

Síntesis de Hidrogeles de Carboximetil Quitosano a Partir de las Cáscaras de Camarón (*Penaeus vannamei*) para su Aplicación en Transporte y Liberación Controlada de Fármacos.

Lara, Edny., Serrano, Laura., Osegueda, Oscar.

La Libertad, Universidad Centroamericana "José Simeón Cañas", El Salvador

oscar.osegueda@udb.edu.sv

Abstract— El objetivo de este estudio, fue la síntesis de hidrogeles de quitosano y carboximetil quitosano (CMQ) para su potencial uso como sistemas de transporte de fármacos. El quitosano y CMQ son biopolímeros derivados de la quitina, en este caso la quitina fue extraída de las cáscaras de camarón (*Penaeus vannamei*).

El quitosano se obtuvo por desacetilación de la quitina con hidróxido de sodio. Se utilizó el método de superficie de respuesta para la optimización del proceso, tomando como variables la concentración de hidróxido de sodio, temperatura y tiempo de reacción; siendo la variable respuesta el grado de desacetilación (DDA) del quitosano. Las condiciones óptimas fueron, concentración de NaOH 60%, temperatura de 85°C con un tiempo de reacción de 10 horas, obteniéndose quitosano con DDA de 62.7%. Posteriormente, se sintetizó el CMQ por carboximetilación del quitosano con ácido cloroacético y se caracterizó determinando su grado de sustitución (DS), obteniéndose un valor de 0.77.

La síntesis de hidrogeles se realizó utilizando la técnica de esferificación; estos fueron evaluados en función de su capacidad de absorción y se determinó su relación de hinchamiento (RH). Se obtuvo que el hidrogel de CMQ es capaz de absorber aproximadamente 9 veces su peso seco en agua, mientras que el de quitosano absorbió 5 veces su peso seco en agua. También, se estudió la influencia de factores fisicoquímicos en la capacidad de absorción, como, la forma física del hidrogel y el tipo de enlaces presentes en su estructura.

Se utilizó un hidrogel de CMQ para evaluar su capacidad de actuar como sistema de transporte de fármacos. El experimento consistió en la encapsulación de ácido acetilsalicílico, componente activo de la aspirina, para luego monitorear de manera cualitativa la liberación controlada del fármaco en un medio gástrico simulado.

Palabras claves: Hidrogel, quitina, quitosano, carboximetil quitosano, sistema de transporte de fármacos, liberación controlada de fármacos.

I. INTRODUCCIÓN

Los hidrogeles son redes macromoleculares tridimensionales formadas por cadenas poliméricas hidrofílicas, usualmente establecidas por el entrecruzamiento físico o químico de las cadenas constituyentes [1]. Debido a la capacidad hidrofílica de estas redes, los hidrogeles tienen la capacidad de absorber hasta mil veces su propio peso seco en agua o fluidos biológicos [2].

Los hidrogeles sintetizados a partir de biopolímeros son los materiales que poseen particular interés, en especial en la industria biomédica por sus diversas aplicaciones como, ingeniería de tejidos, encapsulación de células y transporte de fármacos para su liberación controlada. [3].

El quitosano es un biopolímero sintetizado a través de la desacetilación parcial de la quitina. Su estructura está compuesta por dos unidades principales, D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina, las cuales se encuentran distribuidas aleatoriamente a lo largo de la cadena [4]. Sus propiedades bactericidas, biocidas, fungicidas y antivirales, además de su biodegradabilidad y baja toxicidad le convierten en un compuesto muy utilizado para sistemas de transporte de fármacos [5], [6], sin embargo, su solubilidad limitada a pH menor que 6, genera la necesidad de encontrar una alternativa que posea las mismas características, pero con un rango de solubilidad mayor [7].

El carboximetil quitosano (CMQ), uno de los derivados hidrosoluble de quitosano, posee propiedades biológicas y fisicoquímicas mejoradas en comparación con el quitosano, promoviéndole como un candidato prometedor para diferentes aplicaciones biomédicas. Estas propiedades son resultado de la introducción del grupo carboximetil dentro de la estructura de quitosano, proporcionándole un aumento del grado de solubilidad en soluciones con valores de pH desde neutros a alcalinos, sin afectar sus propiedades características [8].

El CMQ se obtiene mediante la alquilación directa del quitosano, donde un grupo carboximetil, que proviene generalmente de un ácido monocarboxílico, sustituye a los hidrógenos de los grupos reactivos del quitosano [11].

Las propiedades y aplicaciones del CMQ dependen fuertemente de sus características estructurales, principalmente del grado de sustitución (DS) y del grupo reactivo donde esta ocurre. El DS es la

relación entre el número de grupos carboximetil que sustituye a los hidrógenos y los grupos reactivos presentes en la unidad monómera del quitosano [12]. Este posee tres grupos reactivos en la molécula, un grupo hidroxilo primario (C₆), un grupo hidroxilo secundario (C₃) y un grupo amino (C₂), con lo cual cabe la posibilidad de obtener N- u O- sustituciones [13].

En los últimos años, los hidrogeles de CMQ, se han convertido en materiales atractivos para sistemas de administración localizada y liberación controlada de fármacos debido a su biocompatibilidad, solubilidad, alta capacidad de absorción, biodegradabilidad, baja toxicidad y sensibilidad a cambios de pH y temperatura [8]. Estas características le permite al CMQ poder ser usado en diferentes rutas de administración, como nasal, oral, parenteral, entre otras [9] [10].

II. METODOLOGÍA

A. Extracción de quitina y obtención de quitosano

La quitina se extrajo de las cascaras de camarón (*Penaeus vannamei*) por medio de desmineralización y desproteización con HCl y NaOH respectivamente. Ambos tratamientos se realizaron durante 24 horas a temperatura ambiente y la quitina obtenida se secó en un horno a 65°C por 24 horas.

El quitosano se obtuvo por la desacetilación de la quitina con NaOH, este proceso fue optimizado utilizando el Método de Superficie de Respuesta (MSR). Para ello se generó un diseño de experimento por medio de un modelo Box-Behnken, con tres variables controladas: concentración de hidróxido de sodio, temperatura y tiempo de reacción, cada variable posee tres niveles. Las condiciones utilizadas en el proceso fueron: concentración de NaOH, entre 40 y 60%, temperaturas de 70 °C a 100 °C y tiempos de reacción de 2 a 10 horas

B. Obtención de carboximetil quitosano (CMQ)

El CMQ se obtuvo por alquilación directa del quitosano con ácido monocloroacético. Cinco gramos de quitosano fueron suspendidos en 10 ml de una mezcla de NaOH al 70% y alcohol isopropílico en una relación 1:1 v/v, el quitosano se mantuvo sumergido durante 1 hora a 50°C. Posteriormente se preparó una solución de ácido cloroacético, disolviendo 7.5 g de este en 10 ml de alcohol isopropílico y se agregó gota a gota a la mezcla. La reacción se llevó a cabo por 4 horas a 50°C.

C. Caracterización de quitosano y CMQ

Para el quitosano se determinó su grado de desacetilación (%DDA), y para el CMQ, se determinó su grado de sustitución (DS); en ambos casos, la caracterización se realizó por titulación ácido-base.

1) Quitosano: El grado de desacetilación se determinó por titulación potenciométrica [11] [12]. Se preparó una solución de 0.3 g de quitosano en 30 ml de HCL 0.1 M y se tituló con NaOH 0.1 M, en incrementos de 1 ml hasta 35 ml. Se monitoreó el pH de la solución y se construyó una curva de pH vs volumen agregado de NaOH, para calcular el %DDA según la ecuación Ec. 1.

$$\%DDA = 16.1 \times [NaOH] \times \frac{V_2 - V_1}{m} \quad \text{Ec. 1.}$$

2) *Carboximetil quitosano*: El grado de sustitución del CMQ se determinó por titulación conductimétrica [3]. Se preparó una solución de 0.1 g de CMQ en 100 ml de HCl 0.05 M y se tituló con NaOH 0.1 M, en incrementos de 0.5 ml hasta 20 ml. Se monitoreó la conductividad de la solución y se construyó una curva de conductividad vs volumen agregado de NaOH, luego se calculó el DS según la ecuación Ec. 2 .

$$DS = \frac{V_2 - V_1}{V_3 - V_2} \times \%DDA \quad \text{Ec. 2.}$$

D. Síntesis de hidrogeles de quitosano y CMQ

Ambos tipos de hidrogeles fueron formados por esferificación con el fin de obtener microcápsulas. En el caso de los hidrogeles de quitosano, se prepararon hidrogeles entrecruzados físicamente y los hidrogeles de CMQ, se prepararon por entrecruzamiento físico y químico.

1) *Hidrogel de quitosano*: Se prepararon soluciones al 1% y 2% en HCL 0.1 M, luego se gotearon en una solución de NaOH 0.5 M. Las esferas se dejaron reposar en la solución de NaOH por 16 horas, luego fueron lavadas con agua destilada hasta pH neutro y se secaron a temperatura ambiente en un desecador por 72 horas.

2) *Hidrogel de CMQ*: Se prepararon soluciones al 3% y 5% en agua destilada y se gotearon en una solución al 3% de cloruro de calcio en etanol al 70%. Las esferas se dejaron reposar en la solución durante una hora y posteriormente fueron lavadas con agua destilada. Para la síntesis del hidrogel entrecruzado químicamente, las esferas formadas se transfirieron a una solución de formaldehído 0.025 M y se dejaron reposar durante una hora, finalmente fueron lavadas con agua destilada y se secaron a temperatura ambiente en un desecador por 72 horas.

E. Evaluación de la capacidad de absorción o relación de hinchamiento de los hidrogeles

Las microcápsulas secas se pesaron en una balanza analítica, luego se introdujeron en un recipiente con agua y se dejaron reposar por dos horas. Finalmente se pesaron para determinar el peso de los hidrogeles hinchados y se determinó la relación de hinchamiento (RH) por medio de la ecuación Ec. 3.

$$RH = \frac{\text{Hidrogel hinchado} - \text{Hidrogel seco}}{\text{Hidrogel seco}} \quad \text{Ec. 3.}$$

F. Evaluación cualitativa de la liberación controlada de fármacos

Se utilizaron tabletas de aspirina para preparar una solución al 2%, esta fue mezclada con la solución de CMQ al 5% para su posterior esferificación. Finalmente, las microcápsulas formadas fueron lavados con agua destilada y colocadas en un medio gástrico simulado.

Para la simulación del medio gástrico se utilizó HCl 0.1 M diluyéndolo hasta obtener un pH aproximado de 1.2 y como indicador de la presencia de aspirina en el medio se agregó una solución de cloruro de hierro III 0.02 M. Los hidrogeles se dejaron reposar en el

medio durante una hora, la presencia de aspirina se verificó por la formación de un complejo color morado en presencia de iones Fe^{3+} .

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. Caracterización de quitosano y CMQ

1) *Quitosano*: El DDA es la relación porcentual de grupos amino presentes en el quitosano respecto a los grupos N-acetil iniciales presentes en la quitina.

El DDA se determinó mediante la construcción de una curva potenciométrica, pH vs volumen agregado de NaOH, en la cual se identificaron dos puntos de inflexión graficando la derivada de la curva, como se muestra en la **¡Error! No se encuentra el origen de**

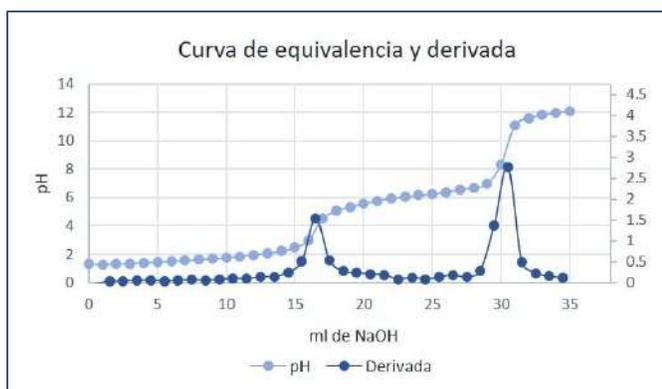


Fig. 1. Curva potenciométrica para quitosano con su respectiva derivada. **la referencia..**

El primer punto de inflexión corresponde al volumen necesario de hidróxido para la neutralización del exceso de ácido clorhídrico en la solución y el segundo corresponde a la neutralización de los grupos amino del quitosano [18].

La determinación del DDA se realizó para los 17 experimentos del diseño experimental, obteniéndose valores de DDA en el rango de 36% a 62.7%, como se muestran en la Fig. 2. El mayor DDA fue obtenido con NaOH al 60% a temperatura de 85°C con un tiempo de reacción de 10 horas.



Fig. 2. Datos de DDA para los 17 experimentos.

Se realizó el análisis de varianza ANOVA con la ayuda del software Minitab 18, con el fin de evaluar la significancia de los factores y verificar el ajuste al modelo seleccionado. De este análisis se obtuvo un R^2 para el modelo de regresión múltiple de 99.98% con un nivel de significancia $p < 0.05$, y una falta de ajuste insignificante con $p = 0.917$, ambos parámetros analizados con un nivel de confianza del 95%.

2) *Carboximetil quitosano*: El DS es la relación de los grupos carboximetil introducidos en la unidad base del quitosano, con respecto a los grupos funcionales reactivos presentes.

El DS se determinó mediante la construcción de una curva de conductividad vs volumen agregado de hidróxido de sodio, en esta se identificaron tres puntos de inflexión, como se muestra en la **¡Error!**

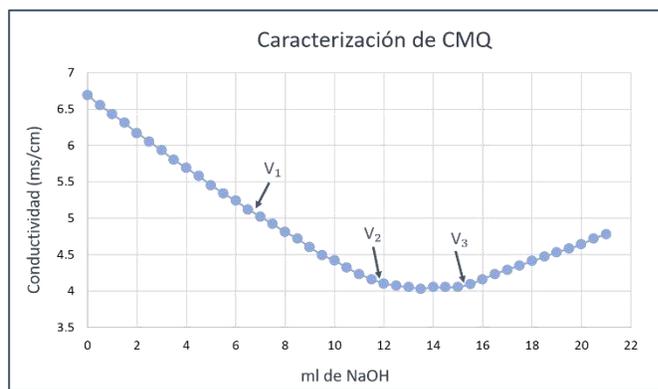


Fig. 3. Curva conductimétrica para CMQ. **No se encuentra el origen de la referencia..**

El primero corresponde al volumen necesario de hidróxido para neutralizar el exceso de ácido clorhídrico en la solución, el segundo corresponde a la neutralización de los grupos carboximetil del CMQ y el tercero corresponde a la neutralización de los grupos amino no sustituidos del quitosano [3].

Los volúmenes correspondientes a los puntos de inflexión se utilizaron en la Ec. 2 para calcular el DS del CMQ obtenido y se obtuvo un valor de 0.77.

B. Síntesis de hidrogeles de quitosano y CMQ

Para la síntesis de hidrogeles se estudió el efecto de la concentración de las soluciones de quitosano y CMQ utilizadas para el proceso de esferificación. Se prepararon dos soluciones a diferentes concentraciones para cada uno de los biopolímeros como se estableció en la sección anterior.

1) *Hidrogel de quitosano*: Se prepararon soluciones al 1% y 2% de quitosano y se gotearon en NaOH según lo indicado en la metodología.

En el primer caso, se obtuvieron hidrogeles con formas ahuecadas, como se muestra en la Fig. 4 a), durante el proceso de lavado para la eliminación del NaOH remanente, estos fueron deformándose debido a que, en el volumen contenido en una gota de solución, la cantidad de masa de quitosano era prácticamente insignificante. Posteriormente, en la etapa de secado, los hidrogeles perdieron toda el agua dejando únicamente costras muy finas.

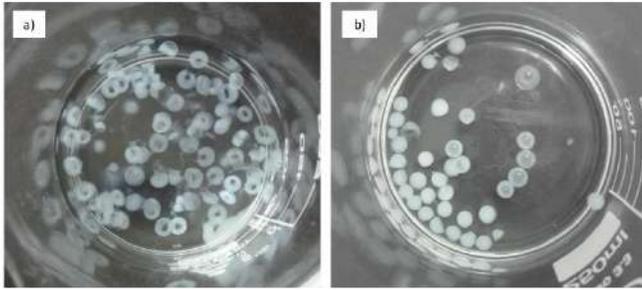


Fig. 4. Hidrogeles de quitosano a) solución al 1%, b) solución al 2%.

En el segundo caso, los hidrogeles formados con la solución al 2% de quitosano se obtuvieron como esferas casi perfectas como lo muestra la Fig. 4 b).

Estos hidrogeles fueron capaces de mantener su forma luego del proceso de lavado como se muestra en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** a). Luego del proceso de secado, se obtuvieron esferas firmes de menor tamaño debido a la pérdida de agua y de un color amarillento, como se muestra en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** b).

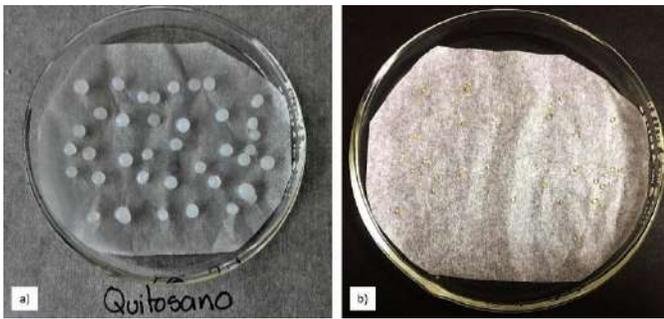


Fig. 5. Hidrogeles de quitosano a) esferas luego del proceso de lavado b) esferas secas.

2) *Hidrogeles de CMQ*: Se prepararon soluciones al 3% y 5% de carboximetil quitosano y se gotearon en una solución de iones calcio según lo indicado en la metodología. La Fig. 6, muestra que, para el caso del carboximetil quitosano, la concentración de la solución no afectó la forma de las esferas, en ambos casos se obtuvieron esferas casi perfectas.



Fig. 6. Hidrogeles de carboximetil quitosano con soluciones al 3% y 5%.

A diferencia de los hidrogeles de quitosano, los hidrogeles de CMQ tardaron más en formarse y en alcanzar un color totalmente

blanco como se observa en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** a) y b).

Luego del proceso de lavado, se observó leve deformación de las esferas en ambos tipos de hidrogeles de CMQ, tal como se muestra en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** c).



Fig. 7. Hidrogeles de carboximetil quitosano a) recién formados, b) reposados por 30 minutos, c) luego del proceso de lavado.

Luego del proceso de secado se observó una diferencia considerable en la apariencia de los hidrogeles formados con ambas soluciones. Los hidrogeles de la solución de CMQ al 3% se muestran como pequeñas costras en la Fig. 8 a), mientras que los de la solución al 5%, resultaron como pequeñas esferas de color amarillo claro a transparente como se muestra en la Fig. 8 b).

En comparación con los hidrogeles de quitosano, los de CMQ fueron más pequeños y deformes, probablemente debido a la volatilización del alcohol presente en la matriz del hidrogel, proveniente de la solución de calcio – alcohol utilizada en la esferificación [3], por esta razón, se optó por utilizar formaldehído como agente entrecruzante para que el hidrogel fuera capaz de mantener su forma. Sin embargo, se obtuvieron hidrogeles amorfos, pero de mayor tamaño a los hidrogeles no entrecruzados químicamente y de color blanco amarillento, como se muestra en la Fig. 8 c).

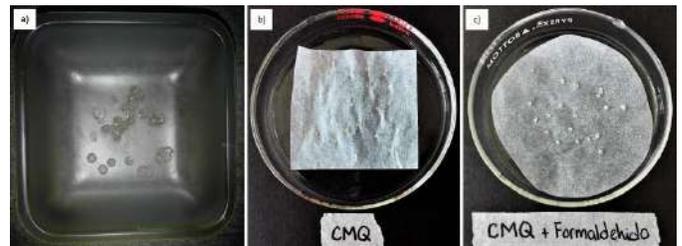


Fig. 8. Hidrogeles de CMQ a) solución al 3% b) Solución al 5% c) solución al 5% y entrecruzados con formaldehído.

C. Evaluación de la capacidad de absorción de los hidrogeles

La caracterización de los hidrogeles se realizó en función de su capacidad para absorber agua. La prueba se realizó con los hidrogeles secos de quitosano preparados con la solución al 2% y con los hidrogeles secos de carboximetil quitosano entrecruzados y no entrecruzados, ambos preparados con la solución al 5%.

La Fig. 9 muestra los hidrogeles hinchados luego de dos horas de permanecer en contacto con agua y en la TABLA 1 se presentan los datos en función de la relación de hinchamiento denotada por la cantidad de agua contenida en la matriz del hidrogel respecto a su peso seco.

TABLA 1.
DATOS DE ABSORCIÓN DE AGUA PARA LOS HIDROGELES.

Tipo de hidrogel	Peso seco (g)	Peso hidrogel	RH
Quitosano	0.0025	0.0164	5.5
CMQ esfera	0.0032	0.0313	8.7
CMQ film	0.0028	0.0833	28.7
CMQ entrecruzado	0.0051	0.0172	2.4

Los datos mostrados en la TABLA 1, sugieren que los hidrogeles de CMQ tienen mejor capacidad de absorber agua que los de quitosano, con RH de 8.7 y 5.5 respectivamente. Esto se debe a que los grupos carboximetil presentes en el CMQ, son capaces de desprotonarse en soluciones con valores de $\text{pH} > 7$ actuando como polianiones [13] [17]. De esta manera se generan mayor repulsión electrostática por la presencia de un exceso de cargas negativas, lo que permite la migración de las moléculas de agua al interior del hidrogel [18].

Para el caso de los hidrogeles de CMQ, se estudió la influencia de la forma y el tamaño del hidrogel en su capacidad de absorción. El hidrogel tipo film fue capaz de absorber mayor cantidad de agua que el hidrogel tipo esfera con RH de 28.7 y 8.7 respectivamente, como se muestra en la TABLA 1. Esta diferencia se debe a que la muestra tipo film posee mayor área de contacto, lo que le facilita las interacciones con las moléculas de agua, permitiéndole alcanzar un equilibrio de absorción más rápido que la muestra tipo esfera. Análogamente, un hidrogel tipo esfera más grande, sería capaz de alcanzar una relación de hinchamiento mayor que una esfera pequeña [3].

Finalmente, al analizar el efecto del entrecruzamiento químico, se obtuvo que este le proporciona un efecto negativo al hidrogel en su capacidad para absorber agua. El hidrogel de CMQ entrecruzado con formaldehído, presentó la menor capacidad de absorber agua, con una RH de 2.4. Esto se debe a la formación de enlaces covalentes entre las moléculas del agente entrecruzante y las cadenas poliméricas, este tipo de enlace le confiere mayor rigidez a la matriz del hidrogel debido a la presencia de fuerzas elásticas de retención y evita que las moléculas de agua penetren en el [18] [19].

Por otro lado, la presencia de enlaces físicos en la matriz del hidrogel, como puentes de hidrógeno, enlaces iónicos y fuerzas de Van der Waals, permiten a los hidrogeles deformarse ya que les confieren mayor elasticidad y se facilita la penetración de las moléculas de agua en la matriz del hidrogel [20].

D. Evaluación cualitativa de la liberación controlada de fármacos

Para esta prueba, se formaron los hidrogeles con las soluciones de CMQ al 3% y 5%, mezcladas con la solución de aspirina. La esferificación se realizó de la misma manera descrita en la metodología para la síntesis de hidrogeles. Posteriormente, estos se colocaron en el medio gástrico simulado.

La **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** muestra los hidrogeles con aspirina en el medio gástrico simulado en tiempo cero, la Fig. 11 a) muestra los hidrogeles de la solución al 3% de CMQ y la Fig. 11 b) los hidrogeles de la solución al 5% de CMQ luego de 15 minutos de iniciada la prueba. El color morado del medio indica

que parte de la aspirina ya ha sido liberada por la degradación de los hidrogeles. La Fig. 12 a) y b) muestra los hidrogeles después de una

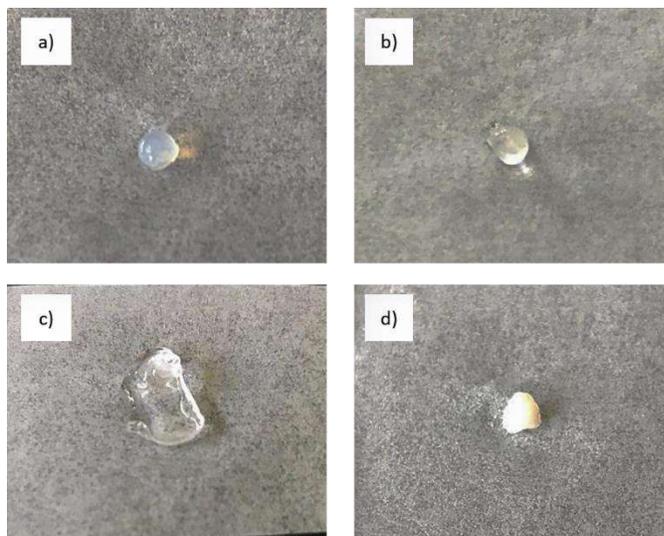


Fig. 9. Hidrogeles hinchados a) quitosano b) CMQ en forma de esfera c) CMQ en forma de film d) CMQ entrecruzado con formaldehído. hora de iniciada la prueba.



Fig. 10. Hidrogeles en medio gástrico simulado en $t=0$.

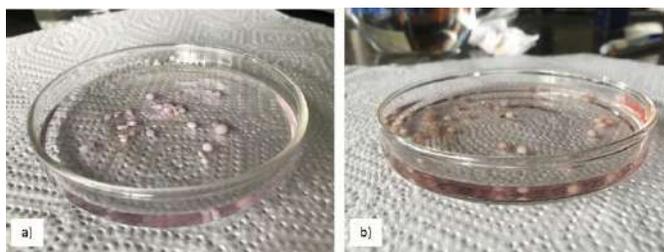


Fig. 11. $t=15$ minutos a) hidrogeles de CMQ al 3% b) hidrogeles de CMQ al 5%

La degradación de los hidrogeles es explicada por el mismo principio utilizado en el análisis de hinchamiento por la absorción de agua, por lo que el tipo de hidrogel y el pH del medio, son los factores principales a considerar en la evaluación de un sistema de liberación controlada de fármacos.

Otro factor importante es la concentración del polímero utilizado en la síntesis del hidrogel. La degradación de los hidrogeles de CMQ al 5% tardó más debido a que posee una mayor densidad de cadenas poliméricas en su matriz, con respecto al hidrogel de CMQ al 3%, esto lo hace más resistente al medio.

El tipo de hidrogel a utilizar depende fuertemente del medio en el que se desee actuar. En el caso de los seres vivos, la ingesta de medicamentos más común es por la vía oral, así el fármaco llega hasta el estómago para ser digerido y luego pasa al intestino donde es absorbido [21]. El estómago o medio gástrico posee un pH de 1.2, mientras que el intestino posee un pH de 7.4 [3]. Teniendo esto en consideración, el hidrogel utilizado como sistema de transporte debe ser capaz de resistir estas condiciones.

El CMQ es ideal debido a que se degrada parcialmente en el medio gástrico para luego permitir la absorción del medicamento en el intestino.

Esto es posible debido a la protonación de los grupos amino no sustituidos del quitosano, presentes en el CMQ en medio ácido, esto permite la disolución del CMQ, absorción y degradación parcial del hidrogel. Se esperaría que en el medio intestinal ocurriera la degradación total debido a la desprotonación de los grupos carboximetil, según lo estipulado en el análisis de los ensayos de absorción de agua de los hidrogeles.

IV. CONCLUSIONES

En la caracterización del quitosano por medio de titulación potenciométrica, se obtuvieron valores de %DDA entre 36 y 62.7% y en la caracterización del CMQ por medio de titulación conductimétrica, se obtuvo un DS de 0.77. Sin embargo, los métodos utilizados representaron cierta incerteza, debido a la dificultad para determinar de manera exacta los puntos finales en las titulaciones, es por esto que, para futuros estudios se recomienda el uso de técnicas más especializadas que sean capaces de reducir el error humano.

Los resultados de la optimización del proceso de obtención de quitosano indicaron que se obtuvo el mayor %DDA utilizando NaOH al 60%, a temperatura de 85°C por un tiempo de 10 horas, dando como resultado un %DDA del 62.7%. Según el análisis estadístico realizado, tanto la concentración de NaOH como el tiempo de reacción, tienen efectos positivos en el %DDA, mientras que la temperatura tiene un efecto negativo dentro de las condiciones estudiadas.

De manera general, el hidrogel de CMQ, presenta mejores propiedades fisicoquímicas que el hidrogel de quitosano, ya que es capaz de actuar como poliación en medio ácido y como polianión en medio neutro a básico, esto le permite, en comparación con el quitosano, la absorción y degradación en un rango de valores de pH más amplio. También representa un mayor potencial en diversas aplicaciones debido a su alta solubilidad en agua.

Al analizar la influencia de la concentración del CMQ en la liberación de la aspirina del hidrogel, se obtuvo que el hidrogel formado con la solución de CMQ al 3% se degradó más rápido que el formado con la solución al 5%. El primero inició su degradación, por tanto, la liberación de aspirina, unos pocos minutos luego de entrar en contacto con el medio y se degradó completamente aproximadamente media hora después, mientras que el hidrogel de CMQ al 5%, inició su degradación aproximadamente 10 minutos luego de iniciada la prueba y al cabo de una hora su degradación no había sido completa. De este análisis se concluye que la degradación de los hidrogeles de CMQ depende fuertemente de la concentración de CMQ utilizada en la

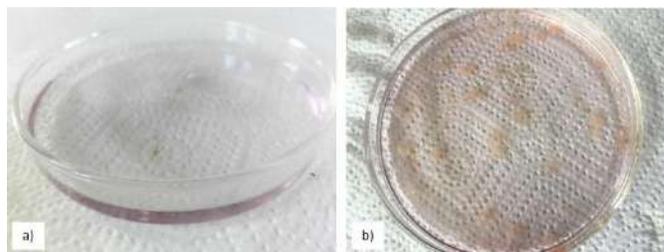


Fig. 12. t=1 hora a) hidrogeles de CMQ al 3% b) hidrogeles de CMQ al 5%. síntesis de estos.

V. REFERENCIAS

- [1] T. K. Giri, A. Thakur, A. Alexander, H. Badwaik y D. K. Tripathi, «Modified chitosan hydrogels as drug delivery and tissue engineering systems: present status and applications,» *Acta Pharmaceutica Sinica B*, vol. 2, n° 5, pp. 439-449, 2012.
- [2] F. Ahmadi, Z. Oveisi, S. Mohammadi Samani y Z. Amoozgar, «Chitosan based hydrogels: characteristics and pharmaceutical applications,» *Research in Pharmaceutical Sciences*, vol. 10, n° 1, pp. 1-16, 2015.
- [3] Y. Luo, Z. Teng, X. Wang y Q. Wang, «Development of carboxymethyl chitosan hydrogel beads in alcohol-aqueous binary solvent for nutrient delivery applications,» *Food Hydrocolloids*, vol. 31, pp. 332-339, 2013.
- [4] M. M. Islam, S. M. Masum, M. M. Rahman, M. A. Islam Molla, A. A. Shaikh y R. S.K., «Preparation of Chitosan from Shrimp Shell and Investigation of Its Properties,» *International Journal of Basic & Applied Sciences*, vol. 11, n° 1, pp. 77-80, 2011.
- [5] C. Peniche, W. Arguelles, A. Gallardo, C. Elvira y J. San Román, «Quitosano: Un polisacárido natural biodegradable y biocompatible con Aplicaciones en Biotecnología y Biomedicina,» *Revisra de Plásticos Modernos*, vol. 81, n° 535, pp. 81-91, 2001.
- [6] M. Yusuf, «Biomedical Applications of Chitosan,» *Handbook of Ecomaterials*, pp. 1-12, 2017.
- [7] T. T. Khong, *Vietnamese chitin raw material, the chitin de-N-acetylation reaction, and a new chitosan-alginate gelling concept*, 2013.

- [8] A. Upadhyayaa, J. Singhb, V. Agarwalc y R. Tewaria, «Biomedical applications of carboxymethyl chitosans,» *Carbohydrate Polymers*, pp. 452-456, 2012.
- [9] G. Tiwari, R. Tiwari, B. Sriwastawa, L. Bhati, S. Pandey, P. Pandey y S. K. Banner, «Drug delivery systems: An updated review,» *Pharmaceutical Investigation*, vol. 2, n° 1, p. 2-11, 2012.
- [10] V. Mourya, N. Inamdara y A. Tiwarib, «Carboxymethyl chitosan and its applications,» *Advanced Materials Letters*, pp. 11-33, 2010.
- [11] A. Bukzema, R. Signinia, D. Santos, L. Lião y D. Ascheri, «Optimization of carboxymethyl chitosan synthesis using response surface methodology and desirability fuction,» *International Journal of Biological Macromolecules*, p. 615-624, 2016.
- [12] U. Shinde, M. H. Ahmed y K. Singh, «Development of Dorzolamide Loaded 6-O-Carboxymethyl Chitosan Nanoparticles for Open Angle Glaucoma,» *Journal of Drug Delivery*, vol. 2013, 2013.
- [13] F. Abreu y S. Campana, «Preparation and Characterization of Carboxymethylchitosan,» *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, vol. 5, n° 2, pp. 79-83, 2005.
- [14] E. S. d. Alvarenga, «Characterization and Properties of Chitosan,» de *Biotechnology of Biopolymers*, 2011, pp. 91-108.
- [15] P. López, «Obtención de quitosano a partir de desechos del exoesqueleto de camarón Tití (*Xiphopenaeus riveti*) para el desarrollo de películas poliméricas plastificadas con glicerina,» Universidad de San Buenaventura, Santiago de Cali, 2014.
- [16] S. Majekodunmi, «Current Development of Extraction, Characterization and Evaluation of Properties of Chitosan and Its Use in Medicine and Pharmaceutical Industry,» *American Journal of Polymer Science*, vol. 6, n° 3, pp. 86-91, 2016.
- [17] S. Vaghani, M. M. Patel, C. S. Satish, K. M. Patel y N. P. Jivani, «Synthesis and characterization of carboxymethyl chitosan hydrogel: Application as site specific delivery for lercanidipine hydrochloride,» *Bulletin of Materials Science*, vol. 35, n° 7, pp. 1133-1142, 2012.
- [18] E. Budianto, S. P. Muthoharoh y N. M. Nizado, «Effect of Crosslinking Agents, pH and Temperature on Swelling Behavior of Cross-linked Chitosan Hydrogel,» *Asian Journal of Applied Sciences*, vol. 3, n° 5, pp. 581-588, 2015.
- [19] A. Sánchez, M. Sibaja, J. Vega-Baudrit y S. Madrigal, «Síntesis y caracterización de hidrogeles de quitosano obtenido a partir del camarón langostino (pleuroncodes planipes) con potenciales aplicaciones biomédicas,» *Revista iberoamericana de Polímeros*, vol. 8, n° 4, pp. 241-267, 2007.
- [20] J. Berger, M. Reist, J. Mayer, O. Felt, N. Peppas y R. Gurny, «Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications,» *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 57, pp. 19-34, 2004.
- [21] M. Orme, «Drug Absorption in the Gut,» *British Journal of Anaesthesia*, vol. 56, n° 59, pp. 59-67, 1984.