



UNIVERSIDAD DE TALCA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA

SÍNTESIS Y EVALUACIÓN ANTIBACTERIANA DE  
UNA FORMULACIÓN BASADA EN HIDROGEL  
CON PROPIEDADES DE “SLOW RELEASE” DE  
AMPICILINA FRENTE A CEPAS *DE ESCHERICHIA  
COLI*.

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE  
LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA

ALUMNO: CRISTIAN MAURICIO BARRERA MÉNDEZ

PROFESOR GUÍA: DR. ESTEBAN DURÁN LARA

TALCA – CHILE

2019

## CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2019

Dedicado a mis padres y  
familiares.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres por su apoyo incondicional, familiares y amigos.

## ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS .....	3
ÍNDICE .....	4
I. RESUMEN .....	6
II. INTRODUCCIÓN .....	8
III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	10
1. Clasificación de los hidrogeles.....	11
1.1 Clasificación basada en entrecruzamiento .....	11
1.1.1 Hidrogeles físicamente reticulados .....	11
1.1.2 Hidrogeles químicamente reticulados.....	12
1.2 Clasificación basada en estado físico.....	12
1.2.1 Hidrogeles sólidos.....	13
1.2.2 Hidrogeles semisólidos.....	13
1.2.3 Hidrogeles líquidos.....	14
2. Propiedades de los hidrogeles .....	15
2.1 Propiedades mecánicas .....	15
2.2 Propiedades de expansión.....	16
2.3 Propiedades de biocompatibilidad.....	16
2.4 Actividad antimicrobiana.....	17
3. Liberación controlada de drogas .....	18
4. Ampicilina.....	19
IV. OBJETIVOS .....	20
V. MATERIALES Y MÉTODOS .....	21
1. Materiales y síntesis del hidrogel HPAS20.....	21
2. Preparación del hidrogel.....	21
3. Estudio microbiológico.....	23
4. Estudio de hinchazón .....	23
5. Caracterización del hidrogel HPAS20 .....	24
5.1 Análisis de microscopía electrónica de barrido (SEM) .....	24
5.2 Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR). .....	25

5.3	Medición de la liberación de ampicilina por HPLC.....	25
VI.	RESULTADOS .....	26
1.	Estudio de hinchazón del hidrogel HPAS20.....	26
2.	Análisis de microscopía electrónica de barrido (SEM).....	27
3.	Análisis de espectrometría infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) ....	28
4.	Medición de la liberación de ampicilina desde HPAS20.....	29
5.	Medio de difusión.....	30
6.	Liberación de ampicilina desde HPAS20 .....	30
VII.	DISCUSIÓN .....	33
VIII.	CONCLUSIÓN .....	36
XI.	REFERENCIAS.....	38

## INDICE DE TABLAS, GRÁFICOS Y FIGURAS

Tabla 1.	Absorbancia en diferentes tiempos .....	31
Tabla 2.	Medición de los halos de inhibición.....	32
Figura 1.	Comparación entre un tratamiento convencional y uno de dosificación prolongada.....	18
Figura 2.	Índice de hinchazón del hidrogel HPAS20.....	26
Figura 3.	Imagen de microscopía electrónica de barrido del hidrogel HPAS20.....	28
Figura 4.	Espectro FTIR del hidrogel HPAS20 .....	29
Figura 5.	Liberación de ampicilina mediante HPLC. ....	29
Figura 6.	Absorbancia en relación al tiempo. ....	31
Figura 7.	Método de difusión en agar por pocillo.....	33

## I. RESUMEN

Los hidrogeles son redes poliméricas tridimensionales que están compuestas por polímeros lineales y agentes entrecruzantes que absorben grandes cantidades de agua. La capacidad de ser hidrofílicos e insolubles en agua les proporciona la particularidad de comportarse bien en diferentes medios, de tal manera que pueden tolerar un aumento significativo de su volumen alcanzando un equilibrio físico y químico entorno al medio en que se encuentre.

Las aplicaciones en los hidrogeles son amplias debido a su buena interacción con tejidos vivos, su aplicación en el área de la medicina es cada vez más estudiada, esto se debe a que presentan características de biocompatibilidad asociada a su consistencia y capacidad de absorber agua, además son materiales inertes de tal manera que no presentan tropismo por células o proteínas.

El hinchamiento de la red polimérica en un medio acuoso le entrega la particularidad de absorber, retener y liberar bajo condiciones estandarizadas drogas o soluciones orgánicas para su posterior liberación controlada. Los hidrogeles se pueden caracterizar y sintetizar de tal manera que la encapsulación de sustancias activas o drogas son aplicables a diferentes estudios, por lo tanto es relevante conocer más sobre el comportamiento del biomaterial en diferentes condiciones o medios.

En el presente trabajo se desarrolló un hidrogel basado en el poli (vinil alcohol) (PVA) y ácido succínico como agente entrecruzante en cual le confiere estabilidad y flexibilidad al material. Como agente encapsulante en la red polimérica se ha asociado el fármaco antibiótico ampicilina, cuya actividad antibacteriana contra cepas en *Escherichia coli* es variada debido a la creciente resistencia que presentan estos bacilos gram negativos en la actualidad.

La formulación de PVA con ácido succínico se sintetizó de forma satisfactoria y se comprobó su capacidad de generar una liberación controlada en el tiempo en un medio establecido en comparación a los controles que no contaban con el soporte polimérico. Por lo tanto, es de gran importancia conocer e investigar sobre el fenómeno de “slow release” en hidrogeles para una futura aplicación farmacológica clínica segura y efectiva.



## II. INTRODUCCIÓN

La resistencia bacteriana es un problema global que cada día genera más problemas en las atenciones en salud, la capacidad de las bacterias de modelar su capacidad metabólica y genómica para afrontar las diferentes drogas a las que son sometidas generan una gran capacidad de los microorganismos a adaptarse al medio y poder sobrevivir. Es por ello por lo que cada día se estudian fármacos nuevos que ayuden a esta problemática global, desde el estudio de nuevos compuestos hasta su administración. El uso de antibióticos de forma indiscriminada por la población sin un consentimiento médico favorece a la creciente resistencia bacteriana que a largo plazo puede conllevar a mayores tiempos de hospitalización, mayores gastos en salud y por sobre todo a poner en riesgo la vida de las personas.

La ampicilina es un antibiótico betalactámico que ha sido ampliamente utilizado para el tratamiento de una serie de infecciones bacterianas, es por ello que su resistencia es amplia y por consecuencia es menos utilizado. En infecciones urinarias por *Escherichia coli*, es el tratamiento primordial, pero su elevada administración por parte de los clínicos ha llevado a que las cepas no sean inhibidas por el betalactámico.

Las escasas estrategias terapéuticas para atacar las infecciones bacterianas en el tiempo serán un problema de salud pública, es por esto que las estrategias de administración de fármacos podrían ayudar en el problema, esto es mediante la liberación controlada de compuestos encapsulados. El uso de hidrogeles es cada vez más estudiado debido a su nula toxicidad y el carácter biodegradable que este tiene.

Los hidrogeles son estructuras poliméricas tridimensionales que contienen compuestos de naturaleza hidrofílica entrelazados. Pueden absorber grandes cantidades de agua u otros fluidos, pero no se disuelven en ellos. Su alta afinidad por el agua y su biocompatibilidad le confieren propiedades como poder reconstituir tejidos de determinada consistencia, o evitar la degradación de drogas en ambientes adversos, como el pH estomacal.

La administración de antibióticos asociados a un hidrogel podría mejorar eficiencia de los tratamientos, de tal manera que las dosis de antibióticos no serían repetitivas en un tiempo ni causarían los efectos adversos que estas drogas acarrear por el uso constante en el organismo. La capacidad intrínseca del hidrogel es la liberación controlada de fármacos abarcando la dosis terapéutica y evitando la dosis tóxica que todo tratamiento convencional tendría sobre el paciente. El uso de redes poliméricas para encapsular antibióticos favorecería un tratamiento efectivo para los pacientes mediante la capacidad innata de no alcanzar niveles tóxicos de la droga, mantener los niveles en el rango terapéutico y así reducir un contacto mayor de la bacteria con el antibiótico el cual favorecería a la reducción de la resistencia bacteriana a largo plazo.

### III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El término hidrogel (1) se utiliza para denominar a un tipo de material de base polimérica caracterizado por su extraordinaria capacidad para absorber agua y diferentes fluidos. Son redes poliméricas tridimensionales (2), no se disuelven en agua a temperatura y pH fisiológicos, pero se hinchan considerablemente en un medio acuoso y demuestran una extraordinaria capacidad para embeber agua y fluidos biológicos en la estructura de la red (3). La naturaleza hidrófila de los hidrogeles se debe a la presencia de grupos como hidroxilo (-OH), carboxilo (-COOH), amida (-CONH<sub>2</sub>) y sulfónico (-SO<sub>3</sub>H), a lo largo de las cadenas poliméricas (4).

Los hidrogeles se obtienen mediante polimerización y entrecruzamiento simultáneo de uno o varios monómeros polifuncionales. La capacidad de sorción de los hidrogeles se debe, entre otras cosas, a la flexibilidad de las cadenas poliméricas, la cual hace posible que se deforme para permitir la entrada de moléculas de disolvente dentro de la estructura tridimensional (2).

Otras propiedades interesantes de estos materiales son su capacidad para controlar el proceso de difusión, respuesta a los cambios en la fuerza iónica, pH, temperatura y la capacidad para atrapar especies químicas a través de los grupos funcionales polares que interactúan de forma selectiva y fuertemente con estas especies (2).

## **1. Clasificación de hidrogeles**

### **1.1. Clasificación basada en entrecruzamiento**

Los hidrogeles se pueden clasificar de muchas maneras. Sin embargo, como los hidrogeles se construyen básicamente mediante redes de reticulación, en función de la naturaleza de la red tridimensional que constituyen el polímero, se clasifican en dos categorías: hidrogel físicamente reticulado o hidrogel químicamente reticulado (5) (6).

#### **1.1.1 Hidrogeles físicamente reticulados**

Los hidrogeles reticulados físicamente o los geles reversibles han ganado importancia debido a su relativa facilidad de producción y la ventaja de no utilizar agentes de reticulación durante su protocolo de síntesis. La disolución de geles reticulados físicamente se evita mediante interacciones físicas, que existen entre diferentes cadenas de polímeros (5). La selección del tipo de hidrocoloide depende de la concentración y el pH la cual puede conducir a la formación de una amplia variedad de texturas de gel, actualmente es un área que recibe una atención considerable en las aplicaciones alimentarias, farmacéuticas y biomédicas porque generalmente se evita el uso de agentes de reticulación (5) (6).

### **1.1.2 Hidrogeles químicamente reticulados**

En los hidrogeles químicamente reticulados, existen enlaces covalentes entre diferentes cadenas poliméricas. Por lo tanto, son estables y no pueden disolverse en ningún solvente a menos que los puntos de reticulación covalentes estén escindidos (6). La flexibilidad de diseño de un hidrogel físicamente reticulado está restringida, debido a la dificultad de desacoplar las variables, como el tiempo de gelificación, el tamaño de los poros de la red interna, la funcionalización química y el tiempo de degradación (5). En contraste, la reticulación química da como resultado una red con una resistencia mecánica relativamente alta y, dependiendo del tipo de enlaces químicos en los bloques de construcción y las reticulaciones, pueden ocurrir tiempos de degradación relativamente prolongados.

### **1.2 Clasificación basada en estado físico.**

Recientemente, el desarrollo de hidrogeles con propiedades físicas significativas ha atraído muchos intereses en aplicaciones biomédicas, Debido a sus características únicas, tales como sus características de hinchamiento y difusión. Principalmente, su microestructura tridimensional desempeña un papel vital en varios campos debido a que esta microestructura es responsable de la estabilización de las matrices no extracelulares y extracelulares. Los hidrogeles poliméricos tienen propiedades elásticas similares a los tejidos blandos, tienen la particularidad de ser no tóxicos, biodegradables y biocomparables con sensibilidad al estímulo. Por lo tanto, son ampliamente utilizados en aplicaciones biomédicas, que incluyen administración de fármacos, autocuración, superficies inteligentes, ingeniería de tejidos, diagnóstico,

inmovilización, separación y recubrimiento compatible con sangre de implantes médicos, etc. (7)(8)(9). Por lo tanto, basado en las propiedades físicas, los hidrogeles se pueden clasificar en tres tipos con diferentes aplicaciones biomédicas. Los cuales son sólidos, semisólidos e hidrogeles líquidos.

### **1.2.1 Hidrogeles sólidos**

Los hidrogeles sólidos son uno de los polímeros más versátiles ya que pueden imitar las propiedades físicas, químicas, eléctricas y biológicas de la mayoría de los tejidos biológicos, imitando la compleja arquitectura de los tejidos y proporcionando el microambiente celular esencial. Además, son beneficioso para facilitar la formación de tejidos funcionales (10) (11) (12). Los hidrogeles sólidos tienen una fuerte estructura de red reticulada con enlaces iónicos o covalentes y son sólidos por naturaleza a temperatura ambiente, pero pueden hincharse en agua, soluciones tampón y fluidos biológicos. Debido a estas propiedades específicas, pueden utilizarse para la preparación de hidrogeles en diferentes aplicaciones biomédicas, ambientales y ecológicas.

### **1.2.2 Hidrogeles semisólidos**

Los hidrogeles semisólidos tienen fuertes interacciones adhesivas con fuerzas interfaciales (van der Waals, enlaces de hidrógeno y electrostáticas) y tejidos blandos.

Esta característica es de gran utilidad para la administración prolongada de medicamentos y para aplicaciones de dosis efectiva en el campo biomédico (13)

Debido a sus propiedades bioadhesivas, estos hidrogeles se pueden denominar como hidrogeles bioadhesivos o muco-adhesivos. Este tipo de hidrogeles se preparan con dos tipos de materiales, al menos un material debe poseer naturaleza biológica (policarbófilo, carbopol, hidroxipropilcelulosa y poli (Nvinil pirrolidona) (PVP) (13) (14)) y los materiales poliméricos seleccionados debe ser de alto peso molecular  $\geq 100$ , lo que mejora la absorción y desabsorción, grado de reticulación y la flexibilidad de los hidrogeles para aplicaciones biomédicas.

### **1.2.3 Hidrogeles líquidos**

A temperatura ambiente, son líquidos en fase, pero a una temperatura específica, tienen una fase elástica similar a la de los tejidos blandos con buena funcionalidad (15) (16). Esta propiedad puede tener funciones claves en las futuras aplicaciones biomédicas (16) (17). Los hidrogeles líquidos son muy atractivos por tener una inigualable biocompatibilidad, funcionalidad y facilidad de síntesis, además por tener la capacidad de autoajustar su red (tamaño de los poros) en función de las condiciones ambientales (15). Las principales ventajas de este hidrogel líquido son la capacidad de incorporar fácilmente sustancias orgánicas, inorgánicas, medicamentos y proteínas, además sin necesidad de procedimientos quirúrgicos, puede ser inyectable en los sistemas vivos, utilizando la vía de inyección a los sitios objetivo, ya que tiene propiedades altamente hidrofílicas (15) .

## **2. Propiedades de los hidrogeles**

Los hidrogeles se utilizan en muchos campos de la industria biomédica, como la administración terapéutica (18), lentes intraoculares, lentes de contacto y prótesis corneales en oftalmología (19), cementos óseos para ortopedia (20), vendaje para heridas (21), andamios de tejido 3D en Medicina regenerativa (22), etc., debido a sus excelentes propiedades como la biocompatibilidad, la absorción de agua y el rendimiento mecánico adecuado, entre otros (23). Muchos de estos hidrogeles han sido aprobados por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) para diversas aplicaciones y actualmente se producen de forma masiva.

### **2.1 Propiedades mecánicas**

Las propiedades mecánicas de los hidrogeles son muy importantes desde el punto de vista farmacéutico y biomédico. La evaluación de las propiedades mecánicas es esencial en diversas aplicaciones, de tal manera que pueden tener gran resistencia mecánica (24) según el método con el que se obtengan. Las propiedades mecánicas de los hidrogeles deben ser tales que puede mantener su textura física durante la entrega de las variedades terapéuticas para el período de tiempo predeterminado. Mediante el cambio del grado de reticulación de la red polimérica se podría establecer un cambio en la estructura mecánica. Aumentando el grado de reticulación se puede lograr un hidrogel más fuerte, aunque el mayor grado de reticulación disminuye el % de elongación de los hidrogeles y crea una estructura más quebradiza. Por lo tanto, existe un grado óptimo de reticulación para lograr un hidrogel relativamente fuerte y elástico (25).



## **2.2 Propiedades de expansión**

La capacidad de absorción de agua, determinada por el estado de equilibrio hinchado, se debe al balance que ocurre entre las fuerzas osmóticas, debidas al agua que entra en la red, y las fuerzas que ejercen las cadenas poliméricas en oposición a esa expansión (26). El proceso de obtención del hidrogel determina la capacidad de hinchamiento que este tendrá, dado que los espacios que se establezcan entre las redes poliméricas flexibles que se formen en dicho proceso determinará la cantidad de agua que el hidrogel pueda albergar (27). Esta flexibilidad a su vez se ha mostrado que es función de: el peso molecular, el grado de pureza del polímero y de su concentración en solución acuosa (28), además de factores propios del método físico o químico de síntesis (28).

Todas las consideraciones anteriores determinan las propiedades físicas y químicas del hidrogel resultante y deben ser tenidas en cuenta en el diseño, la síntesis y la aplicación de los sistemas poliméricos mediante liberación de sustancias activas. Es importante tener en cuenta estos aspectos para impulsar otras aplicaciones de esta nueva generación de biomateriales (29).

## **2.3 Propiedades de biocompatibilidad**

Los hidrogeles son materiales muy apropiados para aplicaciones en medicina dada su buena interacción con los tejidos vivos (30), ya que por un lado muestran buenas propiedades de biocompatibilidad, debido a su consistencia blanda, elástica y contenido de agua (31). Por otro lado, son materiales inertes por lo que las células y proteínas no tienden a pegarse a su superficie (32). Además, su característica de hinchamiento en medio líquido les aporta la propiedad de absorber, retener y liberar bajo condiciones controladas, algunas soluciones orgánicas (26).

#### **2.4 Actividad antimicrobiana**

Los hidrogeles son una forma de materiales porosos 3D, que consisten en cadenas de polímeros con reticulación física o química (33) (34). Los hidrogeles se han estudiado ampliamente como un material alternativo para aplicaciones antibacterianas. Al seleccionar cuidadosamente los monómeros y los reticulantes, las capacidades deseadas de los hidrogeles, como la hidrofiliidad y la porosidad, pueden desarrollarse para aplicaciones antibacterianas. Además, algunos tipos de hidrogeles también tienen una propiedad antibacteriana inherente.

Para el tratamiento de infecciones microbianas, es crucial que los geles liberen componentes antimicrobianos para ingresar a las células inmunitarias y matar a los microbios patógenos desde el interior. Los hidrogeles cargados con antibióticos, nanopartículas metálicas, polímeros antimicrobianos y péptidos pueden liberar los agentes antimicrobianos de manera sostenida, lo cual es importante para tratar las infecciones de manera efectiva y prevenir la formación de biopelículas.

### 3. Liberación controlada de drogas

La administración convencional de medicamentos a menudo requiere altas dosis o una administración repetida para estimular un efecto terapéutico, que puede disminuir la eficacia general y el cumplimiento del paciente, y provocar efectos secundarios graves e incluso toxicidad (35) (36).



**Figura. 1.** Comparación entre un tratamiento convencional de dosis sucesivas con un sistema ideal de dosificación controlada (37).

Los hidrogeles pueden proporcionar control espacial y temporal sobre la liberación de diversos agentes terapéuticos, incluidos los fármacos de molécula pequeña, los fármacos macromoleculares y las células. Debido a sus propiedades físicas ajustables, la degradabilidad controlable y la capacidad para proteger los fármacos lábiles de la degradación, los hidrogeles sirven como una plataforma en la que varias interacciones fisicoquímicas con los fármacos encapsulados controlan su liberación.

La cinética de hinchamiento y la velocidad de liberación dependen del grado de hinchamiento de la matriz. La matriz está constituida por los sistemas poliméricos a base de polímeros hidrófilos reticulados con monómeros acrílicos o, alternativamente, para los copolímeros biocompatibles de monómeros hidrófilos e hidrófobos con la composición apropiada para controlar la velocidad de liberación del fármaco (38).

#### **4. Ampicilina**

La ampicilina, una penicilina de espectro extendido, es eficaz contra microorganismos gram positivos y gram negativos. Además, al ser resistente a los ácidos, se puede administrar por vía oral. Se ha utilizado en el tratamiento de la fiebre entérica, infecciones del tracto respiratorio, infecciones del tracto urinario, infecciones de la piel y tejidos blandos (39).

La ampicilina también se ha usado en combinación con otros antimicrobianos (aminoglucósidos, inhibidor de la  $\beta$ -lactamasa) para mejorar su eficacia, extender la cobertura antimicrobiana y reducir el desarrollo de resistencia a los medicamentos. Estas combinaciones son útiles en el tratamiento empírico de una amplia gama de infecciones complicadas, incluidas las infecciones aeróbicas, anaeróbicas y mixtas (40).

Sin embargo, después del uso clínico generalizado, los patógenos han adquirido resistencia a la ampicilina. Los antibióticos  $\beta$ -lactámicos se unen a las proteínas de unión a la penicilina (PBP) de las bacterias susceptibles. Después de que un antibiótico  $\beta$ -lactama se haya unido a la PBP, se inhibe la reacción de transpeptidación, se bloquea la síntesis de peptidoglicanos y la célula muere. Los patógenos pueden desarrollar resistencia a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos modificando uno de estos pasos. Varios mecanismos de resistencia a la  $\beta$ -lactama son el acceso reducido a las PBP, la afinidad reducida de unión a la PBP y la destrucción del antibiótico a través de la expresión de la  $\beta$ -lactamasa (40).

## IV. OBJETIVOS

### 1. Objetivo general

Síntesis y evaluación antibacteriana de hidrogel con propiedades de “slow release” de ampicilina frente a cepas de *Escherichia coli*.

### 2. Objetivos específicos

- Sintetizar y caracterizar la formulación de hidrogel basado en poli (vinil alcohol) y crosslinkers determinados.
- Evaluar la capacidad de “*slow release*” *in vitro* de ampicilina desde las formulaciones preparadas.
- Evaluar la actividad antibacteriana frente a cepas de *Escherichia coli*, de las formulaciones preparadas

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. Materiales y síntesis del hidrogel HPAS20

Poli(vinil alcohol) (PVA) de 30-60 kDa fue adquirido desde Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, USA). Ácido clorhídrico (HCl) 37% y ácido succínico (AS)  $M_w = 118,09$  g/mol p.a. fueron adquiridos desde Merck (Darmstadt, Alemania).

El hidrogel se sintetizó mediante esterificación del PVA con AS, según lo descrito por Valdes et al. (41). Una solución acuosa de PVA se mezcló con AS en presencia de HCl, de forma que la concentración final del AS fue del 20%, quedando la concentración de PVA en la razón 10:2 respecto de éste (HPAS20). La reacción se llevó a cabo en un balón de vidrio durante 3 horas en agitación constante a 90 – 100°C en reflujo. Posteriormente el contenido fue vertido en un vaso precipitado de 5 mL y llevado a la estufa a 70°C durante 6 horas para permitir su deshidratación y su mayor entrecruzamiento.

### 2. Preparación del hidrogel

Los hidrogeles secos (20 mm aprox. de diámetro) fueron depositados en frascos con solución tampón acetato (pH 4), tampón fosfato salino (pH 7,4), a temperatura ambiente, según lo descrito por Maricán et al. (2018) (42).

La ampicilina (AMP) fue adquirida desde Sigma-Aldrich, a partir del estándar se preparó una solución de concentración 60 µg. El análisis de liberación del fármaco se llevó a cabo mediante la preparación de viales con 5 mL de solución buffer a pH 4 y 7,4. En los controles se usaron los tampones anteriormente mencionados además de cantidades estandarizadas de ampicilina para establecer la concentración a estudiar. Para el estudio de la matriz polimérica (HPAS20), previamente fue encapsulada la concentración estandarizada de ampicilina, mediante la carga de la solución antibiótica previo al proceso de deshidratación. Posteriormente el hidrogel fue vertido en las 2 soluciones buffer en condiciones previamente mencionadas.

Por lo tanto, todos los viales contenían 5 mL de solución tampón acetato (pH 4), y tampón fosfato salino (pH 7,4), en los controles se le añadió un volumen estándar de ampicilina de tal manera que cada vial contenga una concentración de 60 µg. En el estudio del hidrogel se añadió el hidrogel previamente encapsulado con la concentración de ampicilina de 60 µg.

Todos los viales fueron llevados a una medición en función del tiempo, de tal manera que al cabo del tiempo establecido se sacaba una alícuota de 1 mL y se reconstituía el vial con el mismo volumen y contenido sacado del medio. Se tomaron mediciones al tiempo 0.5, 1, 2, 6, 24, 48 y 72 horas. Todas las soluciones obtenidas en los diferentes tiempos fueron almacenadas en condiciones de refrigeración.

### **3. Estudio microbiológico**

Se utilizó una cepa estandarizada de *Escherichia coli* ATCC 25922. Para el estudio de difusión en agar se utilizó un MacFarland 0,5 y posteriormente se sembró en placas de medio de cultivo Müller-Hinton, las cuales fueron cargadas con 20 mL de medio de cultivo en condiciones estandarizadas, de tal manera que los estudios sean comparables y reproducibles. Los pocillos fueron realizados en condiciones de esterilidad posterior al sembrado de las placas, y cargados cada uno con 180 µl según corresponda. Para el estudio fotométrico de crecimiento bacteriano, se utilizaron tubos en caldo BHI con cepa de *E.coli* a 0,5 macfarland y cargadas con 100 µl de solución según corresponda.

Todos los cultivos bacterianos fueron incubados por 24 horas a una temperatura de 37°C en condiciones controladas usando la estufa Memmert modelo 600. En los tiempos establecidos fueron leídas las placas y medidos los tubos con caldo BHI mediante fotometría usando el espectrofotómetro Genesys 20 modelo 4001/4 de thermo spectronic.

### **4. Estudio de hinchazón**

El proceso de captación de agua se estimó mediante la relación de hinchazón de equilibrio (%ESR) en los intervalos de tiempo deseados.



Cada película de xerogel se sumergió en solución tampón fosfato salino (PBS) (pH 7,4) y solución tampón de acetato (pH 3,0) a 25 °C durante 21 h hasta que se alcanzó el equilibrio de hinchamiento. El peso de la muestra húmeda [ $W_w$  (g)] se midió después de eliminar cuidadosamente la humedad de la superficie con un papel absorbente. El peso de la muestra seca [ $W_d$  (g)] se determinó tras el proceso de liofilización del hidrogel. La ESR de las muestras de hidrogel se calculó de la siguiente manera:

$$ESR (\%) = \frac{W_w - W_d}{W_d} \times 100\%$$

Donde  $\%W$  es el grado de hinchazón, y  $W_S$  y  $W_D$  corresponden al peso del hidrogel en estado hinchado y seco, respectivamente (43).

## **5. Caracterización del hidrogel HPAS20**

### **5.1. Análisis de microscopía electrónica de barrido (SEM)**

Las muestras del hidrogel fueron seccionadas y puesta en soportes de cobre. Se aplicó una tinción de ácido fosfotúngstico 0,7% p/v y se procedió al secado de las muestras. Los hidrogeles se analizaron en un microscopio electrónico LVEM5 (DeLong Instruments, Brno, República Checa), a tensión nominal de 5 kV y en modo de microscopía electrónica de barrido (SEM), según lo desarrollado por Maricán et al (2018) (42).

## **5.2 Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).**

El espectro de reflexión del hidrogel HPA20 se obtuvo mediante un espectrómetro Nicolet Nexus 470 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA), en el rango espectral de  $4500 - 500 \text{ cm}^{-1}$ . Los espectros de las muestras se obtuvieron en matrices de KBr de un promedio de 32 mediciones con una resolución de  $4 \text{ cm}^{-1}$ .

## **5.3 Medición de la liberación de ampicilina por HPLC**

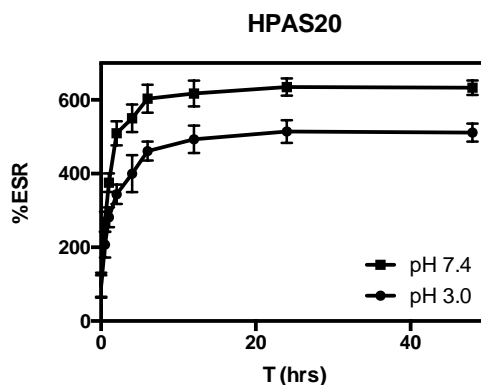
Se trabajó con el xerogel previamente encapsulado con ampicilina, además se utilizó tampón PBS como control negativo, de las cuales se extrajo alícuotas en el tiempo. El contenido de ampicilina de las alícuotas se midió por cromatografía líquida de alta presión (HPLC, del inglés *High Performance Liquid Chromatography*) con ayuda de un equipo Perkin Elmer 200 Series (Waltham, MA, USA), con bomba cuaternaria y autosampler, acoplado a un detector de UV-luz visible, utilizándose un estándar de ampicilina de 400 ppm. Se utilizó una columna Kromasil C18, 10 cm x 4,6 mm (AkzoNobel, Bohus, Suecia) a una temperatura de  $30^{\circ}\text{C}$  y acetonitrilo, agua, fosfato de potasio monobásico 1M en agua y ácido acético 1N en agua como fase móvil.

## VI. RESULTADOS

### 1. Estudio de hinchazón del hidrogel HPAS20

El experimento se llevó a cabo para analizar el grado de hinchamiento del HPAS20 a diferentes condiciones de pH (3 y 7.4) a temperatura ambiente.

La Figura 2 muestra el porcentaje de hinchazón del HPAS20, el que se incrementa a lo largo del tiempo. La cinética de medición indica que la hinchazón primero es rápida y después se torna más lenta, alcanzando un estado de equilibrio aproximadamente a las 20 horas de iniciado el experimento.



**Figura 2.** Índice de hinchazón del hidrogel HPAS20 a 2 distintos pH (3 y 7,4) en relación con el tiempo. Las barras indican desviación estándar.

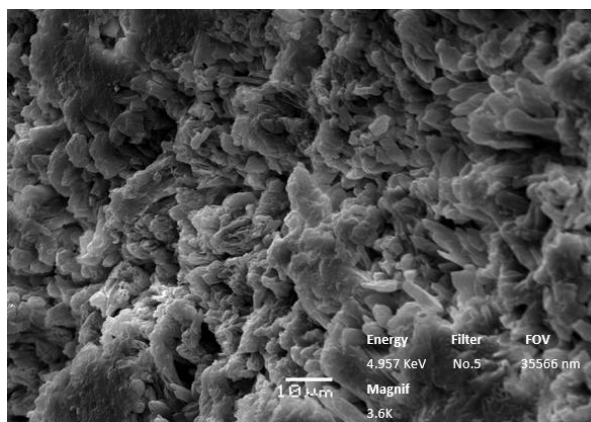
El proceso de hinchazón es dependiente de una serie de factores, como la propia naturaleza del polímero, el tamaño del poro, la concentración del agente entrecruzante,

pH y temperatura. En este sentido, en el pH 7,4 se logró la mayor hinchazón del hidrogel, a un tiempo mayor de 40 horas se evidenció  $620 \pm 5\%$  de su peso inicial. Este índice de hinchazón fue menor para el hidrogel a pH 3 ( $500 \pm 10\%$ ).

## **2. Análisis de microscopía electrónica de barrido (SEM)**

Las imágenes de microscopía electrónica se utilizaron para analizar con mayor exactitud la morfología del HPAS20 y el tamaño de los poros, que serían los mecanismos de entrada y salida de la estructura antibiótica. En la Figura 3 se observan las fotografías de microscopía obtenidas a partir de muestras de xerogel (hidrogel con 0% de solvente). Es posible observar una alta porosidad, con formas bien definidas que exhiben una cierta dispersión de estos mismos. La porosidad de la estructura se puede atribuir al proceso de reticulación del HPAS20, el tipo de estructura presentaría una buena permeabilidad, la cual podría tener un papel clave para promover la difusión del antibiótico a través de los poros.

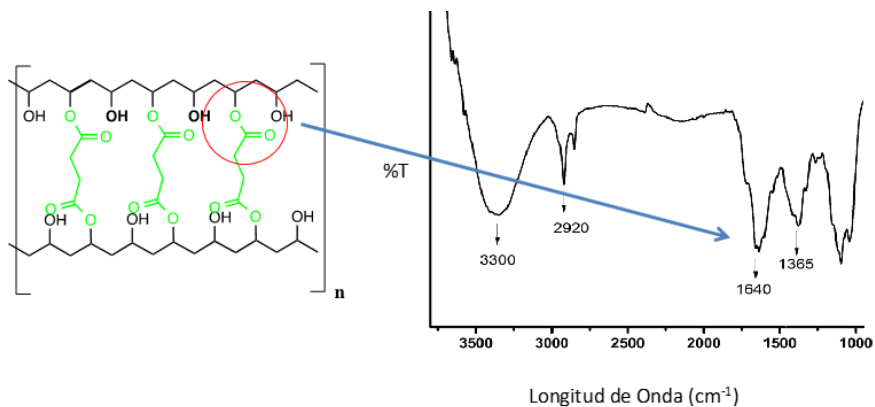
Debido a la concentración del entrecruzante, en las imágenes se puede observar un tamaño del poro relativamente uniforme aproximadamente de  $10\mu\text{m}$ . Se observa también la separación entre las distintas redes, cuya distensión también es fundamental para permitir la difusión del fármaco y su posterior liberación.



**Figura 3.** Imagen de microscopía electrónica de barrido, mostrando el entramado polimérico del HPAS20 liofilizado. Imagen con aumento 13000x. Barra = 10 $\mu$ m.

### **3. Análisis de espectrometría infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)**

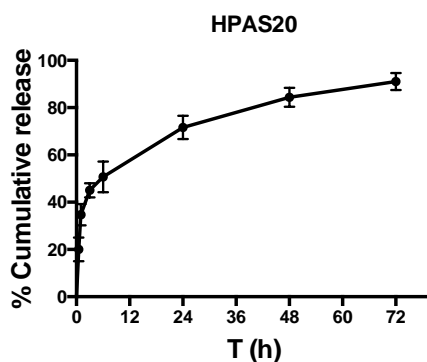
El espectro del HPAS20 muestra algunas señales atribuibles a la formación del hidrogel. La Figura 4 muestra el espectro de FT-IR con algunas señales características que demuestran la formación del hidrogel. Entre 3100 y 3700  $\text{cm}^{-1}$  existe una fuerte señal de vibración que puede atribuirse al alcohol de la cadena de PVA y al grado de hidratación del hidrogel. A 2920  $\text{cm}^{-1}$ , se observa una señal característica de los modos de estiramiento de los grupos alquilo ( $\text{R-CH}_2$ ) de la cadena de PVA. El entrecruzamiento entre PVA y ácido succínico se puede observar en la señal a 1640  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponde a los enlaces éster covalentes formados entre el alcohol de las cadenas de PVA y el o los ácidos carboxílicos del ácido succínico.



**Figura 4.** Espectro FTIR del hidrogel HPAS20. El entrecruzamiento entre PVA y ácido succínico se puede observar en la señal a  $1640\text{ cm}^{-1}$ .

#### 4. Medición de la liberación de ampicilina por HPLC

La liberación de ampicilina desde HPAS20 se midió de forma acumulativa mediante técnicas cromatográficas de HPLC. La Figura 5 muestra el perfil de liberación de ampicilina desde la matriz polimérica, a lo largo de 72 horas. La liberación en las primeras 6 horas evidencia un efecto ráfaga, es decir, primero de forma rápida y luego más lenta (liberación sostenida). Tal efecto puede ser debido a remanentes del fármaco que se encuentran en la superficie del hidrogel.



**Figura 5.** Perfil de liberación de ampicilina desde HPAS20 con relación al tiempo. Las barras indican desviación estándar.

## **5. Medio de difusión**

Los estudios se llevaron a cabo en solución tampón acetato (pH 4) y tampón fosfato salino (pH 7,4) como medios de difusión, de tal manera que en condiciones estandarizadas de estudio la liberación se presentó a un pH 4, en cambio, en el medio fosfato salino pH 7,4 no se liberó de forma esperada la droga encapsulada, es por ello que todos los estudios posteriores se llevaron a cabo en condiciones de tampón acetato pH 4.

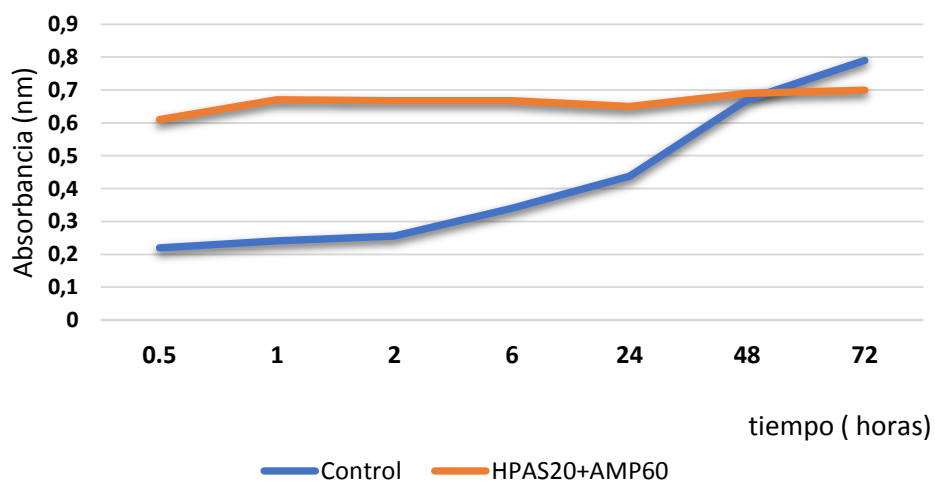
## **6. Liberación de ampicilina desde HPAS20**

El análisis de absorbancia hace referencia a una liberación controlada y prolongada durante el tiempo, de tal manera que los controles que están compuestos solo con buffer pH 4 y antibiótico presentan una escala de liberación descontrolada, la cual se evidencia por el aumento de la absorbancia durante el tiempo, esto se debe posiblemente a la carga antibiótica en los tiempos iniciales, la cual es mayor y por consecuencia genera una mayor inhibición bacteriana, reflejándose en los valores que presentan los controles durante el tiempo en la tabla 1. En cambio, en la matriz polimérica de PVA con ácido succínico, donde el antibiótico esta encapsulado, se presenta una liberación controlada durante los intervalos de tiempo, esto se evidencia en las absorbancias que se mantienen relativamente constantes durante las mediciones, es por ello que la presencia del hidrogel (HPAS20) y el antibiótico a una concentración de 60 µg (AMP60), genera una inhibición parcial pero constante durante el tiempo.

**Tabla 1.** Absorbancia a 625 nm en diferentes tiempos con una concentración de 60 µg de ampicilina a pH 4.

Tiempo (hrs)	Control	HPAS20+AMP60
0,5	0,22	0,61
1	0,241	0,67
2	0,256	0,667
6	0,34	0,667
24	0,438	0,65
48	0,67	0,69
72	0,79	0,7

Se puede evidenciar de forma gráfica que la inhibición bacteriana, reflejada en una disminución de la absorbancia, va disminuyendo en los controles, en cambio, la presencia HPAS20 + AMP60 presenta una inhibición parcial pero constante durante el transcurso del tiempo, esto hace énfasis a la importancia que presenta la estructura polimérica en la liberación del antibiótico al medio, la cual es relativamente constante.



**Figura 6.** Absorbancia a 625 nm con diferentes tiempos a una concentración de 60 µg de ampicilina a pH 4.

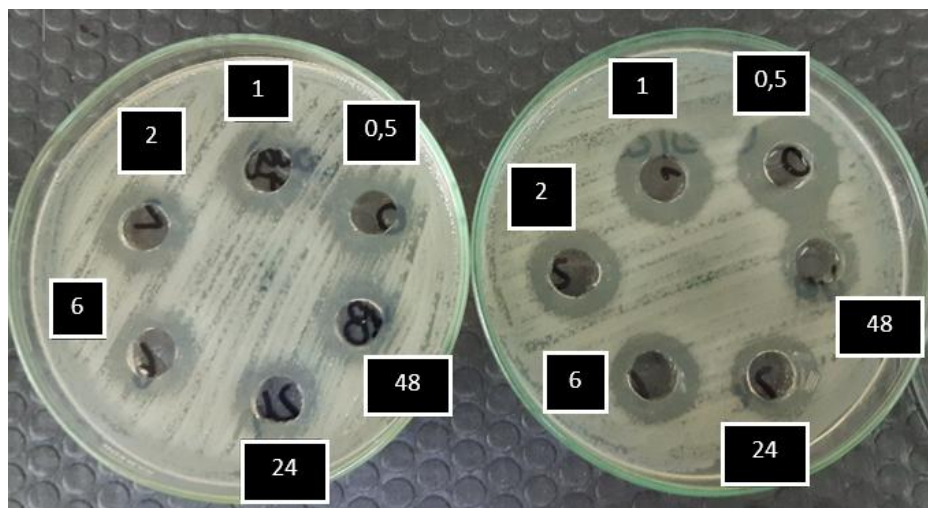


La inhibición bacteriana se puede ver en las placas mediante el método de difusión en agar, la cual se refleja en los tamaños de los halos presentados en la cepa de *E. coli* en estudio. Los controles a los diferentes tiempos mantienen una tendencia a la disminución de los halos de inhibición bacteriana, tomando en consideración la primera medición y la última, estos presentan una diferencia de casi el doble, la cual hacen referencia a una inhibición inicial mayor en comparación a la última medición. Los halos medidos en los pocillos que presentan la solución a diferentes tiempos, usando la matriz polimérica como medio de difusión del antibiótico, presentan una tendencia inhibitoria casi constante durante el tiempo, esto se correlaciona a las mediciones previas de absorbancia.

**Tabla 2.** Medición de los halos de inhibición en mm.

Tiempo (hrs)	Control	HPAS20+AMP60
0,5	<b>20</b>	<b>16</b>
1	<b>18</b>	<b>16</b>
2	<b>17</b>	<b>16</b>
6	<b>16</b>	<b>15</b>
24	<b>15</b>	<b>16</b>
48	<b>12</b>	<b>15</b>

En la figura 7 se pueden observar las zonas de inhibición que presentan cada pocillo cargados con las soluciones respectivas, los controles presentan halos de inhibición bacteriana con tendencia escalar en comparación a el antibiótico encapsulado al hidrogel, esto refleja halos sugerentes de una muerte bacteriana mas prolongada y constante en el tiempo.



**Figura 7.** Método de difusión en agar, pocillo a diferentes tiempos 0,5, 1, 2, 6, 24, y 48 horas. A una concentración de 60  $\mu\text{g}$  de ampicilina. A la izquierda el hidrogel más la ampicilina encapsulada (HPAS20 + AMP60) y a la derecha los controles.

## VII. DISCUSIÓN

La utilización de ácido succínico como entrecruzante para la generación de un hidrogel en base a PVA proporciona un medio de difusión óptimo para la liberación de forma controlada de la estructura encapsulada en la red polimérica, esta es capaz de absorber la solución en estudio, incrementar su tamaño y al mismo tiempo proporcionar las condiciones propicias para una liberación controlada de la droga, de tal manera que las condiciones del medio son importantes para eficiente difusión. El estímulo del pH condiciona de forma importante en la liberación de la estructura encapsulada en el hidrogel, mediante el uso de PVA, el cual es uno de los polímeros sintéticos más utilizados por sus propiedades favorables como la no toxicidad, biocompatibilidad y capacidad de formación de película (44).

Como polímero sintético, el PVA ha centrado el interés de los científicos en diversas áreas como la ingeniería, la química y la medicina. En usos médicos, las propiedades tales como una alta capacidad de absorción de agua, resistencia química, propiedades físicas, biocompatibilidad y biodegradabilidad favorecen su uso (45) (46). A pesar de las propiedades notables que demuestran los polímeros, el refuerzo de tales propiedades mediante la adición de un antibiótico podría considerarse como un enfoque interesante para tratar infecciones bacterias.

Hoy en día, la resistencia a los antibióticos se considera una respuesta específica de las bacterias a una lesión causada por los antibióticos, lo que significa que no se puede evitar por completo incluso si creamos un nuevo agente antibiótico (47). El aumento de las tasas de resistencia a los antibióticos, las alergias a los medicamentos y la escasez de antibióticos complican aún más la elección de los agentes antibacterianos (48). Los problemas a los que se enfrentaban los agentes antimicrobianos tradicionales incluyen resistencia a los medicamentos, sobredosis y citotoxicidad. La rápida aparición de resistencia a los antibióticos en microbios patógenos se está convirtiendo en un problema de salud pública mundial inminente (49). Estos problemas requieren con urgencia un sistema de administración de liberación de fármacos eficiente y seguro, que pueda retrasar la liberación de agentes antimicrobianos tóxicos y reducir el riesgo de resistencia bacteriana a los medicamentos.

La administración convencional de medicamentos a menudo requiere altas dosis o una administración repetida para estimular un efecto terapéutico, que puede disminuir la eficacia general y el cumplimiento del paciente, y provocar efectos secundarios graves e incluso toxicidad (50) (51). Uno de los métodos para reducir o prevenir infecciones es el desarrollo de sistemas antibióticos-polímeros (52).

Se necesita un nuevo sistema de administración de medicamentos con capacidad de absorción y rendimiento de liberación retardada. Los hidrogeles son un tipo particularmente atractivo de sistema de administración de fármacos, están compuestos por una gran cantidad de agua y una red de polímeros reticulados. El alto contenido de agua (típicamente 70-99%) proporciona una similitud física con los tejidos, y puede dar a los hidrogeles una excelente biocompatibilidad y la capacidad de encapsular fácilmente medicamentos hidrofílicos.

El uso de PVA como polímero sintético, además de la generación de un agente entrecruzante estable como el ácido succínico, proporciona una matriz polimérica que proporciona las condiciones de liberación de fármacos de forma controlada en el tiempo, de tal manera que su uso para fines terapéuticos podría favorecer a la disminución de la resistencia bacteriana y promover un enfoque terapéutico más conveniente, disminuyendo la carga antibiótica la cual puede alcanzar niveles máximos y producir efectos adversos en los pacientes. La utilización de HPAS20 junto a AMP podría ayudar a focalizar las terapias y disminuir el contacto directo de la droga junto al agente microbiano, de tal manera que los mecanismos adaptativos de resistencia a los antimicrobianos se verían afectadas en el tiempo. El agente antibacteriano se puede usar a una dosis más baja que cuando se administra de forma sistémica, superando así el problema de la resistencia y disminuyendo en cierta medida otros efectos secundarios indeseables (53). Por lo tanto, se ha propuesto que la difusión continua y controlada tiene una ventaja clínica contra la resistencia a los antibióticos en comparación a las dosis intermitentes de antimicrobianos dependientes del tiempo (54) (55).

## VIII. CONCLUSIÓN

Con el método de entrecruzamiento químico fue posible sintetizar un hidrogel basado en PVA utilizando ácido succínico como agente entrecruzante. El hidrogel sintetizado fue caracterizado por SEM, FTIR, y grado de hinchamiento.

La capacidad de hinchazón del HPAS20 fue evaluada. El hidrogel es capaz de hincharse hasta un 620% de su tamaño, debido a la naturaleza de su composición, por lo que es capaz de incorporar grandes cantidades de fluidos o drogas, lo que permitiría una actividad terapéutica prolongada a lo largo del tiempo. La dependencia del pH en el proceso de hinchazón dejó en evidencia la naturaleza fuertemente hidrofílica del ácido succínico como entrecruzante, lo que puede influir en el proceso de incorporación de drogas.

Las imágenes de microscopía electrónica evidenciaron la morfología del HPAS20. En este contexto, fue posible observar la porosidad del hidrogel, que es la característica clave para los procesos de encapsulación y liberación de agentes terapéuticos.

El proceso de liberación controlada dio como resultado un fenómeno de prolongado en el tiempo, la cual podría favorecer en la realización de terapias antibióticas más eficaces y con menos grado de exposición a la resistencia bacteriana.

Tomando en cuenta las propiedades mecánicas controlables y sensibles a estímulos externos como pH de la formulación desarrollada, es posible su utilización en sistemas de liberación controlada, que contribuyan a mejorar la biodisponibilidad a una concentración estable dentro de un rango terapéutico del fármaco con el objetivo de disminuir posibles efectos adversos comparado con los tratamientos convencionales.

## IX. REFERENCIAS

1. L. Ambrasio, R. De Santis y col., Proc. Instn. Mech. Engrs., 6, 212 (1998)
2. Chacón Vera, C. (2012). Síntesis de hidrogeles interpenetrados en base a acrilamida para la recuperación de metales en agua (Tesis de maestría). Universidad Simón Bolívar
3. Nita L.E., N. M. (2012). Cross-Linking Structural Effect of Hydrogel Based on 2- Hydroxyethyl Methacrylate. *Industrial & Engineering Chemistry Research* (51), 7769–7776.
4. Soto D., O. H. (2012). Métodos para preparar hidrogeles químicos y físicos basados en almidón: una revisión. *LatinAm. Metal. Mat.*, 32(2), 154-175.
5. B.V. Slaughter, S.S. Khurshid, O.Z. Fisher, A. Khademhosseini, N.A. Peppas, *Hydrogels in regenerative medicine*, *Adv. Mater.* 21 (2009) 3307–3329.
6. H.J. Chung, T.G. Park, Self-assembled and nanostructured hydrogels for drug delivery and tissue engineering, *Nano Today* 4 (2009) 429–437.
7. S. Chaterji, I.K. Kwon, K. Park, Smart polymeric gels: redefining the limits of biomedical devices, *Prog. Polym. Sci.* 32 (2007) 1083–1122.
8. E.Ye, P.L. Chee, A. Prasad, X. Fang, C. Owh, V.J.J. Yeo, X.J. Loh, *Supramolecular soft biomaterials for biomedical applications*, *In-Situ Gelling Polym*, Springer 2015, pp. 107–125.
9. R. Dong, Y. Pang, Y. Su, X. Zhu, *Supramolecular hydrogels: synthesis, properties and their biomedical applications*, *Biomater. Sci.* 3 (2015) 937–954.
10. B.V. Slaughter, S.S. Khurshid, O.Z. Fisher, A. Khademhosseini, N.A. Peppas, *Hydrogels in regenerative medicine*, *Adv. Mater.* 21 (2009) 3307–3329.
11. O.Z. Fisher, A. Khademhosseini, R. Langer, N.A. Peppas, *Bioinspired materials for controlling stem cell fate*, *Acc. Chem. Res.* 43 (2009) 419–428.

12. A.M. Lowman, Peppas, Hydrogels, Encyclopedia of Controlled Drug Delivery, Vol. 1, 1999.
13. E.I. Nep, B.R. Conway, Grewia gum 2: mucoadhesive properties of compacts and gels, *Trop. J. Pharm. Res.* 10 (2011) 393–401.
14. E. Bilensoy, Y. Çırpanlı, M. Şen, A.L. Doğan, S. Çalış, Thermosensitive mucoadhesive gel formulation loaded with 5-Fu: cyclodextrin complex for HPV-induced cervical cancer, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 57 (2007) 363–370.
15. S.S. Liow, Q. Dou, D. Kai, A.A. Karim, K. Zhang, F. Xu, X.J. Loh, Thermogels: in situ gelling biomaterial, *ACS Biomater. Sci. Eng.* 2 (2016) 295–316.
16. Q.Q. Dou, S.S. Liow, E. Ye, R. Lakshminarayanan, X.J. Loh, Biodegradable thermogelling polymers: working towards clinical applications, *Adv. Healthc. Mater.* 3 (2014) 977–988.
17. J.Y. Zheng, M.J. Tan, P. Thoniyot, X.J. Loh, Unusual thermogelling behaviour of poly[2-(dimethylamino)ethyl methacrylate] (PDMAEMA)-based polymers polymerized in bulk, *RSC Adv.* 5 (2015) 62314–62318.
18. Buwalda SJ, Vermonden T, Hennink WE. Hydrogels for therapeutic delivery: Current developments and future directions. *Biomacromolecules.* 2017;18(2):316-330
19. Chirila T, Harkin D. Biomaterials and Regenerative Medicine in Ophthalmology. 2nd ed. Sawston, Cambridge: Elsevier; 2016
20. Shalaby S, Nagatomi S, Peniston S. Polymeric Biomaterials for Articulating Joint Repair and Total Joint Replacement. *Polymers for Dental and Orthopedic Applications.* Boca Raton: CRC Press; 2007
21. Kamoun EA, Kenawy E-RS, Chen X. A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings. *Journal of Advanced Research.* 2017;8(3):217-233
22. Van Blitterswijk C. De Boer J, Tissue Engineering. London: Academic Press; 2014



23. Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, Lemons JE. Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine. Canada: Academic Press; 2012
24. De Queiroz A., Passos D., De Brito Alves, Sdnei., Silva, Gerard S., Higa, Olga Z., Vitolo, Michele. Alginate-Poly(vinyl alcohol) core-shell microspheres for lipase immobilization. Brasil. 2005. Wiley InterScience.
25. Grassi M, Sandolo C, Perin D, Coviello T, Lapsin R, Grassi G. Structural characterization of calcium alginate matrices by means of mechanical and release tests. *Molecules* 2009; 14: 3003-3017.
26. Katime D., Katime O., Katime I.A. Los materiales inteligentes de este milenio: los hidrogeles macromoleculares. Síntesis, propiedades y aplicaciones. Servicio editorial de la Universidad del país Vasco. 2004. Capítulos 1; 7, 15-20, 121-228.
27. Peppas N.A. Gels for drug delivery. *Encyclopedia of Materials: Science and Technology*. Amsterdam. Elsevier. 2001.
28. Lozinski V.I., Plieva F.M. Poly(vinyl alcohol) cryogels employed as matrices for cell immobilization. 3. Overview of recent research and developments. *Enzyme and microbial technology*, 23, 227-242, 1998.
29. Peppas N.A., Hilt J.Z., Khademhosseini A., Langer R. Hydrogels in Biology and Medicine: From Molecular principles to bionanotechnology. *Adv. Materials*. 18, 1345-1360, 2006.
30. Kost J., Lapidot S.A. *Handbook of pharmaceutical controlled release technology*, 2000.
31. Ratner B.D., Hoffman A.S. Synthetic hydrogels for biomedical applications. *Hydrogels for medical and related applications*, ACS Symp. 31, 1-35, 1976.
32. Pérez I.P. Sistemas poliméricos inteligentes con entrecruzamiento biodegradable. Tesis de grado, Instituto de ciencia y tecnología de polímeros, Universidad Complutense de Madrid, 2006
33. Liu L., Feng X., Pei Y., Wang J., Ding J., *Mater. Sci. Eng., C* 2018, 82, 25.

34. Zheng Y., Cheng Y., Chen J., Ding J., Li M., Li C., Wang J. C., Chen X., ACS Appl. Mater. Interfaces 2017, 9, 3487.
35. Hoare TR, Kohane DS. Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. Polymer. 2008;49:1993–2007
36. Liechty WB, Kryscio DR, Slaughter BV, Peppas NA. Polymers for drug delivery systems. Ann Rev Chem Biomol Eng. 2010;1:149–173.
37. Pérez I.P. Sistemas poliméricos inteligentes con entrecruzamiento biodegradable. Tesis de grado, Instituto de ciencia y tecnología de polímeros, Universidad Complutense de Madrid, 2006.
38. García O., B. M. (2000). 5-Fluorouracil trapping in poly(2-hydroxyethyl methacrylate-co- acrylamide) hydrogels: in vitro drug delivery studies. European Polymer Journal, 36, 111-122.
39. Finch RG, Greenwood D, Norrby SR, Whitley RJ. Antibiotic and Chemotherapy: Anti-infective agents and their use in therapy. 8th edition. Edinburg London: Churchill Livingstone; 2003.
40. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. Basic & Clinical Pharmacology. 12th ed. New Delhi: Tata McGraw Hill Education Private Limited; 2012.
41. Valdés O, Ávila- Salas F, Marican A, Fuentealba N, Villaseñor J, Arenas- Salinas M, et al. Methamidophos removal from aqueous solutions using a super adsorbent based on crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogel. Journal of Applied Polymer Science. 2017;135(11):45964.
42. Marican A, Avila-Salas F, Valdés O, Wehinger S, Villaseñor J, Fuentealba N, et al. Rational Design, Synthesis and Evaluation of  $\gamma$ -CD-Containing Cross-Linked Polyvinyl Alcohol Hydrogel as a Prednisone Delivery Platform. Pharmaceutics. 2018;10(1).
43. Shalviri A, Liu Q, Abdekhodaie MJ, Wu XY. Novel modified starch–xanthan gum hydrogels for controlled drug delivery: Synthesis and characterization. Carbohydrate Polymers. 2010;79(4):898-907.

44. Gupta, B.; Agarwal, R.; Sarwar Alam, M. J. Appl. Polym. Sci. 2013, 127, 1301.
45. Kaczmarek, H .; Podgórski, A. El efecto de la radiación UV en compuestos de poli (alcohol vinílico). Un chem. 2007 , 191 , 209–215.
46. Ding, B .; Kim, H.-Y .; Lee, S.-C .; Lee, D.-R .; Choi, K.-J. Preparación y caracterización de fibras de poli (alcohol vinílico) a nanoescala mediante electrospinning. Fibras Polym. 2002 , 3 , 73–79.
47. Martinez JL, Rojo F. Metabolic regulation of antibiotic resistance. FEMS Microbiol Rev. 2011;35(5):768–789.
48. Mazer-Amirshahi M, Pourmand A, May L. Newly approved antibiotics and antibiotics reserved for resistant infections: implications for emergency medicine. Am J Emerg Med. 2017;35(1):154–158.
49. Ng VW, Chan JM, Sardon H, et al. Antimicrobial hydrogels: a new weapon in the arsenal against multidrug-resistant infections. Adv Drug Rev. 2014;78:46–62.
50. Langer R. Drug delivery and targeting. Nature. 1998;392:5–10.
51. Liechty WB, Kryscio DR, Slaughter BV, Peppas NA. Polymers for drug delivery systems. Ann Rev Chem Biomol Eng. 2010;1:149–173.
52. Merchan, M .; Sedlarikova, J .; Sedlarik, V .; Machovsky, M .; Svobodová, J .; Sába, P. Antibacterial policloruro de vinilo / películas de antibióticos: el efecto del disolvente en la morfología, la actividad antibacteriana y la cinética de liberación. J. Appl. Polym Sci. 2010 , 118 , 2369–2378.
53. Hemeg HA. Nanomaterials for alternative antibacterial therapy. Int J Nanomedicine. 2017;12:8211–8225.
54. Roberts, J. A., Lipman, J., Blot, S. & Rello, J. Better outcomes through continuous infusion of time-dependent antibiotics to critically ill patients? Curr. Opin. Crit. Care 14, 390–396 (2008).
55. Roberts, J. A., Paratz, J., Paratz, E., Krueger, W. A. & Lipman, J. Continuous infusion of beta-lactam antibiotics in severe infections: a review of its role. Int. J. Antimicrob. Agents 30, 11–18 (2007).