANI con el dopaje: a) nivel bajo de dopaje con formación de polarón, b) nivel alto de dopado con formación de la banda polarónica. Adaptada de las referencias [18].

Tomando como ejemplo la PANI (band *gap* de 3.8 eV) para analizar el efecto del dopaje sobre la conductividad, a niveles bajos de dopaje, extrayendo un electrón de la cadena se forma un polarón que se extiende sobre la estructura quinoide relajada de cuatro anillos de lade PANI. El nivel del polarón se encuentra alrededor de 0.4 eV por encima de la BV [19]. A un nivel alto de dopaje, el aumento de polares en la cadena polimérica conduce la formación de una banda dentro del *band gap*, denominada banda polarónica, que permiten la promoción de electrones con energía suficiente para funcionar como portadores de carga (Figura 4b).

3.2 Polianilina

La PANI, antiguamente conocida como negro de anilina [13, 20], es el segundo polímero electroconductor más investigado después del PPy, por presentar una alta conductividad en su estado dopado, sencillez de preparación, bajo costo y alta estabilidad química en condiciones ambientales normales [18]. Está formada por unidades repetidas de anilina que forman una cadena de átomos de nitrógeno y anillos benzoicos alternados [18]. La PANI existe en diversas formas en función de su nivel de oxidación. En su forma completamente oxidada se conoce como pernigranilina o pernigranilina base (PNB), en su estado totalmente reducido se denomina leucoemeraldina o leucoemeraldina base (LB) y en el estado intermedio de oxidación se nombra emeraldina base (EB) [21] (Figura 4). Los cambios entre estas estructuras son reversibles y pueden realizarse mediante métodos químicos y electroquímicos. De los tres estados en los que podemos encontrar a la PANI, sólo cuando se encuentra en forma de emeraldina, el polímero puede alcanzar propiedades de conductividad eléctrica mediante un proceso de dopaje, forma protonada conocida como emeraldina sal (ES) [22]. En la transición de la EB a ES, existen dos tipos de nitrógeno susceptibles de ser protonados; los nitrógenos de tipo amina y los de tipo imino. En principio, se consideraría más sencilla la protonación de los nitrógenos amina debido a su mayor basicidad (Figura 5a). Sin embargo, según la estructura propuesta por MacDiarmid [23], se protonan los nitrógenos imina (Figura 5b) para formar una estructura en la que la carga positiva puede localizarse en cualquiera de los nitrógenos, lográndose simultáneamente la estabilización energética por la deslocalización de las cargas a lo largo de la cadena. De esta manera se favorece la movilidad de las cargas y se obtiene una alta conductividad eléctrica.

En cambio, la estructura de la Figura 5a, no puede formar estructuras de resonancia debido a la presencia de nitrógenos cuaternarios con hibridación sp^3.

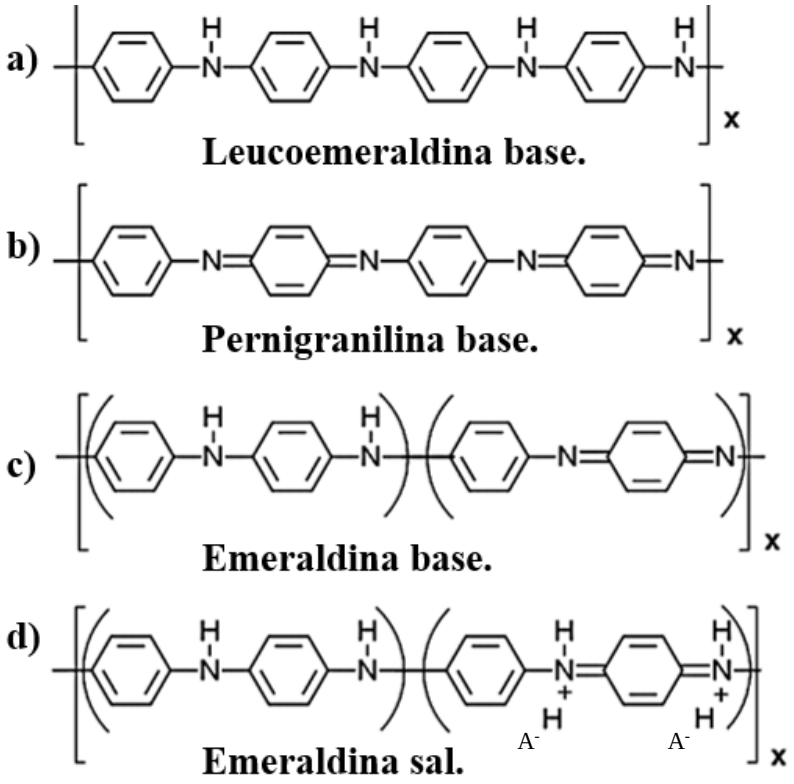

Figura 4. Estados de oxidation de la PANI, a) completamente reducido, leucoemeraldina base, b) completamente oxidado, pernigranilina base, c) mitad oxidado mitad reducido, emeraldina base y d) forma conductora de emeraldina base, emeraldina sal. Adaptado de la referencia [35].

3.2.1 Métodos de síntesis convencionales

La síntesis tradicional de la PANI se realiza a partir del monómero de anilina o alguna sal de anilinio mediante una polimerización oxidativa [24] por dos métodos principalmente: síntesis química y síntesis electroquímica [25].

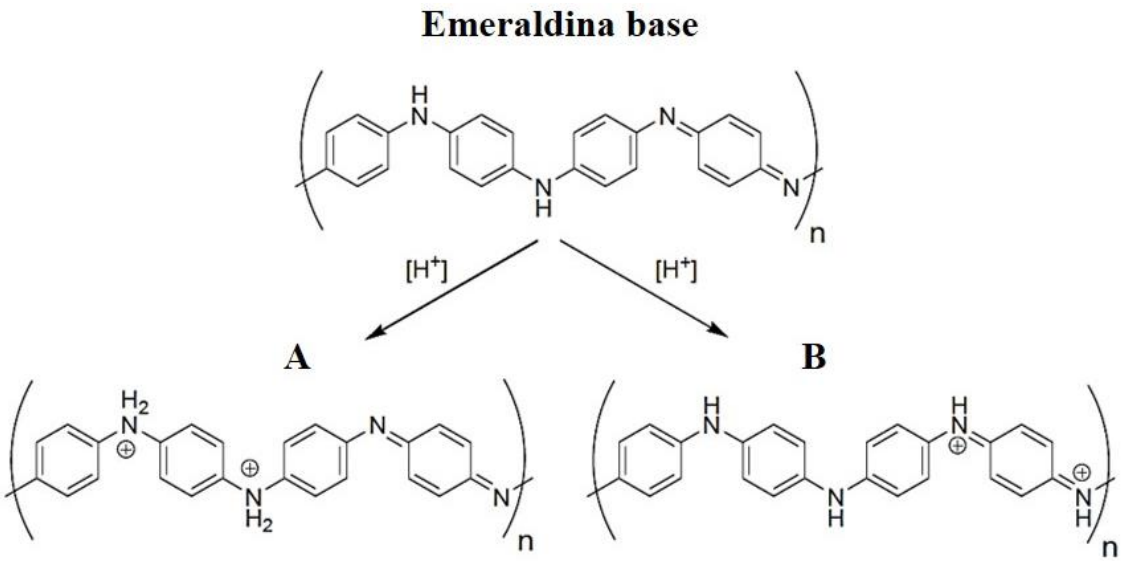

Figura 5. Posibles estructuras de los productos de protonación de la emeraldina base. Adaptado de la referencia [35].

La polimerización química consiste en adicionar una especie oxidante a una solución acuosa en medio ácido de la anilina. El ácido comúnmente utilizado es el HCl, aunque también se han reportado síntesis de este tipo utilizando H_2SO_4 [26], HNO_3 [27] y H_3PO_4 [28]. Este tipo de polimerización admite una gran variedad de agentes oxidantes, el más común es el persulfato de amonio $(NH_4)_2S_2O_8$ (PSA). Alguno de los oxidantes alternativos al PSA son el tricloruro férrico ($FeCl_3$) [29], dicromato de potasio, ($K_2Cr_2O_7$) [30] y el perclorato de cobre ($Cu[ClO_4]_2$) [31], entre otros. La temperatura de reacción tiene un papel muy importante para la obtención de un polímero de alta conductividad. Generalmente, la polimerización se lleva a cabo entre 0 y 5°C [32], dando como resultado un polímero de peso molecular adecuado y con menor número de ramificaciones [12]. Por otro lado, la cantidad de oxidante suele ajustarse estequiométricamente a la cantidad del monómero. Una de las desventajas de este método de síntesis es que el exceso de agente oxidante podría provocar defectos en el material por sobre-oxidación del polímero [33], ocasionando una notable disminución en las propiedades eléctricas y cambios morfológicos en el material [34]. Otra desventaja es la alta fuerza iónica del medio que da origen a un material polimérico altamente insoluble en solución acuosa, que debe ser purificado por lavados sucesivos y filtración para eliminar el exceso de oxidante, monómero sin reaccionar y oligómeros solubles [25], para

obtener el polímero en estado de ES. El tratamiento con una solución amoniacal permite pasar el producto del estado de ES a EB, que se puede volver a redopar posteriormente con una disolución ácida diferente a la utilizada en la síntesis. Una de las ventajas de este método de preparación es el poder variar diversos parámetros, como la temperatura, la concentración de anilina o la naturaleza del medio ácido de reacción, lo que nos permite tener un mayor control sobre las propiedades deseadas en la PANI [35]. Adicionalmente, este método admite su escalado para obtener gran masa del polímero así como la posibilidad de obtención de sistemas coloidales, *latex*, etc.

En la síntesis electroquímica de polianilina, al igual que la polimerización química, la electropolimerización de anilina requiere de soluciones ácidas del monómero pero a diferencia de la primera, la reacción generalmente se lleva a cabo a temperatura ambiente. Se establece un potencial de aproximadamente 1.1 V a través de una solución que contiene electrolito y el monómero de anilina. El crecimiento del polímero se origina en la interfase del electrodo inerte, depositándose en forma de película sobre el electrodo. Los electrodos utilizados son comúnmente de Pt o vidrio conductor, aunque se han reportado síntesis utilizando electrodos de Ag [35], Pd [36], Zn [18], Au [36], carbón vítreo [37] y Pt [38]. Este tipo de polimerización no es útil para obtener grandes cantidades del polímero; sin embargo, su implementación permite la caracterización *in situ* de las películas durante su formación mediante técnicas como elipsometría, FTIR, espectroscopia de absorción ultravioleta y Raman. Las películas producidas se caracterizan por una alta conductividad eléctrica [35] y se consideran limpias químicamente por la ausencia de iniciadores. En este método ocurre una menor formación de subproductos debido a la posibilidad de controlar experimentalmente el potencial electroquímico durante la polimerización. Las películas de PANI por lo general presentan una alta afinidad por el sustrato (electrodo) [25]. La velocidad de polimerización es muy rápida, pocos segundos después de iniciado el flujo de corriente anódico, se observa el recubrimiento del electrodo de la película negra de PANI. Una de las ventajas de la polimerización electroquímica con respecto a la síntesis química es que al depositarse el polímero formado sobre el electrodo, es más sencillo separarlo al sacar el electrodo de la solución de reacción, sin necesidad de purificación [39]. Entre las diferentes técnicas de síntesis electroquímica, los métodos más comúnmente empleados para la polimerización de la anilina son el de corriente constante o galvanostático, de potencial

constante o potenciostático y el potencial de barrido o métodos de barrido cíclico [25]. Dentro de estos métodos, la voltametría cíclica (VC) es el uno de los más utilizados para llevar a cabo la formación del polímero. Esta técnica es preferida sobre las demás ya que su barrido triangular permite el estudio de los procesos de óxido-reducción, las propiedades electrocatalíticas y el mecanismo de formación del material [40], conduciendo a depósitos homogéneos sobre los electrodos [41].

3.2.2 Mecanismo de polimerización

La polimerización química o electroquímica de la anilina procede en pasos, mediante una polimerización radicálica-catiónica. Las primeras etapas de oxidación son comunes para ambos procedimientos, la diferencia entre los métodos está en los productos iniciales que dan paso a la propagación de la cadena y posterior formación de productos [42].

El primer paso más probable corresponde, en ambos casos, a la oxidación del monómero para formar un radical catiónico por transferencia de electrones desde el nivel de energía *2s* del átomo de nitrógeno, tal como se muestra en la Figura 6a [12]. Este paso se favorece en medio ácido, aunque se ha reportado también en medios alcalinos [25]. Se considera el paso lento de la reacción, debido a que el potencial de oxidación de la anilina es mayor que el de los dímeros, que subsecuentemente formarán oligómeros y el polímero [42].

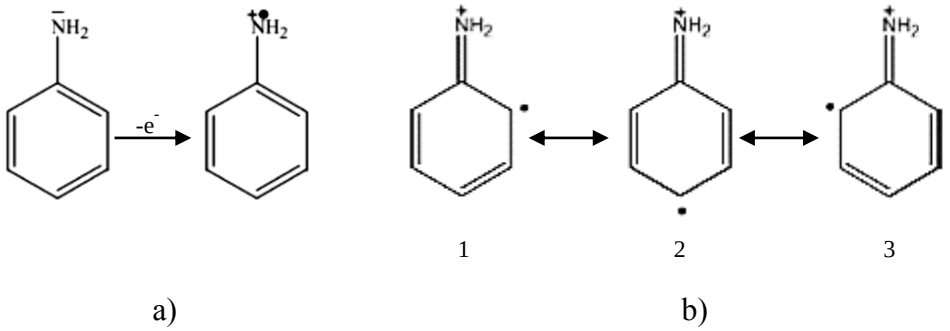

Figura 6. Radical catiónico de anilina (anilinio), a) formación, b) estructuras de resonancia. Adaptada de la referencia [12].

El radical-catiónico se encuentra estabilizado por la deslocalización electrónica del anillo, presentando las 3 estructuras de resonancia que se muestran en la Figura. 6b. Entre estas tres formas de resonancia, la forma 2 es la más reactiva por el efecto inductivo del sustituyente y por la ausencia de impedimento estérico [43]. En medio ácido, el siguiente paso es la reacción entre el radical catiónico y la forma de resonancia 2, formándose la especie aminodifenilamina (ADPA), dímero dicatiónico resultante de la reacción cabeza-cola por acoplamiento de los radicales [44]. En este dímero se produce un proceso de re-aromatización que lo lleva a su estado neutro, produciendo un intermediario denominado *p*-aminodifenilamina (PADPA). El proceso descrito está acompañado por la eliminación de dos protones [43]. Tras la formación de los dímeros, estos son inmediatamente oxidados para formar un nuevo radical catiónico, este radical reacciona con un monómero radical catiónico de anilina o con el dímero radical-catiónico, a través de una sustitución electrofílica aromática, seguida de la posterior desprotonación y oxidación. De esta manera, se forma un trímero o un tetrámero de acuerdo con el mecanismo propuesto anteriormente, que continúa hasta la formación de la cadena del polímero (Figura 7).

3.2.3 Métodos de síntesis de estructuras nanométricas

En el área de la Nanociencia, se ha reportado la preparación a escala nanométrica de una gran variedad de materiales inorgánicos con diferentes geometrías y tamaños. Recientemente, dentro del campo de los ICP, se ha reportado que bajo ciertas condiciones en el proceso de oxidación química de la anilina es posible producir una amplia gama de estructuras de PANI con dimensiones en el orden micro y nanométrico [45,46]. Mientras que en los materiales inorgánicos la síntesis a nanoescala se controla de manera cinética por la estructura cristalina, en los materiales orgánicos como es el caso de los polímeros conductores que no poseen una estructura cristalina definida, la formación de material se basa principalmente en un mecanismo de auto-ensamblaje mediante interacciones intermoleculares para inducir la formación de geometrías definidas [45]. Los procesos para la síntesis de nanoestructuras de PANI se pueden clasificar en dos categorías; aquellos que dependen de plantillas o aditivos externos para dirigir un crecimiento nanoestructurado y los que no se basan en plantillas externas [45]. El primer proceso implica la introducción de un agente externo que no es inherente al producto para dirigir el crecimiento anisotrópico del

polímero. Este agente puede ser una plantilla rígida con características preformadas a nanoescala o una plantilla suave, la cual típicamente consiste en un agregado de moléculas anfifílicas en forma de micela que según su geometría puede guiar el crecimiento del polímero en su interior o exterior. Las rutas que no utilizan plantillas, se basan en la predisposición del material a auto-ensamblarse en morfologías definidas para la formación de materiales a nanoescala [46].

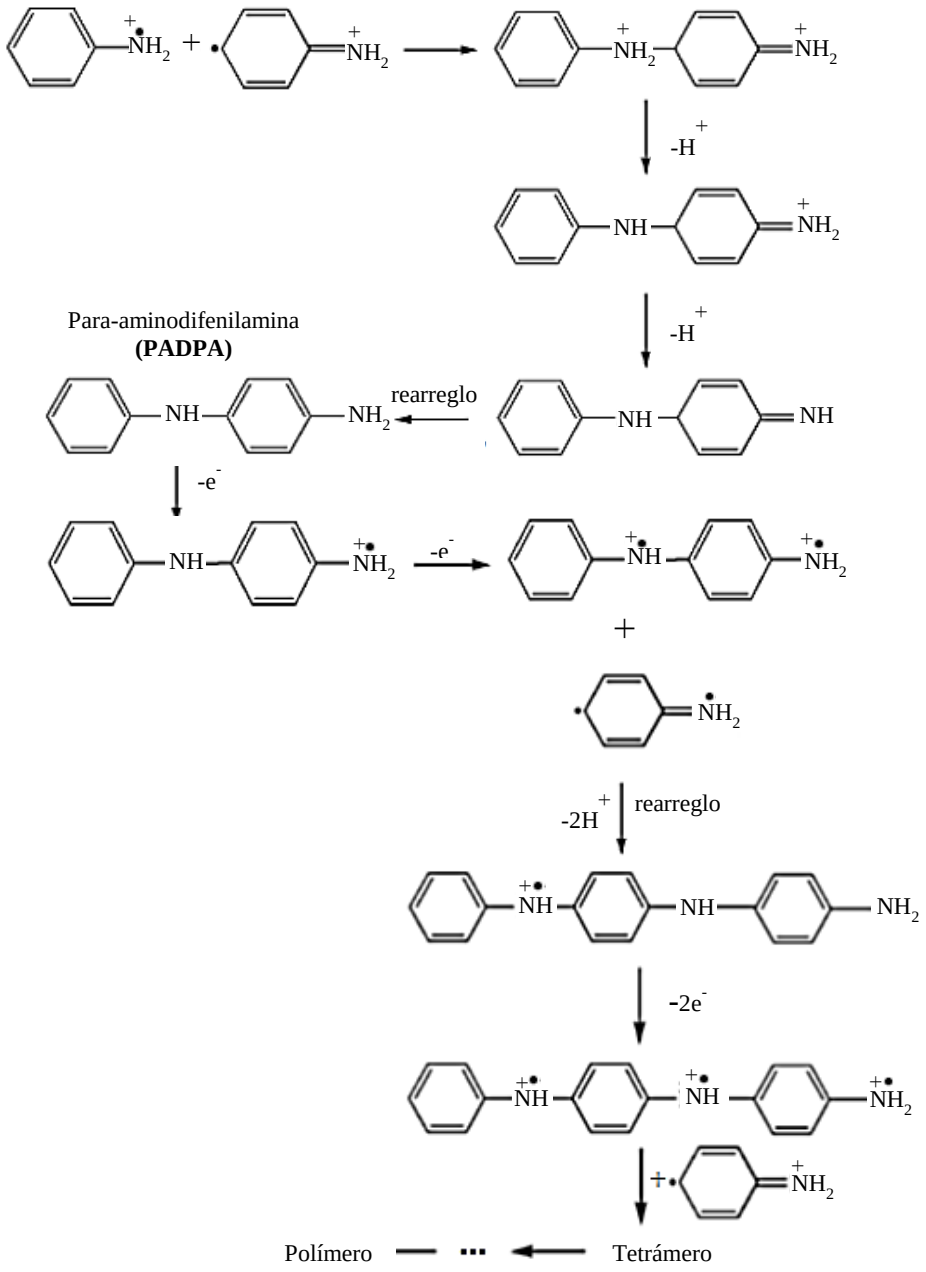

Figura 7. Mecanismo de polimérisacion de polianilina. Adaptada de la referencia [43].

3.2.3.1 Uso de plantilla rígida

Consiste en el crecimiento de un material dentro de una membrana porosa con tamaños de poro de dimensiones nanométricas bien definidas. El procedimiento se inicia con el llenado de los poros con el monómero de anilina, seguido de la polimerización del monómero dentro del poro y la posterior eliminación de la plantilla para el aislamiento del polímero. Las plantillas de alúmina con tamaños de poro de hasta 5 nm se han utilizado para la síntesis a nanoescala de la PANI [47]. Para la adición del monómero dentro de los poros de la membrana existen diferentes métodos, como la aplicación de presión negativa, la deposición en fase de vapor, la inyección en fase líquida o simplemente sumergir la membrana dentro de la solución del monómero. Una vez dentro el monómero de los poros, la polimerización se puede llevar a cabo por la adición de un agente oxidante o por polimerización electroquímica, para posteriormente ser retirado el polímero de la plantilla durante el proceso de purificación. Con este tipo de técnica podemos sintetizar nanocables o nanotubos, simplemente variando la concentración del monómero, el tiempo de reacción o el potencial aplicado. La fabricación de los nanotubos se favorece cuando hay un suministro insuficiente del monómero y se presentan condiciones para la polimerización rápida. La obtención de nanocables sólidos se produce cuando hay monómero suficiente y condiciones que favorezcan que la polimerización sea más lenta. Estos resultados se explican basados en el efecto de la difusión del monómero. En la síntesis de nanotubos, el monómero se absorbe en las paredes de los poros, ya que la reacción ocurre rápidamente. En la síntesis de nanocables, debido a que la concentración de monómero es alta y la reacción más lenta, hay tiempo suficiente para que los monómeros se difundan dentro de los poros para producir nanoestructuras sólidas [48].

3.2.3.2 Uso de plantilla suave

Las moléculas auto-ensambladas que forman una mesofase constituyen otra clase de plantillas también utilizadas para la generación de nanofibras/nanotubos de PANI. Esta técnica es muy versátil ya que se puede utilizar una amplia variedad de plantillas. Este tipo de plantilla generalmente se encuentra constituida por tensoactivos auto-ensamblados en estructuras micelares, cuando su concentración supera la concentración crítica micelar.

Micelas anisotrópicas, como el caso de micelas cilíndricas, se pueden formar al alcanzar una segunda concentración micelar crítica [49]. Estas estructuras anisótropicas a nanoescala pueden servir como andamios para el crecimiento de la PANI con el fin de producir nanoestructuras en una dimensión (1D). Una vez formadas las nanoestructuras, para obtener el polímero puro se requiere eliminar el surfactante.

Algunos de los tensoactivos más utilizados para la síntesis de nanoestructuras de PANI son de tipo catiónico como el bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB), sales de amonio cuaternario [50] y el bromuro de hexadeciltrimetilamonio ($C_{16}TMA$) [51]. Cuando se mezcla el $C_{16}TMA$, el ácido acético y la anilina a temperaturas por debajo de 0°C, se forma un gel compuesto por superestructuras de $C_{16}TMA$/anilina que direccionan el crecimiento de la PANI en nanoestructuras 1D [52]. El control de la baja temperatura es muy importante ya que a temperatura ambiente se producen agregados de las nanoestructuras. La subsecuente adición de oxidante produce nanofibras de PANI con diámetros entre 60 y 90 nm y longitudes mayores a 1µm.

3.2.3.3 Crecimiento de nanoetructuras de PANI sin uso de plantillas

La fabricación de nanofibras o nanotubos de PANI también se puede llevar a cabo en ausencia de cualquier plantilla externa, rígida o suave. Este proceso se basa en el hecho de que los polímeros conjugados tienen una fuerte predisposición a crecer preferentemente en una dirección, se considera como un proceso de auto-ensamblaje que implica la adición de moléculas para el crecimiento del polímero. Una de las ventajas de este método radica en que no se requieren aditivos externos como los tensoactivos, por lo cual el proceso de síntesis y purificación del polímero es más simple que en el caso de usar plantillas externas.

El uso de dopantes para la producción de nanoestructuras de PANI es una técnica que comúnmente se conoce como libre de plantilla o auto-plantilla. Comparada con la técnica de plantilla suave, en la técnica libre de plantilla la molécula que se asocia al monómero precursor funciona como agente dopante, por lo que no necesita ser removida del polímero al término de la reacción, si se requiere la PANI en estado conductor [53]. En este sentido, una gran variedad de agentes dopantes se han utilizado en la síntesis de nanofibras y

nanotubos de PANI; por ejemplo, se ha polimerizado anilina en presencia del ácido sulfónico β-naftaleno para la obtención de nanotubos y nanofibras con diámetros entre 76 y 650 nm, dependiendo de la relación de ácido/monómero utilizada en la reacción [53]. Se plantea que el mecanismo se basa en la formación de una sal entre la anilina y el dopante al inicio de la síntesis, la cual sirve como semilla para la formación de nanoestructuras 1D, de una manera muy similar a la que los surfactantes micelares actúan como plantilla para la formación de materiales mesoporosos. Dado que este método omite el uso de una plantilla, la capacidad de controlar la morfología y el diámetro de las nanoestructuras auto-ensambladas es pobre, en comparación con los otros métodos que sí la utilizan. Sin embargo, se ha encontrado que la morfología y el diámetro de las micro/nanoestructuras poliméricas sintetizadas por este método se ven fuertemente afectados por la naturaleza del monómero, dopante y agente oxidante, así como por las condiciones de reacción (concentraciones y relaciones molares dopante:oxidante:monómero, temperatura, tiempo de reacción, intensidad de agitación, etc). [54]. Estos parámetros pueden ser utilizados para controlar la morfología y el diámetro de las micro/nanoestructuras 1D; por ejemplo, una geometría de microesferas huecas cambia a nanotubos variando la temperatura de polimerización [55] o la relación molar dopante:anilina [56]. Por otro lado, se ha visto que el diámetro de las nanoestructuras 1D puede ser controlado por el potencial redox del agente oxidante utilizado, obteniéndose menores diámetros al disminuir el potencial [57]. Otro parámetro que puede utilizarse para el control del diámetro de las nanoestructuras de PANI es el tamaño de la molécula del dopante; se ha encontrado que entre mayor tamaño posea el dopante, mayor será el diámetro de la nanoestructura. Se ha reportado también que el diámetro aumenta con la concentración del dopante y el aumento de la relación molar anilina:dopante [56].

3.2.4 Propiedades

Una de las propiedades más destacables de la PANI es su gran estabilidad térmica, la cual es superior a la de otros ICP [21]. En atmósfera inerte, la PANI en forma de EB y ES, presenta poca o ninguna degradación hasta cerca de los 400°C y en atmósfera oxidante, se encuentran pérdidas de masa significativas hasta después de los 300°C. Es importante mencionar que el comportamiento de la ES puede variar en función de la naturaleza de la especie dopante, cuya degradación puede ocurrir a temperaturas más bajas que la degradación

de las cadenas poliméricas de la PANI, particularmente en el caso de ácidos orgánicos donde se ha encontrado que la molécula dopante se degrada completamente, incluso antes de que inicie la degradación de las cadenas de la PANI [58]. Otra propiedad importante de la PANI es su alta conductividad eléctrica en el estado de ES. Lo anterior se atribuye a la alta movilidad de los transportadores de carga en el esqueleto polimérico, como ya se discutió anteriormente [59]. Es posible alternar entre su estado conductor y la forma aislante mediante un proceso de óxido-reducción [60]. Las medidas de conductividad de la PANI en su estado dopado varían entre 10^{-3} hasta 10^{3} $S \cdot cm^{-1}$. Esta variación en las medidas de conductividad dependen en gran medida de la naturaleza de la especie dopante, la morfología del polímero así como de las condiciones de reacción, como la temperatura, relaciones molares de monómero:oxidante [61].

Las aplicaciones potenciales de la PANI en el área biomédica ha motivado la evaluación de su biocompatibilidad y biodegradabilidad. Se ha evidenciado que estas propiedades dependen, entre otros factores, de su método de síntesis, grado de purificación y naturaleza del dopante incorporado a la cadena polimérica. En el 2012, P. Humpolicek *et al.* evaluaron el efecto de la PANI en forma de EB y como sal hidroclórica en términos de irritabilidad de la piel, sensibilización y citotoxicidad, realizado estudios en queratinocitos humanos inmortalizados por genes no tumorales y líneas celulares de carcinoma hepatocelular humano. La prueba se llevó a cabo con extractos en polvos de la PANI de acuerdo con los requisitos de las normas internacionales aplicables para la prueba de dispositivos médicos, por lo que estos resultados pueden ser generales para todo tipo de materiales y dispositivos que contengan PANI en varias concentraciones. Los estudios confirmaron que la PANI no indujo ningún tipo de sensibilización e irritación de la piel durante un lapso de 72 h. En contraste, ambas formas de PANI mostraron considerable citotoxicidad en ambas líneas celulares, la cual fue mayor para la PANI dopada con HCl en comparación a la EB. La razón de las diferencias entre la citotoxicidad de clorhidrato de PANI y la EB se atribuyó al efecto negativo de los iones cloruro sobre la viabilidad celular. Los autores lograron reducir la citotoxicidad mediante un procedimiento de purificación del polímero, lo que les permitió concluir que el efecto negativo encontrado en las muestras sobre la viabilidad celular está determinado por la presencia de subproductos de reacción, oligómeros y el agente dopante, más que por efecto directo del polímero [62].

Bidez *et al.* estudiaron la adhesión y proliferación de mioblastos cardíacos H9c2 en películas de PANI conductoras y no conductoras, encontrando que ambos sustratos eran biocompatibles con las células, las cuales se podían adherir fácilmente y proliferar formando monocapas confluentes cubriendo toda la superficie de la película de PANI después de 6 días [63]. En este sentido E. Nazarzadeh Zare *et al.*, en el 201, estudiaron la biodegradación *in vitro* de materiales compuestos de PANI/dextrina, así como su actividad antioxidante. Los resultados mostraron que la actividad antioxidante de los nanocompuestos se mejoró al incrementar el contenido de PANI. El estudio de biodegradación del nanocompuesto con diferentes relaciones en masa mostró que este material era biodegradable en un intervalo del 30 al 74% [64]. Otra de las propiedades que ha sido estudiada sobre este polímero es su actividad antibacterial. En el 2013, Zdenka Kucekova *et al.* evaluaron las propiedades antiproliferativas de bacterias expuestas a películas de PANI y PANI/Ag, usando *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Los autores evaluaron películas de PANI en estado ES y EB, encontrando que la forma conductora del polímero era más eficiente en cuanto a inhibición de la actividad bacteriana, ya que afectaba el crecimiento tanto de bacterias Gram positivas como Gram negativas [65].

3.2.5 Aplicaciones

La PANI se considera uno de los ICP más estudiados debido a su gama de aplicaciones en campos multidisciplinarios. Debido a su alta conductividad eléctrica y adecuada estabilidad ambiental, se ha implementado como adhesivo conductor para aplicaciones electrónicas [66], como conductor en circuitos electrónicos [67], en la fabricación de tintas y pinturas conductoras, para mejorar el funcionamiento de aparatos electrónicos como pantallas, antenas, electrodomésticos y controles internos de audio [68, 69]. Aprovechando la reversibilidad de sus procesos *redox* y las propiedades electrocrómicas de la PANI se han propuesto para ventanas o películas transparentes, tomando en cuenta que su estado de leucoemeraldina es de color claro y el de pernigranilina, de color oscuro [70].Las propiedades semiconductoras de la PANI también han permitido su aplicación en transistores de efecto de campo [61] y en diodos de emisores de luz orgánicos (OLED) [71]. Los cambios en las propiedades eléctricas y ópticas que experimenta la PANI por exposición a ácidos,

bases y algunos vapores o líquidos neutros, ha permitido el desarrollo de sensores de NH_3, CO_2, NO_2, CO, Cl_2, O_3, entre otros sistemas de sensibilidad [72].

3.2.5.1 Aplicaciones en el área biomédica

Las propiedades encontradas en la PANI de biocompatibilidad, biodegradabilidad y poder antiproliferativo ante bacterias patógenas, aunado a su capacidad de conjugación con moléculas biológicamente activas, han permitido su implementación en biosensores enzimáticos para la detección de triglicéridos [73], soporte para la inmovilización de enzimas [74], sistemas de liberación controlada de medicamentos [75], ingeniería de tejidos [76], músculos artificiales [77], crecimiento y regeneración nerviosa [75]. Por otro lado, los cambios volumétricos reversibles que experimenta la PANI bajo pulsos eléctricos controlados se han utilizado en la fabricación de actuadores [78], entre otras aplicaciones en el campo biomédico [79].

3.3 Hidrogeles

Un gel se puede definir como una red tridimensional de cadena flexible, constituida por segmentos que se conectan de una determinada manera y que se encuentra hinchada por un líquido. Si el líquido que lo solvata es un líquido orgánico recibe el nombre de organogel, mientras que si ese líquido es agua se denomina hidrogel. Los hidrogeles están constituidos generalmente por polímeros de origen natural o sintético, que se entrecruzan para formar una retícula que al contacto con agua o fluidos biológicos, se hincha formando materiales blandos y elásticos [80]. Estos sistemas aumentan considerablemente su volumen, manteniendo su forma hasta alcanzar el equilibrio físico-químico [81]. En estado deshidratado reciben el nombre de xerogel [82]. Las características de estos materiales son consecuencia de los siguientes factores:

- Su carácter hidrofílico se debe a la presencia en su estructura de grupos polares como -OH, -COOH, $-CONH_2$, -CONH, $-SO_3H$.
- No se disuelven en agua debido a la red polimérica tridimensional que forma su estructura. El entrecruzamiento en los hidrogeles se puede generar mediante uniones

covalentes y fuerzas intermoleculares como puentes de hidrógeno, van der Waals, electrostáticas (atractivas o repulsivas), hidrofóbicas, iónicas, entre otras [].

- Su consistencia suave y elástica, está determinada por el monómero hidrófilo de partida y la baja densidad de entrecruzamiento del polímero.
- El aumento considerable en su volumen ocurre por el hinchamiento al contacto con agua o cualquier fluido biológico, hasta alcanzar un equilibrio físico-químico, sin perder su geometría original [84, 85].
- El estado de equilibrio del hidrogel hinchado es el resultado del balance entre las fuerzas osmóticas, originadas por el agua al entrar a la red macromolecular y las fuerzas cohesivas que mantienen unidas a las cadenas poliméricas y que se oponen a esta expansión [85].
- El grado, la naturaleza del entrecruzamiento y la cristalinidad del polímero son responsables de las características del hidrogel en el estado hinchado [80].

Existen dos tipos de geles, en función de la naturaleza de las uniones de la red tridimensional que los constituyen:

- **Geles físicos:** Están formado por una red tridimensional con uniones asociadas a un enlace no covalente reversible, generalmente del tipo van der Waals o puentes de hidrógeno, las cuales son mucho más débiles que las uniones covalentes [84, 85].

- **Geles químicos:** Su red polimérica está formada por enlaces covalentes cuya ruptura implica la degradación del gel. Por tanto, los geles químicos no son reversibles con la temperatura a diferencia de los geles físicos [84].

En lo que respecta al hinchamiento, la diferencia esencial entre los geles químicos y los físicos radica en que en los primeros, la entrada de agua a la estructura polimérica no es capaz de separar las cadenas por estar unidas covalentemente, a diferencia de lo que ocurre en los geles físicos, donde el mecanismo de solvatación puede llegar a desconectar las cadenas a medida que se introduce el agua a la red macromolecular.

Los hidrogeles también pueden clasificarse en función de sus propiedades [85]. Según la naturaleza de sus grupos laterales pueden ser neutros o iónicos, por sus características mecánicas y estructurales se clasifican como redes afines o redes fantasmas, así como

dependiendo del método de preparación pueden ser redes homopoliméricas, copoliméricas, multipoliméricas, interpenetradas (IPN) o semi-interpenetradas (semi-IPN).

Las redes IPN se definen como la combinación de dos redes poliméricas químicamente diferentes, de las cuales al menos una de ellas es sintetizada y/o entrecruzada en presencia de la otra, sin que se formen enlaces covalentes entre ambos polímeros. Por otro lado, en las redes semi-IPN, uno de los polímeros no se entrecruza químicamente, solo se encuentra en forma de cadenas lineales incluido en el enramado de la red formada por el otro polímero [86].

Tomando en cuenta la estructura física de la red polimérica, los hidrogeles se pueden clasificar como semicristalinos, estructuras por puente de hidrógeno y agregados hidrocoloidales. Se les denomina hidrogeles fisiológicamente sensibles, si presentan un comportamiento dependiente de factores externos como el pH, la temperatura, el campo eléctrico, entre otros [87]. Los hidrogeles sensibles a un campo eléctrico son de gran interés en la actualidad por su gran número de aplicaciones. En el área de la farmacéutica, estos materiales se han implementado para la liberación controlada de medicamentos. En el 2011, T. Sheng Tsai *et al.* prepararon hidrogeles electroconductores a partir de alcohol de polivinilo entrecruzado con dietil acetamido-malonato, utilizando PANI como componente conductor. El sistema compuesto se evaluó para la liberación acumulativa tipo ON-OFF de indometacina mediante control eléctrico. Estos dispositivos mostraron una eficiencia de alrededor del 70% [88].

3.3.1 Métodos de preparación

Existen diferentes métodos de preparación para las redes poliméricas; pero todos parten de la reacción de polimerización de un monómero en presencia de solvente adecuado, usando un iniciador para la formación de las cadenas macromoleculares y un agente de entrecruzamiento, que va a ser el responsable de la estructura reticulada del gel [84, 89].

Los hidrogeles se sintetizan típicamente mediante alguno de estos procedimientos generales:

- Polimerización de un monómero hidrofilico con entrecruzamiento simultáneo o vía pos-polimerización.
- Modificación del carácter hidrofilico de un polímero con potencialidad para formar un hidrogel.
- Hinchamiento de una estructura entrecruzada del primer polímero en agua o fluidos biológicos que contenga grandes cantidades del segundo polímero.

Para la formación de redes interpenetradas podemos mencionar los siguientes métodos:

- Polimerización por interpenetración secuencial (IPN): El monómero 1 es combinado con un agente de entrecruzamiento e iniciador para formar la primera red, esta es hinchada en presencia del monómero 2 con su respectivo agente de entrecruzamiento e iniciador para formar la segunda red.
- Redes interpenetradas simultáneamente (SIN): Para formar este tipo de red se combinan dos monómeros o más, cada uno con su respectivo agente de entrecruzamiento e iniciador. La polimerización ocurre de manera independiente, en masa, solución o dispersión.
- Redes poliméricas semi-interpenetradas (semi-IPN): La formación de esta red ocurre cuando se combinan un monómero con su respectivo agente de entrecruzamiento y un polímero lineal el cual al formarse la red polimérica queda atrapado en ella [85, 90].

Existen varios métodos para inducir el entrecruzamiento como la radiación de emisión de electrones, rayos γ, rayos-X o luz ultravioleta para excitar el polímero y producir la estructura entrecruzada [83]. En otros casos, el entrecruzamiento se logra mediante reacciones químicas, en las que durante la polimerización o copolimerización se usa un agente entrecruzante. Este agente entrecruzante puede ser un monómero multifuncional que posee grupos reactivos en su estructura (usualmente se utilizan bifuncionales o tetrafuncionales) para enlazarse simultáneamente a 2 o más cadenas principales [83-85].

El grado de entrecruzamiento determina la capacidad de hinchamiento, la resistencia mecánica del polímero y el tamaño de poro del material. Generalmente, a medida que

aumenta la densidad de entrecruzamiento, disminuye el tamaño de poro. La densidad de entrecruzamiento es el resultado del número promedio de unidades de monómeros repetidas entre nudos [84, 86].

3.3.2 Aplicaciones en el área biomédica

Las propiedades antes mencionadas de los hidrogeles han permitido que estos sistemas sean utilizados en aplicaciones biomédicas que incluyen biosensores, sistemas de administración de fármacos [91], lentes de contacto, catéteres, apósitos de herida, entre otros [92]. Uno de los usos de mayor interés actual es como matrices para la inmovilización y estabilización de enzimas [93, 94]. Este interés ha llevado a su implementación en sistemas de biorreconocimiento mediante transducción conductométrica, amperométrica y óptica [95]. Debido a su alto contenido de agua y a su distribución estructural, podemos encontrar aplicaciones como micro-bioreactores para la captación y estabilización de las moléculas biológicas y un alto control de las reacciones biológicas [96]. En este sentido, los hidrogeles han sido utilizados como películas bioactivas para albergar varias formas de anticuerpos, así como confeccionar *biochips* de ADN [97, 98]. Su disposición a cambiar de volumen y forma, dependiendo de la composición del disolvente, temperatura, pH y campo eléctrico, ha permitido su uso en sistemas microelectromecánicos (MEMS) y músculos artificiales. La presencia de un alto contenidos de agua y módulos elásticos muy similares a los tejidos del cuerpo humano y propiedades de biocompatibilidad *in vitro* e *in viv,* ha permitido su aplicacion en ingeniería genética [99].

3.3.3 Hidrogeles de poliacrilamida (PAAm)

La PAAm está formada por unidades repetitivas de acrilamida (AAm), la cual es soluble en solventes polares entre los que se encuentran acetona, acetonitrilo y agua. La acrilamida posee principalmente dos grupos funcionales, uno es el grupo amina y el segundo, un grupo vinílico [87]. Los polímeros a base de acrilamida y sus derivados son conocidos por su fuerte carácter hidrofílico que conservan cuando son reticulados, lo que les permite absorber grandes volúmenes de agua. Se considera inerte frente a medios biológicos lo que la hace apta para un gran número de aplicaciones en el área médica y la industria

farmacéutica, como por ejemplo, la fabricación de lentes de contacto, pañales ultra-absorbentes y sistemas de liberación controlada de fármacos [100].

En 1999, Fernández *et al.* evaluaron las propiedades de hidrogeles de PAAm para ser utilizados como sensores de glucosa [101]. Una de las aplicaciones más usuales de hidrogeles de PAAm es en electroforesis, para el análisis y/o separación de fragmentos de aminoácidos o nucleótidos, en función de sus cargas eléctricas o tamaños moleculares [102].

Los hidrogeles de PAAm se sintetizan mediante una polimerización vinílica del monómero AAm y del monómero entrecruzador N,N´-metilen-*bis*-acrilamida (BisAAm). La polimerización se inicia con la formación de radicales libres a partir de los monómeros por la acción de los iones persulfato. Las aminas terciarias como la N,N,N',N'-tetrametiletilendiamina (TEMED) se emplean para dar origen a la reacción, mediante la formación de radicales libres del persulfato, que son los que atacan los dobles enlaces del monómero de acrilamida y *bis*-acrilamida. La concentración de *bis*-acrilamida determina el grado de entrecruzamiento que presentará el gel [102]. En la Figura 8 se muestra un esquema del mecanismo de reacción de la formación de hidrogeles de PAAm.

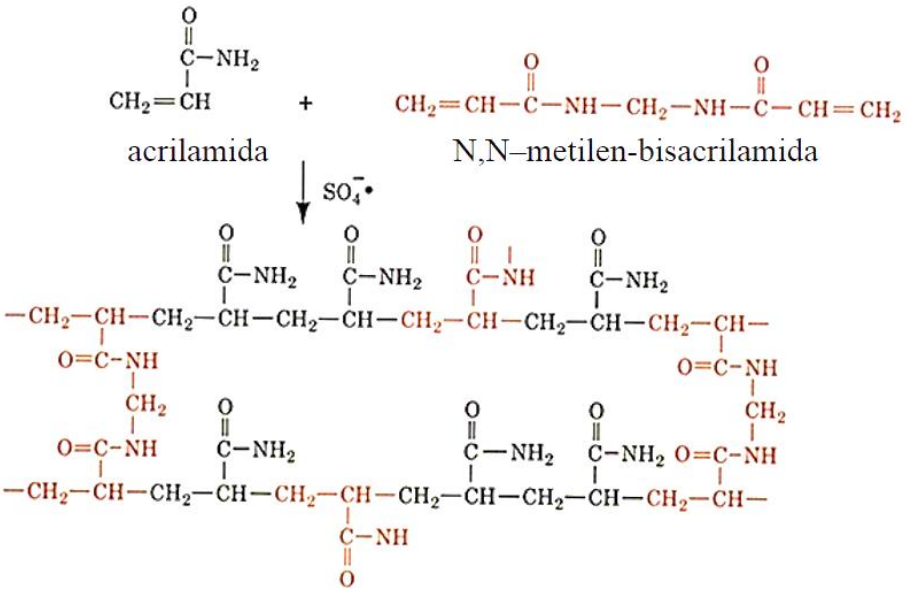

Figura 8. Mecanismo de reacción en la formación de hidrogeles de PAAm. Adaptada de la referencia [102].

3.4 Hidrogeles compuestos electroconductores

Los hidrogeles electroconductores (ECHs, por sus siglas en inglés) son mezclas o redes poliméricas que combinan ICP con una matriz polimérica reticulada altamente hidrofilica [103]. Estos materiales poliméricos presentan una combinación de las propiedades de sus constituyentes. La fase hidrogel imparte un alto grado de hidratación, capacidad de hinchamiento *in vitro* e *in vivo*, biocompatibilidad y alta difusividad de pequeñas moléculas. El polímero electroactivo aporta propiedades de conducción eléctrica, actividad electroquímica, así como características eléctricas selectivas que se aplican en "sistemas de liberación ON-OFF" [104]. Ambos componentes poliméricos son sensibles a estímulos externos y cada uno de manera individual es candidato para aplicaciones sensoriales. Con su combinación se pueden obtener excelentes propiedades para aplicaciones en ingeniería molecular, sintetizando híbridos con propiedades biológicamente relevantes mediante copolimerizacion, reticulación y/o injerto. La síntesis de estas redes es difícil de controlar y es uno de los parámetros que define las propiedades finales del material como la morfología y la conformación nanoestructurada [105].

Los ECHs están dentro de la clasificación de los llamados materiales inteligentes multifuncionales, que son capaces de reconocer un estímulo externo y proporcionar una respuesta acorde a la señal recibida. Estos materiales se han usado en la fabricación de biosensores [106] y poseen potencialidad para su implementación en dispositivos de liberación controlada por estimulación eléctrica, así como en la generación de actuadores mecánicos. Su practicidad está determinada por la posibilidad de prepararlos en diferentes geometrías y tamaños, lo que resulta difícil de lograr mediante los métodos de polimerización en gel o es limitada en términos de procesamiento posterior del material, de aquí la importancia de trabajar en la síntesis de este tipo de materiales [105].

3.4.1 Métodos de preparación

Los ECHs se pueden sintetizar por dos métodos; en el primero, el hidrogel puede ser el componente dominante o continuo dentro del cual el precursor del ICP se polimeriza. Alternativamente, el ICP puede ser el componente dominante o continúo y el hidrogel formarse dentro de este [107]. La primera ruta es la más común. En la Figura 9 se muestra

un esquema general de la preparación según la primera ruta. La síntesis del ICP se puede llevar a cabo mediante la polimerización química oxidativa y la electroquímica. En ambos casos, la solución inicial puede contener el precursor del ICP y aquellos del hidrogel, con sus respectivos iniciadores o en ausencia de este último cuando se utiliza radiación para las reacciones. Alternativamente, se puede sintetizar la red polimérica para seguidamente adicionar el precursor del ICP. La mezcla resultante puede ser conformada en películas, microesferas, hilado como fibras u otras geometrías [108].

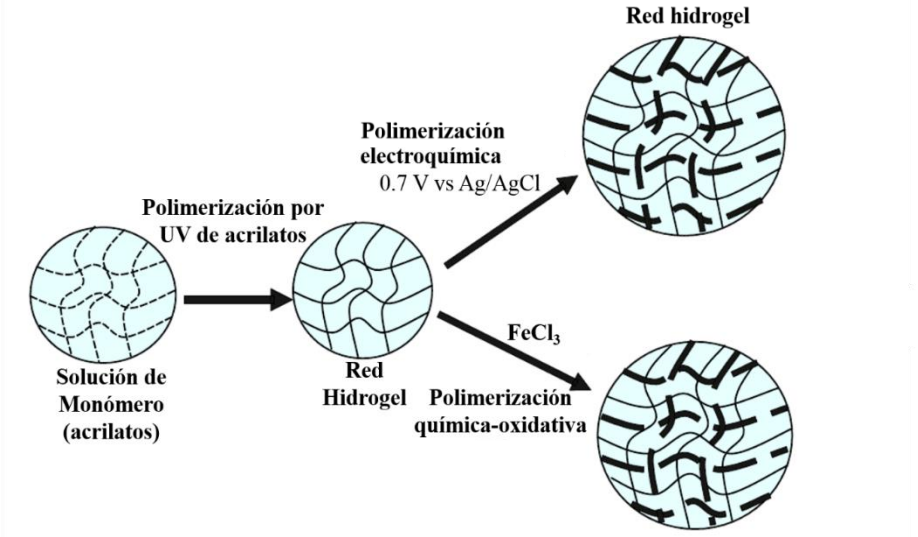

Figura 9. Esquema general de la preparación de hidrogeles electroconductores. Adaptada de la referencia [109].

La polimerización química oxidativa no requiere de un electrodo de soporte y puede proceder cuando el hidrogel (fibra, película o microesferas) se sumerge en una solución que contenga el agente iniciador oxidante, como $FeCl_3$ o $(NH_4)_2S_2O_8$. En la polimerización electroquímica se requiere el contacto de la matriz del hidrogel con un electrodo metálico o semiconductor para la aplicación de un potencial adecuado. En ambos casos, la solución puede contener monómero libre en exceso que puede o no estar equilibrado con el monómero electroactivo atrapado dentro del hidrogel.

3.5 Sistemas de liberación controlada

Uno de los principales problemas del suministro convencional de medicamentos es que el fármaco se distribuye en el organismo según sus propiedades físicas (solubilidad,

coeficiente de partición y carga), alcanzando sitios en los cuales se encuentra fuera de su intervalo terapéutico, es inactivo o su acción es nociva, ocasionando efectos secundarios [110]. En este sentido, los sistemas de liberación controlada (SLC) proporcionan algún tipo de control para mantener la concentración terapéutica estable del fármaco en el organismo, eliminando o minimizando los efectos secundarios ocasionados por la variación de la concentración del medicamento en sangre. Estos dispositivos pueden ser diseñados para que no liberen el agente activo hasta que se encuentren en un ambiente biológico apropiado (pH, temperatura, unión con algún receptor, etc) o reciban alguna estimulación externa como la aplicación de un impulso eléctrico.

En la administración convencional de fármacos, la concentración aumenta hasta un valor máximo, disminuyendo posteriormente debido a la excreción y metabolización por el organismo. Para conseguir un nivel terapéutico efectivo durante tiempos prolongados, se administra una dosis alta del fármaco que no alcance la concentración mínima tóxica o se realiza una dosificación periódica del fármaco a intervalos cortos de tiempo, este último procedimiento resulta impracticable en muchos casos. La implementación de sistemas poliméricos para liberación controlada ofrece una atractiva alternativa para conseguir niveles constantes del fármaco en el organismo [83], mientras que muchas formulaciones deben ser inyectadas o ingeridas, los sistemas poliméricos pueden ser adheridos externamente a la piel, lo que ha permitido nuevas rutas de administración de medicamentos, representando un avance en la industria farmacéutica [110].

3.5.1 Mecanismos de liberación

Los SLC pueden ser controlados por mecanismos físicos o químico. Los métodos físicos se clasifican en dos grupos, los controlados por difusión y los controlados por hinchamiento.

SLC por difusión: el control de la cantidad de principio activo que llega a la zona de aplicación se realiza a través de fenómenos difusionales asociados a la estructura molecular del polímero o a través de macro o microporos en el sistema polimérico. Frecuentemente se utilizan una combinación de estos dos mecanismos para controlar la liberación. Este sistema puede ser de dos tipos:

1. Sistemas con un núcleo interno: sistemas con un núcleo central que contiene el fármaco, rodeado por una membrana polimérica homogénea delgada y no porosa que controla la velocidad de liberación [111].
2. Sistemas monolíticos: sistemas en los que el principio activo se encuentra distribuido uniformemente sobre todo el soporte polimérico. Puede encontrarse disuelto en la matriz polimérica o quedar disperso si su contenido es más elevado que el límite de solubilidad [112].

La Figura 10 muestra un esquema tipo de del mecanismo de liberación de los sistemas controlados por difusión.

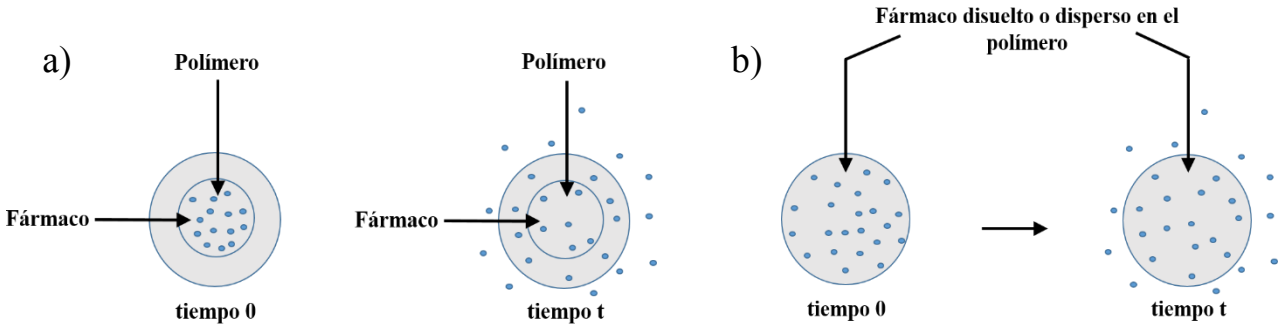

Figura 10. Representación esquemática de SLC por difusión, a) con núcleo interno y b) monolíticos. Adaptada de la referencia [113].

SLC por hinchamiento: sistemas monolíticos en los que el compuesto activo se encuentra disuelto o disperso en un soporte polimérico hidrofilico, ya sea entrecruzado o no, el cual se hincha sin disolverse cuando se pone en contacto con un medio acuoso (Figura 11) [114].

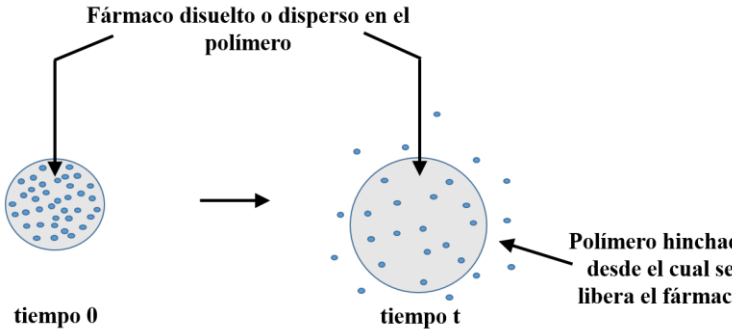

Figura 11. Representación esquemática de SLC por hinchamiento. Adaptada de la referencia [113].

Los SLC por métodos químicos se clasifican en sistemas bioerosionables y los sistemas con cadenas laterales.

SLC bioerosionables: el fármaco está disperso de manera uniforme en un polímero de forma similar a los sistemas monolíticos, pero en este tipo de sistemas, la fase polimérica va desapareciendo con el tiempo. La liberación del fármaco es controlada por la erosión, degradación o disolución de la matriz polimérica, debido a ataques enzimáticos o hidrolíticos a enlaces débiles, ionización o protonación [115].

SLC con cadenas laterales: el medicamento está unido químicamente a una estructura polimérica de la que posteriormente se libera por ruptura hidrolítica o enzimática del enlace [116].

La Figura 12 muestra una representación esquemática de estos dos tipos de sistemas.

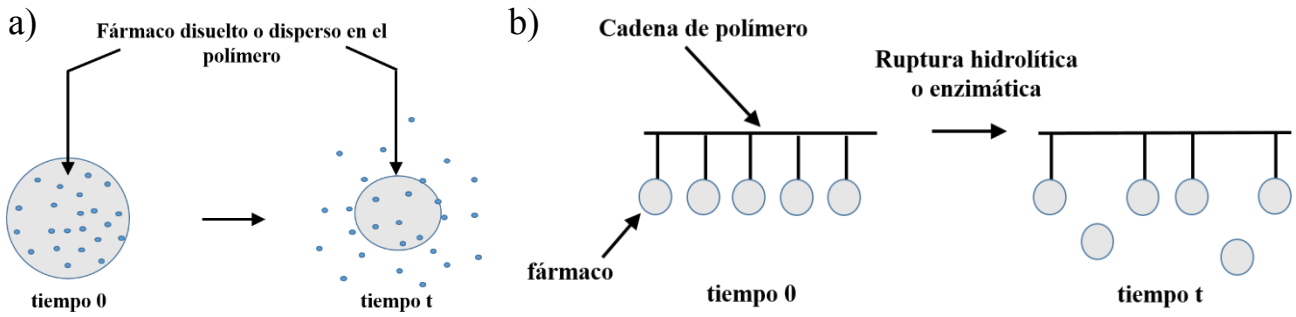

Figura 12. Representación esquemática de SLC por métodos químicos: a) bioerosionable, b) con cadena lateral. Adaptada de la referencia [113].

3.5.2 Sistemas de liberación controlada por estímulo eléctrico

Los recientes descubrimientos en la aplicación de micro y nanosistemas para la administración de fármacos incluyen una amplia gama de nuevos materiales y métodos. Uno de los métodos más estudiados actualmente son los SLC estimulados eléctricamente. Estos dispositivos se diseñan para producir la liberación del medicamento de manera programada, por efecto de un voltaje o corriente eléctrica [117].

El diseño y uso de materiales poliméricos en los SLC por estímulo eléctrico se ha convertido en una importante ruta de investigación en el área tecnológica de estos materiales [118]. Estos dispositivos no solo son utilizados para liberar medicamentos, también se han utilizado para la liberación de fertilizantes, plaguicidas y herbicidas en la agricultura [119]. Los materiales poliméricos poseen porosidad y centros de carga deslocalizados que permiten la fácil difusión de contraiones y la electro-migración de moléculas dentro de la matriz polimérica, como respuesta a un proceso de oxidación o reducción [120].

En estos sistemas, generalmente, películas electroactivas o membranas poliméricas son utilizadas para la liberación, intercambio o movimiento de moléculas específicas, usualmente iones. Una forma continua de bombeo eléctrico es posible cuando se mantiene un gradiente de concentración a cada lado de la membrana, aumentando de manera cíclica la concentración dentro de la misma. La activación para la liberación se produce cuando un campo eléctrico se establece en los lados opuestos de la membrana, lo que provoca una alteración en los estados de oxidación del polímero [121]. Burgmayer y Murray fueron los primeros en demostrar este principio en el transporte de aniones a través de películas de PPy, vinculado a su estado de oxidación [122]. Tong-Sheng Tsai et al. en el 2011 sintetizaron hidrogeles electroconductores a base de alcohol polivinilico y PANI como polimero electroconductor, para la liberación controlada de indometaciona mediante estimulación eléctrica, logrando un sistema de liberación del tipo ON/OFF [88].

4. EXPERIMENTAL

4.1 Materiales

Anilina ($C_6H_5NH_2$) al 99.5%, de Sigma-Aldrich destilada al vacío y almacenada en obscuridad a 0°C antes de ser usada, acido L-glutámico ($C_5H_9NO_4$) al 98,99%, de J.T. Bayer, persulfato de amonio ($(NH_4)_2S_2O_8$) al 98.7%, de J.T. Bayer, tubos de diálisis (acetato de celulosa, capacidad de purificación M.W. > 12, 000 Daltons), acrilamida (C_3H_5NO) al 99%, de Sigma-Aldrich, N,N'-Metilen-bis(acrilamida) ($(H_2C{=}CHCONH)_2CH_2$) al 99%, de Sigma-Aldrich, N,N,N',N'-Tetrametiletilendiamina ($(CH_3)_2NCH_2CH_2N(CH_3)_2$) al 99%, de Sigma-Aldrich, ácido bórico (H_3BO_3) al 99.5%, de Sigma-Aldrich, fosfato de sodio dibásico heptahidratado ($Na_2HPO_4{\cdot}7H_2O$) al 98%, de Faga-Lab, ácido acético ($C_2H_4O_2$) al 99.7%, de Sigma-Aldrich, fosfato de sodio monobásico (NaH_2PO_4) al 99%, de Sigma-Aldrich, amoxicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_5S$) al 90 %, de Sigma-Aldrich, cloruro de potasio (KCl) al 99%, de Sigma-Aldrich, hidróxido de sodio (NaOH) al 98%, de Sigma-Aldrich, acetato de sodio, ($C_2H_2NaO_2$), 99%, de Sigma-Aldrich, hidróxido de amonio (NH_4OH) al 98,6%, de J.T. Bayer, línea celular normal (L-929) de tejido subcutáneo de ratón, Laboratorio de Inmunología de la Universidad de Sonora, medio Eagle Modificado de Dulbeco (DMEM) suplementado con suero fetal bovino al 5%, isopropanol al 99.9% de Fermont, acidificado con HCl al 37% de Fermont.

4.2 Métodos

4.2.1 Síntesis química de polianilina en presencia del ácido L-glutámico

Se llevó a cabo una polimerización química-oxidativa de la anilina en presencia de ácido glutámico (AG) usando como agente oxidante persulfato de amonio (PSA), en diferentes relaciones molares. Los productos de reacción fueron identificados de acuerdo a la relación molar inicial de anilina:AG:PSA usada en el proceso de síntesis. La Tabla 1 resume las síntesis realizadas según las relaciones molares.

Tabla 1. Relaciones molares de monómero:aminoácido:agente oxidante usadas en las síntesis de PANI.

Síntesis	**Relación molar anilina:AG:PSA**
1	1 : 0.13 : 1.0
2	1 : 0.25 : 1.0
3	1 : 0.38 : 1.0
4	1 : 0.50 : 1.0
5	1 : 0.25 : 0.6
6	1 : 0.25 : 1.4

Se usó una cantidad constante de 0.4 moles de anilina, cuyo volumen correspondiente se disolvió en 132 mL de una solución acuosa del aminoácido. La solución monomérica se colocó en un matraz de reacción de tres bocas. Separadamente, se prepararon 70 mL de una solución acuosa de APS y se colocaron en un embudo de adición. La solución oxidante se añadió gota a gota a la solución monomérica, usando atmosfera de nitrógeno y manteniendo la temperatura a 5◦C. Una vez terminada la adición, la mezcla reaccionante se mantuvo en agitación magnética durante 24 h. El pH de la reacción se monitoreó durante todo el procedimiento.

La suspensión resultante de tonalidad verde oscuro se purificó mediante lavados continuos con agua deionizada en un embudo de Buchner de disco de vidrio, hasta que el filtrado presentó un pH neutro.

Una porción de la suspensión purificada se secó mediante vacío a temperatura ambiente y se pulverizó en un mortero para su posterior caracterización mediante mediciones de conductividad eléctrica, espectroscopia fotoelectrónica de rayos-X (XPS), espectroscopia de IR, y voltametría cíclica (VC). La suspensión restante se utilizó para realizar las caracterizaciones por microscopía electrónica de barrido (SEM), microscopía electrónica de transmisión (TEM) y espectroscopia de absorbancia UV-visible; así como para los estudios de cargado/liberación de fármaco.

4.2.3 Estudios de Caracterización

4.2.3.1 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La morfología de las muestras se estudió mediante el uso de un microscopio electrónico de barrido JEOL 5410LV (Japón). La suspensión se redispersó en agua deionizada mediante sonicación, una porción se colocó sobre el porta-muestras, para su posterior evaporación a temperatura ambiente. Las muestras fueron recubiertas con oro previo a su observación en el microscopio.

4.2.3.2 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

La morfología de las muestras se estudió mediante el uso de un microscopio electrónico de barrido JEOL 5410LV (Japón). La suspensión se redispersó en agua deionizada mediante sonicación, una porción se colocó sobre el porta-muestras, para su posterior evaporación a temperatura ambiente. Las muestras fueron recubiertas con oro previo a su observación en el microscopio.

4.2.3.3 Mediciones de conductividad eléctrica

La conductividad eléctrica de las muestras se midió mediante un arreglo de cuatro puntas usando un medidor modelo DFP-03, 464 de SES Instruments Pvt. Ltd. (EUA), EL odelo para medición de conductividada por el método de cuatro puntas se ilustra en la figura 13a. Las muestras en polvo se compactaron en forma de pastillas de 12 mm de diámetro en una prensa hidráulica ICL Internacional modelo TON EZ PRESS (EUA) con una presión de 1.5 Ton. Los 4 electrodos en línea se colocaron sobre la superficie de las pastillas, se estableció una corriente a través de los electrodos exteriores, y el potencial se detectó mediante el par interior. Se midió la resistividad eléctrica a temperatura ambiente, se reportan los valores promedio de al menos 3 pastillas para cada uno de los productos de las síntesis. El circuito experimental usado para las mediciones se muestra en la Figura 13b, la separación entre cada electrodo del circuito es de 2.0 mm.

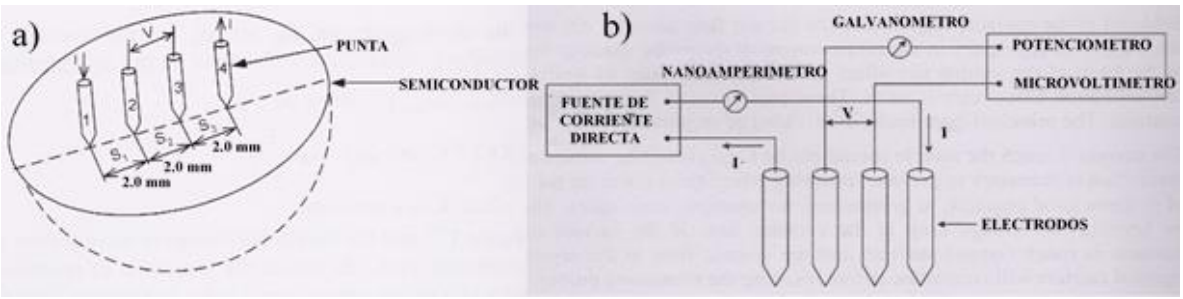

Figura 13. a) Modelo para medición de conductividada por el método de cuatro puntas, b) Circuito experimental usado para medición de conductividad.

4.2.3.4 Espectroscopia fotoelectrónica de rayos-X (XPS)

Los estudios de XPS se llevaron a cabo usando un espectrómetro Perkin Elmer PHI5100 (EUA), con un ánodo de Mg como fuente de excitación (MgKα, 10 kV, 10 mA). La presión en la cámara de análisis se mantuvo aproximadamente en 10^{-8} Torr durante cada medición. Los efectos de carga superficial se compensaron referenciando las energías de todos los enlaces con respecto a la energía del pico de carbono neutro ubicado a 284.6 eV. En los espectros obtenidos en el intervalo de 0 a 1,100 eV se utilizó una resolución de 0.25 eV, mientras que en los barridos cercanos se usó una resolución de 0.025 eV. La deconvolución de las señales obtenidas en los espectros de alta resolución se realizó por medio del programa PeakFit v4 de Jandel Scientific Software, usando curvas gaussianas

4.2.3.5 Espectroscopía de infrarrojo (FTIR)

Los espectros de FTIR se obtuvieron en un equipo Perkin-Elmer Spectrum GX (EUA), usando la técnica de pastillas de KBr. Las muestras de las diferentes síntesis, se secaron al vacío a temperatura ambiente. Una pequeña cantidad de los polvos resultantes, se mezcló con KBr en polvo en un mortero ágata, hasta obtener una mezcla homogénea. El polvo resultante, se compactó en forma de pastilla en una prensa hidráulica ICL Internacional

modelo TON EZ PRESS (EUA) con una presión de 1.5 Ton hasta obtener una pastilla translúcida a través de la cual se hizo incidir el rayo de luz del espectrómetro.

4.2.3.6 Espectroscopía de absorción UV-vis

Los espectros de absorción UV-visible se adquirieron por medio de un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 20 (EUA). Las suspensiones de las muestras se diluyeron en agua deionizada hasta la obtención de concentraciones adecuadas para ser analizadas por UV-vis. Se colocaron 3 mL de la solución diluida en celda de cuarzo para el análisis de cada medición, obteniendo los espectros en el intervalo de 300 a 1100 nm.

4.2.3.7 Voltametría cíclica (CV)

Los experimentos de VC se llevaron a cabo con un sistema de tres electrodos; un electrodo de trabajo de Pt, un alambre de Pt como electrodo contador y un electrodo de Ag/AgCl como referencia, usando un potenciostato Gamry G-300 (EUA). El análisis se realizó en una solución electrolítica de H_2SO_4 (0.1 M), en un intervalo de potencial de – 0.2 a + 0.8 V, a diferentes velocidades de barrido (50, 100, 200 y 300 mVs^{-1}).

4.2.4 Estudio de la interacción anilina-ácido glutámico

Con el objetivo de evaluar la existencia de interacciones entre el monómero y el aminoácido previo al proceso de oxidación de la anilina, se obtuvo una curva de titulación de anilina con el AG mediante espectroscopía de absorción UV-Vis. Se utilizó una solución buffer de acetato (0.2 M) para controlar el pH en 5, asemejando las condiciones iniciales de entorno químico antes del proceso de polimerización.

Se adicionaron gradualmente alícuotas de una solución de AG (0.2738 M) a 2.99 mL de la solución de anilina en el buffer hasta obtener la relación molar monómero:aminoácido de 1:0.25. La Tabla 2 muestra de manera detallada las condiciones experimentales.

Tabla 2. Condiciones experimentales utilizadas en curva de titulación anilina:AG

Anilina (moles)	Alícuotas de solución de AG (mL)	AG (moles)	Relación molar anilina:AG
$1.095 \cdot 10^{-4}$	0.01	$2.738 \cdot 10^{-6}$	1:0.025
$1.095 \cdot 10^{-4}$	0.02	$5.476 \cdot 10^{-6}$	1:0.050
$1.095 \cdot 10^{-4}$	0.03	$8.211 \cdot 10^{-6}$	1:0.750
$1.095 \cdot 10^{-4}$	0.04	$1.094 \cdot 10^{-5}$	1:0.100
$1.095 \cdot 10^{-4}$	0.05	$1.368 \cdot 10^{-5}$	1:0.125
$1.095 \cdot 10^{-4}$	0.06	$1.642 \cdot 10^{-5}$	1:0.150
$1.095 \cdot 10^{-4}$	0.07	$1.916 \cdot 10^{-5}$	1:0.175
$1.095 \cdot 10^{-4}$	0.08	$2.190 \cdot 10^{-5}$	1:0.200
$1.095 \cdot 10^{-4}$	0.09	$2.463 \cdot 10^{-5}$	1:0.225
$1.095 \cdot 10^{-4}$	0.10	$2.737 \cdot 10^{-5}$	1:0.250

4.2.5 Cargado de amoxicilina en las estructuras de polianilina.

La incorporación del antibiótico se realizó mezclando por agitación magnética 25 mL de la suspensión de PANI (0.0148g mL^{-1}) con 5 mL de una solución acuosa del fármaco (0.2 g mL^{-1}) durante 24 horas, tiempo óptimo a partir del cual no aumenta la adsorción de amoxicilina. La mezcla resultante se transfirió a tubos de diálisis, los cuales se colocaron en un vaso de precipitado que contenían 500 mL de agua deionizada, para eliminar el fármaco no adsorbido sobre las partículas del polímero. La solución de diálisis se reemplazó periódicamente con agua deionizada hasta que la liberación de la amoxicilina fue menor al 0.1 %. La concentración del fármaco se determinó a partir de la absorbancia de la solución de diálisis a 273 nm, usando una curva de calibración construida por espectroscopia de absorción UV-vis a partir de soluciones de concentración conocida.

4.2.5.1 Liberación de amoxicilina adsorbido en soluciones búfer

Los tubos de diálisis conteniendo las partículas de PANI cargadas con el antibiótico se sumergieron en 450 mL de soluciones buffer de pH 5 (Acetato [0.1 M]), 7 (Fosfato [0.1 M]) y 9 (Borato-cloruro [0.1 M]). El proceso de liberación del antibiótico se llevó a cabo en una incubadora modelo Barnstead/Lab-Line/ E-Class MAX 4000 (USA) a temperatura controlada de 37◦C y agitación orbital de 80 rpm. La concentración de amoxicilina en el medio de liberación se monitoreó tomando alícuotas de 2 mL cada 2 horas durante 4 días. Un volumen similar de buffer se adicionó al medio de liberación para conservar las condiciones de inmersión.

4.2.6 Preparación de hidrogeles compuestos de poliacrilamida y polianilina cargada con amoxicilina para estudios de liberación en soluciones buffer

La incorporación del sistema PANI/amoxicilina a un hidrogel de PAAm se realizó a partir de la adición de una porción de la suspensión coloidal de PANI cargada con el antibiótico durante el proceso de entrecruzamiento y formación del hidrogel.

Se prepararon soluciones acuosas de acrilamida (AAm, monómero) y bisacrilamida (BisAAm, monómero entrecruzante), en diferentes concentraciones peso-volumen, tal como se muestra en la Tabla 3. Se tomaron 15 mL de la solución AAm/BisAAm y se mezclaron con 10 mL de la suspensión de PANI/amoxicilina, mediante agitación magnética constante a temperatura de 5◦C. Una vez homogeneizada la mezcla anterior, se adicionaron 1 mL de una solución de PSA (iniciador) de concentración 10 % peso/volumen y se continuó con la agitación, manteniendo la temperatura a 5°C. Transcurridos 3 minutos, se adicionaron 0.2 mL de una solución al 99 % de TEMED (catalizador) y se continuó la agitación. Transcurridos 2 minutos, la mezcla se extrajo del baño de hielo y se mantuvo a temperatura ambiente hasta finalizar el proceso de polimerización y formación del gel. Los hidrogeles fueron identificados tal como se muestra en la Tabla 3.

Bajo condiciones idénticas a las descritas en el párrafo anterior, se preparó un hidrogel de PAAm sin incorporación de las partículas de PANI. Este hidrogel se cargó con una dosis

de fármaco similar a la presente en los hidrogeles que contenían el polímero electroconductor. El proceso general de formación de los hidrogeles compuestos se ilustra en la Figura 14.

Tabla 3. Concentraciones y volúmenes para la preparación de los hidrogeles compuestos PAAm/PANI/amoxicilina y PAAm/amoxicilina usados en la liberación frente a soluciones buffer.

Hidrogel	Solución AAm/BisAAm			Suspensión PANI/amoxicilina	Solución amoxicilina	Solución PSA		Solución TEMED	
	Conc. (g/mL)		Vol. (mL)	Vol. (mL)	Vol. (mL)	Conc. (%)	Vol. (mL)	Conc. (%)	Vol. (mL)
	AAm	BisAAm							
A	0.58	**0.01**	15	10	0	10	1	99	0.20
B	0.58	**0.02**	15	10	0	10	1	99	0.20
C	0.58	**0.03**	15	10	0	10	1	99	0.20
D*	0.58	**0.02**	15	0	10	10	1	99	0.20

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

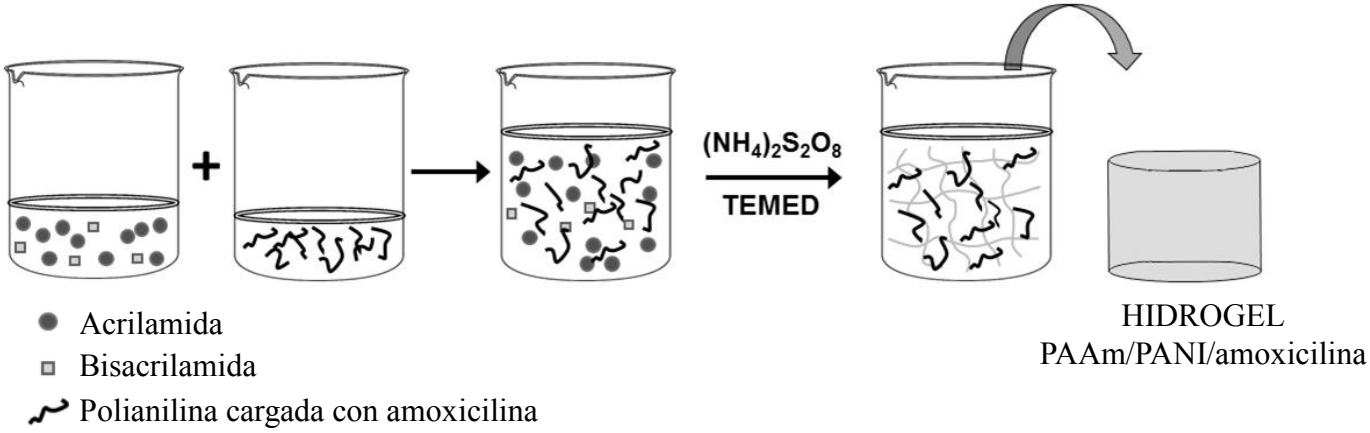

Figura 14. Representación del proceso de preparación del hidrogel compuesto PAAm/PANI/amoxicilina usado en la liberación frente a soluciones buffer.

4.2.6.1 Estudio de la Cinética de hinchamiento de los hidrogeles compuestos.

Se sintetizaron hidrogeles de cada tipo A, B, C y D, de acuerdo a la Tabla 3. Inmediatamente después del proceso de reticulación, se colocaron muestras del hidrogel en 100 mL de solución búfer a pH 7 y temperatura ambiente. Se realizó el monitoreo del proceso de hinchamiento periódicamente cada 30 minutos, durante las primeras 5 h, retirando el exceso de solución y midiendo la masa de los hidrogeles hinchados. A partir de las 5 h, se realizó el registro de la masa del hidrogel cada 24 horas, hasta llegar al equilibrio. Una vez alcanzado el equilibrio, los hidrogeles fueron secados al vacío mediante liofilización en un equipo LABCONCO, FreeZone 4.5 Loter Benchtop Dry System hidráulica ICL Internacional modelo TON EZ PRESS (EUA) durante 24 h y posteriormente se pesaron para obtener la masa del xerogel. El estudio se realizó por triplicado.

4.2.6.2 Caracterización morfológica de hidrogel compuesto por microscopía electrónica de transmisión

Se utilizó el equipo Cryo-Ultramicrotome RMC Products para realizar el corte de las muestras. El hidrogel compuesto se colocó en la cámara Cryo del equipo para su congelación usando una temperatura de -150°C. Una vez congelado, se procedió a obtener secciones ultradelgas (50-80 nm de espesor) de la muestra seca, ya que en estado ultradelgadas húmedo, el hidrogel absorbe la mezcla H_20/DMSO. Las secciones del hidrogel fueron colocadas sobre rejillas de cobre para su posterior observación mediante TEM, usando un microscopio JEOL JEM2200Fs, después de un proceso de secado a temperatura ambiente.

4.2.7 Estudio de la liberación de amoxicilina desde los hidrogeles compuestos de poliacrilamida y polianilina frente a soluciones buffer

El estudio de la cinética de liberación del antibiótico se realizó *in vitro* frente a soluciones buffer de pH 5 (Acetato [0.1 M]), 7 (Fosfato [0.1 M]) y 9 (Borato-cloruro [0.1 M]). Los hidrogeles se sumergieron en 450 mL de las soluciones buffer y se colocaron dentro

de la incubadora con agitación orbital de 80 rpm, controlando la temperatura a 37°C; con la finalidad de simular un entorno fisiológico. Se tomaron alícuotas de los medios de liberación que contenían a los hidrogeles cada 2 h por un periodo de 96 h. La concentración de amoxicilina en las muestras se cuantificó por espectroscopia de UV-vis a 273 nm, tal como se describió anteriormente.

4.2.8 Preparación de hidrogeles compuestos de poliacrilamida y polianilina cargados con amoxicilina para estudios de liberación usando estímulos eléctricos

Se prepararon hidrogeles compuestos con diferente tamaño al obtenido en el procedimiento descrito en la sección 4.2.6 con el propósito de facilitar su implementación en el estudio posterior de liberación del fármaco usando estímulos eléctricos.

Se prepararon 100 mL de una solución acuosa de AAm/BisAAm (58 g de AAm y 2 g de BisAAm). De la solución anterior se tomaron 10 mL y se mezclaron con 8 mL de la suspensión de PANI cargada con el antibiótico usando agitación magnética constante a 5°C. Una vez homogénea la mezcla anterior, se adicionaron 1 mL de solución de PSA (0,1 g mL^{-1}) y se continuó con la agitación magnética. Transcurridos 3 minutos, se adicionaron 0.2 mL de TEMED al 99 % y se continuó la agitación por otros 2 minutos. La mezcla se colocó en un molde cilíndrico de 26 mm de diámetro que se encontraba a temperatura ambiente, y antes de alcanzar su punto de gelación, se introdujo de manera axial en el centro de la zona de sección transversal circular del hidrogel, una lámina de cobre con un área activa de 40 mm x 15 mm. Finalmente, el hidrogel compuesto conteniendo el electrodo incorporado se retiró del molde para su uso en el experimento de liberación del fármaco controlado eléctricamente.

Adicionalmente se preparó un hidrogel de PAAm/amoxicilina, en ausencia de PANI, con similar concentración del fármaco que el hidrogel compuesto, usando condiciones idénticas a las utilizadas durante la preparación del hidrogel compuesto. Este hidrogel se utilizó como muestra control en el estudio de liberación de amoxicilina por estímulo eléctrico. La Tabla 4 resume las proporciones empleadas y el proceso de formación de los hidrogeles compuestos se ilustra en la Figura 15.

La Tabla 4 Concentraciones y volúmenes para la preparación de los hidrogeles compuestos PAAm/PANI/amoxicilina y PAAm/amoxicilina usados en la liberación frente a impulsos eléctricos.

Hidrogel	Solución AAm/BisAAm			Suspensión PANI/amoxicilina	Solución amoxicilina	Solución PSA		Solución TEMED	
	Conc. (g/mL)		Vol. (mL)	Vol. (mL)	Vol. (mL)	Conc. (%)	Vol. (mL)	Conc. (%)	Vol. (mL)
	AAm	BisAAm							
E	0.58	**0.02**	10	8	0	10	1	99	0.20
F*	0.58	**0.02**	10	0	8	10	1	99	0.20

*Hidrogel preparado sin partículas de PANI, cargado con una dosis de amoxicilina similar a la presente en el hidrogel E.

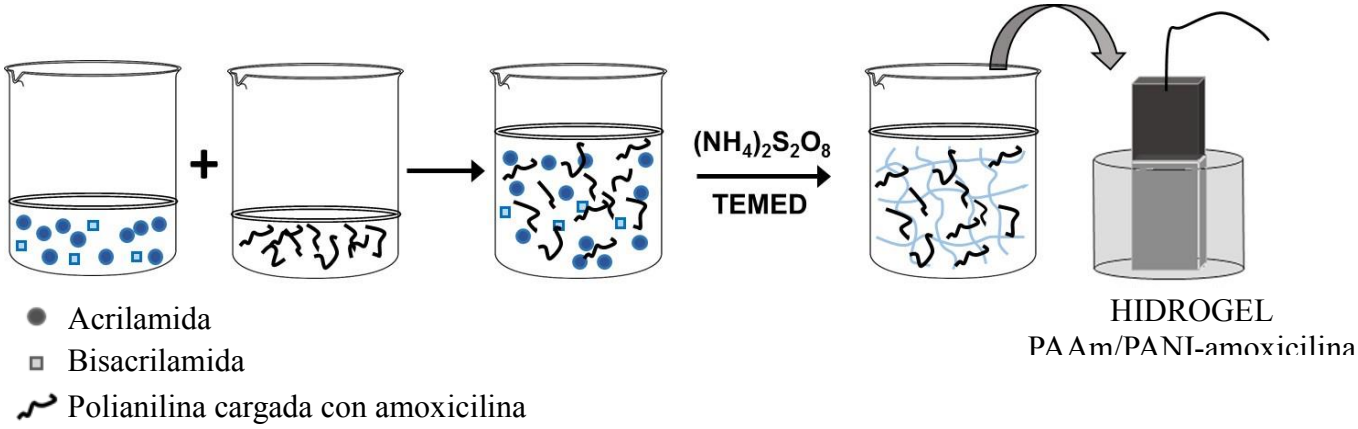

Figura 15. Representación del proceso de preparación del hidrogel compuesto PAAm/PANI/amoxicilina usado en la liberación frente a impulsos eléctricos.

4.2.9 Estudio de la liberación de amoxicilina desde los hidrogeles compuestos de poliacrilamida y polianilina usando estímulos eléctricos

El hidrogel compuesto con el electrodo de cobre se sumergió en 80 mL de buffer de sales de fosfato (PBS, 0.1 M, pH 7, 25 °C) junto con un electrodo idéntico sin recubrir. Los electrodos se colocaron equidistantes con una distancia entre la superficie del hidrogel y el electrodo libre de aproximadamente 4 mm. Para el estudio de liberación, se aplicaron

potenciales con una fuente DC Agilent, modelo E3632A (EUA) durante 1 minuto entre los dos electrodos, en intervalos de 30 minutos sin aplicación de carga. Se varió la intensidad del impulso eléctrico aplicado en 3, 4 y 5 V. Se tomaron alícuotas de la solución a intervalos de tiempo específicos para la medición de la amoxicilina liberada. Las condiciones iniciales de inmersión del hidrogel se mantuvieron mediante la adición de un volumen igual de buffer al medio de liberación.

Se realizaron pruebas de control cambiando la polaridad entre los electrodos y usando el hidrogel sin partículas de polímero electroconductor.

4.2.10 Estudio de toxicidad de hidrogeles compuestos de poliacrilamida y polianilina

Para los estudios de toxicidad de los hidrogeles compuestos se utilizó la línea celular normal L–929 (tejido subcutáneo normal de ratón), proporcionadas por el laboratorio de inmunología de la Universidad de Sonora. Los cultivos se mantuvieron en Medio Eagle Modificado de Dulbeco (DMEM) suplementado con suero fetal bovino al 5% y en una incubadora Isoterm Fischer Scientific (EUA) a 37 °C, 5% de CO_2 y con una humedad relativa de 80-90%.

La evaluación del efecto de los hidrogeles sobre las células se realizó mediante un ensayo de viabilidad celular; utilizando el método del MTT, incubando hidrogeles de PAAm o PAAm/PANI en medio de cultivo celular. Tres hidrogeles cilíndricos (7 mm de diámetro, 3 mm de espesor) de cada composición fueron sumergidos en 10.2 mL de cultivo celular a 37°C. Transcurridas 24 h, los hidrogeles fueron removidos y el medio que contenía los compuestos solubles del hidrogel (medio condicionado) se utilizó para el ensayo de viabilidad. Iniciando con un cultivo en fase de crecimiento logarítmico, se obtuvo una suspensión celular de 200,000 células/mL. Se colocaron 50 μL de la suspensión celular en placa de 96 pozos de fondo plano y se incubó por un periodo de 24 h para su adherencia. Después de este periodo, usando el medio condicionado se completó un volumen de 100 μL en cada pozo, alcanzando concentraciones del medio condicionado de 50, 25, 12.5, y 6.250%

(v/v). En el caso del experimento control se completaron los 100 μL solamente con medio de cultivo estándar.

La placa se incubó por un periodo de 48 h. Durante ese periodo se observó el efecto del estímulo sobre la morfología celular mediante un microscopio invertido Nikon, eclipse. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se añadieron 10 μL de MTT a cada pozo y se incubó por un periodo de 4 h. Posteriormente, se agregaron 100 μL de isopropanol acídico y se dejó reposar por 10 minutos. Finalmente, se leyó la absorbancia de la solución a 570 nm y 655 nm en un lector de ELISA (BIO-RAD).

El tratamiento estadístico de los datos experimentales se realizó mediante un análisis de varianza ANOVA, usando el complemento XLSTAT de Microsoft Excel y estableciendo un intervalo de confianza de 95%. Se comprobó la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre la media determinada para cada tipo de muestra contra el valor obtenido en la prueba control mediante la prueba de Dunnett, así como se realizó un análisis similar entre las medias de las muestras.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Síntesis química de polianilina en presencia del ácido L-glutámico

En esta sección se muestran los resultados obtenidos de las diferentes síntesis química-oxidativas de la PANI. Se realizaron 6 tipos de síntesis variando las relaciones molares anilina:aminoácido y anilina:agente oxidante (ver Tabla 1, sección 4.2.1). Este estudio se realizó para establecer las condiciones de reacción óptimas que favorecieran la obtención de PANI en su estado de ES, la incorporación del aminoácido al sistema polimérico y la formación de estructuras de una morfología con una alta relación de aspecto (cociente de la dimensión máxima a la mínima de la partícula).

5.2 Estudios de Caracterización

5.2.1 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La Figura 16 muestra las imágenes de microscopia por SEM de los productos de reacción de las diferentes síntesis. Se observa a una escala micrométrica que el producto de oxidación de la anilina en presencia de AG presenta una morfología cilíndrica con una alta relación de aspecto (relación longitud-diámetro). Se aprecia también que hay partículas aglomeradas, observándose material donde no se distinguen las estructuras individuales. El diámetro de los cilindros encontrados para las diferentes relaciones molares oscila entre los 360 nm. Se observa que la morfología y la cantidad de material aglomerado de las estructuras tienen una fuerte dependencia con la concentración de AG y PSA.

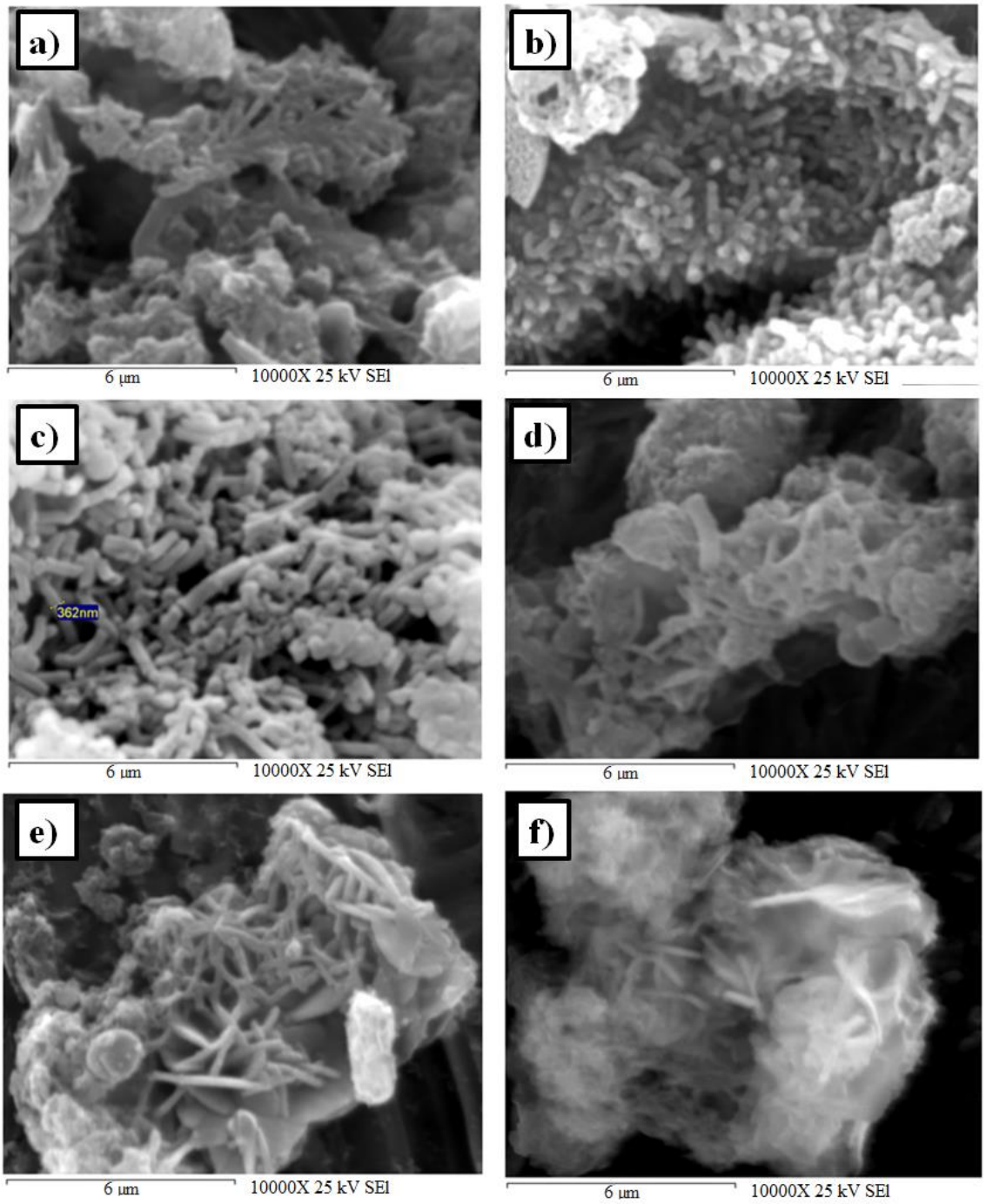

Figura 16. Imágenes por SEM de PANI sintetizada a relaciones molares anilina:AG:PSA de a) 1:0.13:1, b) 1:0.25:1, c) 1:0.38:1, d) 1:0.5:1, e) 1:0.25:0.6 y f) 1:0.25:1.4.

En la polimerización química oxidativa convencional de la anilina, el material dopado resultante presentan una morfología no fibrilar (partículas de formas irregulares aglomeradas) [123], lo que se relaciona con las condiciones fuertemente ácidas que se utilizan para obtener la PANI con altos valores de conductividad eléctrica. Típicamente, en la síntesis del polímero se usa una relación molar de ácido:anilina de 1:1 y a menudo se usa un exceso de ácido [124], bajo estas condiciones invariablemente se observa una morfología granular de la PANI. Por otro lado, estudios que reportan la formación de nanotubos de PANI han utilizado una relación molar de ácido:anilina menor a uno [125]. En los últimos años, se han reportado procedimientos de polimerización de anilina, bajo condiciones donde la reacción inicia a pH alrededor de 5 a 6, seguido por una caída drástica del pH hasta valores de 2 o menores, como consecuencia de la liberación de protones por la oxidación de anilina. En estas condiciones, se han logrado obtener diferentes estructuras nanométricas con geometrías de tubos, esferas y cables, utilizando una amplia gama de ácidos [126] o incluso con soluciones alcalinas, como en el trabajo de Wang *et al.*, donde se añadió NaOH a la mezcla de reacción para reducir la acidez, obteniéndose nanotubos también en este caso [127].

Por otro lado, Z. Zhang *et al.* sintetizaron nanoestructuras de PANI en presencia de ácidos inorgánicos (HCl, H_2SO_4, HBF_4, y H_3PO_4) con diámetros similares a los encontrados en el presente trabajo, observándose de igual manera una fuerte dependencia de la forma y el tamaño con el tipo de dopante involucrado [128].

L. Zhang *et al.* sintetizaron nanotubos de PANI con diámetros entre 170 y 260 nm, a partir de soluciones que contenían individualmente alanina, glicina, leucina y fenilalanina, utilizando el PSA como agente oxidante. La variación del diámetro de las estructuras se explicó por la gama de tamaños de los diferentes aminoácidos, encontrándose diámetros superiores al utilizar moléculas más grandes como dopante. Se observó también que la formación de estas estructuras no ocurría al estar ausente el aminoácido [61].

Los resultados de la microscopia de SEM concuerdan con los encontrados en la literatura; la relación molar entre el monómero y el agente dopante juega un papel determinante en la morfología del producto resultante. Las muestras de relaciones molares 1:0.25:1 y 1:0.38:1 presentan morfologías cilíndricas definidas (Figuras 16b y 16c,

respectivamente). Las imágenes también revelan que en la muestra con relación molar 1:0.5:1, no se ve favorecida la formación de estructuras cilíndricas como en los casos anteriormente mencionados, se encuentra material predominantemente aglomerado y las estructuras individuales que se distinguen presentan una menor relación longitud-diámetro (Figura 16d). Esto es congruente con lo reportado por Zhang *et. al*, donde al sintetizar nanoestructuras de PANI en presencia de H_3PO_4, a altas relaciones molares de anilina:ácido (1:2 o 1:3), el producto resultante mostró una morfología granular, favoreciéndose la formación de nanoestructuras fibrosas a relaciones de 1:0.3, y 1:0.16. Estos autores, al utilizar relaciones molares inferiores, obtuvieron solo una pequeña cantidad de nanoestructuras, lo cual resulta similar a lo observado en la muestra 1:0.13:1 (Figura 16a) donde se utilizó la relación molar más baja de anilina:AG.

En las muestras con relación molar de anilina:PSA diferente de 1:1, los estudios por SEM mostraron que las partículas primarias se encontraban mayoritariamente aglomeradas. En la imagen de la muestra con menor relación molar de PSA 1:0.25:0.6 (Figura 16e), se distinguen algunas estructuras cilíndricas y partículas con morfología irregular. En el caso de la muestra 1:0.25:1.4, se observa predominantemente partículas aglomeradas, algunas de estas en forma de hojuelas (Figura 16f). La concentración del agente oxidante en la polimerización de la anilina tiene un papel determinante en la cinética de reacción. Concentraciones altas de PSA aceleran la formación de radicales catiónicos, lo que limita la formación de estructuras unidimensionales. En relación con lo anterior, J. Qiang *et al.* sintetizaron nanofibras de PANI variando la relación molar PSA:anilina, encontrando que el tiempo necesario para la formación de PANI en el medio de reacción disminuyó con el aumento de la relación molar de PSA:anilina. Estos autores también reportaron que en las muestras preparadas a muy bajas relaciones molares PSA:anilina, se producía poca cantidad de nanofibras, acompañada con partículas de diferente tamaño y algunos aglomerados; en un intervalo intermedio, el producto principal eran nanofibras; mientras que al aumentar la relación molar, se formaban aglomerados de nanofibras de diámetros superiores y partículas irregulares de mayor tamaño [129].

5.2.2 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Las imágenes de microscopía TEM mostradas en la Figura 17, para las diferentes relaciones molares corroboraron que la oxidación de anilina en presencia de AG produce preferentemente estructuras primarias de morfología cilíndrica, tal como se había observado mediante microscopía SEM a escalas mayores. Es importante destacar, que para la obtención de las imágenes por TEM, las suspensiones diluidas de PANI fueron previamente sometidas a sonicación para mejorar la visualización de las estructuras primarias. Se observó que las estructuras cilíndricas individuales presentan un diámetro desde una escala nanométrica (< 100 nm) hasta escalas micrométricas (entre 100 nm y 1 μm) y que la morfología de las submicro/nanoestructuras varía fuertemente con la concentración de AG y PSA; es decir, se puede controlar la forma de las estructuras cambiando la relación molar anilina:AG:PSA. Por ejemplo, las estructuras primarias de las muestras 1:0.13:1 y 1:0.25:1 mostraron una morfología fibrilar con una mayor relación longitud-diámetro que las de otras muestras.

Las imágenes también revelaron que las muestras 1:0.38:1, 1:0.5:1, 1:0.25:0.6 y 1:0.25:1.4, presentan predominantemente estructuras tubulares en conjunto con material aglomerado, con una menor relación de aspecto que las muestras 1:0.13:1 y 1:0.25:1. El diámetro exterior de estos tubos varía entre 100 a 600 nm, observándose diámetros más grandes en las muestras sintetizadas con mayor concentración de AG (Figura 17d).

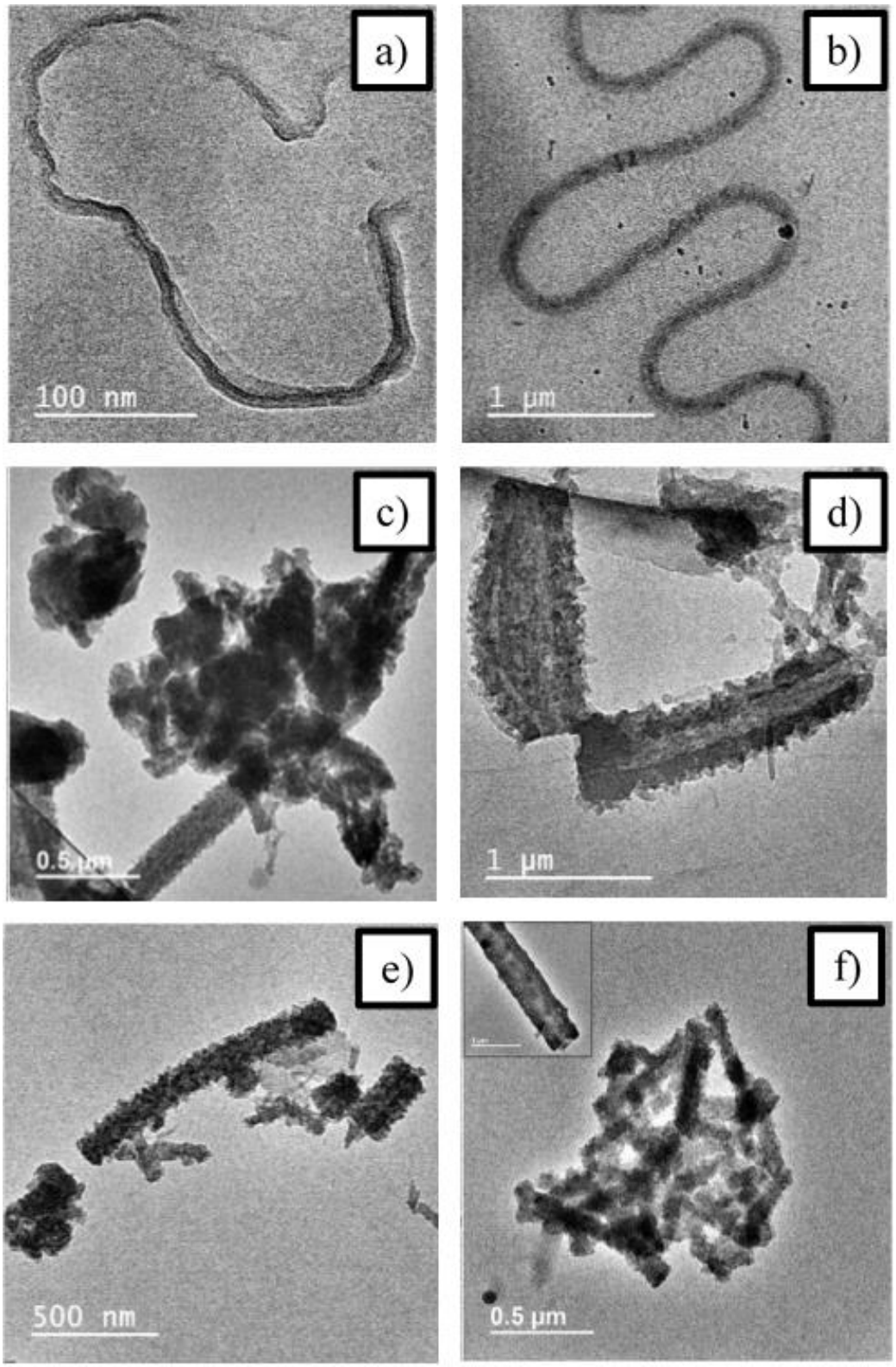

Figura 17. Imágenes por TEM de PANI sintetizada a relaciones molares anilina:AG:PSA de a) 1:0.13:1, b) 1:0.25:1, c) 1:0.38:1, d) 1:0.5:1, e) 1:0.25:0.6 f) 1:0.25:1.4

En la Figura 18 se muestran otras imágenes de la muestra sintetizada con relación molar anilina:AG:PSA de 1:0.25:1, estas micrografías revelan fibras de diferente diámetro, todas con una alta relación longitud-diámetro. Las fibras presentan suficiente flexibilidad para adoptar conformaciones plegadas. Se observa también que las estructuras se encuentran formadas por una zona central oscura rodeada por regiones más claras, lo que evidencia una naturaleza compuesta de estas estructuras. La formación de un sistema PANI/AG de tipo núcleo/coraza puede atribuirse a la naturaleza hidrofílica del aminoácido [130], comparado con el comportamiento hidrofóbico característico del polímero [130].

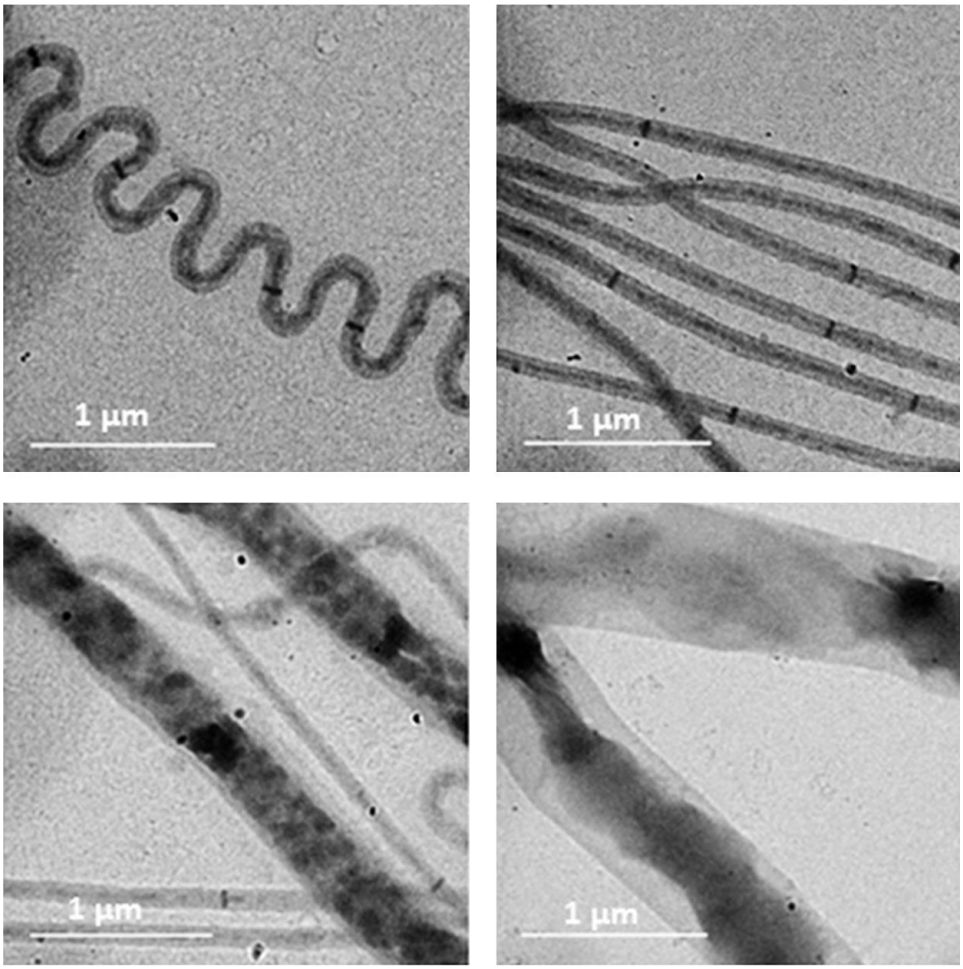

Figura 18. Imágenes por TEM de PANI sintetizada a relación molar anilina:AG:PSA de 1:0.25:1

5.2.3 Propiedades eléctricas

La Tabla 5 resume los valores de conductividad eléctrica para las muestras de PANI en función de la relación molar de anilina:AG:PSA. La conductividad varía en un intervalo de $7.4 \cdot 10^{-3}$ a $4.3 \cdot 10^{-2}$ S cm^{-1}, lo cual es más bajo que lo reportado para PANI sintetizada en presencia de ácidos fuertes [131] y similares a los reportados por Travas-Sejdic *et al.* para PANI preparada a partir de soluciones que contienen glicina, alanina, leucina y fenilalanina [61]. Se ha reportado que la oxidación química de la anilina en presencia de ácidos fuertes, tales como HCl, H_2SO_4, favorece el acoplamiento cabeza-cola de la anilina durante la polimerización, lo cual permite la obtención de un polímero sin defectos estructurales o ramificaciones, favoreciendo los valores altos de conductividad eléctrica en comparación de cuando se utilizan ácidos orgánicos [132].

Tabla 5. Conductividad eléctrica de PANI en función de la relación molar anilina:AG:PSA.

Relación molar anilina:AG:PSA	Conductividad eléctrica (S cm^{-1})	Desviación estándar (S cm^{-1})
1:0.13:1	9.19×10^{-3}	6.9×10^{-4}
1:0.25:1	1.82×10^{-2}	1.2×10^{-3}
1:0.25:1 (desdopada)	$< 10^{-7}$	-
1:0.38:1	4.35×10^{-2}	2.8×10^{-2}
1:0.38:1 (desdopada)	$< 10^{-7}$	-
1:0.50:1	1.05×10^{-2}	4.6×10^{-4}
1:0.25:0.6	8.92×10^{-3}	6.9×10^{-4}
1:0.25:1.4	7.35×10^{-3}	5.8×10^{-4}

Los resultados de conductividad eléctrica obtenidos para las diferentes muestras evidenciaron que la concentración del aminoácido afecta las propiedades eléctricas del polímero. Se encontró una dependencia no monotónica de la concentración del AG con la conductividad, esto sugiere que el aminoácido influye simultáneamente sobre diferentes procesos durante la polimerización de la anilina, tales como el proceso de dopaje y el orden

del polímero. El proceso de dopaje de la PANI con el aminoácido, introducen portadores de carga en el sistema π conjugado del polimero y la relocalización de estos sobre segmentos de la cadena, crea distorsiones electrónicas conocidas como polarones, los cuales introducen estados electrónicos discretos en el *bad gap*, modificando la conductividad del materia en menor a mayor medida en base al grado de dopaje alcanzado para cada síntesis. Se observa también que relaciones molares de anilina:PSA diferentes a 1:1, desfavorecen la conductividad eléctrica de las muestras de PANI, este comportamiento puede ser atribuido a que con un exceso de agente oxidante provoca defectos en la PANI por sobreoxidacion del polimero, lo que se traduce en la disminución de las medidas de conductividad eléctrica, caso contrario, cuando tenemos una baja cantidad de agente oxidante, se obtienen cadenas poliméricas mas cortas, con menor cantidad de portadores de carga y una mas baja conductividad.

Tomando en cuenta los resultados del análisis morfológico y los valores de conductividad eléctrica, se escogieron las muestras 1:0.25:1 y 1:0.38:1 para evaluar el efecto del desdopado sobre sus propiedades eléctricas en correlación con su composición, posteriormente determinada por XPS. Dichas muestras fueron tratadas por 3 h con una solución acuosa amoniacal. La conductividad eléctrica de las muestras 1:0.25:1 y 1:0.38:1 desdopadas se incluyen en la Tabla 5. Para ambas muestras, la conductividad se redujo en más de cinco órdenes de magnitud por el tratamiento amoniacal, lo cual es congruente con la salida de los contraiones y la disminución de los portadores de carga en el polímero [133].

5.2.4 Espectroscopía fotoelectrónica de rayos-X (XPS)

Para el estudiar la composición de la PANI sintetizada por oxidación química, las muestras preparadas fueron analizadas mediante XPS. Los espectros *surveys* para las diferentes muestras se presentan en la Figura 19. En todos los espectros se detectaron señales principales de C, O, N y S que corresponden con la composición atómica esperada en las muestras. También se encontraron picos de Si y Na, cuya presencia se atribuyó a la contaminación por los filtros de vidrio usados durante los procesos de lavado de las muestras, el contacto con los guantes durante la manipulación, el agua, entre otras posibles fuentes.

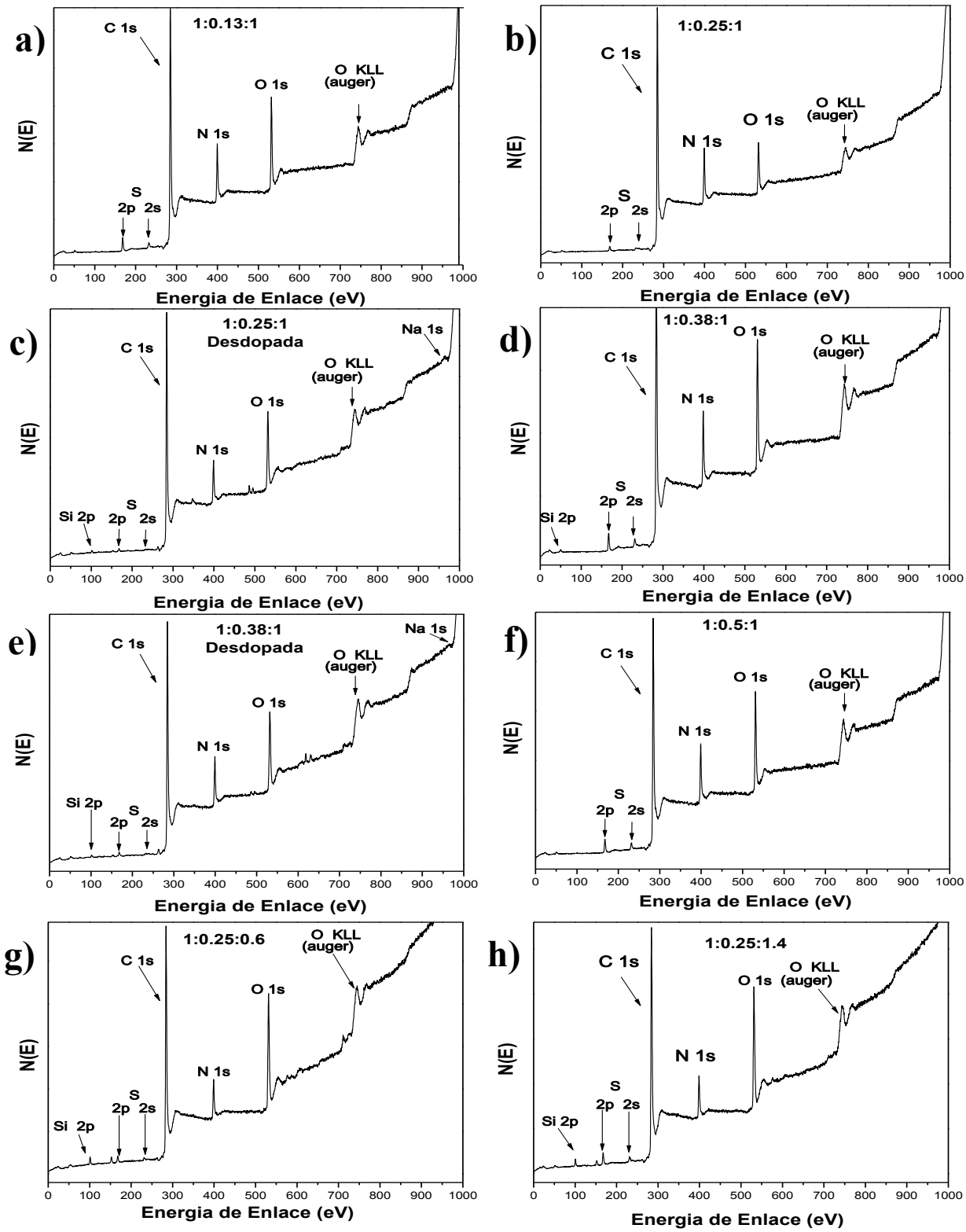

Figura 19. Espectros *surveys* en XPS para síntesis con relaciones molares: a) 1:0.13:1, b) 1:0.25:1, c) 1:0.025:1 desdopada, d) 1:0.38:1, e) 1:0.38:1 desdopada, f) 1:0.5:1, g) 1:0.25:0.6 y h) 1:0.25:1.4.

La composición atómica de C, N y S determinada a partir de los espectros de la Figura 19 se resume en la Tabla 6. Los resultados para las muestras 1:0.25:1 y 1:0.38:1 tratadas con una solución acuosa de hidróxido de amonio (proceso de desdopado) también se incluyen en la Tabla 6. La señal del oxígeno (O 1s) se puede atribuir a la presencia del aminoácido y también a la formación de productos de oxidación del polímero con el oxígeno atmosférico durante el proceso de secado, por lo que no se tomó en cuenta para comparar la composición de las diferentes muestras [134]. La Tabla 6 también incluye la relación atómica N:S para las muestras.

Tabla 6. Datos de XPS de PANI en función de las relación molar anilina: AG: PSA.

Relación molar anilina:AG:PSA	Composición atómica (%)			Relación atómica N:S
	C	N	S	
1:0.13:1	73.8	9.7	1.8	5.4
1:0.25:1	80.8	10.6	0.6	17.7
1:0.25:1 (desdopada)	82.0	9.6	0.6	16.0
1:0.38:1	76.1	6.6	1.1	6.0
1:0.38:1 (desdopada)	77.7	9.9	0.7	14.1
1:0.50:1	74.6	7.8	1.4	5.6
1:0.25:0.6	74.2	7.5	1.0	7.5
1:0.25:1.4	73.1	8.0	2.0	4.0

La señal del azufre (S 2p) se puede asociar con la presencia de iones SO_4^{2-} e HSO_4^- generados a partir de la descomposición de PSA durante el proceso de polimerización oxidativa [132]. Estos aniones compiten en el proceso de dopado de la PANI y en consecuencia, las muestras sintetizadas contienen especies de S como contraiones [135]. La presencia de S también puede atribuirse a la sulfonación del anillo aromático de la PANI durante la exposición a los productos de la reducción del PSA en el medio de reacción [131].

La muestra identificada como 1:0.25:1 destaca del resto de las muestras por su bajo contenido de S. Es importante mencionar que debido a la diferencia en la composición de

esta muestra con respecto al resto de las PANI sintetizadas, el resultado fue corroborado para otra muestra obtenida de la repetición de esta síntesis.

En el caso de la muestra 1:0.38:1, la relación atómica N:S aumentó de 6.0 para la muestra tal como se sintetizó, a 14.1 después del tratamiento de desdopado, lo que indica que los aniones que contienen azufre, generados a partir de la descomposición de PSA durante la oxidación de anilina, constituyen los principales contraiones incorporados a la PANI [136]. Por el contrario, la relación atómica N:S en la muestra 1:0.25:1 se encontró que fue 17.7 para la muestra dopada y 16.0 para la muestra desdopada, esto indica que no fueron eliminadas especies que contienen S durante el tratamiento amoniacal y que el aminoácido está funcionando como el principal contraion en la PANI. Esta conclusión es consistente con el hecho de que la conductividad de la muestra 1:0.25:1 se encuentra en el mismo orden de magnitud que el valor para la muestra 1:0.38:1 con más alto contenido de S. La Figura 20 muestra las deconvoluciónes de las señales obtenidas en los espectros de alta resolución en la región del N a) y del C b) para la muestra 1:0.25:1 que presentó el menor contenido de S. Las deconvoluviones fueron obtedidas por medio del programa PeakFit v4 de Jandel Scientific Software, usando curvas gaussianas, obteniendo un coeficiente de determinacion (r^2) de 0.9978 para el caso de N y 0.9961, en caso de la deconvolucion de C.

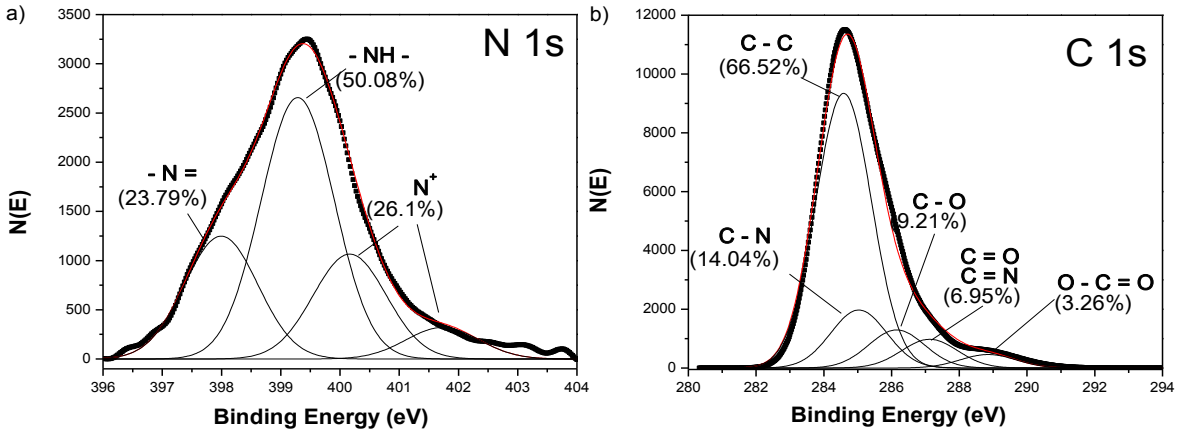

Figura 20. Espectros XPS de alta resolución de PANI sintetizada en relación molar 1:0.25:1 en la región del a) N 1s y b) C 1s.

El espectro de la región del N 1s muestra la deconvolución de la señal, donde podemos observar una contribución centrada a 398.01 eV que se atribuyó al N imino neutro (-N=), seguido por la señal del N amino (-NH-) a 399.28 eV con la mayor intensidad. Los dos componentes por encima de 400 eV se atribuyeron a átomos de N cargados positivamente (N^+), asociados con el estado conductor de PANI [137, 138] y a la contribución del N del grupo α-amino del aminoácido [139]. El espectro de la región del C 1s muestra la deconvolución de la señal en cinco componentes centrados a 284.6, 285.03, 286.15, 287.12 y 288.84 eV que se asignan a los enlaces C-C, C-N, C-O, C=N/C=O y O-C=O, respectivamente. La presencia de AG puede explicar la contribución del grupo carbonilo.

Por otro lado, con el propósito de esclarecer si la presencia de S en las muestras 1:0.25:1 y 1:0.38:1 desdopadas se atribuye a la sulfonación del anillo o a un proceso incompleto de desdopado (salida de contraiones derivados de la descomposición del PSA), se obtuvieron los espectros cercanos de la región del S para ambas muestras, antes y después del tratamiento amoniacal y se muestran en la Figura 21.

Se ha reportado que la energía para el S enlazado covalentemente a la cadena de la PANI se encuentra en el intervalo de 163.2 a 163.8 eV [140]. Las contribuciones del S en un intervalo de mayor energía se relacionan con especies iónicas como $–SO_3^-$ [141] y $-SO_4^{2-}$ [142]. Los espectros de la PANI 1:0.25:1 y 1:0.38:1 en su forma dopada (Figure 21a y 21c) muestran energías de enlace similares para las señales S 2p. De acuerdo a la posición de la contribución S 2p 3/2, la señal se atribuyó a especies iónicas como HSO_4^- y SO_4^{2-} derivadas de la descomposición del PSA. La diferencia en el contenido de S entre ambas muestras se evidencia por la diferencia en la intensidad de la señal comparando los espectros.

Después del tratamiento de desdopaje, la señal S 2p para ambas muestras (Figura 21b y 21d) conserva la contribución S 2p 3/2 observada en su forma dopada. En el caso de la muestra 1:0.38:1, la disminución de la intensidad de la señal indica que los contraiones de la PANI son mayoritariamente las especies iónicas que contienen S. En contraste, solo una ligera disminución de la intensidad de la señal se detecta para la muestra 1:0.25:1 después del tratamiento de desdopaje, lo cual indica que las especies iónicas que contienen S permanecen atrapadas dentro de la estructura de PANI durante el proceso, mientras las

moléculas del aminoácido son removidas. Esta última conclusión concuerda con la disminución de la relación N:S en esta muestra después del tratamiento amoniacal (Tabla 7).

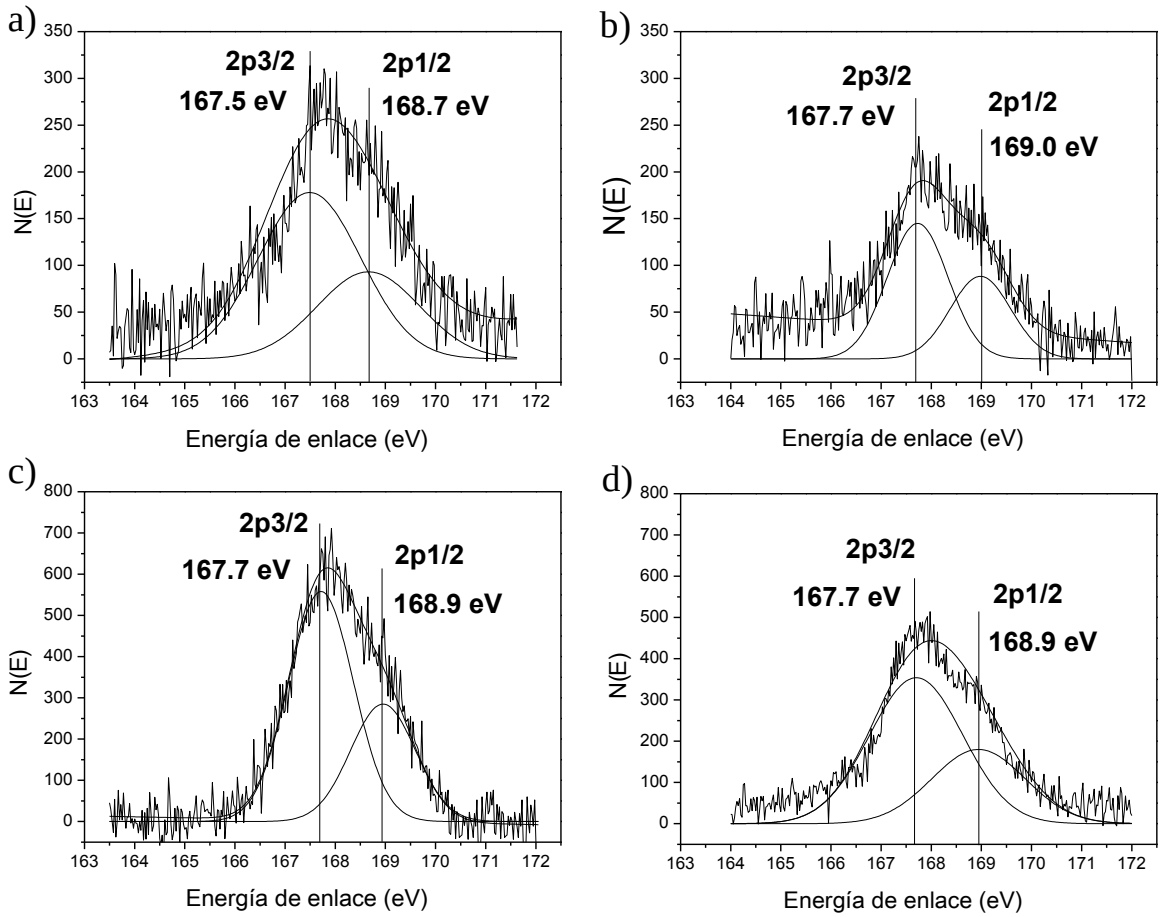

Figura 21. Espectros XPS de alta resolución en la región del S 2p para las muestras de PANI a) 1:0.25:1, b) 1:0.25:1 desdopada, c) 1:0.38:1 y d) 1:0.38:1 desdopada.

La persistencia de S en ambas muestras después del tratamiento con amoniaco se atribuyó a un proceso de desdopaje incompleto, descartando la sulfonación de la cadena de PANI durante la reacción de polimerización.

5.2.5 Espectroscopia de infrarrojo (FTIR)

Los espectros de FTIR correspondientes a la PANI sintetizada a diferentes relaciones molares anilina:AG y anilina:PSA se muestran en la Figura 22a y b, respectivamente. Las

muestras presentan espectros muy similares independientemente de la relaciones molares anilina:AG y anilina: PSA usada en la síntesis. En la región del espectro entre 1800 y 700 cm^{-1} se observan bandas principales con mínimos de transmitancia en 1580 y 1506 cm^{-1} que

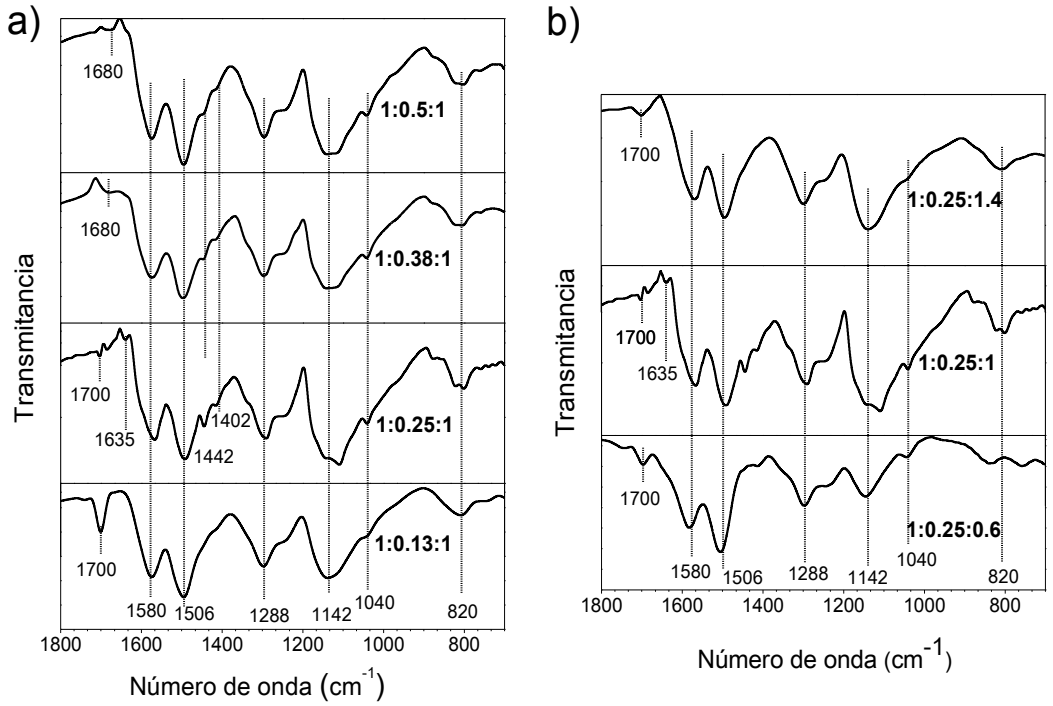

Figura 22. Espectros de FTIR de PANI sintetizada a diferentes relaciones molares de a) anilina:AG y b) anilina:PSA. El espectro de la muestra 1:0.25:1 se repite para comparación.

se atribuyen al estiramiento C-C del anillo, en las diiminas quinoides y las diaminas bencenoides, respectivamente [137, 143]. Asimismo se detecta un pico a 1288 cm^{-1} que se asigna a la vibración por estiramiento de los enlaces C-N entre las unidades quinoides y bencenoides. Alrededor de 1402 y 1442 cm-^{1} se encuentran dos ligueras bandas asociadas con la tensión del enlace C-N iminico, y la tencion del enlace C-N de orden intermedio entre N amínico Y N iminico [22], bandas con mínimos alrededor de los 1142 y 820 cm^{-1}, son asociadas a la absorción electrónica de la estructura conjugada que forma el anillo quinoide y los nitrógenos vecinos y a la flexión de los enlaces C-H del anillo 1,4-disustituido de la PANI, respectivamente [144]. La aparición de estas últimas señales nos indica que el polímero sintetizado presenta predominantemente una conformación lineal, sin defectos estructurales, lo que se encuentra estrechamente relacionado con valores óptimos de conductividad eléctrica [145].

Se observa también un hombro situado en 1042 cm^{-1}, esta señal según lo reportado en la literatura, se asocia al estiramiento del enlace S=O presente en los residuos del PSA generados durante el proceso de polimerización oxidativa de la anilina [146]. Adicionalmente, se distinguen señales en el rango de 1635 a 1700 cm^{-1}, cuyas posiciones difieren para cada muestra en particular, dentro del intervalo. Estas señales se atribuyen al estiramiento del grupo C=O perteneciente al aminoácido. Estos resultados concuerdan con lo observado por L. Zhang *et al*. quienes sintetizaron PANI en presencia de diferentes aminoácidos como alanina, fenilalanina, glicina, entre otros. Ellos encontraron que en los espectros de FTIR y RAMAN, aparecía un pequeño hombro alrededor de 1620 cm^{-1}, el cual atribuyeron a la señal del grupo carbonilo correspondiente al aminoácido [61].

En la Figura 23 se muestra el espectro de la muestra de PANI 1:0.25:1 desdopada y se compara con el espectro de PANI 1:0.25:1 obtenida de la síntesis (dopada). El espectro de la muestra desdopada presenta las bandas características de la PANI, sin variaciones significativas en su posición con respecto a la muestra sintetizada. Se observa la banda después del proceso de desdopado correspondiente al estiramiento C-C del anillo en las diiminas quinoides alrededor de 1580 cm^{-1} y el estiramiento de las diaminas bencenoides en 1502 cm^{-1} [143, 144]. La banda intensa asociada a la vibración por el estiramiento de los enlaces C-N entre las unidades quinoides y bencenoides aparece en similar posición en ambas muestras alrededor de 1288 cm^{-1}. De igual manera, la banda que se asocia a la absorción electrónica de la estructura conjugada que forma el anillo quinoide y los nitrógenos vecinos aparecen en ambos espectros alrededor de 1142-1141 cm^{-1}, apreciándose una disminución en su intensidad relativa para la muestra desdopada. Se continúa observando la señal atribuida al estiramiento del enlace S=O (1041 cm^{-1}), lo cual es congruente con los resultados de XPS que indicaron la remoción incompleta de los residuos del PSA (iones SO_4^{2-} e HSO_4^-) por el tratamiento de desdopaje en la muestra 1:0.25:1 [146]. Se observa también que la banda asignada al estiramiento C=O del aminoácido en la muestra 1:0.25:1 sintetizada disminuye su intensidad relativa después del proceso de desdopado, notándose apenas ligeramente la aparición de esta señal. Esto indica que el tratamiento con la solución amoniacal produce una disminución del contenido del aminoácido. Lo anterior corrobora el rol del aminoácido como codopante de la PANI, tomando en cuenta que el tratamiento de desdopado que provocó la disminución del aminoácido en la muestra (disminución de la señal del carbonilo en el FTIR,

Figura 23), simultáneamente produce una disminución de la conductividad eléctrica (Tabla 5, sección 5.2.3).

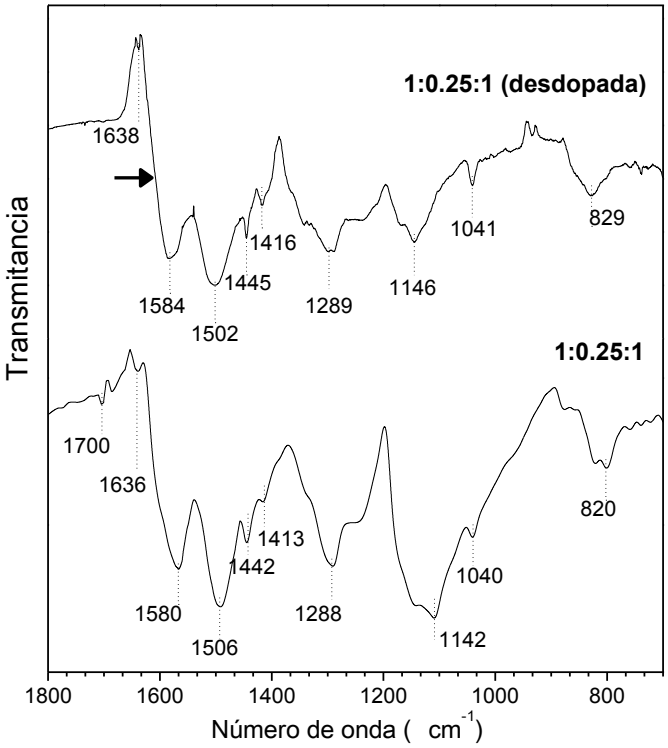

Figura 23. Espectros de FTIR de PANI sintetizada con relación molar de anilina:AG:PSA de 1:0.25:1 con tratamiento de desdopaje. El espectro de la muestra 1:0.25:1 sin tratamiento se repite para comparación.

Esto considerando también que el tratamiento amoniacal no disminuye significativamente el contenido de especies de S que también pueden estar presentes como dopantes, como se evidenció por la permanencia de la señal a 1041 cm^{-1} (Figura 23) y por los resultados de XPS (Tabla 6, sección 5.2.4).

5.2.6 Espectroscopia de absorción UV-vis

La posición y la intensidad de las bandas de absorción en el espectro de UV-vis de la PANI son sensibles a su estado de oxidación y forma electrónica (conductora o no conductora) [147]. Se ha reportado también que en el estado de ES, el espectro de absorción presenta cambios de acuerdo a la conformación que adoptan las cadenas, así como a la

longitud de la conjugación. [148]. Estos cambios se basan en la formación de la banda polarónica medio llena que se forma por la interacción entre polarones separados (2 polarones por cada unidad de repetición tetramérica), lo cual es congruente con las propiedades ópticas y eléctricas de la ES [148].

Los espectros de absorción UV-vis correspondientes a la PANI sintetizada a diferentes relaciones molares de anilina:AG y anilina:PSA se muestran en la Figura 24a y b, respectivamente. En los espectros se identifican las bandas características del estado ES de la PANI.

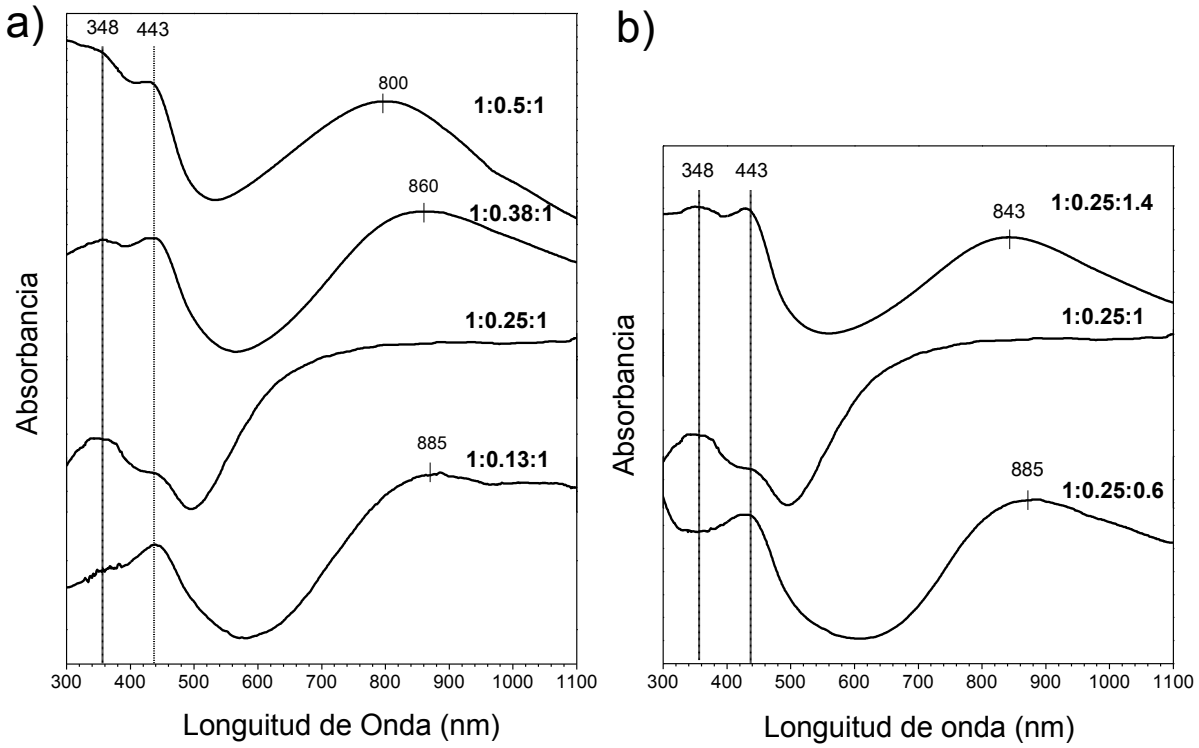

Figura 24. Espectros de absorción UV-vis de PANI sintetizada a diferentes relaciones molares de (a) anilina:AG y (b) anilina:PSA. El espectro de la muestra 1:0.25:1 se repite para comparación.

De manera general, los espectros de las diferentes síntesis son muy similares. Sin considerar a la muestra 1:0.25:1, en el resto de las muestras se identifican absorciones atribuidas a las transiciones de π-π^* ($\lambda_{máx}$ ~ 348 nm), polarón-π^* ($\lambda_{máx}$ ~ 430 nm) y π-polarón ($\lambda_{máx}$ entre 800 y 860 nm) con bandas bien localizadas. Estos resultados son congruentes con

las características conductoras encontradas en todas las muestras sintetizadas y con lo reportado para otras muestras de ES, como la PANI dopada con ácido canforsulfónico [148]. La presencia de un máximo de absorción en la región límite del visible-IR cercano también indica que el producto de estas síntesis presenta predominantemente sus cadenas en una conformación compacta. Este tipo de conformación puede ser atribuida a defectos de torsión entre los anillos aromáticos provocados porque los polarones de cada unidad tetramérica están aislados unos de otros. Por consiguiente, la banda polarónica tiene poca dispersión de energía y se muestra bien localizada.

En el caso de la muestra 1:0.25:1, la banda localizada de la transición π-polarón observada para el resto de las muestras, se sustituye por una cola alargada de portadores libres en la región del IR cercano. Esto es característico de una conformación de cadena extendida, en donde los defectos de torsión entre anillos aromáticos son eliminados lo que favorece la interacción entre los polarones aislados adyacentes, provocando una mayor dispersión de energía de la banda polarónica y aumentando su deslocalización [148]. Un diagrama de bandas de la PANI en estado de ES en una conformación compacta y extendida, se muestra en respectivamente la Figura 25a y b, respectivamente.

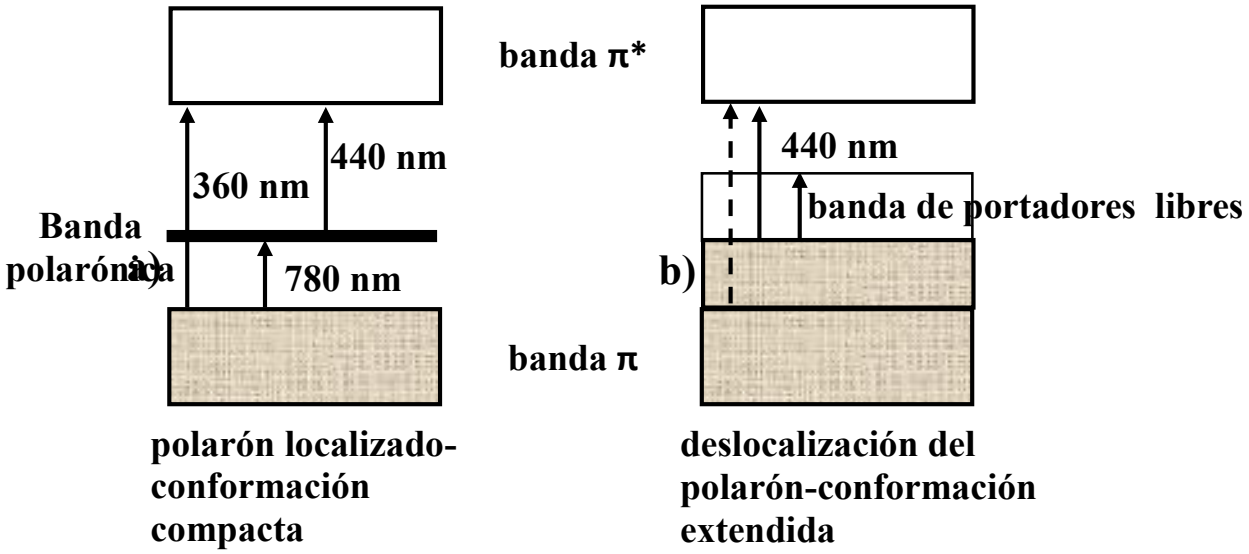

Figura 25. Diagrama de bandas para la PANI en su forma de emeraldina sal, a) conformación compacta, b) conformación extendida. Adaptado de referencia [148].

Tomando en consideración que en la muestra 1:0.25:1, se presenta la mayor incorporación del AG como especie dopante, tal como se evidenció por XPS, se puede deducir que el aminoácido además de mantener la electroneutralidad del sistema, disminuye las interacciones intracadena de la PANI, favoreciendo la conformación extendida de sus cadenas.

5.2.7 Voltametría cíclica

El comportamiento electroquímico de las muestras de PANI se estudió mediante VC. Al igual que para otro ICP, al aplicar un barrido de potencial directo se logra la oxidación de manera progresiva del material, observándose picos anódicos bien definidos que indican la oxidación del polímero. Al aplicar un barrido de potencial inverso, se produce el proceso contrario, ocasionando la reducción de las cadenas poliméricas [149]. Estos procesos de oxidación/reducción van acompañados con la entrada y salida de iones del polímero, tal como se representa en la siguiente ecuación para la PANI:

$$(PANI)_n^+ \quad + \quad X_p^- \quad \underset{oxidación}{\overset{reducción}{\rightleftharpoons}} \quad (PANI)_n \quad + \quad X_s^- \qquad (1)$$

donde X_p^- representa a los aniones (contraiones) en la matriz del polímero y X_s^-, los aniones en la solución electrolítica.

Estos procesos en los polímeros electroactivos son reversibles y el grado de oxidación alcanzado en el material se relaciona directamente con la carga consumida [150]. La PANI presenta reversibilidad entre sus tres estados de oxidación, utilizando un intervalo de voltajes adecuado [151, 152].

Los voltamogramas obtenidos con una velocidad de barrido de 200 mV s^{-1} para las muestras sintetizadas se presentan en la Figura 26. Con excepción de la muestra 1:0.25:1, se observan señales anchas, no definidas, que no concuerdan con los picos de oxidación-reducción característicos de la PANI. Lo anterior puede estar relacionado con limitaciones para la transferencia de carga electrodo-polímero y/o la dificultad para la difusión de los iones

que acompaña al proceso *redox* en el polímero [153]. La restricción para el intercambio de iones entre el electrolito y el polímero puede asociarse con una conformación compacta de la cadena de PANI, tal como se evidenció por espectroscopia de absorción UV (Figura 24) para este grupo de muestras [154].

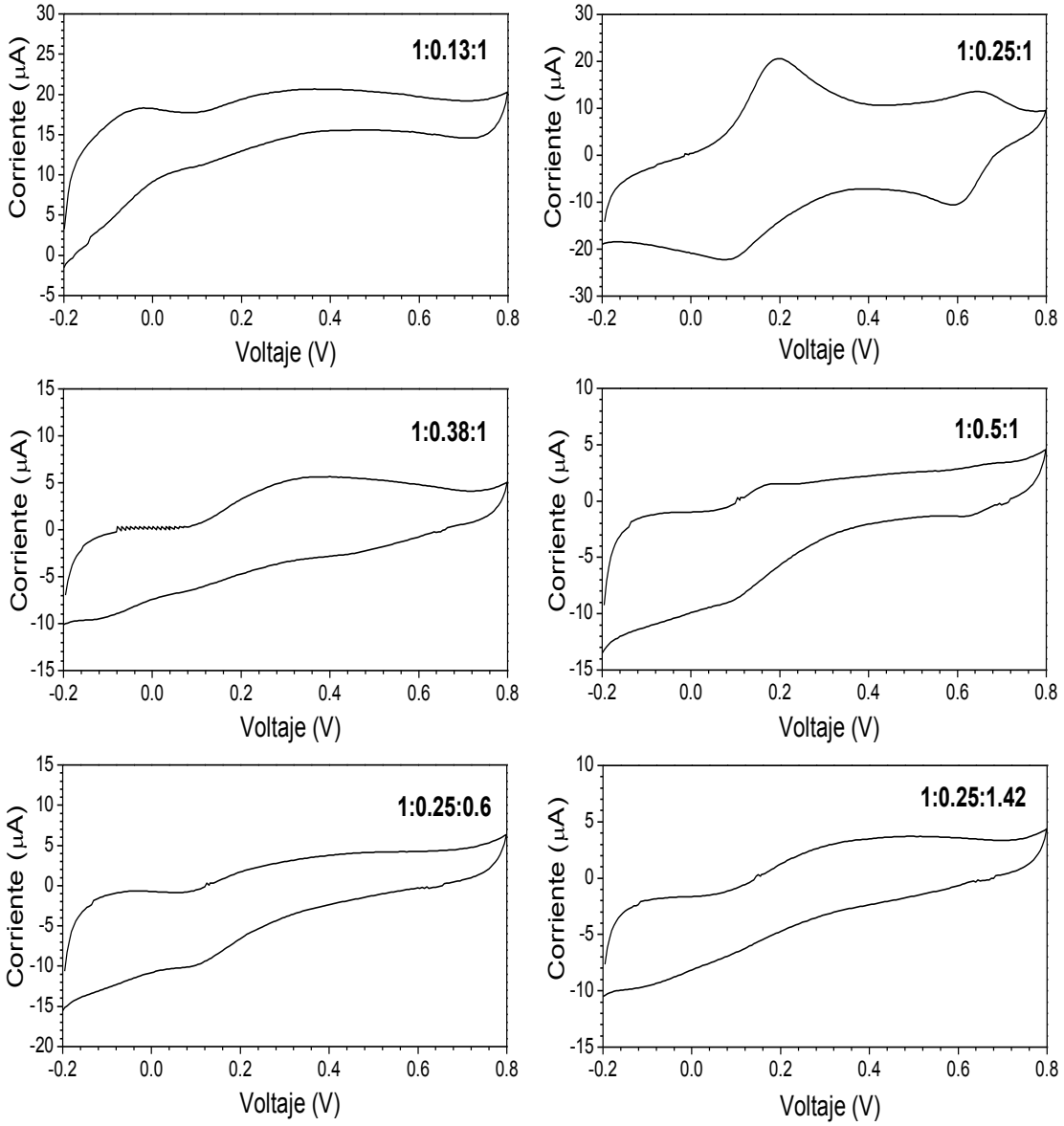

Figura 26. Voltamogramas cíclicos de PANI sintetizada a diferentes relaciones molares de anilina:AG:PSA. Curvas del 2do ciclo a 200 mV s^{-1}.

En el caso de la muestra 1:0.25:1 se observaron dos pares de señales *redox*, lo que concuerda con el comportamiento electroquímico esperado para la PANI [154]. En las curvas se detectan dos picos anódicos con máximos aproximadamente en 0.18 V (I_{a1} = 20.4 μA) y 0.65 V (I_{a2} = 14.1 μA); estos picos se asignaron a la oxidación de la PANI al pasar del estado leucoemeraldina a la forma de emeraldina y su posterior oxidación de emeraldina al estado pernigranilina, respectivamente [155]. Durante el barrido catódico podemos observar dos picos con mínimos alrededor de 0.55 V (I_{c1} = -22.3 μA) y 0.12 V (I_{c2} = -10.5 μA), correspondientes a las reacciones de reducción de pernigranilina a emeraldina y de emeraldina a leucoemeraldina, respectivamente [134]. No se observan picos *redox* a potenciales intermedios por lo que se descartó la presencia de unidades sobreoxidadas, ramificaciones o especies solubles producto de la degradación de la PANI [153, 156].

El comportamiento electroquímico encontrado en la muestra 1:0.25:1 concuerda con el reportado por L. Zhang *et al.* al sintetizar nanotubos de PANI en presencias de electrolitos similares (alanina, glisina, leusina, entre otros aminoácidos simples). Ellos encontraron dos pares de picos *redox* que atribuyeron al proceso de oxidación de leucoemeraldina a emeraldina alrededor de 0.24 V y el de esmeraldina a pernigranilina a 0.55 V [58]. La PANI sintetizada en presencia de ácidos fuertes puede presentar, típicamente, una mayor separación entre los picos [157].

La Figura 27 presenta las curvas de VC para la muestra 1:0.25:1 obtenidas a diferentes velocidades de barrido. De manera general, se observa que los potenciales de oxidación y reducción varían ligeramente con la velocidad de barrido. Lo anterior concuerda con lo reportado y se relaciona con los movimientos de expansión y contracción de las cadenas de la PANI que acompañan a los procesos de oxidación y de reducción del polímero, respectivamente [153]. Estos cambios en la conformación de la cadena del polímero ocurren mientras se presenta la entrada de iones desde el electrolito al polímero (oxidación, extensión de la cadena) o la salida de los iones del polímero al electrolito (reducción, contracción de la cadena). En consecuencia, los cambios en la velocidad de barrido de potencial influyen en la velocidad de los cambios conformacionales del polímero y la difusión de iones, lo que se refleja en los valores de potenciales *redox* que se obtienen experimentalmente.

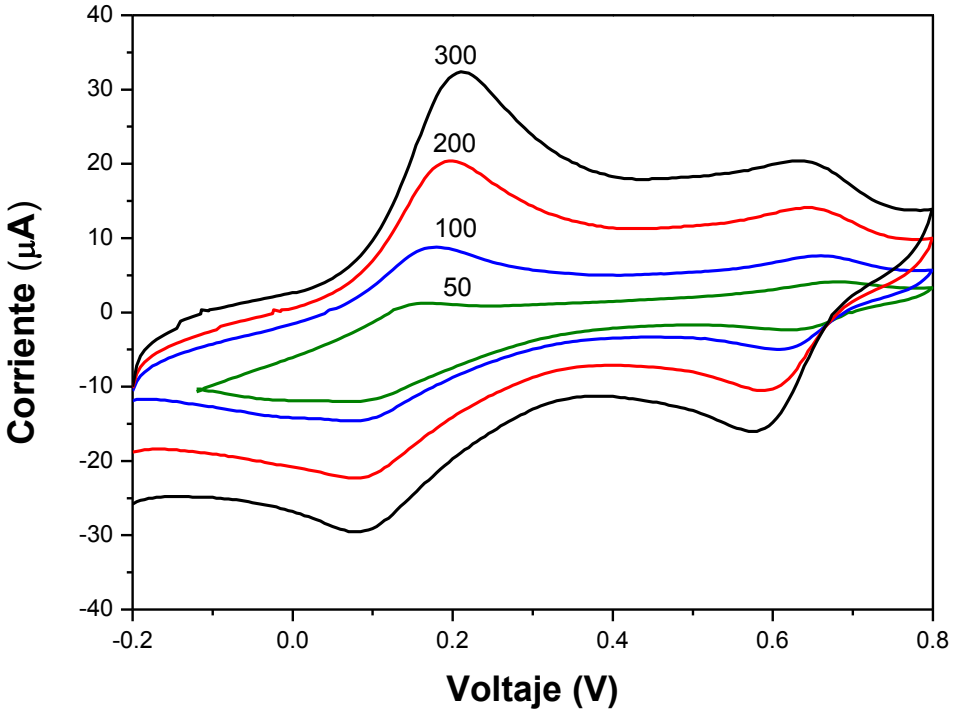

Figura 27. Voltamogramas cíclicos de PANI sintetizada con relación molar de anilina:AG:PSA de 1:0.25:1 a diferentes velocidades en mV s^{-1}. Curvas del 2do ciclo a cada velocidad.

En la muestra de PANI 1:0.25:1 se evaluó el efecto de la velocidad de barrido (v) sobre la corriente en los picos de oxidación (I_{a1}, I_{a2}) y de reducción (I_{c1}, I_{c2}) en el intervalo de 50 a 300 mV s^{-1}. La Figura 28 muestra el ajuste lineal obtenido para la dependencia de I *vs.* v. Los valores del coeficiente de correlación obtenidos permiten asegurar que el proceso *redox* no es controlado por la difusión de los iones, en cuyo caso se hubiese encontrado el ajuste lineal de la dependencia I *vs.* $v^{1/2}$ que plantea la ecuación de Randles-Sevcik [153].

La Figura 29 muestra las curvas de VC para 25 ciclos consecutivos de la PANI 1:0.25:1, a 200 mV s^{-1}. Las mediciones de voltametría fueron reproducibles en los 25 barridos, lo que indica que el polímero no sufre degradación significativa, manteniendo su electroactividad en el intervalo de potencial de análisis [158].

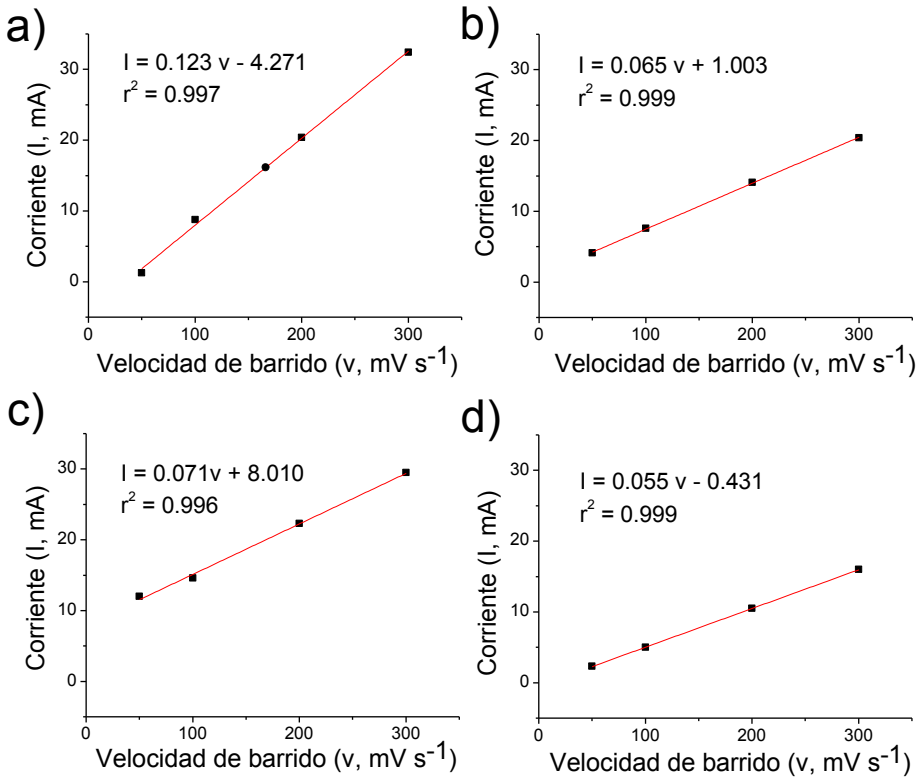

Figura 28. Ajuste lineal de la intensidad de corriente *vs.* velocidad de barrido para (a) I_{a1}, (b) I_{a2}, (c) I_{c1} y (d) I_{c2}, en la muestra de PANI 1:0.25:1.

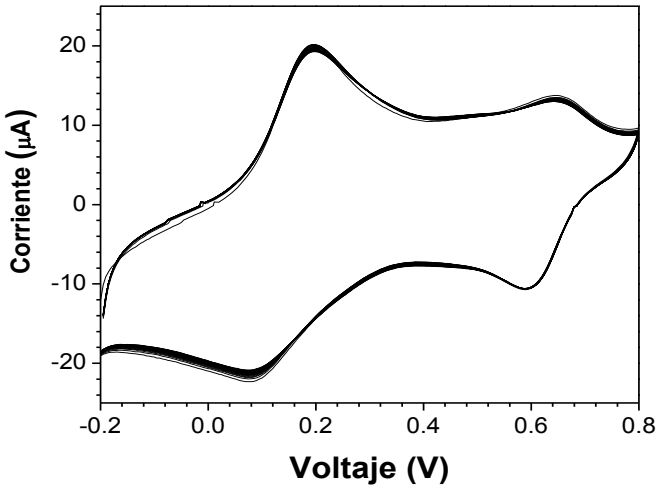

Figura 29. Voltamogramas cíclicos de PANI sintetizada con relación molar de anilina:AG:PSA de 1:0.25:1. Curvas superpuestas de 25 ciclos a 200 mV s^{-1}.

5.3 Estudio de la interacción anilina-ácido glutámico

La Figura 30 muestra los perfiles de pH de la mezcla de reacción durante la síntesis para las diferentes relaciones molares de anilina:AG:PSA.

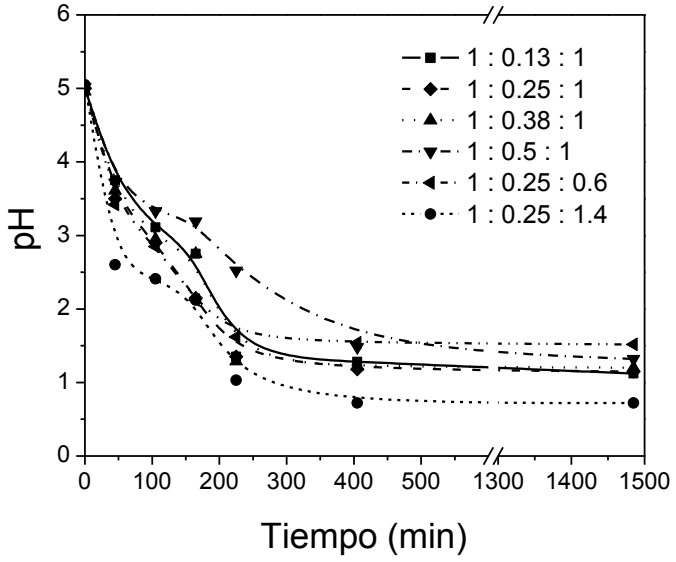

Figura 30. Variación del pH durante la polimerización de anilina en presencia de AG para las diferentes relaciones molares anilina: AG: PSA.

Cuando la anilina se disolvió en la solución acuosa de AG, antes del proceso de oxidación, el pH de la solución resultante se encontró alrededor de 5. En esta región de pH se presentó una mezcla equimolar de moléculas neutras de anilina, que se oxidan fácilmente y de cationes anilinio, que se oxidan mucho más lentamente [159] (*pKa* de anilina en medio acuoso es 4.6 [160]). Por otro lado, en esta región de pH, el AG existe principalmente como anión monovalente ($-NH_3^+$, $-COO^-(C_\alpha)$ and $–COO^-(C_\beta)$ [161]).

Una vez iniciado el proceso de polimerización por la adición del PSA, el pH del medio decae rápidamente hasta un intervalo entre 0.9 y 1.5 debido a la liberación de protones de los grupos aminos y el anillo de benceno, asociados con el acoplamiento de los monómeros, la formación de ácido sulfúrico como subproducto [160, 162] y/o formación de sales de

hidrógeno sulfato [163]. En este intervalo de pH, el AG existe principalmente como catión monovalente [-NH_3^+, -COOH(C_α), -COOH(C_β)] y en dicho estado no puede formar parte de la cadena polimérica como ion dopante. Sin embargo, puede estar asociado a la cadena del polímero mediante interacciones supramoleculares, mientras los iones sulfatos e hidrógeno sulfatos derivados de la reducción del PSA, estabilizan la cadena polimérica cargada participando como iones dopantes.

Después de terminada la reacción y purificado el polímero, el pH de la suspensión de PANI resultante se encontró alrededor de 5. En esta condición, el AG adquiere la forma de anión monovalente, lo que permite que pueda estabilizar la carga de la cadena de PANI como contraión. Esta conclusión se basa en los resultados de conductividad eléctrica, XPS y FTIR, donde se demostró la presencia del aminoácido y de especies que contienen azufre, una vez terminado el proceso de polimerización. La Figura 31 muestra una representación para la muestra 1:0.25:1, de las formas iónicas de las especies en cada etapa del proceso, según las condiciones de pH.

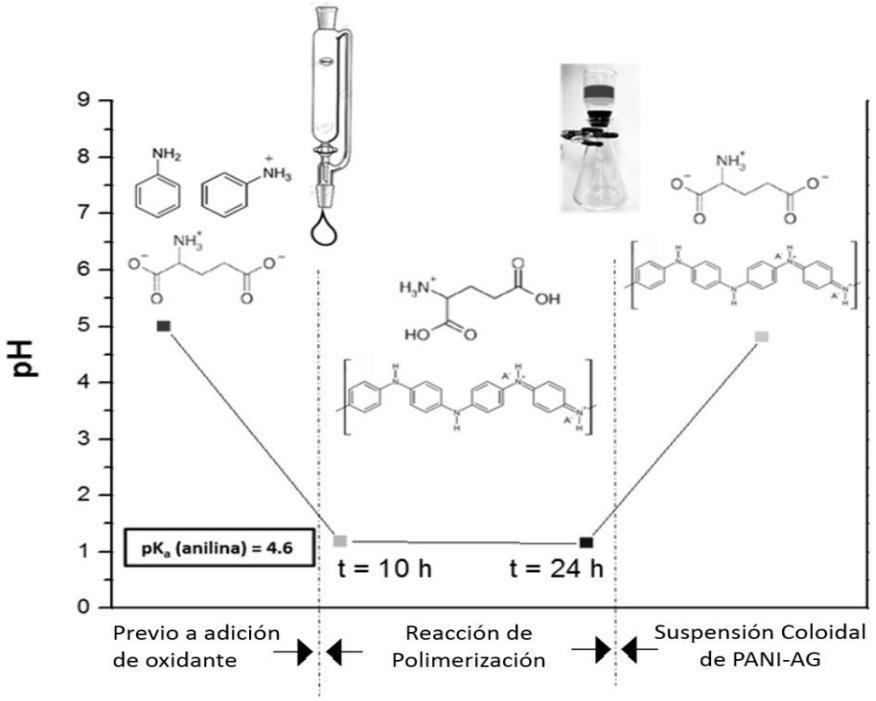

Figura 31. Representación de las formas iónicas de la anilina, el AG y la PANI antes, durante y al finalizar el proceso de polimerización.

Las condiciones de pH previas al proceso de polimerización permiten suponer que las moléculas de anilina y del aminoácido se encuentren asociadas a través de interacciones electrostáticas y/o por puentes de hidrógeno (por ejemplo, el grupo NH_2 de la anilina como donador de protones y el oxígeno del carbonilo del AG como aceptor de protones). El complejo monómero-aminoácido puede funcionar como "semilla" para la subsecuente polimerización de la anilina. La formación de "semillas" en el proceso de síntesis de PANI se ha utilizado en trabajos previos para favorecer la producción de estructuras unidimensionales a escala nanométrica (nanofibras y nanotubos) [53, 54]. Siguiendo esta suposición, la formación del híbrido anilina-AG en la preparación de la PANI dependerá de la relación molar anilina:AG establecida en la síntesis, lo cual controlará la morfología del producto de la polimerización. Lo anterior se corresponde con los cambios morfológicos observados por imágenes de TEM en las estructuras del PANI para diferentes relaciones molares de anilina:AG.

Con el objetivo de corroborar la hipótesis de formación de un complejo monómero-aminoácido previo al proceso de polimerización, se llevó a cabo una titulación de una solución de anilina adicionando alícuotas de una solución de AG. La titulación se realizó en solución buffer de pH 5 para simular las condiciones iniciales de la polimerización y se monitorearon los cambios en las bandas de absorción de la anilina por espectroscopía UV-vis.

La Figura 32 muestra los resultados obtenidos de la curva de titulación. El espectro del monómero de anilina muestra las bandas características de absorción a 230 y 280 nm, correspondientes a las transiciones π - π^* y n- π^*, respectivamente. La adición de alícuotas del aminoácido produce un efecto hipocrómico drástico en el espectro de la anilina, lo que evidencia el establecimiento de interacciones supramoleculares como por ejemplo, puentes de hidrógeno u otras interacciones dipolo-dipolo entre ambas especies durante el experimento. Lo anterior corroboró la hipótesis de formación de un complejo anilina-AG, previo al proceso de síntesis de PANI [164, 165].

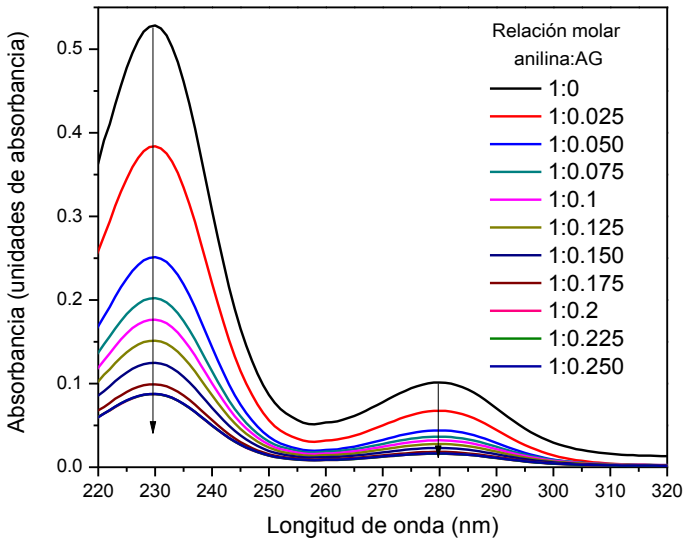

Figura 32. Curva de titulación por espectroscopia de absorción UV-vis de solución de anilina con solución de AG a pH de 5.

5.4 Liberación de fármaco adsorbido frente a soluciones buffer

Los perfiles de liberación de amoxicilina en función del pH desde los sistemas PANI/amoxicilina contenidos en membrana de celulosa, frente en soluciones buffers a 25 y 37 °C, con agitación mecánica constante se muestran en la Figura.33. La liberación de la amoxicilina fue sensible a la condición de pH; por ejemplo, después de 48 h, las cantidades de liberación acumulada del fármaco a pH 5, 7 y 9 fueron 83% (667 mg), 76% (615 mg) y 98% (791 mg), respectivamente a 37 °C.

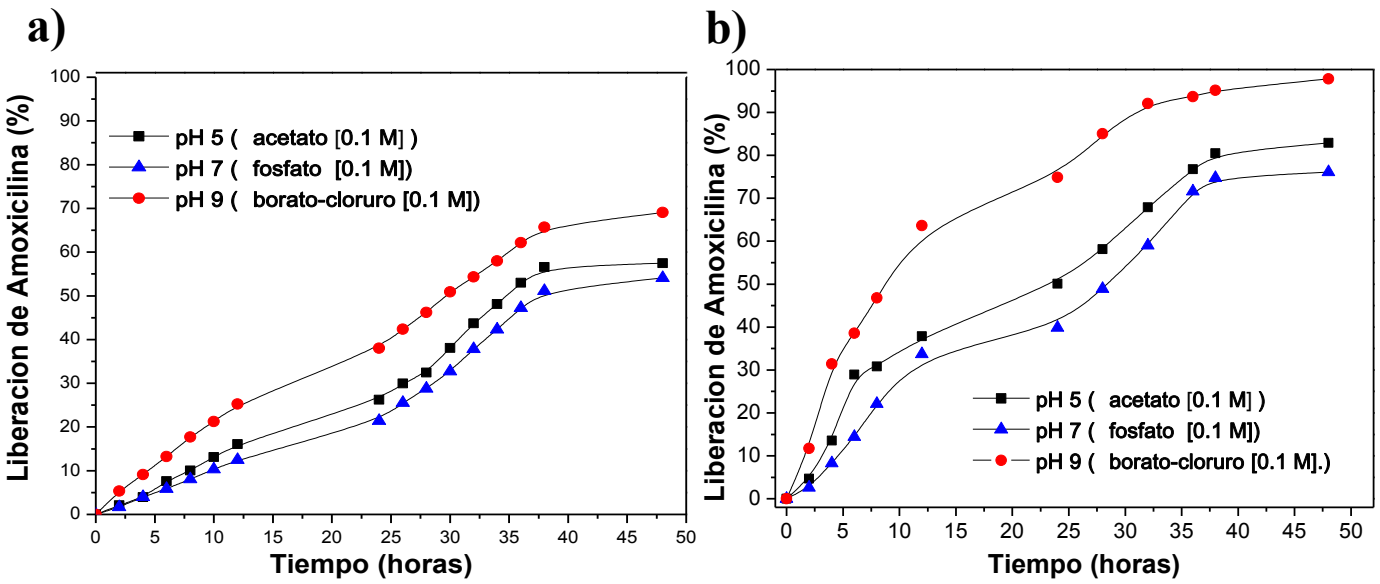

Figura 33. Liberación de amoxicilina a partir de membranas de acetato de celulosa: a) 25°C y b) 37°C

Se ha reportado que un ICP en dispersión coloidal es electroquímicamente activo y puede adsorber o liberar especies iónicas de acuerdo a la variación de su entorno electroquímico, como un cambio de pH o un potencial *redox* [166].

En condición básica (pH 9), el proceso de desprotonación/desdopado de la PANI (*pKa* de 6 a 9) [167], produce la salida de los contraiones lo que puede inducir sinérgicamente, la liberación del antibiótico. Por otro lado, la amoxicilina es una molécula anfótera con valores de *pKa* de 2.4 (carboxilo), 7.4 (amino) y 9.6 (fenol) [168]. En este valor de pH, su condición aniónica no favorece su asociación al sistema polimérico que se encuentra en estado neutro.

La liberación del fármaco en el ambiente neutro y ácido (pH = 7 y 5) se atribuye a un proceso de intercambio de iones, bajo el efecto dinámico de la agitación, entre las especies iónicas del tampón y los contraiones de sistema PANI sal, el cual fue evidentemente menos favorecido en condiciones neutras [167]. En este intervalo de pH, la amoxicilina existe como ion híbrido, por lo que no puede interaccionar electrostáticamente con el sistema polimérico. El efecto de la temperatura sobre la cinética de liberación se puede observar en la Tabla 7,

donde se muestran los porcentajes de liberación a 25 y 37°C para los diferentes buffers a 48 h.

Tabla 7. Liberación de amoxicilina a diferentes temperaturas desde membranas de acetato de celulosa.

Temperatura	pH	Amoxicilina liberada a 48 h	
		(%)	(mg)
25°C	5	58	465
	7	54	433
	9	69	554
37°C	5	83	667
	7	76	615
	9	98	791

La liberación del fármaco a 25°C fue inferior que la liberación a 37°C en el equilibrio, esto puede considerarse un resultado satisfactorio ya que hace el sistema más factible para aplicaciones biomédicas. Este comportamiento puede ser atribuido a una mayor probabilidad de disociación de las interacciones físicas, como los enlaces por puente de hidrógeno, entre el fármaco y el sistema polimérico, con el aumento de temperatura, favoreciendo la liberación del antibiótico al medio [169]. El aumento de temperatura también incrementa la energía cinética de las moléculas de amoxicilina, favoreciendo su difusión desde el sistema polimérico contenido en las membranas de diálisis hacia el medio de liberación [170].

5.5 Hidrogeles compuestos de poliacrilamida y polianilina cargada con fármaco

Los hidrogeles compuestos PAAm/PANI/amoxicilina se prepararon usando la muestra de PANI 1:0.25:1 cargada con el fármaco. Cualitativamente, a nivel macroscópico, los hidrogeles presentaron una consistencia blanda, manteniendo su geometría una vez extraídos del molde, lo cual permitió su fácil manipulación en los estudios de caracterización y liberación de fármaco. La Figura 34 muestra una imagen típica de los hidrogeles compuestos tipo A, B y C, según la identificación de la Tabla 3, sección 4.2.6.

Figura 34. Imagen de los hidrogeles compuestos, de izquierda a derecha, hidrogel A, B y C.

5.5.1 Caracterización morfológica

La Figura 35 presenta micrografías obtenidas de la sección transversal del hidrogel B. Las imágenes revelan la presencia de las submicro/nanoestructuras de PANI, tal como se observaron posterior a su síntesis mediante SEM (Figura 16-b) y TEM (Figura 17-b, Figura 27), dentro de la matriz hidrogel. Se observa que las estructuras mantienen su morfología fibrilar después del proceso de cargado del fármaco y de su incorporación al hidrogel, conservando una alta relación de aspecto longitud-diámetro y distribuyéndose de manera homogénea, en direcciones aleatorias y sin apreciarse una aglomeración significativa. Cabe mencionar que las escasas imágenes de SEM y TEM reportadas en la literatura para secciones transversales de materiales compuestos de ICP contenidos en hidrogel aislante han evidenciado gránulos irregulares del polímero electroconductor rellenando las cavidades micrométricas de hidrogel [171]. Se considera entonces que el procedimiento usado en este trabajo resulta adecuado para la formación de una red tridimensional de nanofibras de PANI soportadas por una matriz del hidrogel aislante.

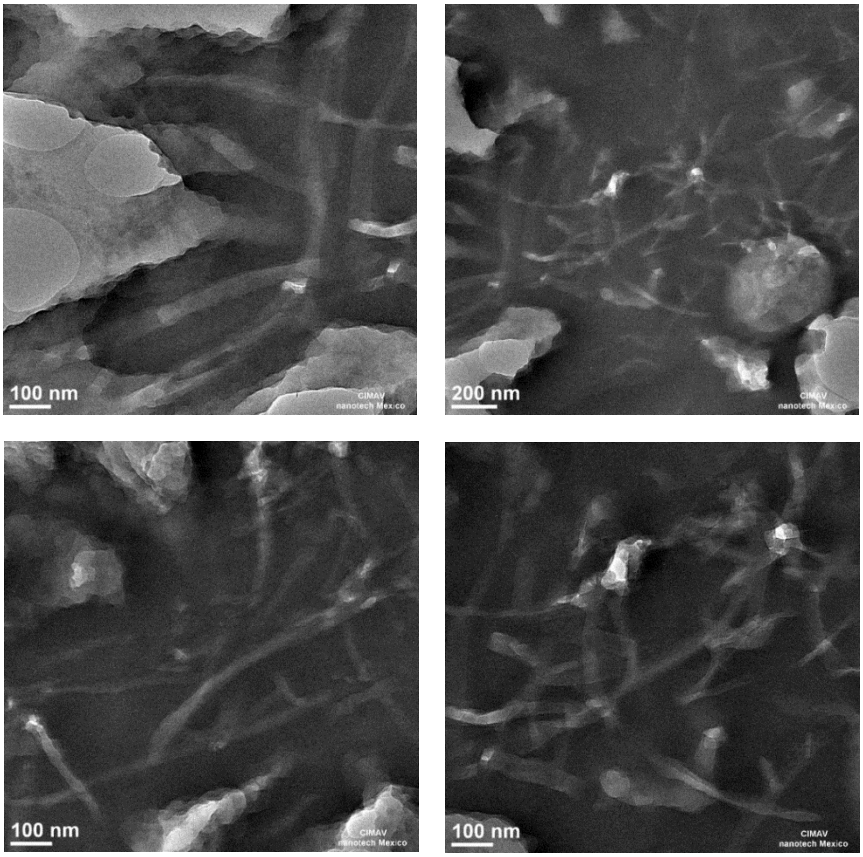

Figura 35. Imágenes por TEM de la sección transversal de hidrogel compuesto PAAm/PANI/amoxicilina (hidrogel B según Tabla 3, sección 4.2.6).

5.5.2 Cinética de hinchamiento

La Figura 36 se muestran los porcentajes de hinchamiento para formulaciones de hidrogeles compuestos PAAm/PANI/amoxicilina con variación en la cantidad de agente entrecruzante e hidrogeles de PAAm, preparados conforme a la Tabla 3. Se observa que para todas las formulaciones el porcentaje máximo de hinchamiento se alcanzó alrededor de las 48 h, sin observarse variaciones importantes hasta las 96 h. Todas las formulaciones presentan un comportamiento similar, encontrándose una disminución en el porcentaje de hinchamiento a medida que aumenta la cantidad de agente entrecruzante [172]. Esto se atribuye a la formación de una red polimérica más cerrada debido a la formación de una

mayor cantidad de enlaces covalentes entre las cadenas poliméricas por la acción de la BisAAm (agente entrecruzante). El grado de entrecruzamiento se determina en gran medida por el tamaño de poro del material, el cual al aumentar la densidad de entrecruzamiento, disminuye provocando una disminución en el grado de hinchamiento [84, 86].

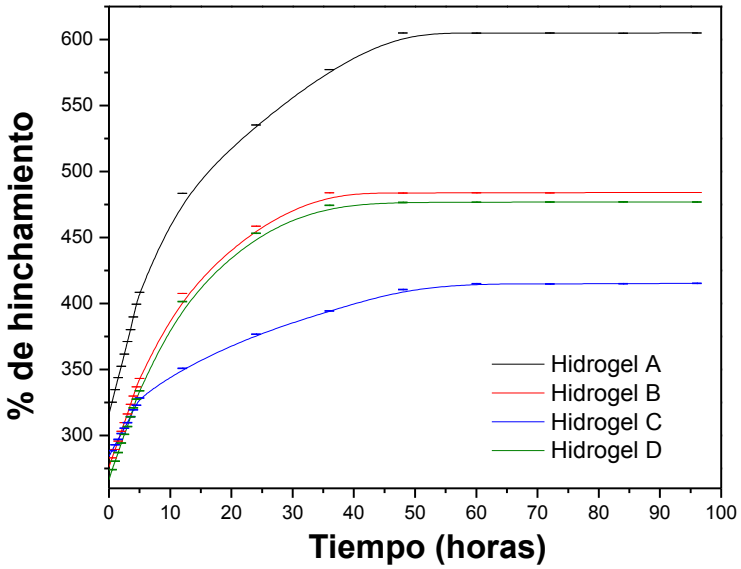

Figura 36. Porcentaje de hinchamiento de hidrogeles compuestos de PAAm/PANI/amoxicilina, a) gel A (relación AAm/BisAAm, 58:1), b) gel B (58:2), c) gel C (58:3) y d) gel D (58:2), en bufer de fostafo a pH 7 a temperatura ambiente.

Se distingue también que las curvas de hinchamiento de los hidrogeles B y D son similares, lo que evidencia que la presencia de las nanofibras de PANI cargadas con fármaco no interfieren en la cinética de hinchamiento del hidrogel de PAAm.

5.5.3 Liberación *in vitro* de amoxicilina desde hidrogel compuesto de poliacrilamida y polianilina cargada con el fármaco usando agitación orbital

Se estudió la cinética de liberación de amoxicilina adsorbida sobre las estructuras de PANI desde los hidrogeles compuestos PAAm/PANI/amoxicilina en función del grado de entrecruzamiento del hidrogel (relación en masa AAm:BisAAm), el pH del medio de liberación y de la temperatura, para lo cual se usaron las 3 formulaciones que se describen en la Tabla 3. Adicionalmente se analizó el efecto sobre la cinética de liberación de la forma de incorporación del medicamento al hidrogel, para lo que se usó la formulación del gel de PAAm sin partículas de PANI, cargado únicamente con el antibiótico.

La Figura 37 muestra la cinética de liberación de amoxicilina en función del pH para los hidrogeles compuestos preparados con diferentes relación en masa de AAm:BisAAm. Se observa que la cantidad de antibiótico liberado varía con respecto al pH del medio de liberación, independientemente del grado de entrecruzamiento del hidrogel. Al valor más alto de pH, la cinética de liberación es más rápida y el % de liberación es mayor en el equilibrio. Este comportamiento se explica teniendo en cuenta la naturaleza del polímero electroconductor. La mayor liberación en medio básico es atribuida principalmente al desdopaje de la PANI, lo que conlleva a la salida de las moléculas de AG que rodean a las estructuras de PANI y funcionan como contraiones [17] y en consecuencia, se induce la salida de las moléculas de amoxicilina. La liberación de fármaco en medio neutro y ácido se explica por un proceso de intercambio iónico entre las especies dopantes de la PANI y los aniones del buffer, proceso que según los resultados experimentales se encuentra menos favorecido en medio ácido.

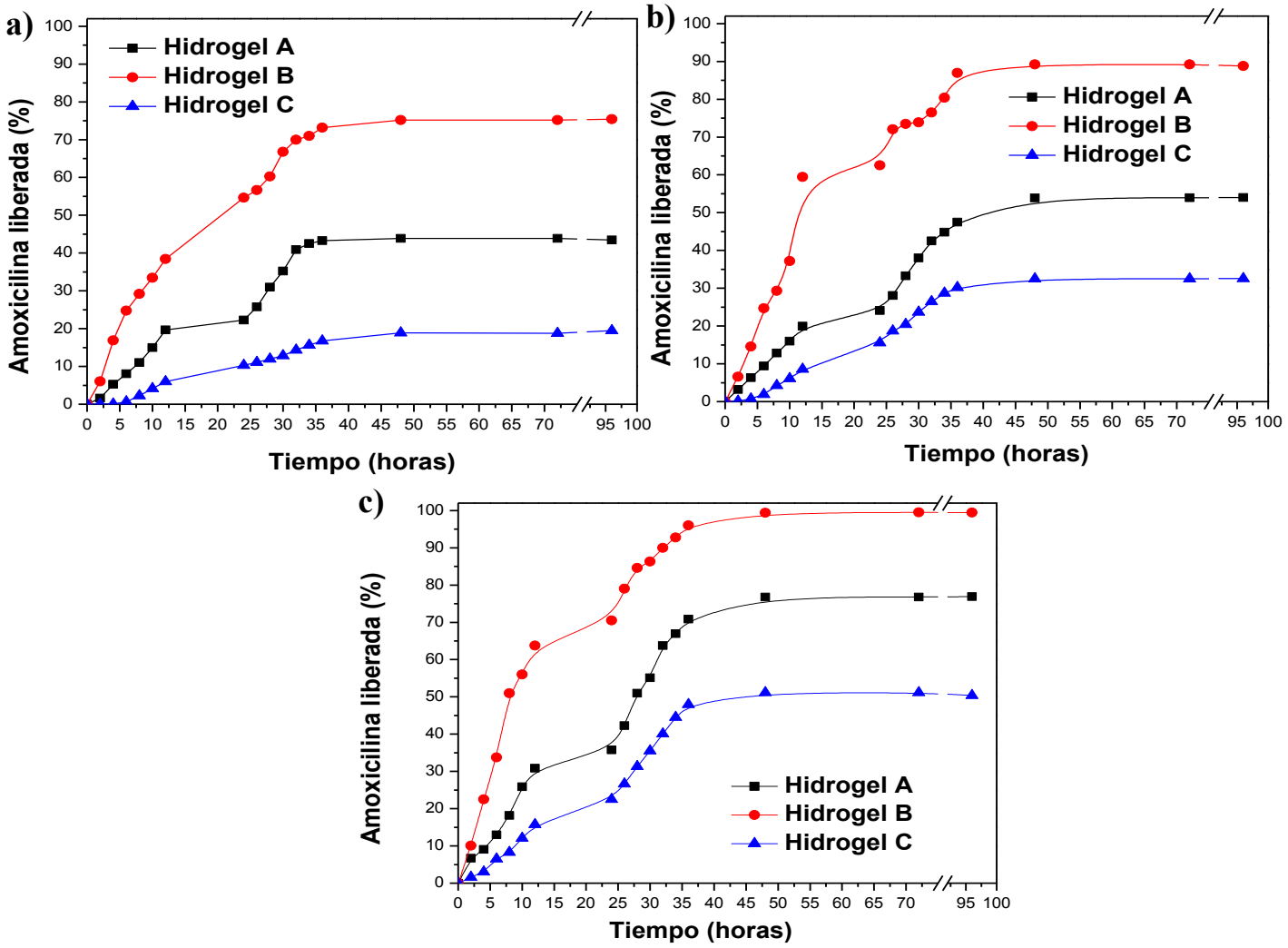

Figura 37. Cinética de liberación de amoxicilina a 37°C desde los hidrogeles A, B y C frente a pH de a) 5, b) 7 y c) 9.

La Figura 38 muestra la cinética de liberación de amoxicilina desde los sistemas PANI contenidos en las red de PAAm, en función de la proporción del agente entrecruzante, para los diferentes valores de pH. Independientemente del valor de pH, los resultados evidenciaron que la cinética de liberación del fármaco depende de la proporción utilizada del agente reticulante en el hidrogel.

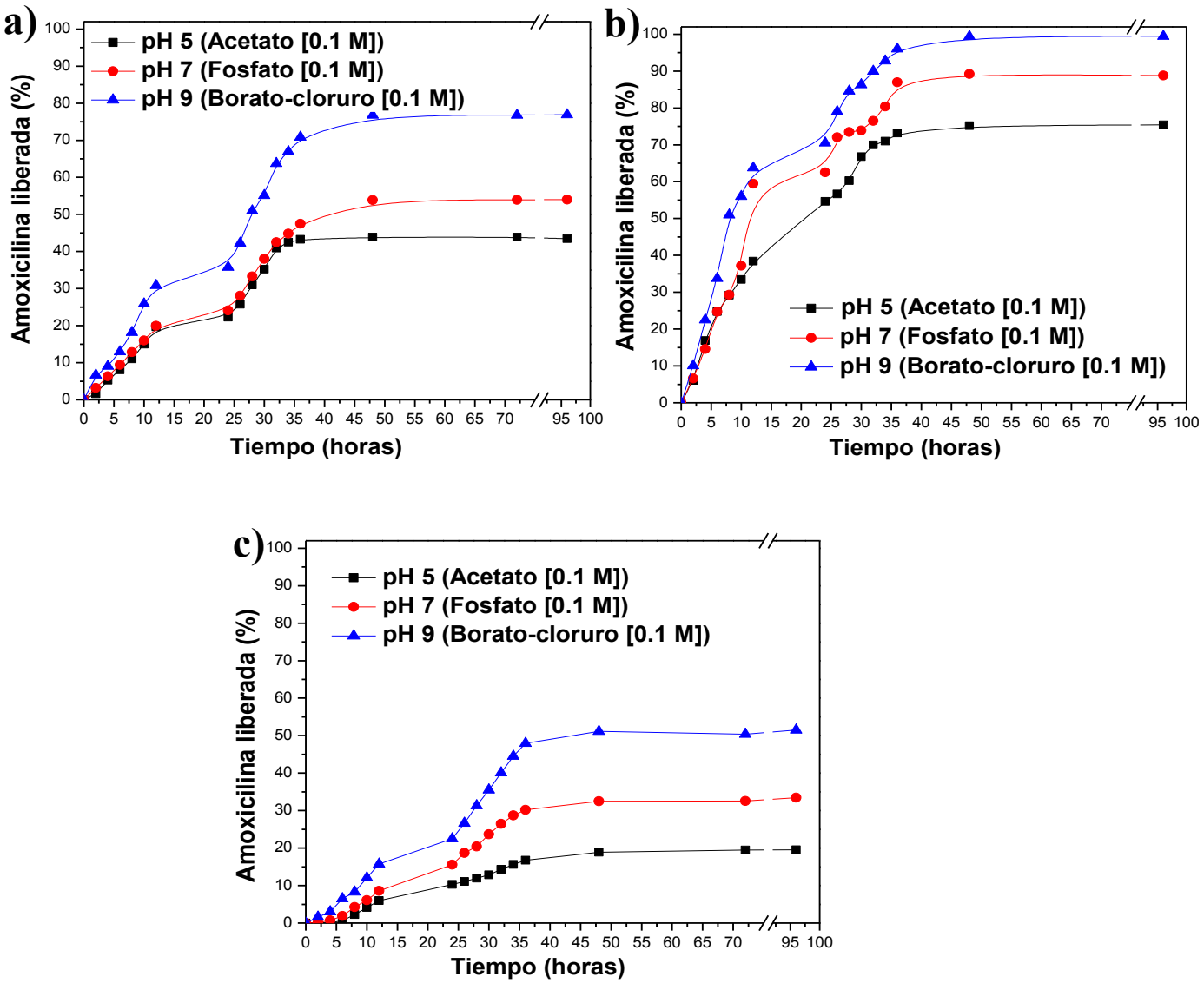

Figura 38. Cinética de liberación de amoxicilina a 37°C frente a pH de 5, 7 y 9, desde los hidrogeles a) A, b) B y c) C.

En el caso de los hidrogeles B y C, a medida que aumenta el contenido de BisAAm, la cinética de liberación es más lenta y disminuye la cantidad de amoxicilina liberada en el equilibrio para todos los valores de pH analizados. Lo anterior corresponde con lo esperado teórica y experimentalmente de acuerdo a los resultados de hinchamiento (Figura 36), donde se encontró que a mayor contenido de BisAAm, la red polimérica mostraba menor capacidad

de hinchamiento. Como resultado se produce una cinética de liberación más lenta con un % de liberación menor del fármaco en el equilibrio [173].

El hidrogel A, el cual contiene una menor concentración de BisAAm, mostró un comportamiento diferente al esperado. Al tener menor cantidad de agente entrecruzante se esperaba que la red polimérica estuviera menos compacta que el resto de las concentraciones y por tanto, la liberación se viera favorecida, concordando con los resultados de hinchamiento para este tipo de hidrogel (Figura 36). Sin embargo, el resultado experimental mostró que a esta relación la cinética de liberación es más lenta y el % de liberación en el equilibrio menor que para el hidrogel B, resultado que se corroboró repitiendo el procedimiento experimental.

La influencia de la temperatura sobre la cinética de liberación del antibiótico se analizó en el hidrogel B, debido a que en esta formulación se alcanzó el mayor % de liberación en el equilibrio. La Figura 39 muestra los resultados de la cinética de liberación desde el hidrogel B a 25°C y 37°C, frente a valores de pH de 5, 7 y 9.

Se observa una dependencia de la cinética de liberación con la temperatura. A mayor temperatura se incrementa la velocidad de liberación y el % de liberación en el equilibrio. Lo anterior se explica por el hecho de que a una mayor temperatura se favorece la difusión del fármaco dentro del volumen del hidrogel, debido al incremento de la energía cinética de las moléculas de amoxicilina. El aumento de temperatura incrementa también la probabilidad de rompimiento de interacciones físicas del antibiótico con el sistema polimérico, favoreciendo su liberación hacia la solución buffer [169, 170]. El equilibrio se estableció alrededor de las 48 h para ambas temperaturas. El mayor % de liberación en el equilibrio se obtuvo a 37°C, lo que resulta factible para aplicaciones biomédicas.

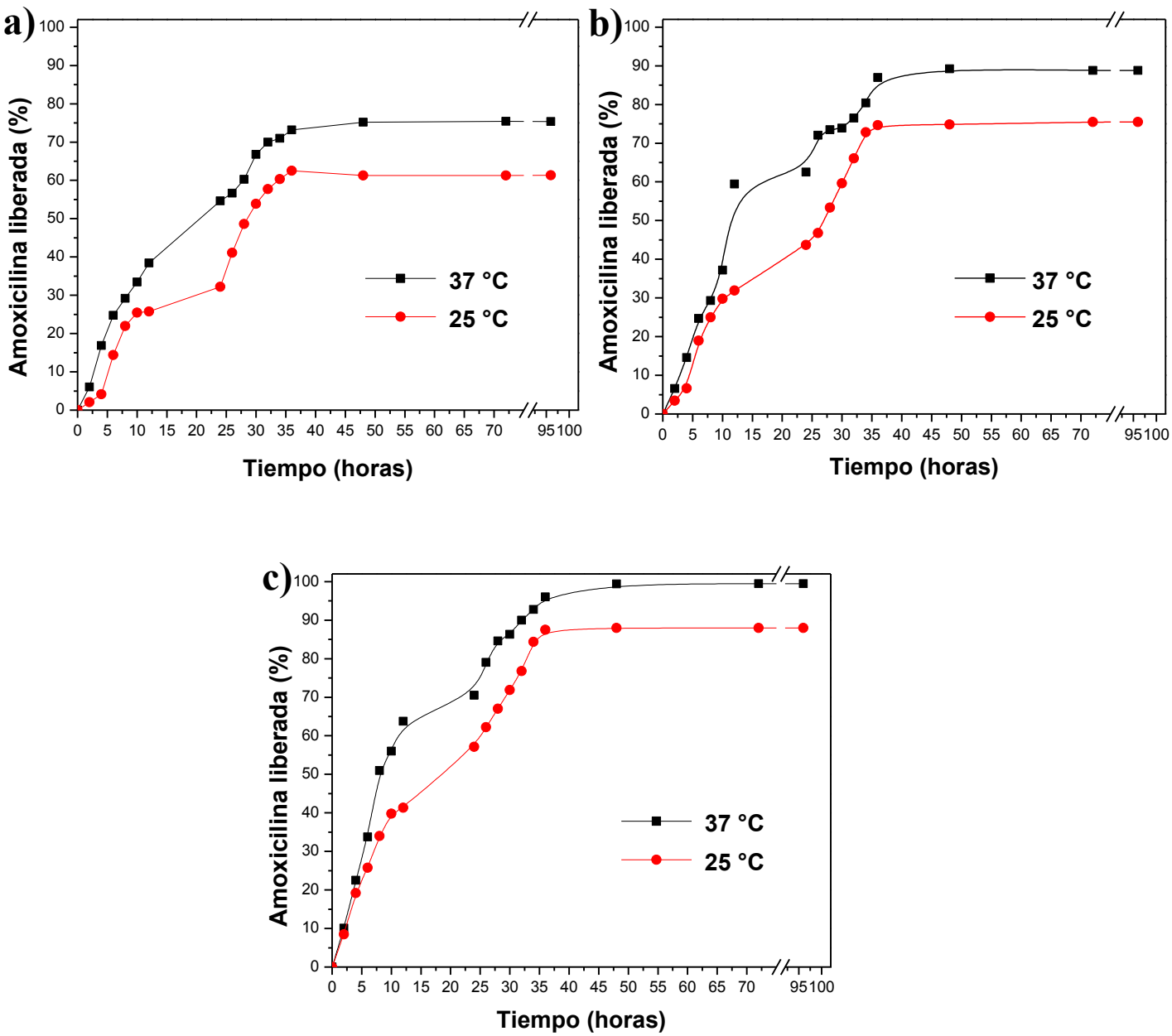

Figura 39. Cinética de liberación de amoxicilina desde el hidrogel B a 25 y 37°C frente a pH de a) 5, b) 7 y c) 9.

En la Figura 40 se muestran los resultados obtenidos al estudiar el efecto de la forma en la que se incorpora el medicamento al hidrogel, sobre la cinética de liberación del antibiótico. Los datos de la cinética de liberación desde el hidrogel compuesto B a 37°C, previamente discutidos, se comparan con la cinética obtenida para la liberación desde

hidrogeles preparados con similar relación monómero:entrecruzante, cargados únicamente con el fármaco, sin estructuras de PANI.

De manera general, en los sistemas de liberación prolongada de medicamentos es deseable que la cinética de liberación sea lenta y que se alcance un % alto de liberación en el equilibrio. En la Figura 40 se observa que el equilibrio se alcanza en menor tiempo en el hidrogel donde no están presentes las estructuras de PANI (de 12 a 24 h) en comparación con el tiempo registrado para el hidrogel compuesto B (~ 48 h). Lo anterior indica que la amoxicilina se encuentra más fuertemente retenida sobre las fibras de PANI que cuando se encuentra únicamente atrapada en el volumen del hidrogel. En el hidrogel sin estructuras de PANI, la cinética de liberación del medicamento está determinada por la facilidad para la difusión del fármaco en el volumen del hidrogel, factor que a su vez depende de la capacidad de hinchamiento del hidrogel y del grado de interacción entre los grupos polares del fármaco y las funcionalidades de las cadenas de la PAAm.

En el caso del hidrogel compuesto que contiene las fibras de PANI, además de los factores anteriormente mencionados, la liberación de las moléculas del fármaco implica un proceso adicional de intercambio iónico entre los iones del búfer y los asociados a las cadenas conductoras del polímero.

Considerando que la cinética de hinchamiento de los hidrogeles B y D son similares (Figura 46), se deduce que el proceso de intercambio entre el sistema polimérico electroconductor y los iones del buffer determinan la diferencia entre las cinéticas de liberación del fármaco, sin embargo en todos los parámetros analizados sobre la cinética de liberación de amoxicilina adsorbida sobre las estructuras de PANI desde los hidrogeles compuestos, se observa que la cinetica de liberación sufre un cambio de pendiente alrededor de 12-24 horas, efectos similares se an encontrado en liberación de fármacos desde hidrogeles, donde cambian las condiciones de liberación, como un cambio de temperatura, o pH [174].Otros estudios sobre la cinetica de liberación de fármacos desde hidrogeles compuestos, han mostrado este tipo de comportamiento cuando el valor de n es mayor a 0.45 y menor a 0.89, lo cual se relaciona con una cinetica de liberación del tipo no ficiano, donde la liberación del fármaco es controlada por un transporte anómalo. En este caso el tiempo de

relajación de las cadenas polimericas es comparable con el tiempo de difusión y el comportamiento de liberación del fármaco desde en interior del hidrogel, sigue ambas cineticas [175].

Tomando en cuenta el criterio anterior, se concluye que la adsorción del fármaco sobre las estructuras de PANI y su posterior incorporación al hidrogel favorece su aplicación en un sistema de liberación prolongada de fármacos, mas sin embargo se debe realizar un análisis más exhaustivo, sobre la cinetica que controla la liberación de las moléculas bioactivas, asi como un ambiente mas controlado de temperatura.

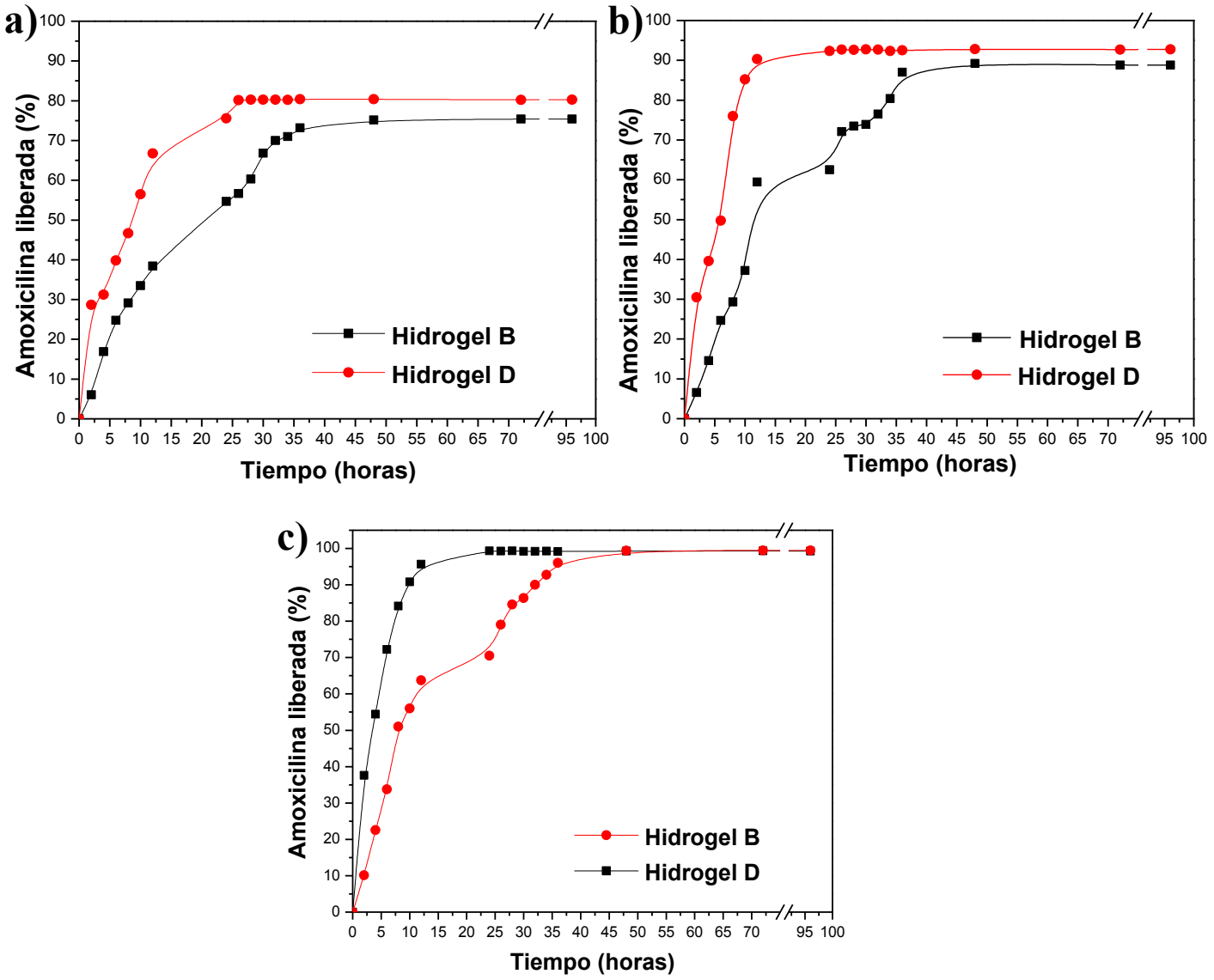

Figura 40. Cinética de liberación de amoxicilina a 37°C desde los hidrogeles B y D frente a pH de a) 5, b) 7 y c) 9.

5.5.4 Liberación *in vitro* de amoxicilina desde hidrogel compuesto de poliacrilamida y polianilina cargada con el fármaco usando estímulos eléctricos.

El estudio de la liberación de amoxicilina adsorbida sobre las estructuras de PANI 1:0.25:1 desde hidrogeles de PAAm frente a estímulos eléctricos, se analizó frente a buffer

pH 7, utilizando los hidrogeles compuestos E (Tabla 4). Tal como ya se mencionó en la sección anterior, con la relación AAm/BisAAm de este hidrogel se encontraron los mejores resultados para la aplicación biomédica.

Las Figuras 41, 42 y 43 muestran los resultados de la cinética de liberación del fármaco desde los hidrogeles compuestos, aplicando estímulos de 5, 4 y 3 V, respectivamente.

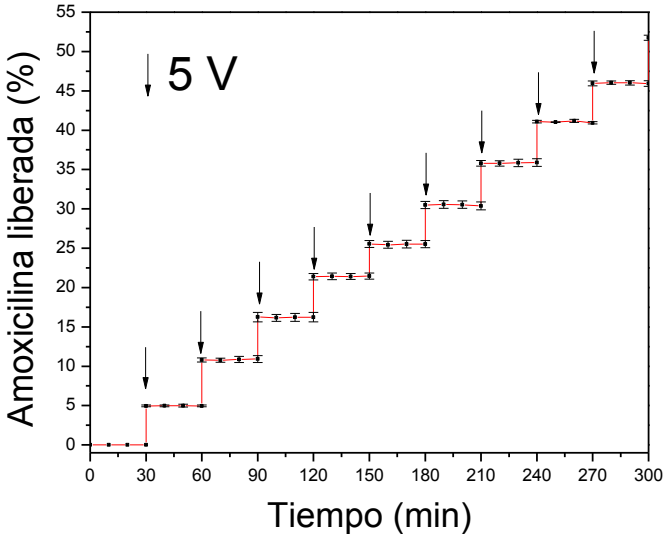

Figura 41. Liberación de amoxicilina desde hidrogeles compuestos E conectados al cátodo, mediante estimulación eléctrica de 5V. La flecha indica la aplicación del potencial.

Para todos los casos se realizó el monitoreo de la liberación previo a la aplicación del impulso eléctrico por 30 minutos, no se detectaron concentraciones significativas del fármaco en el medio antes de suministrar el estímulo. La aplicación de voltaje produce una liberación inmediata de amoxicilina de 2 a 5% aproximadamente, según la intensidad del potencial usado. El monitoreo del medio cada 10 minutos, durante los 30 minutos siguientes a la aplicación del estímulo mostró que no se produjo una variación significativa de la concentración del fármaco. Al aplicar el segundo estímulo, se observó un nuevo aumento en la concentración de amoxicilina, comportamiento que se repitió hasta terminado el experimento al menos en los 9 ciclos posteriores de aplicación y retiro de la diferencia del

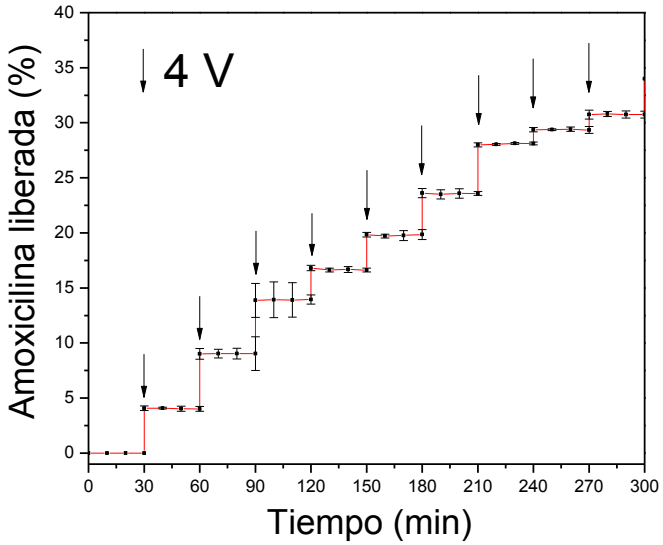

Figura 42. Liberación de amoxicilina desde hidrogeles compuestos E conectados al cátodo, mediante estimulación eléctrica de 4V. La flecha indica la aplicación de potencial.

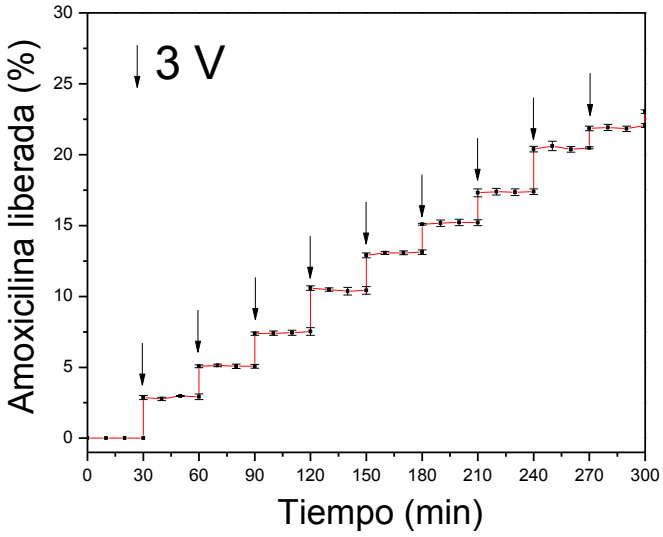

Figura 43. Liberación de amoxicilina desde hidrogeles compuestos E conectados al cátodo, mediante estimulación eléctrica de 3V. La flecha indica la aplicación del potencial.

Potencial. Se observó que la cantidad de fármaco liberado aumenta con el incremento de la intensidad del estímulo aplicado; las cantidades promedio y acumulativas de amoxicilina liberada según el voltaje aplicado se resumen en la Tabla 8.

Tabla 8. Cuantificación de la liberación de amoxicilina desde hidrogel de PAAm/PANI por estimulación eléctrica catódica.

Potencial	Promedio*		Acumulativa**	
(V)	%	mg	%	mg
5	5.2 ± 0.5	13.9 ± 1.3	51.7 ± 0.3	138 ± 0.9
4	3.4 ± 1.3	9.1 ± 3.5	34.0 ± 0.3	91 ± 0.8
3	2.2 ± 0.7	5.8 ± 1.8	23.0 ± 0.1	61 ± 0.7

*Calculada en los 10 pulsos de potencial.

**Determinada después de 10 pulsos of potencial.

El patrón de liberación tipo “ON/OFF” del fármaco desde el sistema electroconductor por efecto del estímulo eléctrico puede asociarse al movimiento de las moléculas del fármaco cargadas por el impulso del campo eléctrico y/o al cambio de carga neta global dentro del polímero tras la reducción u oxidación del mismo [176]. En el sistema PANI/amoxicilina, el primer efecto se descartó debido a que la amoxicilina a pH neutro no presenta carga neta [177]. Por tanto, la liberación del fármaco se atribuyó a la reducción electroquímica de la PANI, que provoca cambios en la densidad de carga del polímero y la contracción de su volumen, lo que sinérgicamente conduce a la liberación de la amoxicilina unida no covalentemente a las submicro/nanoestructuras de la PANI.

Con el objetivo de corroborar la conclusión anterior, se realizaron experimentos de control cambiando el sentido de la diferencia de potencial en el hidrogel compuesto. En la Figura 44 se muestran los resultados de cinéticas de liberación de amoxicilina a 5 V cambiando la polaridad entre los electrodos (electrodo inmerso en el hidrogel compuesto y electrodo libre).

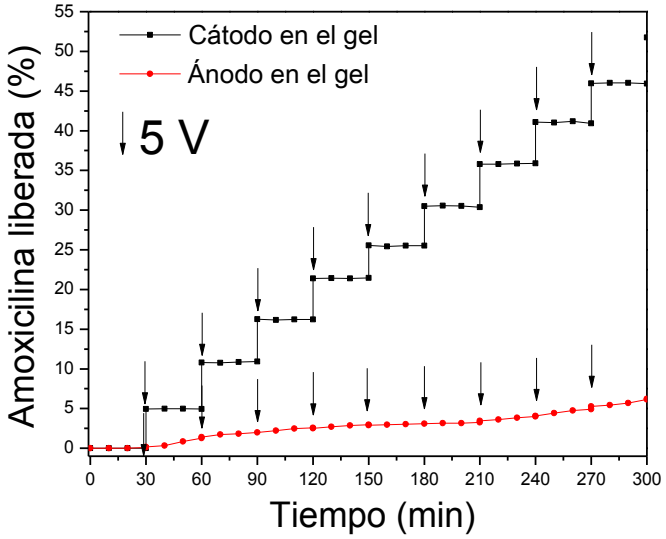

Figura 44. Liberación de amoxicilina desde hidrogeles compuestos E mediante estimulación eléctrica de 5V, cambiando la polaridad de los electrodos. La flecha indica la aplicación de impulso.

La diferencia en la cinética de liberación de los sistemas, bajo las mismas condiciones de intensidad de voltaje, tiempo y número de estímulos se puede explicar tomando en cuenta el proceso de dopado/desdopado de la PANI. Durante el proceso de dopado, se introducen cargas móviles en el sistema π conjugado, mediante una oxidación de la cadena polimérica. Cuando el electrodo que funciona como cátodo se coloca dentro del hidrogel, el potencial eléctrico produce la reducción del polímero que implica el desdopado de la PANI, lo que induce la salida de sus contraiones y el fármaco adsorbido. Por otro lado, cuando el electrodo que funge como ánodo se introduce en el hidrogel, ocurre un proceso de oxidación; el polímero retiene las especies para estabilizar su carga y por tanto, no se libera el antibiótico contenido [12]. La liberación observada en este caso se atribuye principalmente a un mecanismo difusional promovido por la agitación que se sostuvo durante el experimento para homogeneizar el medio de liberación y al intercambio iónico entre las especies dopantes de la PANI y los aniones del búfer [167].

Para analizar el efecto sobre la cinética de liberación por impulsos eléctricos, de la presencia de las estructuras de PANI en los hidrogeles, se utilizaron hidrogeles de PAAm sin

PANI, cargados únicamente con el antibiótico (hidrogel F según Tabla 4). Se estudió la cinética de liberación bajo las mismas condiciones aplicadas para obtener los resultados de la Figura 44 (5V, cambio de polaridad entre los electrodos). Los resultados se muestran en la Figura 45.

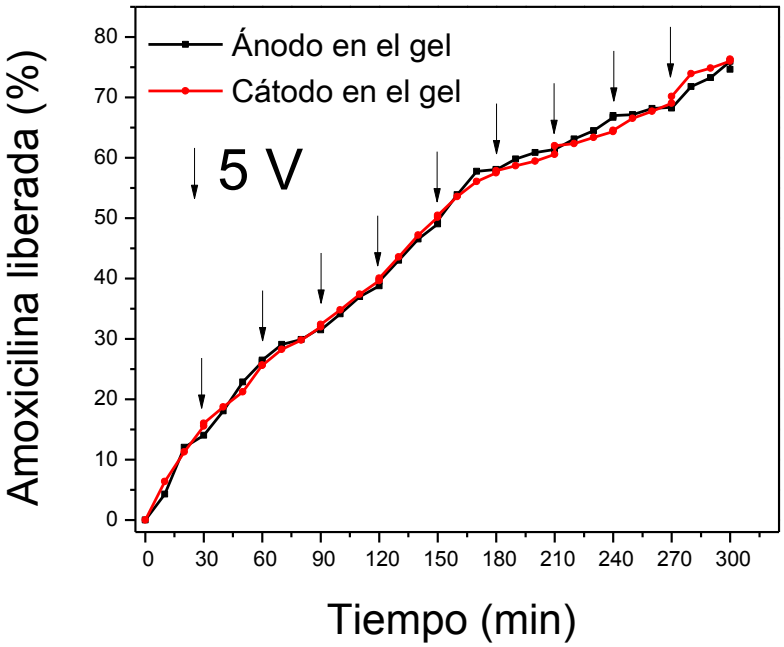

Figura 45. Liberación de amoxicilina desde hidrogeles compuestos F mediante estimulación eléctrica de 5V, cambiando la polaridad de los electrodos. La flecha indica la aplicación de impulso.

Independientemente a la posición de los electrodos, se observa que el perfil de liberación desde el hidrogel de PAAm no mostró el patrón de liberación pulsátil encontrado en los hidrogeles compuestos. La aplicación del potencial eléctrico no produce cambios en la tendencia de la liberación. La curva de liberación se ajustó a una función potencial, según el modelo de Ritger and Peppas [178], encontrándose un valor de n de 0.43 que se atribuye a un mecanismo de liberación controlado por difusión y relajación de la cadenas poliméricas del hidrogel [179]. Cuando $n \leq 0.5$ se dice que el comportamiento de difusión del fármaco es de tipo *fickniano* y en el caso de $0.5 < n < 1$, se conoce como difusión *no fickniana* para este tipo de geometría de gel [180].

Los resultados anteriores corroboraron que las propiedades electroquímicas de la PANI y la asociación PANI-amoxicilina juegan un papel determinante en el control del suministro de amoxicilina desde el hidrogel compuesto mediante el estímulo eléctrico.

5.5.5 Estudio de Citotoxicidad Celular

En comparación con otros polímeros electroconductores como el PPy, cuya biocompatibilidad ha sido bien establecida, las aplicaciones biomédicas de la PANI se han restringido principalmente por la historia carcinogénica de su monómero, la anilina, y otros subproductos de reacción posibles, particularmente por la bencidina (dímero de anilina) [181]. Recientemente se ha publicado en la literatura observaciones contradictorias sobre la adhesión y proliferación celular en presencia de PANI, incluyendo artículos que indican la ausencia de citotoxicidad en estudios *in vitro* e *in vivo* [182, 183]. Tal es el caso del estudio realizado por Bidez *et al.* quienes estudiaron la adhesión y proliferación de células cardiacas en películas de PANI, encontrando ausencia de citotoxicidad [63]. Por otro lado, resultados recientes han indicado que la purificación del polímero mejora sustancialmente la biocompatibilidad, eliminando residuos o subproductos que puedan ser responsables de la citotoxicidad [184].

Tomando en cuenta la potencialidad mostrada por los hidrogeles compuestos de PAAm/PANI para la liberación controlada de fármacos, se realizó un estudio para evaluar la citotoxicidad de los sistemas PAAm y PAAm/PANI, analizando el efecto de estos sobre la proliferación de las células mediante un ensayo de viabilidad celular. La Figura 46 muestra la viabilidad de las células de cultivo subcutáneo normal de ratón expuestas a diferentes concentraciones del medio que estuvo en contacto con los hidrogeles (medio condicionado).

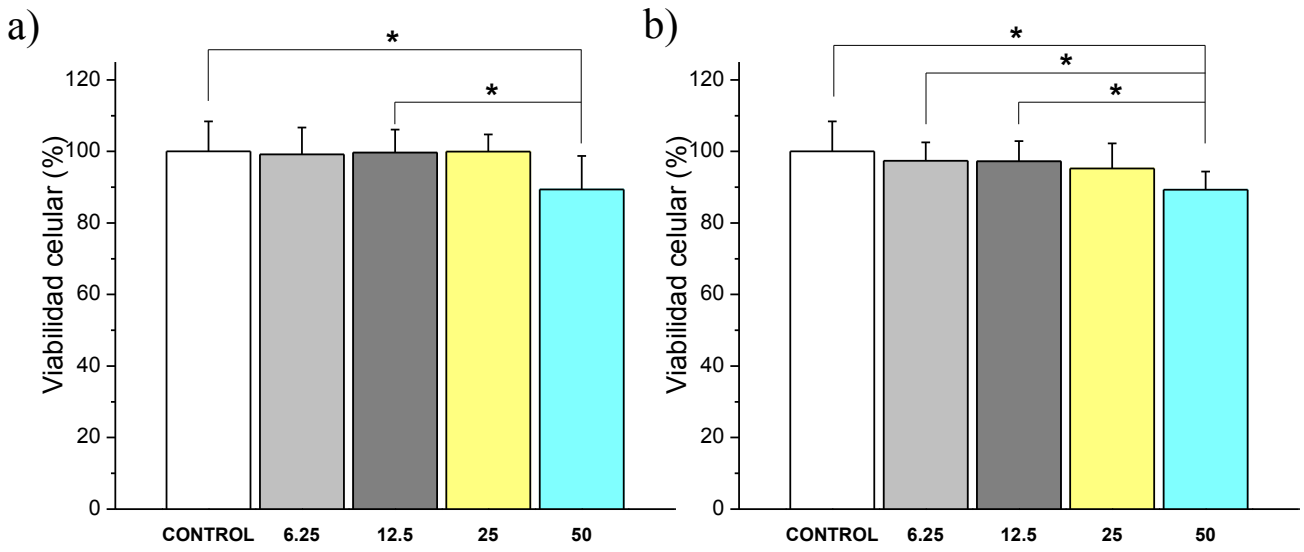

Figure 46. Porcentaje de viabilidad celular de hidrogeles de a) PAAm y b) PAAM/PANI sobre la línea celular normal L–929 (tejido subcutáneo normal de ratón). La barra de error representa la desviación estándar ($n \geq 3$). La significancia estadística ($*p < 0.05$) se determinó mediante ANOVA, prueba Dunnett.

En ambos sistemas, se observa una viabilidad superior al 85% para todos los casos, observándose una reducción estadísticamente significativa de la viabilidad celular solamente para la concentración más alta del medio acondicionado (50%) en comparación con la muestra control (células expuestas a medio de cultivo estándar). Sin embargo, la viabilidad celular se mantiene por arriba del 80% aún en este caso.

De manera particular, para los hidrogeles de PAAm/PANI, la viabilidad decae con el aumento de la concentración del medio condicionado; sin embargo, no se observa una diferencia significativa a la misma concentración entre ambos geles. Este hecho sugiere un mínimo efecto tóxico de las nanoestructuras de PANI sobre las células. La disminución de la viabilidad observada cuando tenemos un 50% del medio condicionado, puede ser atribuida a residuos de acrilamida no polimerizada, monómero del que se ha documentado ampliamente su toxicidad [185].

De manera general, una viabilidad del 80% o superior, es indicativo de ausencia de citotoxicidad de acuerdo con la norma ISO 10993-5. Los resultados encontrados mediante este ensayo muestran una alta viabilidad celular cuando las células han sido expuestas a medios de cultivos condicionados con los hidrogeles de PAAm o PAAm/PANI, lo cual, es indicativo de una citotoxicidad mínima de estos sistemas. Estos resultados de citotoxicidad *in vitro* también sugieren que una etapa de lavado de los hidrogeles puede ser deseable antes de ser expuestos al contacto continuo con las células, a fin de minimizar los restos de acrilamida.

En la Figura 47 se muestran micrografías de las células después del tratamiento con medio estándar de cultivo (control), donde la viabilidad celular fue del 100%, así como de aquellas que fueron expuestas a medios condicionados por geles de PAAm y PAAm/PANI. Las imágenes de las células expuestas a medios condicionados (50% concentración) con hidrogeles de PAAm y PAAm/PANI presentan morfología similar a las células control, sin ningún síntoma de deterioro de las células. Estas observaciones son consistentes con los resultados de viabilidad celular mostrados en la Figura 46.

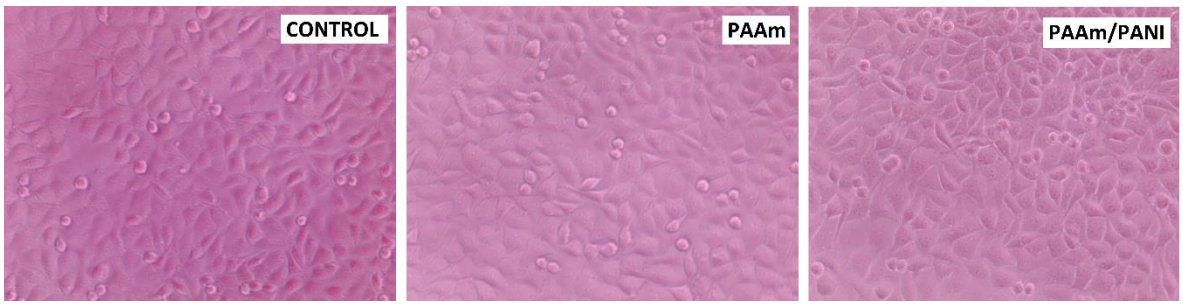

Figura 47. Imágenes de microscopía óptica de las células de fibroblastos de ratón incubadas en medio de cultivo normal (control) y medio condicionado (concentración 50%) con hidrogeles de PAAm y PAAm/PANI

6. CONCLUSIONES

- La incorporación del ácido glutámico en la síntesis química de polianilina usando persulfato de amonio como oxidante, favorece la obtención de sistemas nanoestructurados de geometría unidimensional con una alta relación longitud/diámetro.
- El ácido glutámico se incorpora a las nanoestructuras de polianilina como dopante en conjunto con aniones que contienen azufre provenientes de la reducción del persulfato de amonio.
- La variación de la relación molar de anilina:aminoácido:oxidante en la síntesis produce cambios en la composición, propiedades eléctricas, morfológicas y ópticas de los productos resultantes.
- Las estructuras fibrilares sintetizadas de polianilina adsorben eficientemente dosis terapéuticas de amoxicilina y la liberación del fármaco desde el polímero electroconductor puede ser controlada en función del pH del medio de liberación.
- Las partículas de polianilina cargadas con amoxicilina pueden ser encapsuladas eficientemente en un hidrogel de poliacrilamida mediante su incorporación *in situ* durante la polimerización y reticulación de la acrilamida. El procedimiento establecido permite la obtención de una red tridimensional de nanofibras de polianilina soportadas por la matriz aislante del hidrogel de poliacrilamida.
- La amoxicilina se encuentra más fuertemente retenida sobre las partículas de polianilina que cuando se encuentra únicamente en el volumen del hidrogel. Lo anterior produce una cinética de liberación del fármaco más lenta desde el hidrogel compuesto comparado con el hidrogel sin fibras de polianilina, potencializando su aplicación en sistemas de liberación prolongada.
- La liberación de amoxicilina desde los hidrogeles compuestos de poliacrilamida y polianilina puede ser controlada en función del pH y la temperatura del medio de liberación.

- El perfil de liberación del fármaco desde el hidrogel compuesto mostró un patrón de liberación "ON -OFF" en ciclos de aplicación/eliminación de estimulación eléctrica catódica, en respuesta a la activación/desactivación de la reducción electroquímica de la polianilina.
- La posibilidad de controlar la liberación del fármaco usando voltajes de baja intensidad aunado a la ausencia de citotoxicidad encontrada para este material en los estudios de viabilidad celular *in vitro* permiten concluir que los hidrogeles compuestos de poliacrilamida/polianilina pueden ser considerados candidatos potenciales para aplicaciones en dispositivos de liberación controlada eléctricamente, tales como los parches iontoforéticos. Mientras los dispositivos iontoforéricos que existen actualmente en el mercado se basan en la electromigración de los fármacos ionizados, la liberación desde el sistema poliacrilamida/polianilina queda determinada por las propiedades *redox* del polímero electroconductor, lo cual amplía el espectro de posibilidades a moléculas en estado neutro, como las condiciones modelo que se usaron en el presente trabajo.

7. RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS

- Estudio de nuevas síntesis de polianilina, utilizando otras especies dopantes y co-dopante como glicina, alanina, leucina o isoleucina.
- Caracterizar la morfología de las nuevas especies de polianilina co-dopadas.
- Optimizar el diámetro de las nanofibras que se forman en la síntesis química-oxidativa de polianilina en presencia del ácido glutámico.
- Estudiar detalladamente el mecanismo y cinéticas de liberación de amoxicilina desde hidrogeles PAAm/PANI, en correlación con su microestructura.
- Cambiar la morfología de los hidrogeles compuestos de poliacrilamida/polianilina cargados con amoxicilina de su forma cilíndrica a un tipo de parche transdérmico.
- Diseñar un dispositivo electrónico con algún mecanismo temporalizador que incorpore el parche transdérmico, para la generación de un sistema de liberación ON/OFF.

8. REFERENCIAS

1 C. K. Chiang, Jr C. R Fincher, Y. W. Park, A. J.Heeger, H. Shirakawa, E. J. Louis, *Phys Rev Lett*, 39 (1977) 1098-101.

2 S. Bhadra, D. Khastgir, N.K. Singha, J. H. Lee, *Prog Polym Sci*, 34 (2009) 783-810.

3 A.G. MacDiarmid, *Chem. Int*. Ed. 40 (2001) 2581–2590.

4 A. Guiseppi-Elie, *Biomaterials*, 31 (2010) 2701–2716.

5 L. Huang, L. O. Tchouate Gainkam, V. Caveliers, C. Vanhove, M. Keyaerts, P. De Baetselier, Axel Bossuyt, Hilde Revets, T. Lahoutte, *Molecular Imaging and Biology*, 10 (2008) 167-175.

6 B. Lakard, L. Ploux, K. Anselme, F. Lallemand, S. Lakard, M. Nardin, *Bioelectrochemistry*, 75 (2009) 148–157.

7 J. B. Spires, H. Peng, D. E. Williams, B. E. Wright, C. Soeller, J. Travas-Sejdic, *Biosens. Bioelectron*, 24 (2008) 928–933.

8 D. D. Zhou, X. T. Cui, A. Hines, R. J. Greenberg, *Implantable neural prostheses*, 2 (2010) 217–252.

9 N. Guimard, J. L. Sessler, C. E. Schmidt, *Macromolecules*, 42 (2009) 502–511.

10 J. L. Bredas, G. B. Street, *Acc. Chem. Res., 18 (*1985) 309-315.
J. L. Bredas, J. C. Scott, K. Yakushi, G. B. Street, *Phys Rev*., 30 (1984) 1023.

11 R. P. McCall, J.M. Gindre, J. M. Leng, H. J. Ye, S.K. Monohar, J. G. Masters, G. E. Asturias, A. G. MacDiarmid, A. J. Epstein, *Phys. Rev.* B, 41 (1990) 5202.

12 Carlos Sanchis Bermudez, Editorial Universidad de alicante, Tesis Doctoral, 2012.

13 L. Ghasemi-Mobarakeh, M. P. Prabhakaran, M. Morshed, M. H. Nasr-Esfahani, H. Baharvand, S. Kiani, S. S. Al-Deyab, S. J. Ramakrishna, *Tissue Eng Regen Med*, 5 (2011) 17–35.

14 D. H. Kim, S. M. Richardson-Burns, J. L. Hendricks, C. Sequera, D. C. Martin, *Adv Funct Mater*, 17 (2007) 79–86.

15 R. Ravichandran, S. Sundarrajan, J.R Venugopal, S. Mukherjee, S. Ramakrishna, *J R Soc Interface*, 7 (2010) 559–79.

16 J. Y. Wong, R. Langer, D. E. Ingber, Proc Natl Acad Sci USA, 91 (1994) 3201–4.

17 A. J. Epstein, H. Rommelmann, R. W. Bigelow, H. W. Gibson, D. M. Hoffman, and D. B. Tanner, Phys. *Reu. Lett*, 51 (1983) 2020.

18 M. Josefowicz, L. T. Yu, J. Perichon, R. Buvet, *J. Polym. Sci. C*, 22 (1969) 1187.

19 O. Kwon, M. L. McKee, *J. Phys. Chem. B*, 104 (2000) 1686-1694.

20 D. D. Zhou, X. T. Cui, A. Hines, R. J. Greenberg, *Berlin: Springer*, 2 (2010) 217–52.

21 R. Balint, N. J. Cassidy, S.H. Cartmell, R. Balint, *Acta Biomaterial* 10 (2014) 2341–2353.

22 María de los Ángeles Cotarelo Méndez, Editorial Universidad de Alicante, Tesis Doctoral, 2008.

23 W.-S. Huang, D Brian, H. MacDiarmid A. G. MacDiarmid", *J. Chem. Soc., Faraday Trans. **1***, 82 (1986) 2385-2400.

24 M. Terrones, R. Kamalakaran, T. Seeger, *Chemical Communications*, 22 (2000) 2335-36.

25 A. SYED, K. M. K. Dinesan, *Talanta*, 38 (1991) 815-837.

26 F. Z. Silveira, G. W. Duarte, C. G. Tachinski, R. Piletti, J. Fiori, M. Peterson, H. G. Riella, M. A. Fiori, *Journal of Applied Polymer Science*, 5 (2013) 430–435.

27 S. M. Reda, S. M. Al-Ghannam, *Advances in Materials Physics and Chemistry*, 2 (2012) 75-81**.**

28 J. Huang, R. B. Kaner, *J. Am. Chem. Soc.*, 126 (2004) 851–855.
29 M. Bláha, M. Riesová, J. Zedník, A. Anžlovar, M. Žigon, J. Vohlídal, *Synthetic Metals*, 161 (2011) 1217–1225.
30 A. Pron, F. Genoud, C. Menardo, M. Nechtschein, *Synthetic Metals*, 24 (1988) 193–201.
31 A. G. Macdiarmid, J. C. Chiang, W. S. Huang, B. D. Humphrey, N. Somasiri, *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, 125 (1985**)** 309-318.
32 J. C. Chiang, A. G. MacDiarmid, *Synthetic Metals*, 13 (1986) 193-205.
33 E. M. Genies, C. Tsintavis, A. A. Syed, *Mol. Cryst.*, 121 (1985) 181.
34 P. Armes, J. F. Miller, *Synth. Met.*, 22 (1988) 385.
35 O. J. Rivero Torre, Editorial Universidad de Alicante, Tesis Doctoral, 2012.
36 M. A. Bavio, T. Kessler, A. M. Castro Luna, *Congreso SAM/CONAMET*, (2007) 1211-16.
37 Z. Tang, D. Geng, L. Gongxuan, *Thin Solid Films*, 497 (2006) 309-314.
38 H. F. Restrepo, J. G. Cervera, B. A. Hoyos, *Dyna*, 147 (2005) 57-63.
39 T. Fernandez Otero, *Revista Iberoameticaca de polímeros*, 4 (2003) 1-32.
40 J.L. Camalet, J.C. Lacroix, S. Aeiyach, K. Chane-Ching, P.C. Lacaze *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 416 (1996) 179- 182, 1996.
41 A. Thyssen, A. Hochfeld, R. Kessel, A. Meyer, J. W. Schultze, *Synth. Met.*, 29 (1989) 357.
42 N. Gospodinova, L. Terlemezyan, *Prog. Polym. Sci.*, 23, (1998) 1443–1484.
43 K. M. Molapo, P. M. Ndangili, R. F. Ajayi, G. Mbambisa, S. M. Mailu, N. Njomo, M. Masikini, P. Baker, E. I. Iwuoha, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 7 (2012) 11859 – 11875.
44 I. Sapurina, J. Stejskal, *Polym. Int*, *57* (2008) 1295–1325.
45 H. D. Tran, D. Li, R. B. Kaner, *Adv. Mater*, 21 (2009), 1487–1499.
46 H. D. Tran, J. M. D'Arcy, Y. Wang, P. J. Beltramo, V. A. Strongb, R. B. Kaner, *The Royal Society of Chemistry*, 21 (2011) 3534–3550.
47 S. I. Cho, S. B. Lee, Acc. Chem. Res., 41 (2008) 699.
48 Y. Berdichevsky, Y. H. Lo, *Adv. Mater*. 18 (2006) 122.
49 B. Lindman, H. Wennerstrom, *Topics in Current Chemistry*, 87 (1980) 1-83.
50 X. T. Zhang, J. Zhang, W. H. Song, Z. F. Liu, *J. Phys. Chem. B*, 110 (2006) 1158.
51 G. C. Li, Z. K. Zhang, *Macromolecules*, 37 (2004) 2683.
52 L. H. Meng, Y. Lu, X. Wang, J. Zhang, Y. Duan., *Macromolecules*, 40 (2007) 2981-2983.
53 M. Wan, *Adv. Mater*., 20 (2008) 2926–2932.
54 H. D Tran, D. Li, R. B. Kaner, *Advanced Materials*, 21 (2009) 1487-1499.
55 Z. X. Wei, M. X. Wan, *Adv. Mater*., 14 (2002) 1314.)
56 L. Zhang,M.X. Wan, *Adv. Funct. Mater*. 13(2003) 815.
57 H. J. Ding, M. X. Wan, Y. Wei, *Adv. Mater*., 19 (2007) 465.
58 J. Prokes, J. Stejskal, *Polymer Degradation and Stability*, 86 (2004) 187-195.
59 Pablo Jiménez Manero, Editorial Universidad de Zaragoza, Tesis Doctoral, 2011.
60 A. Borriello, V. Guarino, L. Schiavo, M. A. Alvarez-Perez, L. Ambrosio Optimizing, *J Mater Sci: Mater Med*, 22 (2011) 1053–62.
61 L. Zhang, H. Peng, Z.D. Zujovic, P.A. Kilmartin, J. Travas-Sejdic, *Macromol. Chem.Phys*, 208 (2007) 1210.
62 P. Humpoliceka, V. Kasparkovaa, P. Sahaa, J. Stejskal, *Synthetic Metals*, 162 (2012) 722–727.
63 P. R. Bidez, S. Li, A. G. Macdiarmid, E. C. Venancio, Y. Wei, P.I. Lelkes, *J Biomater Sci Polym*, 17 (2006) 199-212.
64 Z. Ehsan Nazarzadeh, L. Moslem Mansour, *Iran Polym* J, 23 (2014), 257-266.

65 Z. Kucekova, V. Kasparkova, P. Humpolicek, P. Sevcikova, J. Stejskal, *Chemical Papers*, 67 (2013)1103–1108.
66 S. Roth, W. Graupner, *Synth Met*, 57 (1993) 3623–3631.
67 E. S. Matveeva, R. Diaz Calleja, *Journal of Non-Crystaline solids*, 237 (1998) 772-780.
68 T. Hino, S. Taniguchi, N. Kuramoto, *J Polym Sci Part A: Polym Chem*, 44 (2006) 718–26.
69 M. Hosoda, T. Hino, N. Kuramoto, *Polym Int*, 56 (2007) 1448–1455.
70 N. J. Pino, A. T. Johnson Jr, A. G. MacDiarmid, C. H. Mueller, D. C. Theofylaktons N, F. A. Miranda, *Applied Physics Letters*, 83 (20), 2003, 795-799.
71 Y. Yang, A. J. Heeger, *Applied Physics Letters*, 64 (1994) 1245-1247.
72 H. Bai, Q. Chen, C. Li, C. Lu, G. *Shi, Polymer*, 48 (2007) 4015–4020.
73 R. Fend, C. Bessant, A. J. Williams, A.C.Woodman, *Biosens. Bioelect*, 19 (2004) 1581-1590
74 L. Gowoun, J. Hongil, L. Jung-heon, *J. of Mol. Catalysis B: Enzymatic*, 54 (2008) 116–121.
75 L. Ghasemi-Mobarakeh, M. P. Prabhakaran, M. Morshed, M. H. Nasr-Esfahani, S. Ramakrishna, *Tissue Eng Part A*, 15 (2009) 3605-3619.
76 K. D. McKeon, A. Lewis, J. W. Freeman, *J Appl Polym Sci*, 115 (2010) 1566-1572.
77 M. A. Coreem, K. P. Vidana pathirana, S. Skaarup, K. West, *Solid State Ionics.*, 175 (2004) 725-728.
78 K. Kaneto, M. Kaneko, Y. Min, A. G. MacDiarmid, *Synth Met*, 71 (1995) 2211–2212.
79 L. J. Lee, *Annals of Biomedical Engineering*, 34 (2006) 75–88.
80 E. M. Ahmed, *Journal of Advanced Research*, 6 (2015) 105–121.
81 K. Pernia, J. Urdaneta, O. León, H. Oliva, D. Soto *Rev. LatinAm. Metal. Mat*, 6 (2014) 9-10.
82 P. Lee, *J. Membr. Sci.*, 7 (1980) 245.
83 J.L. Escobar, D.M. García, D. Zaldivar, I. Katime, *Revista Iberoamericana de Polimeros*, 3 (2002).
84 V. Saéz, E. Hernáez, L. López, *Revista iberoamericana de polímeros*, 4 (2003).
85 D. Real Felix, Editorial UNISON Tesis Profecional, (2008).
86 Dora Rodriguez Felix, editorial CIQA, Tesis profesional, 2006.
87 B. Biman Mandal, S. Kapoor, C. Subhas Kundu, *Biomaterials*, 30 (2009).
88 T. Tong-Sheng, P. Viness, E. Yahya, C. Lisa, T. Girish, *Polymers*, 3 (2011) 150-172.
89 I. Katime, R. Vera, J.E Figueruelo, *Eur. Polym. J.*, 13 (1977) 451.
90 N. A. Peppas, P. Bures, W. Leobandund, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 50 (2000) 27-46.
91 B. Falk, S. Garramone, S. Shivkumar, *Mater Lett*, 58 (2004) 3261–3265.
92 J. Huang, S. Virji, B. H. Weiller, R. B. Kaner, *J Am Chem Soc*, 125 (2003) 314–315.
93 M. Y. Arica, G. Bayramoglu, *Biochem Eng J*, 20 (2004) 73–77.
94 M. Y. Arica, G. Bayramoglu, *J Mol Catal B Enzym*, 27 (2004) 255–265.
95 L. Li, D. R. Walt, *Anal Chem*, 67 (1995) 3746–3752.
96 R. V. Ulijn, *J Mater Chem*, 16 (2006) 2217–2225.
97 M. Pellissier, D. Zigah, F, Barrie‘re, P. Hapiot, *Langmuir*, 28 (2008) 9089–9095.
98 D. N. Kim, W. Lee, W. G. Koh, *Anal Chim Acta*, 609 (2008) 59–65.
99 A. S, Brahim, I. K, Guiseppi-Elie, *Biomaterials*, 26 (2005) 4767–78.
100 A. Guiseppi-Elie, S. Brahim, D. A. Narinesingh, *Adv Mater*, 14 (2002) 743–746.
101 J. Rosiak, K. Burozak, W. Pekala, *Radiat Phys Chem*, 22 (1983) 907–915.
102 A. Pourjavadi, M. Kurdtabar, *J. Eur Polym*, 43 (2007) 877–889.
103 D. H. García Pérez, *Elservir*, 2 (2000) 31-41.
104 A. Guiseppi-Elie, A. M. Wilson, A. R. Sujdak, K. E. Brown, *Polym Prepr*, 38, (1997) 608.
105 M. E. Galvin, G. E Wnek, *Polym Bull*, 13 (1985) 109–114.

106 C. J. Small, C. O. Too, G. G. Wallace, *Polym Gels Networks*, 5 (1997) 251–265
107 S. Koul, R. Chandra, S. K. Dhawan, *Sens Actuators B Chem*, 75 (2001) 151–159.
108 M. E. Galvin, G. E. Wnek, *J Polym Sci Polym Chem*, 21 (1985) 2727–2737.
109 J. Y. Wong, R. Langer, D. E. Ingber, Proc Natl *Acad Sci USA*, 8 (1994) 3201–3204.
110 Y. Wang, G. Tan, S. Zhang, Y. Guang, *Appl Surf Sci*, 255 (2008) 604–606
111 C. G. Gebelein, C. Carraher, *Polymer Science and Technology*, 32 (1986) 302.
112 T. Higuchi, J. *Pharm. Sci.*, 50 (1961) 874.
113 I. A. Katime, O. Katime, D. Katime, *Real Sociedad Española de Química* (2006), 35-50
114 R. Langer y N. A. Peppas, Biomaterials, *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem Phys*., 23 (1983) 61.
115 J. Heller, R. W. Baker, R. M. Gale, J. O. Rodin, *J. Appl. Polym. Sci.*, 22 (1978) 1991.
116 A.Levenfeld, J. San Roman, C. Bunel, J. P. Vairon, *Makromol. Chem*., 192 (1991) 793.
117 M. Staples, K. Daniel, M. J. Cima, R. Langer, *Pharmaceut Res*, 23 (2006) 847–863.
118 I. McCulloch I, Shalaby SW. Tailored polymeric materials for controlled delivery systems. In: ACS Symposium Series 709. Editorial DC: American Chemical Society, 1998.
119 N. Pinzón, A, Espinosa, J. Perilla, E. Hernáez, I. Katime, *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 3 (2002).
120 R. Patil, Y. Harima, K. Yamashita, K. Komaguchi, Y. Itagaki, M. J. Shiotani, *J Electroanal Chem*, 518 (2002) 13–9.
121 P. Burgmayer, R. W. Murray, *J Am Chem Soc*, 22 (1982) 6139.
122 P. Burgmayer, R. Murray, *J Phys Chem*, 88 (1984) 2515.
123 X. Zhang, W. J. Goux, S. K. Manohar, *J. AM. Chem. Soc*., 126 (2004) 4502-4503
124 E. N Konyushenko, J. Stejskal, M. Trchova, I. Sapurina, M. Cieslar, J. Prokes, *Polym Int*, 55 (2006) 31–39.
125 A.Mahdi, T. Hamidreza, E. Hossein, *Asian Journal of Chemistry, 22* (2010) 7353-7360.
126 E. C. Venancio, P.-C. Wang, A. G. MacDiarmid, *Synth. Met*., 156 (2006) 357.
127 X. Wang, N. Liu, X. Yan, W. Zhang, Y. Wei, *Chem. Lett.* 32 (2005)42.
128 Z. Zhang, Z. Wei, M. Wan, *Macromolecules, 35 (*2002) 5937-5942.
129 J. Qiang, Z. Yub, H. Wua, D. Yuna, *Synthetic Metals*, 158 (2008) 544–547.
130 L. R. Nemzer, A. J. Epstein, *Synth. Met.* 161 (2011) 2284.
131 4- J. Stejskal, R. G. Gilbert, *Pure Appl. Chem*, 74 (2002) 857.
132 B. Lakard, L. Ploux, K. Anselme, F. Lallemand, S. Lakard, M. Nardin, J.Y. Hihn, *Bioelectrochemistry*, 75 (2009) 148–157.
133 Z. Voldrich, Z. Tománek, J. Vacik, K. Kopecek, *Journal of Biomedical Materials Research*, 9 (1975) 675-686.
134 R. Cruz Silva, Editorial Centro de Investigación en Química Aplicada, Tesis Doctoral, 2004.
135 M. M. Castillo Ortega, T. Del Castillo Castro, J. C. Encinas, M. Pérez-Tello, M. A. De Paoli, R. Olayo, J. *Appl. Polym. Sci.*, 89 (2003) 179.
136 J. Stejskal, R.G. Gilbert, *Pure Appl. Chem.* 74 (2002) 857.
137 E.T. Kang, K.G. Neoh, K.L. Tan, *Prog. Polym. Sci.* 23 (1998) 277.
138 C. J. Pérez Martínez, T. del Castillo Castro, M. M. Castillo Ortega, D.E. Rodríguez-Félix, P.J. Herrera-Franco, V.M. Ovando-Medina, *Synthetic Metals*, 184 (2013) 41– 47.
139 D. Nolting, E.F. Aziz, N. Ottosson, M. Faubel, I.V. Hertel, B. Winter, *J. Am. Chem.Soc.* 129 (2007) 14068.
140 M. Blomquist, J. Bobacka, A. Ivaska, K. Levon, *Electrochim. Acta*, 90 (2013) 604–614.
141 P.A. Kilmartin, G.A. Wright, *Synth. Met.* 88 (1997) 153-162.

142 M.S. Ram, S. Palaniappan, *J. Mater. Sci.* 39 (2004) 3069-3077.
143 H. Hu, J.L. Cadenas, J.M. Saniger, P.K. Nair, *Polym. Int*. 45 (1998) 262.
144 Z. Ping, G. E. Nauer, H. Neugebauer, J. Theiner, A. Neckel, *J Chem Soc Faraday Trans*, 93 (1997) 12.
145 I. E. Moreno Cortez, J. Romero-García, E. Arías Marín, I. Moggio, *Superficies y Vacío* 19 (2006) 25-30.
146 X.Lu X, H. Y. Ng, J. Xu, C. He, *Journal of Chemistry*, 128 (2002)167.
147 G. Wallace, G. Spinks, *Soft Matter*, 3 (2007) 665–71.
148 Y. Xia , J. M. Wiesinger , A. G. MacDiarmid , A. J. Epstein, *Chem. Mater.* 7 *(1995) 443-445.*
149 H. R. Ghenaatiana, M. F. Mousavia, M. S. Rahmanifar, *Synthetic Metals*, 161 (2011) 2017–2023.
150 W. S. Huang, B. D. Humphrey, A. G. MacDiarmid, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1: Phys. Chem. Condens. Phases*, 82 (1986) 2385–2400.
151 S. Tawde, D. Mukesh, J. V. Yakhmi, *Synth. Met.* 125 (2002) 401–413.
152 H. S. Kolla, S. P. Surwade, X. Zhang, A. G. MacDiarmid, S. K. Manoha, *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005) 16770–16771.
153 H. Zhang, J. Wang, X. Gao, Zhi Wang, S. Wang, *Synthetic Metals*, 187 (2014) 46– 51.
154 H. C. Allen, N. N. Casillas Ituarte, M. R. Sierra Hernández, X. Chen, C. Y. Tang, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 11 (2009) 5674-5685.
155 S. Pruneanu, E. Veress, I. Marian, L. Oniciu, *J Mat. Sci*., 34 (1999) 2733.
156 *Z. Wen, D. Lu, S. Li, J. Sun, S. Ji, Int. J. Electrochem. Sci., 9 (2014*) 1-11.
157 W. W. Focke, G. E. Wnek, Y. Wei, *J. Phys. Chem.* 91 (1987) 5813.
158 A. A. Syed, M. K. Dinesan, *Talanta, 38 (1991) 815-837.*
159 G. Ciric Marjanovic, M. Trchová**,** J. Stejskal, *Collect Czech Chem. Commun*, 71 (2006) 1407.
160 J. Stejskal, I. Sapurina, M. Trchová, E.N. Konyushenko, *Macromolecules*, 41 (2008) 3530.
161 Y. V. Meteleva Fischer, E. Von Hauff, J. Parisi, *J. Appl. Polym. Sci*. 114 (2009) 4051.
162 J. Stejskal, I. Sapurina, M. Trchová, E.N. Konyushenko, *Macromolecules*, 41(2008) 3530.
163 Z. Haichao, Fumio Sanda, T. Masuda, *Polymer*, 47 (2006) 2596-2602.
164 A. H. Araujo Reis, A. Santos Marques, Y. Takahata, *Scientia Amazonia*, 3 (2014) 41-52.
165 L. F. Rocha Cavalotti, P. Peralta Zamora, M. B. Rodríguez, T. C. Brazil de Paiva, *Quím. Nova*, 32 (2009).
166 H. Nakao, T. Nagaoka, K. Ogura, *Anal. Sci.* 13 (1997) 327-332.
167 L. Sun, H. Liu, R. Clark, S. C. Yang, *Synthetic Metals*, 84 (1997) 67-68.
168 R. Derakhsheshpoor, M. Homayoonfal, A. Akbari, M. Reza Mehrnia, *Journal of Environ mental Health Science and Engineering*, 11 (2013) 1-10.
169 D. E. Rodríguez Félix, M. M. Castillo Ortega, D. Real Félix, Romero-García J, A.S. Ledezma Pérez, F. Rodríguez Félix, *J Appl Polym Sci*, 119 (2011) 3531–3537.
170 D. E. Rodríguez Félix, C. J. Pérez Martínez, M. M. Castillo Ortega, M. Pérez-Tello, J. Romero García, A. S. Ledezma-Pérez, T. Del Castillo-Castro, F. Rodríguez Félix, *Polym. Bull.*, 68 (2012) 197–207.
171 a) B.Chandra Nath, B. Gogoi, M. Boruah, S. Sharma, Momina Khannam, G. Ameen Ahmed, S. Kumar Dolui, Electroch. Acta, 146 (2014) 106–111., b) Z. Yi-xiu, R. Ke-feng, S. Yi xin, L. Zi-jun, J. Jian, *RSC Adv*. 4 (2014) 24511-24517. c) A. Słoniewska, B. Pałys, *Electroch. Acta.* 126 (2014) 90–97.
172 E. Orozco Guareño, S. L. Hernández, S. Gómez Salazar, E. Mendizábal, *Rev. Mex. Ing. Quím.*, 10 (2011).

173 N. Parel, G. Meyer, G. Weill, *Polymer*, 36 (1994) 2323-2330.
174 R. Chen, Q. Chen, D. Huo, Y. Ding, X. Jiang, *R. Chen et al.*, *Biointerfaces* 97 (2012) 132–137.
175 G. Rezanejade Bardajee, Z. Hooshyar, Z. Hooshyar, *Carbohydrate Polymers*, 101 (2014*)* 741– 751.
176 J. Ge, E. Neofytou, T. J. Cahill, R. E. Beygui, R. N. Zare, *ACS Nano*., 6 (2012) 227.
177 R. Derakhsheshpoor, M. Homayoonfal, A. Akbari, M. J. Reza. *Environ. Health Sci. Eng*., 11 (2013) 9.
178 P. L. Ritger, N. A. Peppas, *J Control Release*, 5 (1987)37–42.
179 J. Siepmann, N.A. Peppas, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 48 *(2001) 137-300.*
180 A. Martínez Ruvalcaba1, J. C. Sánchez Díaz, F. Becerra, L. E. Cruz-Barba, A. González Álvarez, *Polymer Letters*, 3 (2009) 25-32.
181 J. S. Bus, J.A. Popp, *Food Chem. Toxicol*, 25 (1987) 619-626.
182 C. Dispenza, M.A. Sabatino, A. Niconov, D. Chmielewska, G. Spadaro, *Radiat. Phys. Chem*. 81 (2012) 1456–1459.
183 P.R. Bidez, S. Li, A.G. MacDiarmid, E.C. Venancio, Y. Wei, P.I. Lelkes, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed*. 17 (2006) 199–212.
184 T.H. Qazi, R. Rai, A.R. Boccaccini, *Biomaterials*, 35 (2014) 9068-9086.
185 J.H. Exon, *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.* 9 (2006) 397-412.
186 J. P. Pouget, *Macromolecules*, 24 (1991) 779-789.
187 Richard F. W. Atoms in Molecules: A Quantu Theory (The international series of monographs on chemistry) No. 22, Editorial Oxford University Press, (1994) 458.
188 A.Lozada Blanco, Universidad Indrustrial de Santander Facultad de Ciencias Quimica Bucaramanga, Tesis Doctoral, 2008.
189 S. Bhadra, D. Khastgir, N. K. Singha, J. Hee Lee, *Progress in Polymer Science*, 34 (2009) 783–810.
190 O. Gálvez Gonzales, Universidad complutense de Madrid, facultad de C.C. Químicas, Departamento de Química Física, Tesis Doctoral, 2002.

9. ANEXOS

9.1 Aproximacion semi-empirica de la interaccion polianilina-ácido glutámico.

A partir de los datos experimentales de pH obtenidos durante la reacción de polimerización química oxidativa de la anilina en presencia del AG, usando como oxidante el PSA, se realizó un una aproximación semi-impirica de las interacciones entre el polímero y el AG. El análisis se realizó usando un nivel de cálculo semi-empírico por la metodología PM7 en el programa MOPAC-2012.

En el tipo de interaccion más probale entre la PANI y el AG, se encontraron 5 posibles arreglos moleculares de baja energía que se muestran en la figura 1. Se analizó la estabilidad energética de cada sistema en función de su energía electrónica; los resultados para los 5 arreglos se resumen en la Tabla 1, de acuerdo con esta tabla, el arreglo 1 (Figura 1a) es el arreglo molecular más estable entre la PANI y el aminoácido, mostrando el valor energético más alejado de cero. Si consideramos un sistema formado por dos moléculas *A* y *B* tan separadas que no ejercen entre sí ningún tipo de influencia, el sistema tiene una energía inicial cero. A medida que *A* y *B* se aproximan mutuamente, se originan fuerzas atractivas de largo alcance [186], ocasionadas por los núcleos de los átomos que forman *A* sobre la nube electrónica de la molécula *B* y viceversa. Esto estabiliza el sistema, disminuyendo la energía del mismo, alejándose del cero y haciéndose cada vez más negativa. No obstante, a medida que *A* y *B* continúan acercándose, aparecen fuerzas repulsivas de corto alcance de una nube electrónica sobre la otra, lo cual desestabiliza el sistema y la energía aumenta hasta alcanzar, incluso, valores positivos.

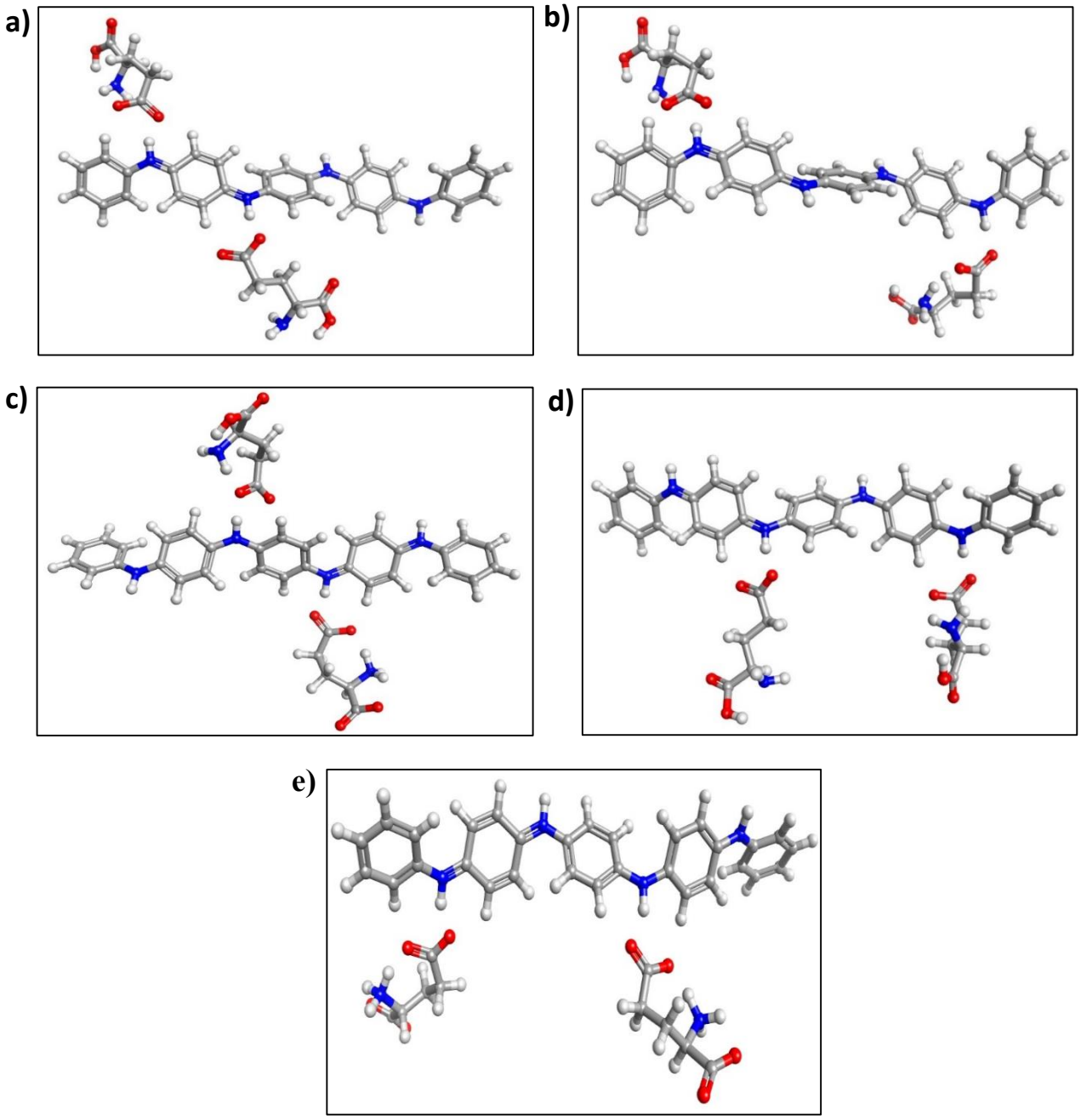

Figura 1. Arreeglos moleculares de las posibles interacción PANI-ácido L-glutámico, a) 1, b) 2, c) 3, d) 4 y e) 5.

Tabla 1. Energía electrónica de los diferentes arreglos moleculares propuestos para PANI-AG.

Modelo	**Energía electrónica del sistema (Kcal/mol)**
1	-171.462
2	-131.005
3	-145.103
4	-126.761
5	-134.621

Se ha determinado experimentalmente que a partir de los valores de densidad energética potencial de las moléculas se pueden definir el espectro de las posibles interacciones atómicas; las compartidas en un extremo (estado ligado o enlaces), otras de tipo capa cerrada (estado no ligado, cuando todos los orbitales moleculares están ocupados por dos electrones de espín opuesto) [187] y por último, aquellas interacciones que pueden ser atractivas o repulsivas [188].

El arreglo de interacción 1, además de ser el más favorecido energéticamente, concuerda con lo reportado por S. Bhadra *et al.* para un producto de síntesis de PANI en forma de ES [189]. En dicho arreglo podemos observar una secuencia ordenada de los anillos quinoides y benzoides del polímero que presentan un ángulo de inclinación alrededor de 129.07°, formando una conformación de *zig-zag*. Este resultado teórico se corresponde con los resultados experimentales del estudio reportado por J. P. Pouget, en donde mediante difracción de rayos-X se demostró que la PANI presentaba una estructura en *zig-zag* de unidades repetitivas de 2 anillos, con un orden secuencial de los anillos benzoides y quinoides, con un ángulo de inclinacion entre ambos anillos entre 130-140° dependiendo del ion dopante. [190].

Los arreglos favorecidos energéticamente (Tabla 1) establecieron que la interacción entre la cadena polimérica y el aminoácido ocurre mediante dos puentes de hidrógenos, el primero y más común, es el que se forma entre el átomo electronegativo del oxígeno

proveniente del ion carboxilato y el átomo electropositivo de hidrógeno unido directamente al nitrógeno del grupo imino [186], el segundo y menos común por ser un puente de hidrógeno débil, es el que se forma entre el segundo oxígeno electronegativo del ion carboxilato y el hidrógeno vecino al grupo imino asociado al anillo benzoide [186]. La formación de estos dos puentes de hidrogeno entre una molécula del aminoácido y la cadena polimérica brindan una mayor estabilidad al sistema.

En los arreglos 1, 2 y 5 no se observa transferencia de protones intramolecularmente en los aminoácidos. En contraste, en los arreglos 3 y 5 un protón del grupo carboxilo es transferido al grupo amino en las moléculas de AG, lo que en cierta forma estabiliza ligeramente estos 2 sistemas por la formación de interacciones electrostáticas adicionales (puentes de hidrógeno intramolecular entre el grupo amino y el grupo carboxilo del aminoácido), en comparación al modelo 2, el cual adicionalmente es menos estable por cambiar la conformación tridimensional de la PANI.

Comparando el arreglo 3 con respecto a la estabilidad del arreglo 5, este último es menos estable debido a que los dipolos moleculares que se forman van en la misma dirección, ocasionando impedimento estérico entre los aminoácidos, lo que desestabiliza más el sistema. Por último, el arreglo 4 (Figura 41d) es el menos estable energéticamente de los 5 arreglos analizados, debido a que los dipolos moleculares van en la misma dirección, hay un cambio en la conformación de la cadena polimérica y mayor impedimento estérico por el acomodo de los dos aminoácidos del mismo lado de la cadena.

9.2 Publicaciones Relacionadas con el proyecto de tesis

En revistas indezadas internacionalmente

1. PREPARATION OF POLYANILINE SUBMICRO/NANOSTRUCTURES USING L-GLUTAMIC ACID: LOADING AND RELEASING STUDIES OF AMOXICILLIN, C. J. Pérez-Martínez, T. del Castillo-Castro, M.M. Castillo

Ortega, D. E. Rodríguez Félix, P. J. Herrera-Franco, V. M. Ovando Medina, *Synthetic Metals*, 184 (2013) 41– 47.

1 CHEMICAL POLYMERIZATION OF PYRROLE IN THE PRESENCE OF L-SERINE OR L-GLUTAMIC ACID: ELECTRICALLY CONTROLLED AMOXICILLIN RELEASE FROM COMPOSITE HYDROGEL., L. E. Valencia Castro, C. J. Pérez Martinez, T. del Castillo Castro, M. M. Castillo Ortega, J. C. Encinas, *J. Appl. Polym*. 132(15) (2015) 41804.

En memorias de congresos o eventos académicos

1. ELECTRICALLY CONTROLLED RELEASE OF AMOXICILLIN FROM POLYACRYLAMIDE/POLYANILINE HYDROGELS, C.J. Pérez Martínez, T. del Castillo Castro, T.E. Lara Ceniceros, Memorias del congreso nacional de la S.P.M, Volumen XXVII: Macromex 2014, 3rd US-Mexico Symposium on Advances in Polymer Science.

Manuescritos enviados para publicación relacionados con el trabajo de tesis a revistas indexadas internacionalmente

1. ELECTROCONDUCTIVE NANOCOMPOSITE HYDROGEL FOR PULSATILE DRUG RELEASE, C. J. Pérez-Martínez, S. D. Morales Chávez, T. del Castillo Castro, T. E. Lara Ceniceros, M. M. Castillo-Ortega, D. E. Rodríguez Félix, J. C. Gálvez Ruiz, *Reactive and Functional Polymers.*

Presentacion en eventos académicos de trabajos relacionados con el proyecto de tesis

Ponencias a nivel internacional

1 "SYNTHESIS OF L-GLUTAMIC ACID-DOPED POLYANILINE FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS. *I International Symposium on Nanoscience and Nanomaterials (Marzo del 2012, Ensenada, B. C.)".*

2 “RELEASE OF AMOXICILLIN FROM SUBMICRO/NANOSTRUCTURE OF POLYANILINE/L-GLUTAMIC ACID. *2nd International Symposium on Nanoscience and Nanomaterials (Marzo del 2013, Ensenada, B. C.)”.*

3 “FUNCTIONALITATION OF CARBON NANOTUBES USING L-GLUTAMIC ACID: IN SITU POLYMERIZATION OF ANILINE. *I International Materials Research Congress (Agosto del 2013, Cancun, Mexico)”.*

4 “CHEMICAL SYNTHESIS OF POLYPYRROLE IN THE PRESENCE OF L-GLUTAMIC AND L-SERINE: LOADING AND RELEADING STUDIES OF AMOXICILLIN. *7th International Conference on Times of Polymers and Composites (Junio del 2014, Ischia, Italia).”*

5 “ELECTRICALLY CONTROLLED RELEASE OF AMOXICILLIN FROM POLYACRYLAMIDE/POLYANILINE HYDROGELS. *3rd US-México Symposium on Advances in Polymer Science (Diciembre del 2014, Nuevo Vallarta, México).”*

Ponencias a nivel nacional

1 “SÍNTESIS DE NANOESTRUCTURAS DE POLIANILINA EN PRESENCIA DE ÁCIDO L-GLUTÁMICO. *XXV Congreso nacional de la Sociedad Polimérica de México, A. C. (Noviembre 2012, Mérida, Yucatán)”.*

2 “SÍNTESIS DE NANOESTRUCTURAS DE POLIANILINA EN PRESENCIA DE ÁCIDO L-GLUTÁMICO. *XVIII Reunión Universitaria de Investigación en Materiales RUIM 2012. (Noviembre 2012, Hermosillo, Sonora.)”.*

3 “LIBERACIÓN DE AMOXICILINA A PARTIR DE SUBMICRO/ NANOESTRUCTURAS DE POLIANILINA/ÁCIDO-L-GLUTÁMICO. *X Coloquio Bienal en Ciencia de Materiales. (Marzo del 2013, Hermosillo, Sonora)”.*

4 “LIBERACIÓN DE AMOXICILINA A PARTIR DE SUBMICRO/NANOESTRUCTURAS DE POLIANILINA/ÁCIDO-L-GLUTÁMICO, EN REDES INTERPENETRADAS FORMADAS POR POLI(ACRILAMIDA). *XXVI Congreso Nacional de la Sociedad Polimérica de México. (Noviembre 2013, Coatzacoalcos, Veracruz)”.*

5 “SÍNTESIS QUÍMICA DE POLIPIRROL EN PRESENCIA DEL ÁCIDO-L-GLUTÁMICO Y LA L-SERINA”. XXVI. *Congreso Nacional de la Sociedad Polimérica de México. (Noviembre 2013, Coatzacoalcos, Veracruz)”.*

6 “ELECTRICALLY CONTROLLED RELEASE OF AMOXICILLIN FROM POLYACRYLAMIDE/POLYANILINE HYDROGELS. *XIX Reunión Universitaria de Investigación en Materiales RUIM 2014 (Noviembre del 2014, Hermosillo, México).”*

7 *“*LIBERACIÓN CONTROLADA DE AMOXICILINA POR ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DESDE NANOFIBRAS DE POLIANILINA CONTENIDAS EN HIDROGELES DE POLIACRILAMIDA*”. “XI Coloquio Bienal en Ciencias de Materiales (Marzo del 2015, Hermosillo, México).”*

Premios o Distinciones obtenidos

1. Reconocimiento a mejor trabajo a nivel Doctoral en el “XI Coloquio Bienal en Ciencias de Materiales” realizado en Hermosillo, Sonora del 11-13 de marzo del 2015, con el trabajo titulado: LIBERACIÓN CONTROLADA DE AMOXICILINA POR ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DESDE NANOFIBRAS DE POLIANILINA CONTENIDAS EN HIDROGELES DE POLIACRILAMIDA”.