

UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS PUEBLA

ESCUELA DE INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE MECATRÓNICA, SISTEMAS, ROBÓTICA Y  
BIOMÉDICA

**UDLAP**®

**Desarrollo y caracterización de un hidrogel termosensible para la liberación de vitamina C a partir de un sistema submicrónico de dióxido de silicio con potencial aplicación en la regeneración cutánea**

TESIS QUE, PARA COMPLETAR LOS REQUISITOS DEL PROGRAMA DE HONORES PRESENTA LA ESTUDIANTE

DENISE MORALES ESPINOSA

163730

DIRECTOR

DR. SERGIO ALBERTO BERNAL  
CHÁVEZ

SAN ANDRÉS CHOLULA, PUEBLA.

PRIMAVERA, 2023

DIRECTOR DE TESIS



---

DR. SERGIO ALBERTO BERNAL  
CHÁVEZ

PRESIDENTE DE TESIS



---

DR. RICARDO NAVARRO  
AMADOR

SECRETARIO DE TESIS



---

DR. JORGE RODRÍGUEZ  
ASOMOZA

## Índice

1.Agradecimientos.....	4
2.Lista de abreviaturas.....	4
3.Lista de figuras .....	5
4. Lista de tablas.....	7
5.Resumen.....	8
6.Introducción.....	9
7.Justificación.....	10
8.Objetivo general y específicos.....	12
9.Marco Teórico.....	13
9.1 Regeneración cutánea .....	13
9.1.1 Heridas crónicas.....	15
9.2 Vitamina C .....	19
9.2.1 Vitamina C y la piel.....	20
9.2.3 Propiedades químicas de la VC .....	20
9.2.4 Ventajas y desventajas comparando con otras vitaminas.....	21
9.2.5 Intervención en la cicatrización de heridas.....	22
9.2.6 Mecanismo de absorción de la VC .....	23
9.2.7 Estabilización de la VC .....	24
9.3 Nanopartículas .....	25
9.3.1 Clasificación de las Nanopartículas .....	26
9.3.1.1 Nanopartículas Orgánicas .....	26
9.3.1.2 Nanopartículas Inorgánicas .....	27
9.3.1.3 Nanopartículas metálicas.....	28
9.3.1.4 Nanopartículas a base de óxidos metálicos .....	28
9.3.2 Dióxido de Silicio .....	29
9.3.2.1 Propiedades antimicrobianas .....	31

	3
9.3.2.2 Biocompatibilidad y toxicidad .....	32
9.3.2.3 Aplicaciones .....	32
9.4 Hidrogeles .....	35
9.4.1 Características de un hidrogel .....	35
9.4.2 Tipos de hidrogeles.....	38
9.4.3 Poloxámero 407.....	39
9.4.4 Caracterización del hidrogel.....	40
10. Metodología	
10.1 Preparación del Hidrogel .....	41
10.2 Comportamiento termosensible del Hidrogel.....	44
10.3 Incorporación de la VC .....	46
10.4 Técnicas de Caracterización .....	47
10.4.1 Transición sol – gel .....	48
10.4.2 Análisis espectroscópico infrarrojo (FTIR) .....	48
10.4.3 Microscopía electrónica de barrido (SEM).....	49
10.4.4 Prueba de dispersión .....	49
11. Resultados y discusión .....	49
11.1 Absorbancia la Vitamina C.....	54
11.2 Eficiencia de encapsulación y carga de la VC en las NPs SiO2 .....	55
11.3 Microscopía electrónica de barrido SEM .....	56
11.4 Análisis por espectroscopía infrarroja/ transformadas de Fourier (FTIR) .....	58
11.5 Temperatura transición sol-gel .....	59
11.6 Prueba de dispersión del HG.....	61
12. Conclusiones y recomendaciones.....	63
13. Perspectivas.....	64
14. Bibliografía .....	68

## 1. Agradecimientos

En primera instancia, quisiera expresar mi más sincero agradecimiento a mi director de tesis, el Dr. Sergio Alberto Bernal Chávez, por su guía, apoyo y paciencia durante todo el proceso de investigación. Con sus conocimientos, experiencia y sabiduría fue posible la realización de este trabajo. De igual forma, quiero agradecer a mi familia y amigos por su apoyo y motivación para alcanzar esta meta académica. Gracias por hacer de este proceso una experiencia enriquecedora e inolvidable.

## 2. Lista de abreviaturas

EC.....	Eficiencia de Carga
ECM.....	Matriz extracelular
EE.....	Eficiencia de Encapsulación
FTIR/ATR.....	Espectroscopia de Infrarrojo por transformadas de Fourier/Reflectancia Total Atenuada
HG.....	Hidrogel
HG B.....	Hidrogel Base
HG + NPs.....	Hidrogel con Nanopartículas de Dióxido de Silicio
HGs.....	Hidrogel
HG VC.....	Hidrogel con Vitamina C encapsulada en Nanopartículas
NPs.....	Nanopartículas
NPs $SiO_2$ .....	Nanopartículas de Dióxido de Silicio
ROS.....	Especies Reactivas del Oxígeno
SEM.....	Microscopía Electrónica de Barrido

$SiO_2$ .....Dióxido de Silicio

VE.....Vitamina E

VC.....Vitamina C

### 3. Lista de figuras

Figura 1. Fases de la maduración de una herida. Imagen tomada y modificada de (Burn wound healing: Pathophysiology and current management of burn injury, 2017)

Figura 2. Alternativas innovadoras para la sanación de heridas en la actualidad.

Figura 3. Estructura de la VC tomada de (Valdés, 2006).

Figura 4. Estrés oxidativo en la célula causado por ROS (Imagen tomada y modificada de Moore, 2022).

Figura 5. Visualización del transporte pasivo y activo en la membrana de la célula. (Creado con BioRender.com)

Figura 6. Clasificación de NPs (Diagrama tomado y modificado de (Sandhiya & Ubaidulla, 2020).

Figura 7. NPs Orgánicas (Imagen creada con BioRender.com)

Figura 8. NPs inorgánicas de óxido de hierro y fullereno (Imagen creada con Biorender.com)

Figura 9. NPs de oro y plata (Imagen creada con Biorender.com)

Figura 10. Estructura de las partículas de dióxido de silicio (Imagen tomada y modificada de (Silicon Dioxide Nanoparticles - Nanografi, s/f))

Figura 11. NPs  $SiO_2$  en forma física (Cabot Carbon Limited CAB-O-SIL Division Pension Scheme, s/f).

Figura 12. Campos de acción de las NPs  $SiO_2$  de administración de fármacos, y obtención de imágenes médicas como bioindicadores . (Imagen creada con Biorender.com)

Figura 13. Matriz del hidrogel con NPs incorporadas. Las cadenas poliméricas se representan con líneas azules mientras que las NPs con esferas amarillas. (Imagen creada con Biorender.com)

Figura 14. Kolliphor® P 407(KOLLIPHOR P 407, s/f).

Figura 15. Preparación del HG por el método en frío y dispersión acuosa de las NPs SiO<sub>2</sub> por agitación simple.

Figura 16. Microscopía Electrónica de barrido (SEM) de HG B e incorporación de NPs A) HG B, B) NPs, C) HG+NPs

Figura 17. Gráfica de tamaños de NPs SiO<sub>2</sub> en nm y porcentaje promedio.

Figura 18. Espectros de infrarrojo de las materias primas y HGs fabricados.

Figura 20. Capa formada por atomizaciones de los diferentes HGs con un área de dispersión de 5 cm<sup>2</sup> seleccionada por el cuadro rojo.

Figura 21. Estructura de la epidermis en la piel sana subdividida en los estratos que la constituyen y células que forman parte, queratinocitos, melanocitos y células inmunológicas (Imagen tomada de Albanesi et al., 2018)

Figura 22. Perspectiva de aplicación del producto final en spray sobre pie diabético.

Gráfica 1. Efecto estandarizado de la influencia de ambos factores (Poloxámero 407 (% p/v) y NPs de SiO<sub>2</sub> (% p/v)) en la variable de respuesta de viscosidad del HG.

Gráfica 2. Efecto estandarizado de la influencia de ambos factores (Poloxámero 407 (% p/v) y NPs de SiO<sub>2</sub> (% p/v)) en la variable de respuesta de temperatura de gelificación del HG.

Gráfica 3. Efecto estandarizado de la influencia de ambos factores(Poloxámero 407 (% p/v) y NPs de SiO<sub>2</sub> (% p/v)) en la variable de respuesta de pH del HG.

Gráfica 4. Perfil de viscosidad en relación con la temperatura para el HG optimizado (Poloxámero 407 al 17.5%, SiO<sub>2</sub> al 1%).

Gráfica 5. Curva de absorbancia vs concentración de VC (ug/ml)

#### 4. Lista de tablas

Tabla 1. Comparación de los tratamientos existentes de regeneración cutánea.

Tabla 2. Técnicas de caracterización para HGs

Tabla 3. Materias primas para la preparación de los HGs

Tabla 4. Factores, niveles y variables de respuesta establecidas para la creación del diseño experimental factorial 2k.

Tabla 5. Matriz de diseño para la optimización del HG termosensible.

Tabla 6. Materiales utilizados para la optimización del HG

Tabla 7. Equipos necesarios para las técnicas de caracterización utilizadas.

Tabla 8. Resultados para las variables de respuesta estudiadas de cada corrida experimental con base en la matriz de diseño generada.

Tabla 9 . Datos de viscosidad a diferentes temperaturas para la generación del perfil termosensible del HG buscando las características óptimas para la gelificación a una temperatura superior a 27 °C.

Tabla 10. Resultados de cuantificación de la VC libre y encapsulada. Eficiencia de encapsulación y capacidad de carga promedio de las muestras medidas por triplicado de 10 mg de VC en 200 ml de agua destilada con NPs al 1% de muestra.

## 5. Resumen

La necesidad de terapias novedosas para la cicatrización de heridas ha aumentado significativamente. Se han desarrollado varios sistemas que pueden actuar en distintas fases del proceso de cicatrización de heridas crónicas, gracias a una combinación de nanotecnología, ingeniería de tejidos e incorporación de materiales poliméricos. En la presente investigación, se incorporaron nanopartículas de dióxido de silicio que encapsulan vitamina C como promotor activo de la cicatrización en una matriz polimérica de hidrogel con características termosensibles que se creó utilizando enfoque en frío. El sistema también demostró que la presencia de nanopartículas de dióxido de silicio no afectaba significativamente a las propiedades termosensibles, y las nanopartículas fueron capaces de depositarse en la matriz polimérica del hidrogel según los resultados de la microscopía electrónica. El hidrogel demostró una temperatura de transición sol-gel superior a 27 °C a una concentración del 17.5% adecuada para su aplicación cutánea. La vitamina C logró ser incorporada dentro de las nanopartículas a través de estudios de eficiencia de encapsulación, por lo anterior, el desarrollo generado mostró propiedades tecnológicas, mecánicas y fisicoquímicas para poder ser empleado como un sistema con potencial aplicación en la regeneración cutánea en heridas crónicas.

## 6. Introducción

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano y la barrera entre el medio interior y el exterior del organismo. Cuando llega a ser dañada, tiene la capacidad de regenerarse mediante cuatro etapas distintas: la etapa de coagulación, inflamatoria, proliferación y finalmente de remodelación (Ayman Grada, 2020). Sin embargo, pueden llegar a presentarse dificultades en el proceso en caso de contar con una enfermedad crónica degenerativa o en su caso, de contar con el tratamiento inadecuado para una herida grave, esto puede dar lugar a una herida crónica (Bowers & Franco, 2020). Por otra parte, se ha demostrado que compuestos como las vitaminas pueden ayudar a regenerar el tejido cutáneo dañado, como es el caso de la vitamina C, también conocida como ácido ascórbico, pues ha mostrado propiedades que intervienen en todas las fases de cicatrización de heridas. Por ejemplo, es necesaria en la fase inflamatoria para la apoptosis y la eliminación de neutrófilos, mientras que durante la fase proliferativa, contribuye a la síntesis, maduración, secreción y degradación del colágeno, es por ello, que debido a sus propiedades antioxidantes ha sido un gran factor de impulsar su uso en productos para el cuidado de la piel (Telang, 2013). Sin embargo, es un compuesto que es susceptible a factores externos como la luz y las especies reactivas del oxígeno (Stability of Vitamin C for Skin Benefits (2020), s/f), por lo que, la búsqueda de opciones de sistemas que permitan su protección es indispensable para que este compuesto pueda actuar sobre un medio específico como lo es la piel. Actualmente, se puede hablar de sistemas nanométricos que permiten incorporar dentro de sus estructura compuestos de diversa naturaleza, principalmente hidrofílicos como lo es la vitamina C, y que además permiten que su liberación en la piel sea de manera controlada y no solo de manera inmediata, como lo que ocurre en el caso de las cremas, ungüentos y antisépticos. Se estudia al sistema de

nanopartículas de dióxido de silicio debido a su la capacidad de ajustar las cargas eléctricas y, sus cualidades bacteriostáticas que pueden ayudar a promover la cicatrización de la herida favoreciendo la migración epidérmica, proceso que es deficiente en heridas que no cicatrizan (Zulkiflee et al., 2022). Además, es requerido un material que pueda proporcionar una atmósfera húmeda al tiempo que permite una tasa de transporte de vapor de humedad adecuada para reducir la sobrehidratación, por lo que el uso de una matriz como la de un hidrogel es estudiada, pues tiene la capacidad de mejorar la aplicación del nanosistema, nos permite poder trabajar con sus propiedades termosensibles para así incluso poder modelar la aplicación del hidrogel para que pueda ser aplicado a través de un sistema tipo aerosol conservando el estado líquido en temperatura fría y gelificar a temperatura del sitio de aplicación.

## 7. Justificación

La Secretaría de Salud ha señalado que las enfermedades crónicas no transmisibles como la diabetes mellitus, enfermedades cardiovasculares y oncológicas, entre otras, pueden generar complicaciones en las heridas agudas de los pacientes, provocando que prolonguen su tiempo de recuperación y que persistan durante semanas, meses o incluso años sin cicatrizar, con riesgo de infecciones y consecuencias graves (Salud, s/f-b). La Asociación Mexicana para el Cuidado Integral y Cicatrización de Heridas A.C Mexicana, señaló que las heridas crónicas son un importante problema sanitario, que genera graves consecuencias en la calidad de vida de quienes las padecen y de quienes les rodean. En los pacientes se puede presentar dolor, mal olor y trastornos emocionales como la depresión, por otro lado, representan mayor riesgo de infección por lo que requieren más tiempo de atención y cuidado por parte de los familiares (Heridas crónicas y agudas, s/f).

Este tipo de complicaciones están presentes en un gran porcentaje de la población del país con enfermedades crónico degenerativas. Según datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018 (ENSANUT 2018), se muestra que en México el 10.3% de adultos tiene ya un diagnóstico de diabetes y complicaciones por pie diabético, aunque se estima que hay muchos más que aún no han sido diagnosticados y de acuerdo a las Estadísticas de defunción del INEGI en 2021, 13 % de las defunciones en México fue por esta enfermedad, aproximadamente 140,700 personas (INEGI, 2022). Además, se estima que el 18.3% de la población adulta en México tiene hipertensión arterial, 7.2% enfermedad renal crónica, 6.4% enfermedad pulmonar obstructiva crónica y el 8.4% enfermedad cardiovascular. La atención de este tipo de heridas se ha visto en aumento en nuestro país en los últimos años, esto implica estancias prolongadas en hospitales y el uso ineficiente de recursos médico quirúrgicos y de enfermería (Secretaría de Salud, 2018).

El especialista en el área de la Secretaría de Salud, Dr. Eugenio Rodríguez Olivares explicó que, de acuerdo con estudios del sector los costos mensuales estimados para la atención de heridas son de \$46,563,070 MXN para procedimientos ambulatorios y de \$1,864,124,436.89 MXN por procedimientos que implican hospitalización (Heridas crónicas y agudas, un problema de salud pública que cuesta alrededor de 2 mil millones de pesos mensuales, 2020). Es por ello, que en la actualidad se siguen buscando productos que sean capaces de promover la pronta cicatrización de heridas de este tipo. Dentro de las alternativas existentes nos encontramos con apósitos, cremas, ungüentos, antisépticos y soluciones. Sin embargo, son susceptibles de la contaminación debido a que implica la manipulación directa en la herida, y en el caso de algunos están formados por consistencias pesadas, característica que los vuelve molestos e inadecuados para el tratamiento de una herida (“What Are the Treatment Options for Chronic Wounds?”, 2018).

## 8. Objetivo General

Desarrollar y caracterizar un HG termosensible para la liberación de VC a partir de un sistema submicrónico de dióxido de silicio con potencial aplicación en la regeneración cutánea.

### Objetivos específicos

1. Realizar una búsqueda bibliográfica respecto a las heridas crónicas causadas en la piel y los avances científicos respecto a los elementos de apoyo para la regeneración tisular.
2. Identificar las necesidades del sistema respecto a las búsquedas bibliográficas.
3. Evaluar el efecto de diversos factores que afectan las características deseadas en el HG con base en un diseño experimental generado a través de un *software* estadístico.
4. Optimizar el HG termosensible a través de pruebas de viscosidad, temperatura de transición sol-gel y pH.
5. Encapsular la VC en las NPs de  $SiO_2$  a través de agitación constante para su posterior incorporación al HG optimizado.
6. Caracterizar el HG optimizado junto con HGs control mediante estudios de SEM, FTIR, perfil termosensible y prueba de dispersión.

## 9. Marco Teórico

### 9.1 Regeneración cutánea

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano y desempeña un papel crucial en distintos procesos como la hidratación, la protección frente a sustancias químicas y patógenos, la inicialización de la síntesis de vitamina D, la excreción y la regulación térmica (Tottoli et al., 2020). Por ello, los daños graves en la piel pueden poner en peligro la vida. Cuando una herida se causa, un extraordinario mecanismo de funcionamiento celular, único en la naturaleza actúa para poder sanar la herida; este proceso implica la interacción de varias células, factores de crecimiento y citoquinas (Borena et al., 2015).

Las heridas tienen diversas causas, algunas de ellas incluyen intervenciones quirúrgicas, traumatismos, factores extrínsecos como quemaduras y cortes. Así como condiciones patológicas como diabetes o enfermedades vasculares. Dependiendo del daño, estas heridas se clasifican en crónicas o agudas y tienen diferentes consecuencias dependiendo del daño (Lazarus et al., 1994). Las heridas crónicas suelen quedarse estancadas en la fase inflamatoria sin poder avanzar con la cicatrización. Las heridas agudas son capaces de continuar con el proceso hacia la fase de epitelización y la fase de maduración como se observa en la Figura 1.

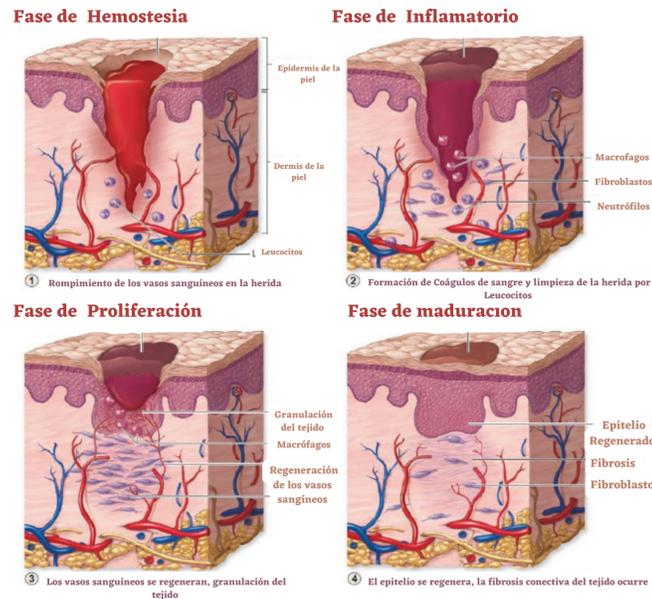


Figura 1. Fases de la maduración de una herida. Imagen tomada y modificada de (Burn wound healing: Pathophysiology and current management of burn injury, 2017)

Su cicatrización es uno de los procesos más complejos del cuerpo humano, ya que implica la sincronización espacial y temporal de la fase inflamatoria con la regeneración y remodelación tisular. En este proceso tenemos 3 principales. La fase inflamatoria se distingue por la fase con más dolor, como bien puede observarse en la Figura 1 A, se produce la hinchazón y la pérdida de la función del sitio de la herida, sigue a la lesión e incluye la cascada de coagulación, la vía inflamatoria y la participación del sistema inmunitario y este proceso puede presentar complicaciones con factores como la edad, la presencia de enfermedades autoinmunitarias, etc (Gethin, 2012). Las heridas crónicas normalmente se producen en esa fase. Como segunda fase, la de epitelización, el cuerpo comienza a crear una costra, que provee una protección temporal a la herida (Figura 1 B). Finalmente la fase de maduración que podemos observar en la Figura 1 C, es el periodo de cicatrización, en donde el cuerpo cubre la herida con nuevo tejido restaurando la integración del mismo.

### 9.1.1 Heridas crónicas

La superación de los factores que contribuyen al retraso en la cicatrización son componentes clave de un enfoque integral del cuidado de las heridas y presentan los principales retos para el tratamiento de las heridas crónicas. Cuando las heridas no logran una cicatrización suficiente tras 4 semanas de cuidados estándar, debe llevarse a cabo una reevaluación de la patología subyacente y considerar la necesidad de agentes terapéuticos avanzados (Frykberg & Banks, 2015).

Como mencionamos, las heridas crónicas son el reto principal cuando se habla de cicatrización de heridas, debido a que estas, a diferencia de las agudas no cicatrizan con normalidad ni rapidez en todas las fases del proceso topándose con un muro durante la fase inflamatoria de la recuperación. Tienen diferentes etiologías a nivel molecular, pero todas comparten algunas características en común, como altos niveles de citoquinas proinflamatorias, proteasas, especies reactivas del oxígeno (ROS) y células senescentes, la presencia de infección persistente, la falta de células madre que con frecuencia también son disfuncionales y la infección persistente. En las heridas agudas, las proteasas están estrechamente reguladas por sus inhibidores. Sin embargo, en las heridas crónicas, los niveles de proteasas superan los de sus respectivos inhibidores, lo que provoca la destrucción de la matriz extracelular (ECM) y la degradación de los factores de crecimiento y sus receptores. La destrucción proteolítica de la ECM no sólo impide que la herida avance hacia la fase proliferativa, sino que también atrae a más células inflamatorias, amplificando así el ciclo de la inflamación (McCarty & Percival, 2013).

Las células inmunitarias producen ROS, que en bajas concentraciones proporcionan defensa contra los microorganismos. Sin embargo, en las heridas crónicas, el entorno hipóxico e inflamatorio predominante aumenta la producción de ROS, lo que daña las

proteínas de la matrices extracelulares ECM y provoca daños celulares. Esta secuencia de acontecimientos conduce a una mayor estimulación de las proteasas y las citocinas inflamatorias (Schreml et al., 2010).

Estas situaciones han creado la necesidad de la industria de poder diseñar productos que impulsen el proceso de sanación de las heridas crónicas (Ehrenreich & Ruszczak, 2006). Se identifica actualmente con el término de Ingeniería Tisular para todos aquellos "Métodos que promueven la regeneración biológica o la reparación de tejidos, aportando señalización, estructura o sustituyendo la función tisular" (Kaur et al., 2019). Los principales elementos de la ingeniería tisular y las alternativas con las que se han trabajado en los últimos años han sido biomateriales, células, factores de crecimiento, otras moléculas de señalización y componentes de ingeniería como andamios, bombas, tubos, biorreactores y oxigenadores (Vig et al., 2017). Podemos observar algunos de los ejemplos en la Figura 2 .



Figura 2. Alternativas innovadoras para la sanación de heridas en la actualidad.

Así mismo, existen tipos de tratamientos actuales de los cuales podemos examinar características. Principalmente existen tres tratamientos actuales. Los apósitos poliméricos, las cremas y ungüentos, y finalmente los HGs. Todos ellos han logrado contribuir de una manera significativa a este campo de la ciencia, podemos analizar sus propiedades en la Tabla 1 mostrada a continuación.

Tabla 1. Comparación de los tratamientos existentes de regeneración cutánea.

Tipo de tratamiento	Características	Ventajas	Desventajas	Referencia
<b>Apósitos de polímeros naturales</b>	Los apósitos preparados con materiales naturales son elaborados principalmente de polisacáridos, proteínas y lípidos.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se utilizan ampliamente para heridas exudativas, ya que por lo general estos apósitos son biodegradables, biocompatibles y no tóxicos para la piel.</li> <li>• Presentan buenas propiedades de manipulación de fluidos que fomentan la curación de las heridas en un ambiente húmedo y controlado.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Solo se deben utilizar para heridas con pocos exudados o como vendajes protectores en las heridas superficiales y en aplicaciones que suelen durar entre 4 y 7 días antes e que el apósito se reemplace.</li> </ul>	(Kamoun et al., 2015) (Valencia-Gómez et al., 2016)
<b>Cremas y ungüentos</b>	Es una forma de dosificación semisólida en emulsión que contienen >20% de agua y volátiles d/o <50% de hidrocarburos, ceras o polietilenglicoles como vehículo para la aplicación externa para la piel.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Permiten la incorporación de ingredientes acuosos y oleaginosos, permiten una mayor liberación de muchos medicamentos incorporados.</li> <li>• Sus propiedades reológicas pueden ser controladas.</li> <li>• Se utilizan como vehículos dermatológicos tópicos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Las cremas son intrínsecamente inestables y la fase interna tiende a fusionarse con el tiempo.</li> </ul>	(Stan et al., 2021)
<b>Hidrogeles</b>	Es una red tridimensional elástica y porosa formada por polímeros hidrófilos, con un contenido mínimo de agua del 10% (normalmente >90%).	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sus propiedades intrínsecas pueden mejorarse añadiendo compuestos activos, como antibióticos, nanopartículas, células madre y factores de crecimiento.</li> <li>• Responden a estímulos externos permiten la liberación controlada de fármacos o la monitorización del proceso de cicatrización.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Falta de resistencia mecánica.</li> </ul>	(Ehrenreich & Ruszczak, 2006)

Además de los tratamientos mostrados previamente, se ha demostrado que pueden usarse activos para promover la regeneración y cuidado de la piel, como el ácido hialurónico, coenzima Q10, Lisina, Niacinamida y vitaminas como la Vitamina A, C y D (How To Speed Wound Healing | Apotheco, 2021).

## 9.2 Vitamina C

El ácido ascórbico, también conocido como VC, es un compuesto orgánico natural con propiedades antioxidantes. Su fórmula química es  $C_6H_8O_6$  y observamos su estructura en la Figura 3, derivada del mecanismo de la glucosa (Ascorbic Acid - The Chemical Company, s/f). Actúa como agente reductor necesario para la síntesis de las fibras de colágeno mediante la hidroxilación de la prolina y la lisina. Participa en importantes funciones metabólicas y es crucial para el crecimiento y mantenimiento de huesos, encías, ligamentos, dientes y vasos sanguíneos sanos, a su vez, se caracteriza como necesaria para la cicatrización de heridas y la respuesta inmunitaria a las infecciones (Thuresson, s/f). Podemos encontrarla en las plantas, especialmente en frutas, tomates y verduras de hoja verde (Valdés, 2006).

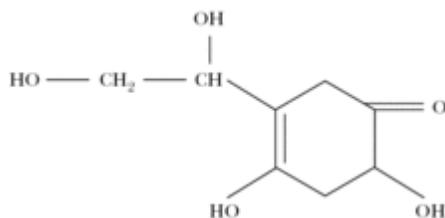


Figura 3. Estructura de la VC tomada de (Valdés, 2006).

### 9.2.1 Vitamina C y la piel

La luz UV del sol provoca la formación de especies reactivas del oxígeno (ROS) en nuestra piel cuando nos exponemos a la luz solar. La VC neutraliza los ROS donando un electrón en una reacción de oxidación de un solo electrón (Thuresson, s/f). Cuando la producción de ROS sobrepasa la capacidad antioxidante celular, se produce lo que se denomina estrés oxidativo (Figura 4), el cual está implicado en el desarrollo de una gran variedad de enfermedades, como la aterosclerosis, la diabetes, las enfermedades neurodegenerativas, las enfermedades inflamatorias crónicas, el cáncer y el envejecimiento (“Handbook of Diet, Nutrition and the Skin”, s/f). Al poder ralentizar el proceso de envejecimiento y las diferentes enfermedades causadas principalmente por el daño oxirradical, la VC ha sido utilizada en diversos productos para el cuidado de la piel, como cremas y tratamientos faciales (Zhang et al., 1999).



Figura 4. Estrés oxidativo en la célula causado por ROS (Imagen tomada y modificada de Moore, 2022).

### 9.2.3 Propiedades químicas de la VC

Se ha demostrado que la VC atraviesa de buena manera la piel a pesar de su naturaleza hidrofílica (Lee & Tojo, 1998), aunque es preferible que tengan un medio de transporte debido a que desgraciadamente se sabe que la VC es sensible a la luz, el pH, las altas

temperaturas y la exposición al oxígeno, que provocan su degradación (Stamford, 2012). Para reducir el problema de la degradación de la VC, se han utilizado varios derivados del ascorbilo químicamente estables en productos cosméticos. Sin embargo, se ha demostrado que el efecto farmacológico puede verse reducido. Por lo tanto, es de gran interés hallar maneras distintas de estabilizar la VC (*[PDF] Formulation and stability of ascorbic acid in topical preparations* | *Semantic Scholar*, s/f)

#### 9.2.4 Ventajas y desventajas comparando con otras vitaminas

Existen diversos estudios que sugieren que la VC puede ser más efectiva que otras vitaminas en la promoción de la cicatrización de heridas. Un estudio publicado en la revista *Wounds* en 2017 comparó los efectos de la suplementación con VC y vitamina E (VE) en la cicatrización de heridas en ratas. Los resultados mostraron que la suplementación con VC mejoró significativamente la cicatrización de heridas en comparación con la suplementación con VE (Hobson, 2014). De igual manera, en otro estudio publicado en la revista *Wounds* en 2018, se evaluaron los efectos de la suplementación con VC y VE en la cicatrización de heridas en pacientes con úlceras de pie diabético. Los resultados mostraron que la suplementación con VC fue más efectiva que la suplementación con VE en la mejora de la cicatrización de heridas (Ramirez-Acuña et al., 2019).

En resumen, aunque otras vitaminas y nutrientes también son importantes para la cicatrización de heridas, la VC parece ser especialmente efectiva debido a su papel en la síntesis de colágeno y su capacidad antioxidante (Telang, 2013). La evidencia sugiere que la suplementación con VC puede mejorar significativamente la cicatrización de heridas en comparación con otras vitaminas. Sin embargo, se necesitan más estudios para confirmar estos hallazgos y comprender mejor los mecanismos subyacentes.

### 9.2.5 Intervención en la cicatrización de heridas

La VC interviene en todas las fases de cicatrización de heridas. En la fase inflamatoria es necesaria para la apoptosis y la eliminación de neutrófilos (Nutrición en el proceso de curación de heridas: Una revisión narrativa, s/f). Mientras tanto, durante la fase proliferativa, la VC contribuye a la síntesis, maduración, secreción y degradación del colágeno. Inclusive la deficiencia de esta afecta a la fase de maduración alterando la producción de colágeno y la formación de cicatrices. El organismo se esfuerza por mantener la homeostasis de la VC, asegurando así su disponibilidad para la síntesis de colágeno (Vitamin C: Do Daily Mega-Doses Accelerate Wound Healing, s/f). Tras una herida, los niveles plasmáticos y tisulares de la VC disminuyen y, como consecuencia, los suplementos pueden ser útiles para la cicatrización, aunque los niveles por encima de la saturación se excretan los clínicos deben ser conscientes tanto del estado nutricional de los pacientes con heridas agudas o crónicas como de la posibilidad de cualquier deficiencia de VC que pueda dificultar la cicatrización (Moore, 2013).

En 2009, Lima, C et al., verificaron el efecto tópico del ácido ascórbico para la cicatrización de heridas cutáneas de ratas mediante el número de macrófagos, nuevos vasos y verificaciones de fibroblastos en el periodo experimental; de igual forma analizaron el grosor y la organización de las fibras de colágeno en el tejido lesionado. Las ratas se dividieron en dos grupos y las muestras de piel se recogieron los días 3, 7 y 14. Las secciones se tiñeron con hematoxilina. En cuanto a los resultados, descubrieron que el ácido ascórbico actuaba en todas las fases del proceso de cicatrización. Se redujo el número de macrófagos, aumentó la proliferación de fibroblastos y nuevos vasos, y estimuló la síntesis de fibras de colágeno más gruesas y organizadas en las heridas en comparación con el grupo de control. Concluyeron que el ácido ascórbico demostró tener efectos

antiinflamatorios y cicatrizantes, garantizando un entorno y unas condiciones suficientes para una reparación más rápida de la piel (Lima et al., 2009).

#### 9.2.6 Mecanismo de absorción de la VC

El último órgano que recibe nutrientes de la ingesta alimentaria es la piel (Sheraz et al., 2015). Por lo tanto, la aplicación tópica es una alternativa para aumentar los niveles de VC en la piel. Los niveles de la aplicación tópica pueden ser de 20 a 40 veces superiores a los de la ingesta oral (N. Lionetti, A Balancing Act: Stabilizing Vitamin C for Skin Benefits. *Cosmetics & Toiletries* 135, 44- 51 (2020), s/f). Se ha demostrado clínicamente que la concentración efectiva de VC en los preparados tópicos debe oscilar entre el 10 y el 20 % (p/v). Las concentraciones más bajas al 10 % eran ineficaces, mientras que concentraciones más altas al 20% podrían causar ciertas irritaciones (Telang, 2013). Como la VC es muy vulnerable a la oxidación, en sistemas acuosos, que amenaza la estabilidad de la vida útil del producto final se sugiere el oscurecimiento de las soluciones y emulsiones acuosas de VC en condiciones normales de almacenamiento (Caritá et al., 2020). Esta inestabilidad representa un gran desafío para los formuladores. Se han hecho varios intentos para superar los problemas de estabilidad de la VC como: controlar los niveles de oxígeno, trabajar en medio ácido reducir el contenido de agua en la formulación, así como los derivados esterificados de la VC (Caritá et al., 2020).

Uno de los principales mecanismos de absorción de la VC es la difusión pasiva. Las moléculas de VC se desplazan desde una zona de alta concentración, el producto tópico, a una zona de baja concentración, la piel, hasta alcanzar el equilibrio (Figura 5). Este proceso se ve facilitado por la naturaleza lipofílica de la VC, que le permite penetrar en el estrato córneo y penetrar en las capas más profundas (Murray et al., 2008, (New trends in face

rejuvenation by hyaluronic acid injections - Andre - 2008 - Journal of Cosmetic Dermatology - Wiley Online Library, s/f). Otro mecanismo de absorción es a través de los folículos pilosos y las glándulas sudoríparas, que pueden actuar como conductos para el transporte de VC a la piel. Estas estructuras proporcionan una vía directa para que la VC penetre más profundamente en la piel, evitando el estrato córneo (Watanabe et al., 2006)).

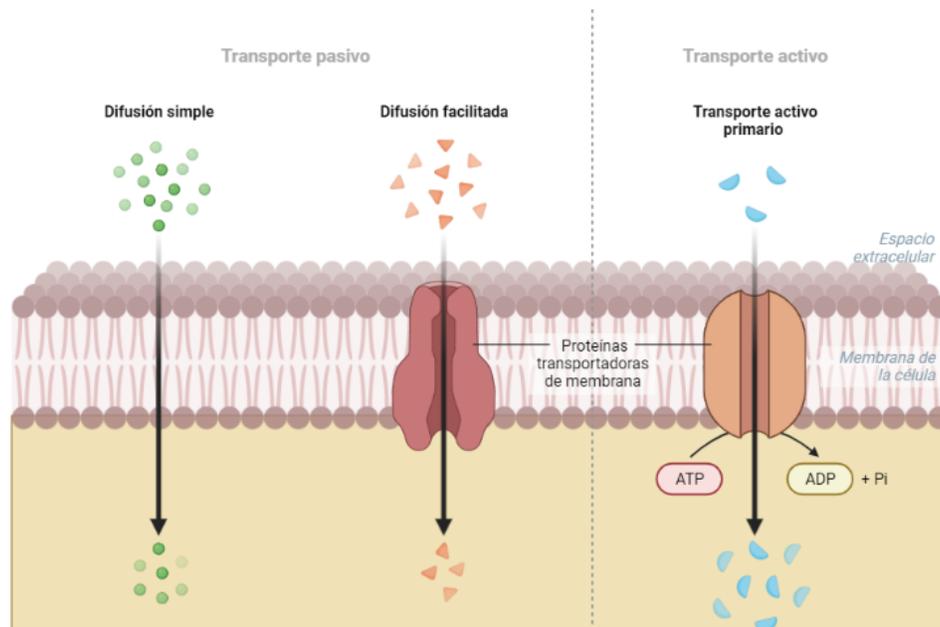


Figura 5. Visualización del transporte pasivo y activo en la membrana de la célula. (Creado con BioRender.com)

### 9.2.7 Estabilización de la VC

Diversos estudios demuestran que las nanopartículas (NPs) pueden ser utilizadas para estabilizar compuestos sensibles a la luz, ya que pueden protegerlos del daño causado por la exposición a la luz y el oxígeno. En un estudio realizado en la revista "Journal of Agricultural and Food Chemistry", se utilizaron NPs de celulosa para estabilizar la astaxantina, un compuesto sensible a la luz presente en el salmón y otros productos

marinos. Los resultados mostraron que las NPs de celulosa pueden proteger eficazmente la astaxantina de la degradación causada por la exposición a la luz y el oxígeno (Phuong et al., 2022). Por otro lado, en la revista científica "International Journal of Pharmaceutics", se investigó el uso de NPs de sílice para estabilizar el ácido ascórbico (VC) (Nakagawa et al., 2013). Los resultados mostraron que las nanopartículas de sílice pueden proteger eficazmente el ácido ascórbico de la degradación causada por la exposición a la luz y el oxígeno. A su vez, en un estudio publicado en la revista "Journal of Controlled Release", se utilizó nanopartículas de poli(lactida-co-glicolida) para estabilizar la vitamina D3, un compuesto sensible a la luz. Los resultados mostraron que las nanopartículas de poli(lactida-co-glicolida) pueden proteger eficazmente la vitamina D3 de la degradación causada por la exposición a la luz y el oxígeno (Sato et al., 2018).

### 9.3 Nanotecnología y nanopartículas

Las NPs son una clase diversa de materiales que comprenden sustancias formadas por partículas y tienen al menos una dimensión inferior a 100 nm (Laurent et al., 2008), sin embargo, en el ámbito farmacéutico hay ciertos casos en los que el término "nanopartícula" se utiliza de manera más amplia y puede incluir partículas con tamaños de hasta 1000 nm (Wen et al., 2018).

Desde principios de siglo, investigadores se han dedicado a estudiar la nanotecnología, con lo cual, se han realizado diversos avances revolucionarios en el campo desde que el premio Nobel Richard P. Feynman utilizó por primera vez el término en su conocida conferencia de 1959 "There 's Plenty of Room at the Bottom" (Feynman, 1992). Las NPs, presentan unas propiedades físicas químicas y biológicas a nanoescala en comparación con sus respectivas partículas a escalas superiores y son capaces de transportar compuestos. Este fenómeno se debe a una superficie relativamente mayor en relación con el volumen, una

mayor reactividad o estabilidad en un proceso químico y mayor resistencia mecánica (Smita et al., 2012).

### 9.3.1 Clasificación de las Nanopartículas

Las NPs se clasifican generalmente en orgánicas, inorgánicas y de carbono como se observa en el diagrama mostrado a continuación (Figura 6).

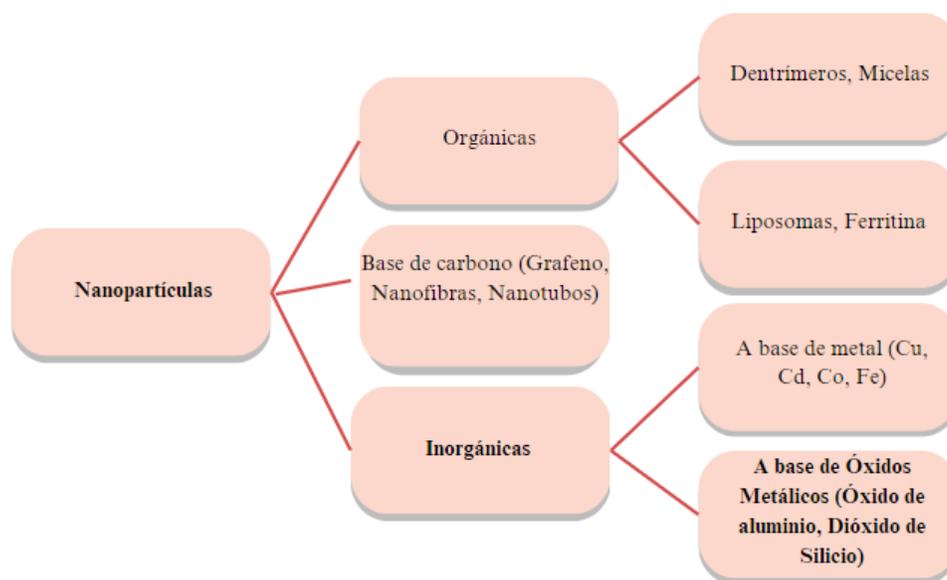


Figura 6. Clasificación de NPs (Diagrama tomado y modificado de (Sandhiya & Ubaidulla, 2020).

#### 9.3.1.1 Nanopartículas Orgánicas

En la clasificación de las NPs o polímeros orgánicos figuran dendrímeros, micelas, liposomas y ferritina (Figura 7). Estas NPs son biodegradables, no tóxicas y algunas de ellas, como las micelas y los liposomas, tienen centros huecos que les dan el nombre de "nanocápsulas" y las hacen sensibles a radiaciones electromagnéticas como el calor y la luz. Además de sus propiedades habituales, como el tamaño, la composición, la forma de la superficie, etc; su campo de aplicación y su eficacia vienen determinados por la capacidad de transporte de fármacos, la estabilidad y los sistemas de administración, ya se trate de fármacos atrapados o de sistemas de fármacos adsorbidos. La industria biomédica utiliza

con mayor frecuencia NPs orgánicas para sistemas de administración de fármacos porque son eficaces y pueden inyectarse en localizaciones corporales concretas (Tiwari et al., 2008).

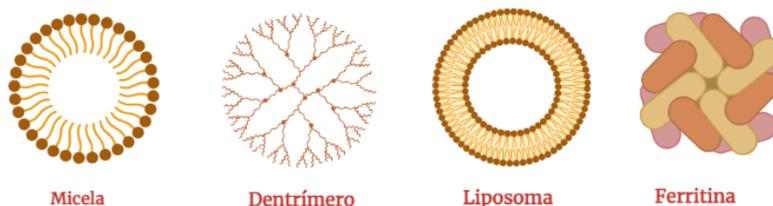


Figura 7. NPs Orgánicas (Imagen creada con BioRender.com)

### 9.3.1.2 Nanopartículas Inorgánicas

Estas NPs no están formadas por carbono (Anu Mary Ealia & Saravanakumar, 2017). Los fosfatos cálcicos son los más conocidos, sin embargo, los recientes avances en nanotecnología han llevado a la introducción de otras NPs como excelentes matrices de administración de fármacos. Entre ellas se encuentran las NPs de óxido de hierro y los fullerenos (Figura 8). Las ventajas de las NPs inorgánicas son su perfil de toxicidad muy bajo; biocompatibilidad y naturaleza hidrófila son extremadamente estables y no sufren ataques microbianos (Paul & Sharma, 2010). Las NPs metálicas y las basadas en óxidos metálicos forman parte de esta clasificación como lo observamos en la Figura 6. (Anu Mary Ealia & Saravanakumar, 2017).



Figura 8. NPs inorgánicas de óxido de hierro y fullereno (Imagen creada con Biorender.com)

### 9.3.1.3 Nanopartículas metálicas.

Casi todos los metales pueden sintetizarse en NPs (Salavati-Niasari & Davar, 2009). Se sabe que las NPs metálicas tienen mecanismos de toxicidad bacteriana inespecíficos, es decir, que no se unen a un receptor específico de la célula bacteriana, lo que no sólo dificulta el desarrollo de resistencia por parte de las bacterias, sino que también amplía el espectro de actividad antibacteriana (Sánchez-López et al., 2020).

Los metales más utilizados para la síntesis de NPs son el aluminio (Al), el cadmio (Cd), el cobalto (Co), el cobre (Cu), el oro (Au), el hierro (Fe), el plomo (Pb), la plata (Ag) y finalmente el zinc (Zn) (Figura 8) (Anu Mary Ealia & Saravanakumar, 2017).

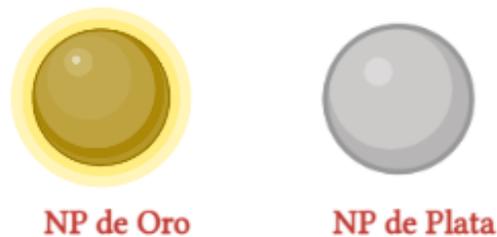


Figura 9. NPs de oro y plata (Imagen creada con Biorender.com)

### 9.3.1.4 Nanopartículas a base de óxidos metálicos

Las NPs de óxido metálico están formadas por precursores puramente metálicos. Los elementos térmicos son capaces de formar una amplia gama de compuestos de óxido (Naseem & Durrani, 2021). Debido a sus extraordinarias propiedades eléctricas, magnéticas, mecánicas, ópticas, catalíticas, etc., los nanomateriales de óxido metálico están

desempeñando un papel importante en una amplia gama de aplicaciones, como sensores de gas, pilas de combustible, sistemas avanzados de control de emisiones, sensores químicos y biosensores, sensores químicos, biosensores, baterías, células solares, piroeléctricos, supercondensadores catalizadores, recubrimientos anticorrosión, etc (Zulkiflee et al., 2022). El óxido de aluminio ( $Al_2O_3$ ), el óxido de cerio ( $CeO_2$ ), el óxido de hierro ( $Fe_2O_3$ ), la magnetita ( $Fe_3O_4$ ), el dióxido de silicio ( $SiO_2$ ), el óxido de titanio ( $TiO_2$ ) y el óxido de zinc ( $ZnO$ ) son los materiales fabricados con más frecuencia. Comparadas con sus homólogas metálicas, estas NPs poseen cualidades extraordinarias (Anu Mary Ealia & Saravanakumar, 2017).

### 9.3.2 Dióxido de Silicio

Las NPs  $SiO_2$ , o CAB-O-SIL® M-5P, son NPs hidrófilas debido a la presencia de grupos hidroxilo superficiales. Tiene una estructura amorfa de rayos X debido al enfriamiento rápido de las partículas de sílice del estado fundido al estado sólido durante la fabricación, podemos observar su estructura en la Figura 10.

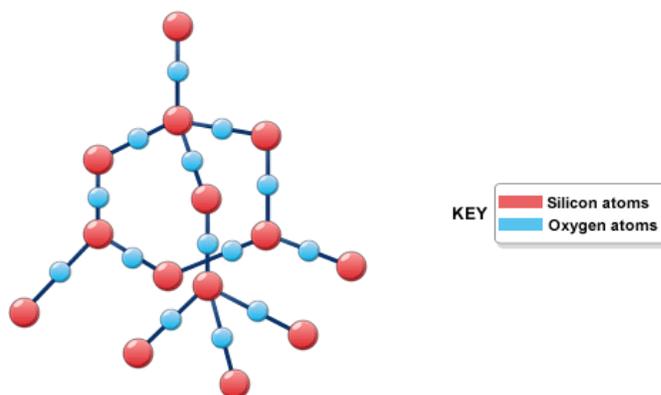


Figura 10. Estructura de las partículas de dióxido de silicio (Imagen tomada y modificada de (Silicon Dioxide Nanoparticles - Nanografi, s/f))

La sílice pirogénica CAB-O-SIL se produce mediante un proceso pirogénico que da como resultado una de las formas más puras de sílice amorfa sintética disponibles en el mercado

(99% de pureza) de sílice amorfa sintética (99,8% de pureza). Tiene un índice de refracción de 1,46; por lo que desaparece por completo en el agua. Durante el proceso de fabricación, las moléculas de  $SiO_2$  se condensan para formar partículas. Las partículas chocan, se adhieren y sintetizan tridimensionales de cadena ramificada de entre 150 y 200 nanómetros de aproximadamente 150 a 200 nanómetros de longitud. Una vez que los agregados se enfrían por debajo del punto de fusión de la sílice (1710°C), se producen nuevas colisiones que dan lugar a un entrelazamiento mecánico de las cadenas, lo que se denomina aglomeración. La sílice pirógena es un excipiente farmacéutico muy conocido desde 1957 como glidificante tradicional para formas farmacéuticas sólidas, es adecuado para mezclas de polvos blandos y espesante para aceites farmacéuticos, el producto se muestra en la Figura 11 (Cab-O-Sil M5P, s/f).



Figura 11. NPs  $SiO_2$  en forma física (Cabot Carbon Limited CAB-O-SIL Division Pension Scheme, s/f).

La sílice pirogénica CAB-O-SIL® M-5P es un material inorgánico inerte y no es una fuente de nutrición microbiana. En el momento de envasado el contenido de humedad es inferior al 1% y las bacterias gramnegativas como las grampositivas no pueden sobrevivir más de unas pocas horas o días, dependiendo del tipo de bacteria como indica la hoja de

datos del material. La posible supervivencia de algunos microorganismos esporógenos no puede descartarse por completo incluso en estas condiciones. Los análisis microbiológicos se realizan en muestras aleatorias a intervalos regulares (Hoja de datos Cab-O-Sil M5P, s/f).

#### 9.3.2.1 Propiedades antimicrobianas

El  $SiO_2$  ha demostrado tener propiedades antimicrobianas debido a su capacidad para dañar la pared celular de los microorganismos y reducir su crecimiento y proliferación. Cuenta con un efecto bacteriostático, pues es capaz de inhibir el crecimiento de bacterias al interferir con su metabolismo y la síntesis de proteínas (The Antibacterial Activity of SnO<sub>2</sub> Nanoparticles against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* | Zahedan Journal of Research in Medical Sciences | Full Text, s/f). A su vez, tiene un efecto bactericida pues puede matar bacterias al dañar su pared celular y membrana plasmática como bien se demuestra en el estudio realizado en 2022 por Franco et al. Metal-Based Nanoparticles: Antibacterial Mechanisms and Biomedical Application. En este estudio, se evaluó la actividad antibacteriana del  $SiO_2$  y se encontró que estas NPs tenían una alta actividad antibacteriana contra varias cepas bacterianas, incluyendo *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y otras bacterias, por lo que se considera de amplio espectro, además también se investigaron los mecanismos de acción y descubrieron que el  $SiO_2$  podría dañar la membrana celular de las bacterias (Franco et al., 2022). Además, una de las características que lo hacen atractivo para el uso de productos es que el  $SiO_2$  es químicamente estable y no se degrada fácilmente, lo que lo hace ideal para su uso como agente antimicrobiano en productos alimentarios y farmacéuticos (Selvarajan et al., 2020).

### 9.3.2.2 Biocompatibilidad y toxicidad

La biocompatibilidad de las NPs  $SiO_2$  ha sido objeto de numerosos estudios en las últimas décadas. En general, a diferencia de muchos compuestos antimicrobianos, el  $SiO_2$  es generalmente seguro y no tóxico para los humanos en dosis moderadas, tienen una buena biocompatibilidad, lo que significa que son bien toleradas por los sistemas biológicos. Sin embargo, la biocompatibilidad de las NPs  $SiO_2$  depende de varios factores, como su tamaño, forma, superficie y carga superficial (Lalau et al., 2020).

En cuanto a la ingestión de nanopartículas de dióxido de silicio, se ha demostrado que las concentraciones más altas pueden tener efectos tóxicos en las células intestinales y el hígado. Se recomienda que la dosis diaria de dióxido de silicio no supere los 50 mg/kg de peso corporal de acuerdo con la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). Por otro lado, según un estudio publicado en la revista "Toxicology in Vitro", la exposición a concentraciones de NPs  $SiO_2$  superiores a 200  $\mu$ g/ml durante un período prolongado puede tener efectos tóxicos en las células de la piel. Para el caso de las CAB-O-SIL® M-5P, se puede asegurar que cuentan una pureza confiable (99.8%) y al ser normalmente aplicadas en uso farmacéutico, cuentan con las características adecuadas para ser toleradas en el organismo.

### 9.3.2.3 Aplicaciones

El  $SiO_2$  se utiliza con frecuencia como recubrimiento inerte y no tóxico para otros tipos de nanopartícula, que es biodegradable en un plazo razonable, lo que garantiza un nivel mínimo de bioacumulación. Estas pueden actuar como agentes de contraste o potenciadores de la dosis de radiación, entre otras funciones, y pueden estar hechas de oro, plata, óxido de hierro, polímeros u otros materiales. Un recubrimiento de silicona protege estos materiales

de la interacción con biomoléculas presentes en un medio biológico que pueden inducir una excreción precoz o impedir que la nanopartícula cumpla su función prevista . Además, un recubrimiento de sílice presenta una superficie química fácilmente personalizable para la fijación de moléculas diana (Silica Nanoparticle Applications in Biomedicine, 2018).

Suelen actuar como andamiaje de soporte o recubrimiento de biomoléculas u otras NPs y pueden constituir excelentes plataformas de administración de fármacos debido a su naturaleza altamente biocompatible y a su estructura porosa (Silicon Dioxide, s/f). En la industria farmacéutica tiene muchos usos en la fabricación de comprimidos, como agente antiaglomerante, adsorbente, desintegrante o deslizante para permitir que el polvo fluya libremente cuando se procesan los comprimidos. Estos compuestos parecen ser biológicamente inertes (Kim et al., 2021). De igual manera, estas partículas tienen aplicación industrial, se utilizan como aditivo para porcelana, plásticos, caucho de vidrio y muchos productos diferentes. Se añade a los compuestos de construcción y hormigón como relleno estimulante. También se utiliza en la protección de productos del medio ambiente (Study of the characteristics and properties of the  $SiO_2/TiO_2/Nb_2O_5$  material obtained by the sol-gel process | Scientific Reports, s/f). Dado que estas NPs son materiales duros, pueden utilizarse como rellenos extensibles para sustancias compuestas. En estas aplicaciones también destaca por su escasa toxicidad y también pueden añadirse a los plásticos como aditivos (Kim et al., 2021).

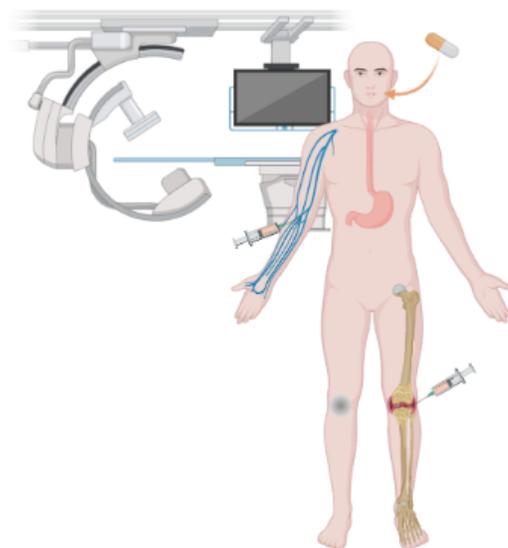


Figura 12. Campos de acción de las NPs  $SiO_2$  de administración de fármacos, y obtención de imágenes médicas como bioindicadores . (Imagen creada con Biorender.com)

En el trabajo realizado por Li et. Al. en 2016, utilizan una estrategia de recubrimiento de nanopuntos para preparar nanocompuestos de doble hidróxido estratificado recubiertos de puntos de  $SiO_2$ . Se demostró que el nanocompuesto óptimo tenía nanopuntos de  $SiO_2$  (10-15nm de diámetro) depositados uniformemente sobre la superficie de doble hidróxido estratificado de MgAl (Li et al., 2016).

También han contado con aplicaciones en el campo de obtención de imágenes médicas debido a características tales como un tamaño y una distribución del tamaño controlables, la protección del agente de contraste y una mayor resistencia a la corrosión (Figura \*). En el trabajo realizado por Ow et al. En 2012 prepararon NPs fluoróforas altamente fluorescentes recubiertas de sílice con tamaños que oscilaban entre 20 y 30 nm. Las NPs preparadas eran fotoestables y 20 veces más brillantes que sus fluoróforos constituyentes. La cubierta exterior  $SiO_2$  proporcionó una opción adicional para dirigirse a

células o tejidos específicos mediante la funcionalización de la superficie de sílice (Ow et al., 2012).

#### 9.4 Hidrogeles

Los HGs se han convertido en alternativas de tratamiento de sanación de heridas en los últimos años, esto debido a que su forma de redes tridimensionales hidrófilas, las hace capaces de absorber grandes cantidades de agua o fluidos biológicos, por lo que pueden utilizarse como principales candidatos a biosensores, vectores de administración de fármacos y portadores o matrices para células en ingeniería de tejidos (Chai et al., 2017). Pueden reflejar algunas características de las matrices extracelulares, como las propiedades superficiales, la resistencia mecánica y la biodegradabilidad. La resistencia mecánica es importante cuando los HGs se aplican como implantes para sustituir el tejido enfermo o dañado, y la sensibilidad a la temperatura permite que el hidrogel adopte diferentes formas para adaptarse a diversos tejidos dañados (Huang et al., 2019).

##### 9.4.1 Características de un hidrogel

La capacidad de retención de agua y la permeabilidad son los rasgos característicos más importantes de un hidrogel. Los grupos hidrófilos polares son los primeros en hidratarse al entrar en contacto con el agua, lo que conduce a la formación de agua ligada primaria. Como resultado, la red se hincha y expone los grupos hidrófobos, que también son capaces de interactuar con las moléculas de agua. Esto da lugar a la formación de agua ligada hidrofóticamente, también denominada "agua ligada secundariamente". El agua ligada primaria y secundaria suelen combinarse y denominarse "agua ligada total". La red absorberá agua adicional, debido a la fuerza impulsora osmótica de las cadenas de la red hacia la dilución infinita. A este hinchamiento adicional se oponen los enlaces cruzados covalentes o físicos, lo que provoca una fuerza de retracción elástica de la red. Así, el hidrogel alcanzará un nivel de hinchamiento de equilibrio (Kohane & Langer, 2008). El

agua adicional absorbida se denomina "agua libre" o "agua a granel", y se supone que llena el espacio entre las cadenas de la red, y/o el centro de poros más grandes, macroporos o vacíos, lo que permite se da lugar a una matriz en donde se pueden incorporar elementos, como se observa en la Figura 13. Dependiendo de la naturaleza y composición del hidrogel, el siguiente paso es la desintegración y/o disolución si la cadena de red o los enlaces cruzados son degradables. Los HGs biodegradables, que contienen enlaces lábiles, son por tanto ventajosos en aplicaciones como la ingeniería de tejidos, la cicatrización de heridas y la administración de fármacos. Estos enlaces pueden estar presentes en el esqueleto del polímero o en los enlaces cruzados utilizados para preparar el hidrogel. Los enlaces lábiles pueden romperse en condiciones fisiológicas de forma enzimática o química, en la mayoría de los casos por hidrólisis (Hennink & van Nostrum, 2002).

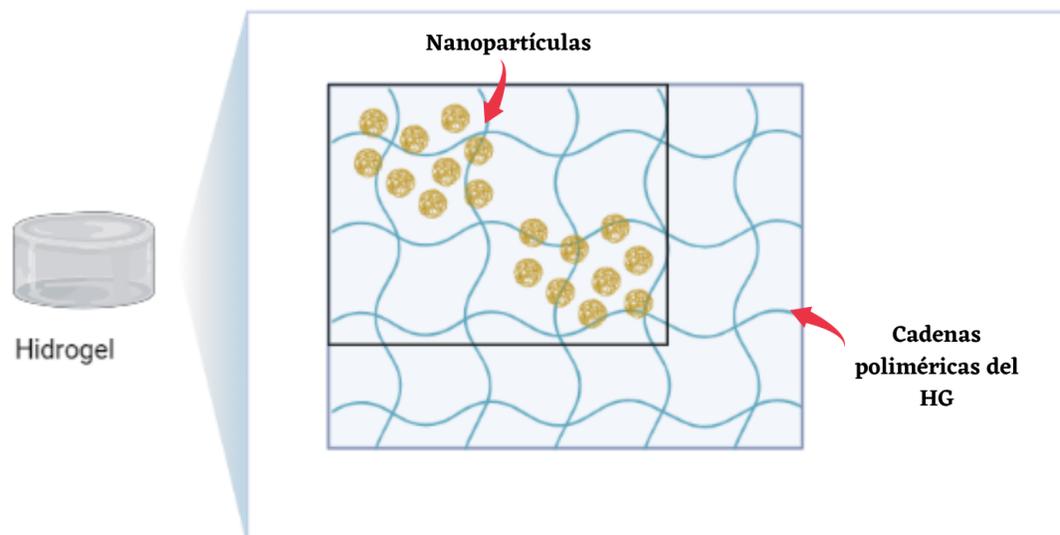


Figura 13. Matriz del hidrogel con NPs incorporadas. Las cadenas poliméricas se representan con líneas azules mientras que las NPs con esferas amarillas. (Imagen creada con Biorender.com)

La biocompatibilidad es la tercera propiedad característica más importante que requiere el hidrogel. La biocompatibilidad exige la compatibilidad con el sistema inmunitario del hidrogel y de sus productos de degradación formados, que tampoco deben ser tóxicos. Lo ideal es que se metabolizan en productos inocuos o puedan excretarse por el proceso de filtración renal. En general, los HGs poseen una buena biocompatibilidad, ya que su superficie hidrofílica tiene una baja energía libre interfacial cuando entra en contacto con los fluidos corporales, lo que se traduce en una baja tendencia de las proteínas y las células a adherirse a estas superficies. Además, la naturaleza blanda y gomosa de los HGs minimiza la irritación del tejido circundante (Descotes, 2004). Los enlaces cruzados entre las distintas cadenas poliméricas dan lugar a un comportamiento viscoelástico y, en ocasiones, puramente elástico, y confieren a un gel su estructura (dureza), elasticidad y contribuyen a su pegajosidad. Los HGs, debido a su importante contenido en agua, poseen un grado de flexibilidad similar al de los tejidos naturales. Es posible modificar la química del hidrogel controlando su polaridad, propiedades superficiales, propiedades mecánicas y comportamiento de hinchamiento (Gulrez et al., 2011).

#### 9.4.2 Comportamiento de hidrogeles

Según las distintas aplicaciones, el hidrogel puede prepararse para responder a diversos estímulos del organismo, como el pH, la fuerza iónica y la temperatura (Chai et al., 2017). Los HGs termo responsables utilizan el cambio de temperatura como desencadenante que determina su comportamiento gelificante sin ningún factor externo adicional. Estos HGs han resultado interesantes para usos biomédicos, ya que pueden hincharse in situ en condiciones fisiológicas y ofrecen la ventaja de una administración cómoda. Contienen componentes hidrófobos e hidrófilos en estructuras generalmente, y el fenómeno de la respuesta térmica se deriva del delicado equilibrio entre las porciones

hidrófobas e hidrófilas del monómero polimérico (Klouda & Mikos, 2008). La temperatura modifica la interacción entre los segmentos hidrófilos e hidrófobos del polímero con las moléculas de agua, por lo que puede inducir un cambio en la solubilidad de la red reticulada, provocando la transición de fase sol-gel (Bajpai et al., 2008). La fase sol se define como un fluido que fluye, mientras que la fase gel no fluye y mantiene su integridad. El cambio del equilibrio entre hidrofiliidad e hidrofobicidad determina el estado macroscópico disuelto de la red de reticulación en una solución acuosa (Jeong et al., 2012). La propiedad de gelificación de los HGs termosensibles puede conseguirse mediante mecanismos microscópicos que dependen de los grupos termosensibles.

#### 9.4.3 Poloxámero 407

El poloxámero 407, o Kolliphor® P 407 por su nombre comercial, se presenta en forma de polvo de color blanco a ligeramente amarillento, de grano grueso y consistencia cerosa, se puede observar el producto en la Figura 14. Dentro de sus beneficios encontramos que es altamente soluble en agua y se utiliza principalmente como espesante y formador de geles, pero también como humectante, emulsionante y solubilizante. Además, presenta una propiedad característica de gelificación termorreversible al enfriarse o calentarse (*Kolliphor® P 407 Geismar | Poloxamers, s/f*).



Figura 14. Kolliphor® P 407(KOLLIPHOR P 407, s/f).

Los poloxámeros son polímeros termorresistentes muy utilizados en el desarrollo de sistemas de gel *in situ*. Estos polímeros son copolímeros tribloque de tipo ABA que se componen de unidades de polioxietileno (A) y polioxipropileno (B) (Giuliano, 2018). Debido a su estructura química, se caracterizan por su naturaleza anfifílica, lo que los convierte en tensioactivos útiles que se emplean en muchos campos industriales (Schmolka, 1994). Entre ellos, el poloxámero 407 (Pluronic 407) se utiliza por su buena capacidad de solubilización, baja toxicidad, buenas características de liberación de fármacos y su compatibilidad con numerosas biomoléculas y excipientes químicos (Dumortier, 2006). Los HGs termorresistentes de P407 se investigan ampliamente como sistemas útiles de administración de fármacos en la mucosa, debido a su acción no irritante sobre las biomembranas y a las oportunidades que ofrecen para administrar fármacos a un compartimento específico, mantener la concentración requerida durante un periodo de tiempo prolongado y disminuir la dosis eficaz y los efectos secundarios (Mayol L., 2011, Mayuri 2018).

#### 9.4.4 Caracterización del hidrogel

Podemos observar las técnicas de caracterización en la Tabla 2. En donde observamos que las tres principales son la microscopía electrónica de barrido (SEM), la técnica de análisis sol- gel y la espectroscopía electrónica de barrido (FTIR), de las cuales, podemos observar sus características a continuación.

Tabla 2. Técnicas de caracterización para HGs

Técnica	Parámetro de evaluación	Descripción	Referencia
<b>Microscopía electrónica de barrido (SEM)</b>	Estructura local del HG	La SEM puede utilizarse para obtener información sobre la topografía de la superficie de la muestra, su composición y otras propiedades como la conductividad eléctrica. La ampliación en SEM puede controlarse en un rango de hasta 6 órdenes de magnitud, desde unas 10 a 500.000 veces. Se trata de una potente técnica ampliamente utilizada para captar la estructura de "red" característica de los hidrogeles.	(Pourjavadi & Kurdtabar, 2007)
<b>Análisis Sol - Gel</b>	Gelification	La técnica sol-gel es una importante herramienta de caracterización, ya que permite estimar parámetros como el rendimiento de la reticulación y la degradación, la dosis de gelificación, etc; y correlacionarse con algunas propiedades fisicoquímicas. La ecuación 5 muestra la relación entre la fracción de sol y la dosis absorbida según la ecuación de Charles By-Pinner. Esta ecuación se utiliza ampliamente para polímeros lineales como la carboximetilcelulosa. $s + \sqrt{s} = \frac{p_0}{q_0} + \frac{2}{q_0 \mu_{2,0} D}$	(Liu et al., 2002)
<b>Espectroscopia infrarroja (FTIR)</b>	Composición e interacción molecular	La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) es una técnica útil para identificar la estructura química de una sustancia. Se basa en el principio de que los componentes básicos de una sustancia, es decir, los enlaces químicos, normalmente pueden excitarse y absorber luz infrarroja a frecuencias típicas de los tipos de enlaces químicos. El espectro de absorción IR resultante representa una huella dactilar de la muestra medida. Esta técnica se utiliza ampliamente para investigar la disposición estructural en hidrogeles por comparación con los materiales de partida.	(Mansur et al., 2004)

## 10. Metodología

### 10.1 Preparación del Hidrogel

Para la preparación del HG se utilizó el Poloxámero 407 (Kolliphor® P 407). Las NPs usadas fueron las CAB-O-SIL® M-5P. Finalmente, se utilizó ácido ascórbico (VC, Drogería Cosmopolita), la apariencia física de estos componentes puede observarse en la Tabla 3. Las características de cada componente se encuentran en la sección 9.4.3, 9.3.2 y 9.2 respectivamente.

El diseño del HG termosensible y la carga de NPs fue establecida a través de la estrategia de diseño de experimentos factorial completo  $2^k$ . En este diseño de experimentos cada factor tiene dos niveles (codificados -1 y +1). Las  $2^k$  ejecuciones experimentales se basan en las  $2k$  combinaciones de los niveles del factor  $\pm 1$ . El *software* utilizado para la definición del sistema fue Minitab 21 (Herramientas estadísticas, de análisis de datos y de mejora de procesos | Minitab, s/f). Se establecieron los factores, niveles y variables de respuesta mostrados en la Tabla 3. De acuerdo a los parámetros obtenidos, la matriz del diseño experimental se muestra a continuación en la Tabla 4.

Tabla 3. Materias primas para la preparación de los HGs

Productos y nombre comercial		
		
Ácido Ascórbico (VC, Drogería Cosmopolita)	NPs SiO <sub>2</sub> ( <i>Cabot Carbon Limited CAB-O-SIL Division Pension Scheme, s/f</i> )	Kolliphor® P 407( <i>KOLLIPHOR P 407, s/f</i> ).

Tabla 4. Factores, niveles y variables de respuesta establecidas para la para creación del diseño experimental factorial  $2^k$ .

Factores	Niveles		Variables de respuesta
	Bajo	Alto	
Concentración de NPs de SiO <sub>2</sub> (%p/v)	0	2	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Viscosidad (cP)</li> <li>• Temperatura de transición sol-gel (°C)</li> <li>• pH</li> </ul>
Concentración de Poloxámero 407 (%p/v)	10	25	

Tabla 5. Matriz de diseño para la optimización del HG termosensible.

Número de experimento	Concentraciones para cada experimento	
	Poloxámero 407 (%p/v)	NPs SiO <sub>2</sub> (%p/v)
1	10	0
2	25	0
3	25	0
4	25	2
5	10	2
6	25	2
7	10	0
8	10	2
9	17.5	1
10	17.5	1
11	17.5	1

El primer paso para la preparación del gel fue la hidratación del poloxámero, dejándolo reposar de igual manera a una temperatura de refrigeración de 4°C para su adecuada dispersión por 24 h. Se preparó una solución 100 mL al 3% de NPs  $SiO_2$ , las cuales habían sido dispersadas bajo fuerza de corte media y posteriormente añadidas al poloxámero hidratado en las cantidades correspondientes. Para cada una de las muestras del HG + NPs se prepararon 10 ml de solución, y se dejó reposar a cada uno en refrigeración por 24 h para la adecuada dispersión de las NPs. Este proceso es mostrado en la Figura 15.

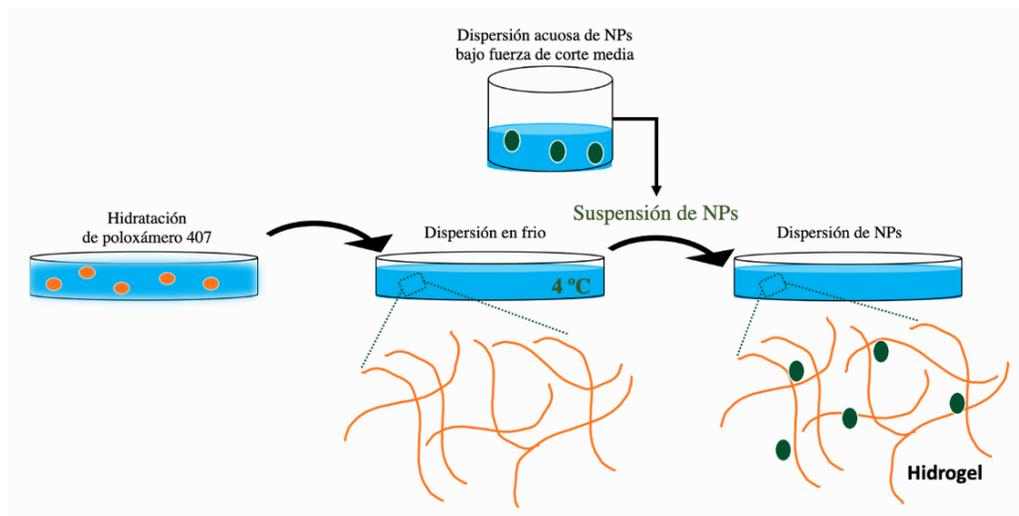


Figura 15. Preparación del HG por el método en frío y dispersión acuosa de las NPs  $SiO_2$  por agitación simple.

## 10.2 Comportamiento termosensible del Hidrogel

Para su optimización, se midieron tres propiedades de cada HG, viscosidad, temperatura de transición sol-gel y pH. Los materiales y equipos usados se muestran en la Tabla 6.

### *Viscosidad*

Para medir la viscosidad, se usó el viscosímetro Brookfield® LVT mostrado en la Tabla 6, capaz de encontrar la viscosidad de muestras pequeñas y además, permitiendo implementar un sistema de circulación de agua para modificar la temperatura de la muestra. Se agregó una circulación constante de agua a  $< 10^{\circ}\text{C}$  al viscosímetro, esto para evitar la solidificación temprana del HG al con el movimiento mecánico de la aguja, además del torque ser medido a una temperatura constante. El viscosímetro contaba con diferentes opciones para las revoluciones por minuto (RPM) aplicadas a la aguja en la sustancia las cuales se eligieron dependiendo al comportamiento del torque de la muestra. Para cada evaluación de un HG diferente se realizó la adecuada calibración y limpieza del equipo.

#### *Medición de pH*

La medición de pH se realizó a través del análisis potenciométrico con el Medidor portátil de pH CONDUCTRONIC ®. Para lo cual se sumergió el electrodo en las muestras correspondientes registrando el valor una vez la lectura se estabilizara.

#### *Temperatura de transición Sol-Gel*

En orden de identificar la temperatura de transición Sol- Gel, se realizó la prueba de inversión de tubo. Se añadió 1 ml de la muestra en pequeños tubos Ependorff®, los cuales, fueron colocados en baño frío (Dry Bath, Benchmark ®), capaz de calentar gradualmente la temperatura de los tubos para empezar el proceso de gelificación. Posteriormente, por cada incremento de temperatura de  $2^{\circ}\text{C}$ , se retira el tubo del baño y se invierte, esto se repitió en un rango de  $6^{\circ}\text{C}$  a  $30^{\circ}\text{C}$ . Finalmente, se registra la temperatura en la cual el HG deja de fluir.

Tabla 6. Materiales utilizados para la optimización del HG

Equipos necesarios para la optimización del HG		
Viscosidad	Transición Sol- Gel	Evaluación de pH
		
Viscosímetro Brookfield(r) LVT	Baño en frío para tubos Ependorff	Medidor de pH digital

Una vez ejecutado los diferentes experimentos, a través de las herramientas del *software* previamente mencionado, se procedió a analizar la influencia de los factores estudiados y a encontrar las condiciones óptimas en las cuales el HG mostrará las propiedades adecuadas para los fines buscados. Se fabricó el HG optimizado el cual sirvió como base para las siguientes etapas.

### 10.3 Incorporación de la VC

La incorporación de VC en las NPs de  $SiO_2$  se realizó por disolución y posterior mezclado con la suspensión de NPs por un tiempo de 24 h, para posteriormente, cuantificar la VC incorporada a través de un método espectrofotométrico UV-VIS a 280 nm, previamente validado (Figura 14.) para obtener la eficiencia de encapsulación (EE, Ecuación 1) y la eficiencia de carga (EC, Ecuación 2). Las NPs cargadas con VC fueron incorporadas dentro de la base de HG previamente optimizada por agitación simple.

Ecuación 1 (Mei et al., 2019)

$$EE(\%) = \frac{[Cantidad\ total\ de\ VC\ (mg) - Cantidad\ no\ encapsulada\ (mg)]}{Cantidad\ total\ de\ VC\ (mg)} \times 100$$

Ecuación 2 (Wang et al., 2022)

$$EC(\%) = \frac{Cantidad\ encapsulada\ de\ VC\ (mg)}{Cantidad\ total\ de\ NPs}$$

#### 10.4 Técnicas de Caracterización

Las técnicas de caracterización realizadas comprenden el perfil termoreológico, espectroscopía de infrarrojo (FTIR/ ATR), microscopía electrónica de barrido SEM y prueba de dispersión como se muestra en la Tabla 7 con los materiales y/o equipos principales de la técnica. Los HG caracterizados fueron HG base (HG B), HG con NPs  $SiO_2$ (HG + NPs) e HG con NPs cargadas con VC (HG VC). Para dos de las pruebas se utiliza el HG en estado líquido (Comportamiento termosensible y prueba de dispersión), mientras que para las siguientes dos pruebas se utiliza el HG en estado sólido (SEM y FITR). Para poder lograr obtener los HGs en estado sólido, se utilizó la técnica de liofilización, para la cual se colocaron 3 ml de cada HG en un ultracongelador (VIP plus, Panasonic ®) a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, se sometieron al proceso de liofilizado (Liofilizadora Freezone 6LT, LABCONCO ®) bajo las siguientes condiciones:  $-84\text{ }^{\circ}\text{C}$  para la temperatura del colector y un vacío de 0.003 mBar por 5 h.

Tabla 7. Equipos necesarios para las técnicas de caracterización utilizadas.

Equipos y material necesario para la optimización del HG		
Espectroscopía de infrarrojo (FTIR/ATR)	Microscopía electrónica de barrido (SEM)	Prueba de dispersión
		
Agilent Cary 630 ATR-FTIR analyzer	Microscopio electrónico de barrido	Atomizador comercial

#### 10.4.1 Transición sol - gel

Se colocaron 3 ml de cada HG en un tubo de muestra, el cual fue sometido al contacto con temperatura corporal humana, evaluando así la capacidad termosensible de los diferentes HGs y la transición sol- gel de cada uno.

#### 10.4.2 Análisis espectroscópico infrarrojo (FTIR)

Los espectros infrarrojos de los HG se obtuvieron utilizando el espectrómetro Spectrum Agilent Cary 630 FTIR en el rango de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Para lo cual se coloca una muestra de las materias primas y de los HG sobre el cristal de diamante y se realiza un barrido de 150 escaneos a una resolución de 16 en unidades de porcentaje de transmitancia.

### 10.4.3 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La morfología, tamaño y microestructura del HG B y el HG + NPs se caracterizaron mediante microscopía electrónica de barrido, SEM (Tescan MAIA3) y se observaron utilizando un voltaje de aceleración de 6.8 kV. Los especímenes se montaron perpendicularmente a su superficie sobre soportes de aluminio y se fijaron utilizando cinta de carbono. Una vez obtenida la imagen de la muestra, se realizó el análisis de la estructura de los HGs y se hizo una gráfica respecto a su tamaño. Para ello se midieron aproximadamente 200 partículas con la herramienta ImageJ, estas mediciones se metieron al *software* Minitab y se generó un gráfico tipo histograma.

### 10.4.4 Prueba de dispersión

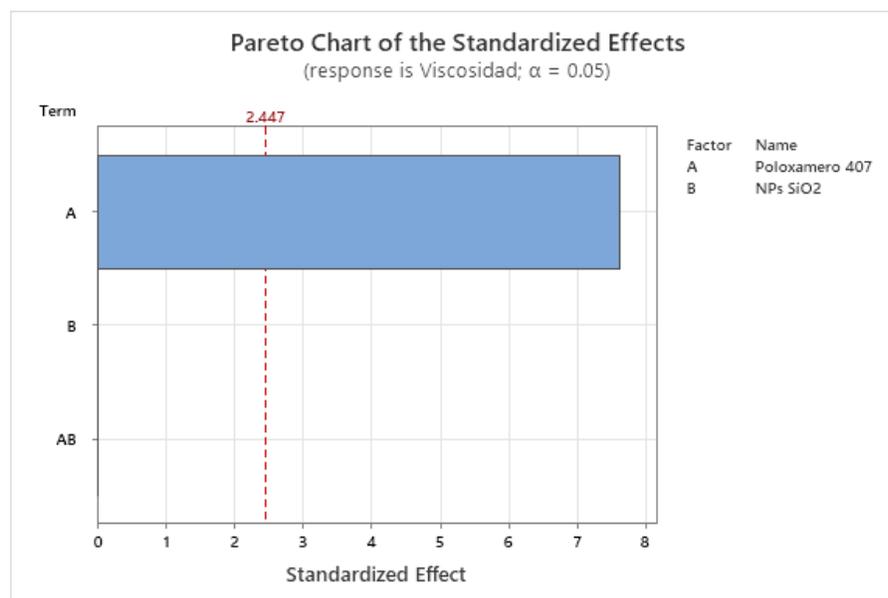
Para esta prueba se colocaron 2 gotas de colorante blanco a los HGs, fueron mezclados y posteriormente colocados en envases comerciales de *spray*. Se prepararon 3 áreas diferentes para cada uno de los HGs conformadas por una base de cartón negro grueso. Además, para poder cuantificar la cantidad de HG depositada por número de aspersiones se seleccionó un área  $5 \text{ cm}^2$ , la cual posteriormente fue recortada para cuantificar la cantidad de HG mediante la diferencia de masas.

## 11. Resultados y discusión

Al llevar a cabo el diseño experimental, se encontró que la concentración de Poloxámero 407 fue el único factor que afectó de forma significativa ( $p < 0.05$ ) el comportamiento de las variables de respuesta estudiadas, esto se puede observar en la Gráfica 1, 2 y 3, que nos muestran el efecto estandarizado de la influencia de ambos factores en las variables de respuesta para viscosidad, temperatura de gelificación y pH correspondientemente, así como los datos de cada uno en la Tabla 8, esta tendencia se debe a que el Poloxámero, además de ser el de mayor concentración, es el que debido a sus propiedades termosensibles modifica la temperatura de gelificación acorde a su concentración. Con

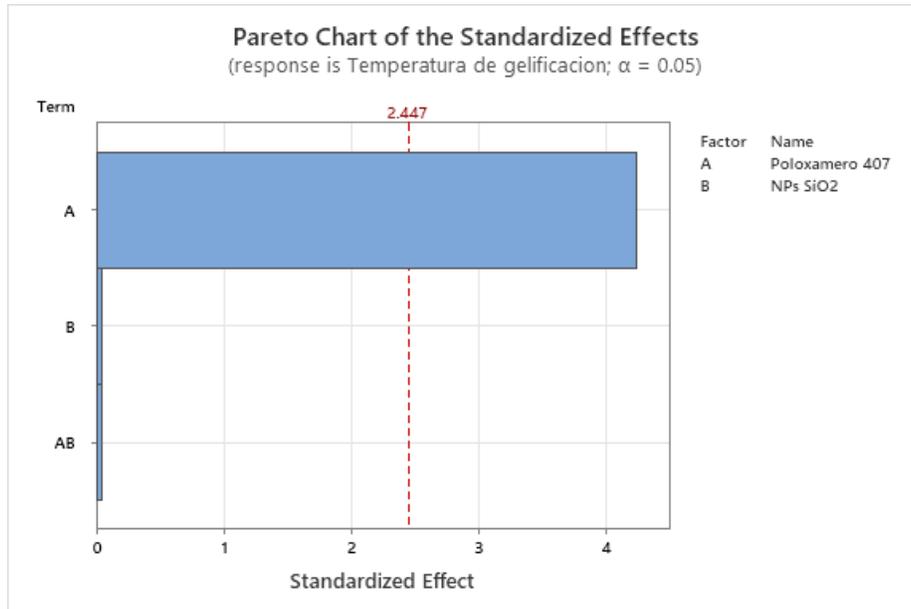
base en el análisis, se estableció una concentración de 17.5 % del poloxámero y 1 % de NPs de  $SiO_2$  y cuanto baste para agua en el HG VC, el cual presentó un pH de 5.35 +/- 0.22.

La evaluación del comportamiento termosensible del HG VC, mostró que el incremento significativo de la viscosidad ocurre por arriba de los 25 °C con más de 1,000 cP con un  $p < 0.05$  en cada uno de las medidas reportadas como podemos observar en la Gráfica 4. Cuando la temperatura llega a más de 30 °C, algunas de las muestras superan el 100% de capacidad del torque permitido por el equipo, el torque fue medido al llegar a 99% su capacidad. Sin embargo, se comprueba que al exponerse el HG a la temperatura de la piel, el HG estaría completamente en estado sólido. La temperatura de la piel en una herida crónica puede variar dependiendo de varios factores, como la ubicación de la herida, la gravedad de la lesión, el estado general de salud del paciente y la presencia de infección. Sin embargo, en general, la temperatura normal de la piel en adultos es de alrededor de 36 a 37 °C (Kim, J. 2020). Al estar en una temperatura elevada en comparación con la piel circundante, puede ser un indicio de infección en la zona inclusive.

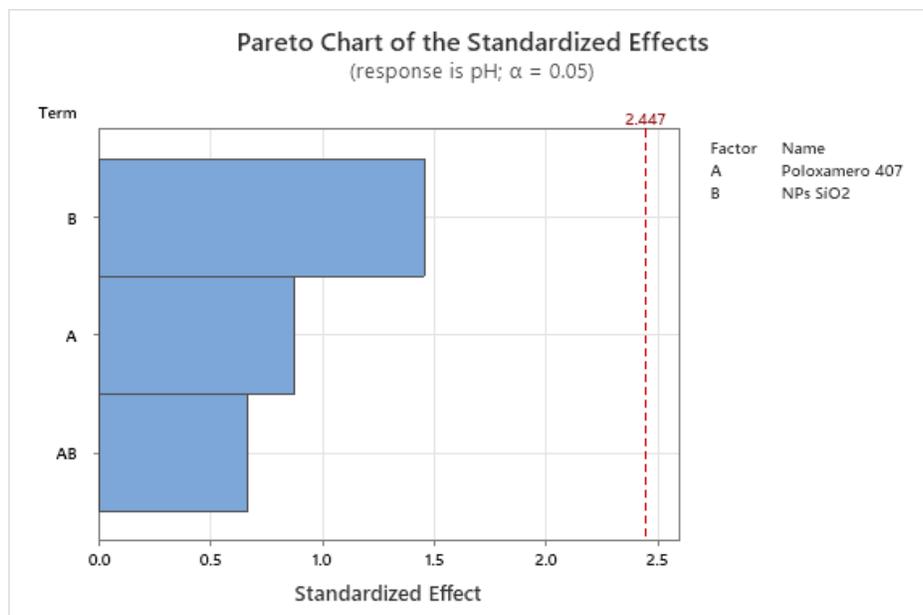


Gráfica 1. Efecto estandarizado de la influencia de ambos factores (Concentración de Poloxámero 407 (% p/v) y NPs de  $SiO_2$  (% p/v)) en la variable de respuesta de viscosidad.

del HG.



Gráfica 2. Efecto estandarizado de la influencia de ambos factores (Concentración de Poloxámero 407 (% p/v) y NPs de  $SiO_2$  (% p/v)) en la variable de respuesta de temperatura de gelificación del HG.



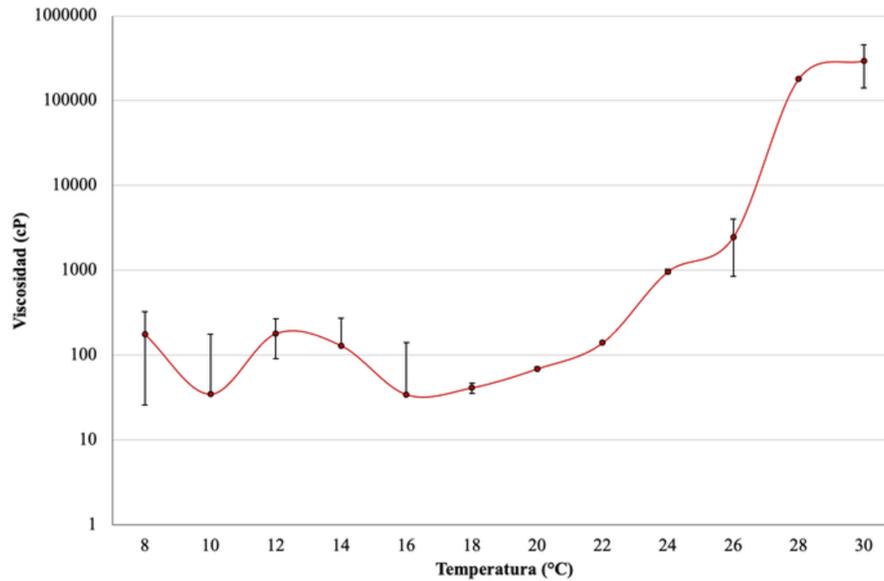
Gráfica 3. Efecto estandarizado de la influencia de ambos factores (Concentración de Poloxámero 407 (% p/v) y NPs de  $SiO_2$  (% p/v)) en la variable de respuesta de pH del HG.

Tabla 8. Resultados para las variables de respuesta estudiadas de cada corrida experimental con base en la matriz de diseño generada.

Número de experimento	Concentraciones para cada experimento		Variables de respuesta		
	Poloxámero 407 (%p/v)	NPs $SiO_2$ (%p/v)	Viscosidad (cP)	Temperatura de viscosidad (°C)	pH
1	10	0	7.94	22.9	5.4
2	25	0	322,800	17	5.49
3	25	0	317,000	11.1	5.8
4	25	2	316,000	12.1	4.7
5	10	2	97.59	23	5.17
6	25	2	324,100	10.87	5.68
7	10	0	6.95	22.9	5.22
8	10	2	18.19	22.8	5.11
9	17.5	1	155.4	23.3	5.30
10	17.5	1	254.7	21.4	5.36
11	17.5	1	170	22.8	5.43

Tabla 9 . Datos de viscosidad a diferentes temperaturas para la generación del perfil termosensible del HG.

<b>Evaluación de Viscosidad del HG a temperaturas diferentes</b>					
<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Muestra 1</b>	<b>Muestra 2</b>	<b>Muestra 3</b>	<b>Promedios Muestras</b>	<b>Intervalo de confianza</b>
	<b>(cP)</b>				
<b>6</b>	34.73	268	40	114.24	150.70
<b>8</b>	34.73	218	277	176.57	142.95
<b>10</b>	34.73	193	114	35	89.54
<b>12</b>	34.73	253	254	180.57	142.92
<b>14</b>	29.77	144	218	130.59	107.30
<b>16</b>	29.77	40	34	34.59	5.81
<b>18</b>	44.65	40	40	41.55	3.03
<b>20</b>	69.45	69	69.65	69.36	0.37
<b>22</b>	104.2	119	198	140.4	57.06
<b>24</b>	168	138	2600	968.66	1598.76
<b>26</b>	2252	183	4941	2458.66	2699.65
<b>28</b>	229300	25400	286100	180266	155131.79
<b>30</b>	294400	297000	300,000	297133	3171.13



Gráfica 4. Perfil de viscosidad en relación con la temperatura para el HG optimizado (Poloxámero 407 al 17.5%, SiO<sub>2</sub> al 1%).

### 11.1 Absorbancia la Vitamina C

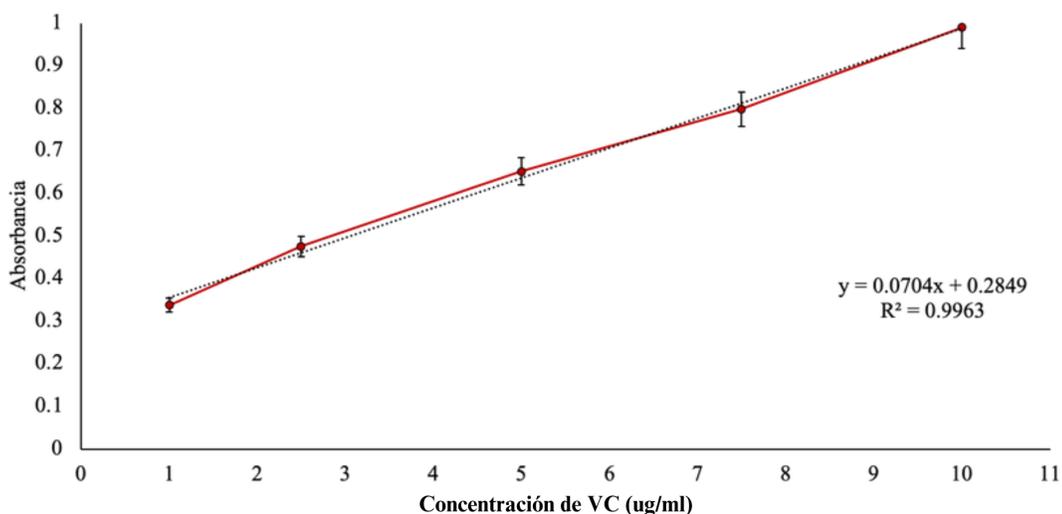
La cantidad máxima de luz absorbida por la VC fue reportada en 280 nm, por lo que se estableció como la longitud de onda de excitación de la VC y se midieron posteriormente las absorbancias con diferentes concentraciones, la cual se puede observar en la Gráfica 5. Una vez obtenidas las absorbancias de las distintas concentraciones se se evaluó la linealidad de la curva, para la cual se obtuvo la ecuación mostrada a continuación, la cual, se usó para determinar la eficiencia de encapsulación más adelante.

$$y = 0.0704 x + 0.2849 \dots \dots \dots \text{Ecuación 3}$$

Donde:

y = absorbancia.

x = concentración



Gráfica 5. Curva de absorbancia vs concentración de VC (ug/ml)

### 11.2 Eficiencia de encapsulación de la VC en las NPs $SiO_2$

La EE nos dio un resultado promedio de las tres muestras de 33.12%, como podemos observar en la Tabla 10. Esto nos indica que nos encontramos con 16.6 ug/mL de VC, lo que equivale a tener una carga al 1.7% de VC. Aunque para ciertas fuentes el 5 % de concentración es sugerido para la cicatrización de heridas (Kim et al., 2013), también se recalca la intervención de factores como la estabilidad y la penetración en la piel, que en este caso en particular están ligadas al uso de las NPs  $SiO_2$ , lo cual, genera un impacto positivo en la absorción de la VC, considerando esta encapsulación suficiente. Cabe resaltar que se encontró una desviación estándar de 8.40% y se tomó en cuenta un intervalo de confianza (IC) al 95%. Posteriormente, para la EC se obtuvo de 1.65 ug/mg en promedio de las muestras. En este caso, se refiere a una cantidad de 1.65 ug de VC encapsulado por cada miligramo de NPs totales utilizado en el proceso de encapsulación. El valor de 1.65 ug/mg

puede considerarse como una eficiencia de carga relativamente alta, ya que indica que una cantidad significativa de las VC considerando la hidrofilia de la VC y de las NPs.

Tabla 10. Resultados de cuantificación de la VC libre y encapsulada. Eficiencia de encapsulación y capacidad de carga promedio de las muestras medidas por triplicado de 10 mg de VC en 200 ml de agua destilada con NPs al 1% de muestra.

Cuantificación de VC libre y encapsulado								
10 mg de VC en 200 ml de agua destilada (50 ug/ml) con NP al 1% / muestra								
Número de muestra	Aborbancia medida a 280 nm	Concentración de VC según curva de absorbancia ( $y = 0.0158x + 0.1325$ ) en ug/ml	ug VC LIBRES	ug VC TOTALES	ug VC ENCAPSULADOS	mg de NP colocadas	%EE	EC (ug/mg)
1	0.65470	33.05	6610.13	10000	3389.87	2000	33.89	1.69
2	0.59770	29.44	5888.60	10000	4111.39	2000	41.11	2.05
3	0.73000	37.81	7563.29	10000	2436.70	2000	24.36	1.21

### 11.3 Microscopía electrónica de barrido SEM

Con esta prueba se pudieron observar ciertas características morfológicas y estructurales del HG y de las NPs. En la superficie del HG B, se pueden observar pequeñas protuberancias y rugosidades que están relacionadas con la estructura física del material, no se observan detalles en la superficie del mismo (Figura 15 A). Para el caso de las NPs, podemos observar su morfología esférica, así como su distribución, se encuentran aglomeradas (Figura 15 B). Finalmente, en el caso de la incorporación de las NPs en el HG mostrado en la Figura 15 C se pueden ver en las pequeñas estructuras esféricas incorporadas en la superficie. Por lo tanto, podemos observar que efectivamente las NPs están presentes en la matriz del HG B, incorporándose adecuadamente. El gráfico del tamaño de las NPs reportado con el uso de la

herramienta *ImageJ* y el *Software Minitab* ronda en  $109.2 \pm 21.36$  nm, se puede observar en la Figura 16.

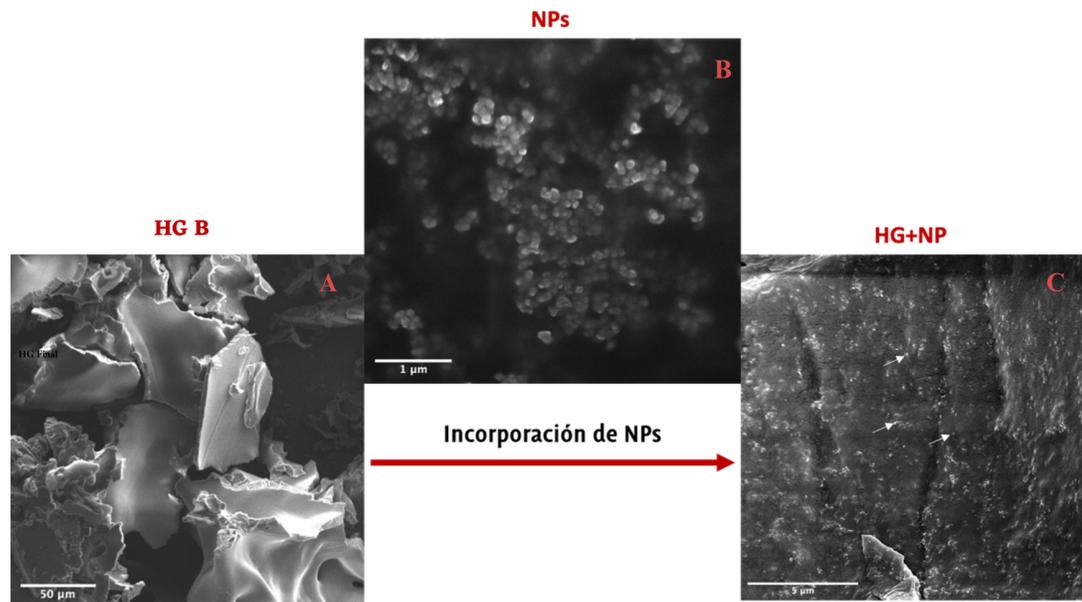


Figura 16. Microscopía Electrónica de barrido (SEM) de HG B e incorporación de NPs A)

HG B, B) NPs, C) HG+NPs

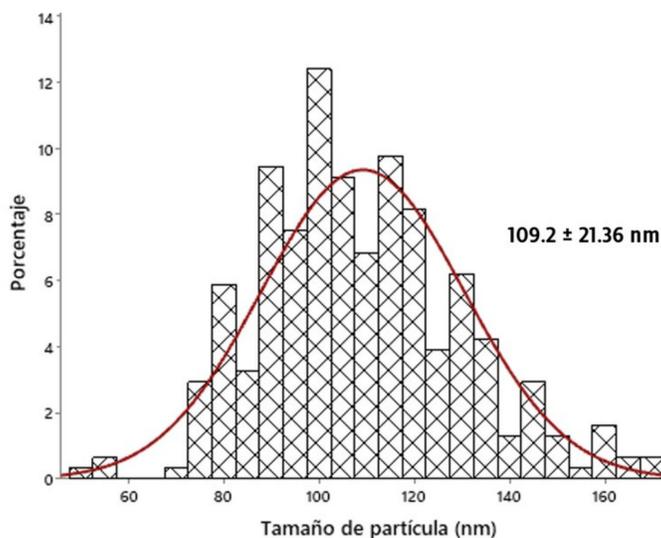


Figura 17. Gráfica de tamaños de NPs  $SiO_2$  en nm y porcentaje promedio.

#### 11.4 Análisis por espectroscopía infrarroja por transformadas de Fourier (FTIR)

Este análisis nos permitió observar las bandas de absorción en diferentes frecuencias de las materias primas y de los HG caracterizados. Podemos observar en la Figura 18 que banda de absorción de cada materia es muy diferente, el Poloxámero 407 cuenta con un pico característico en la número de onda de 3000  $1/cm$ , generalmente la banda alrededor de los 2800 se asocia a  $-CH_2$ , mientras que la banda alrededor de los 1100  $1/cm$ , está relacionada con:  $-C-O-C-$ . La VC presenta algunas señales por arriba de los 1,700 y las NPs no presentan picos de absorción hasta los 1750  $1/cm$ . Para el HG + NPs podemos observar que predomina la banda del Poloxámero 407 debido a que su porcentaje es mucho mayor (17.5 %) mientras que el de las NPs es de 1%. En el HG VC podemos observar que sucede lo mismo, a pesar de que se cuenta con la VC encapsulada por las NPs, la banda que predomina es la del Poloxámero, sin embargo, también podemos observar pequeñas características de las bandas de las materias primas en el HG VC.

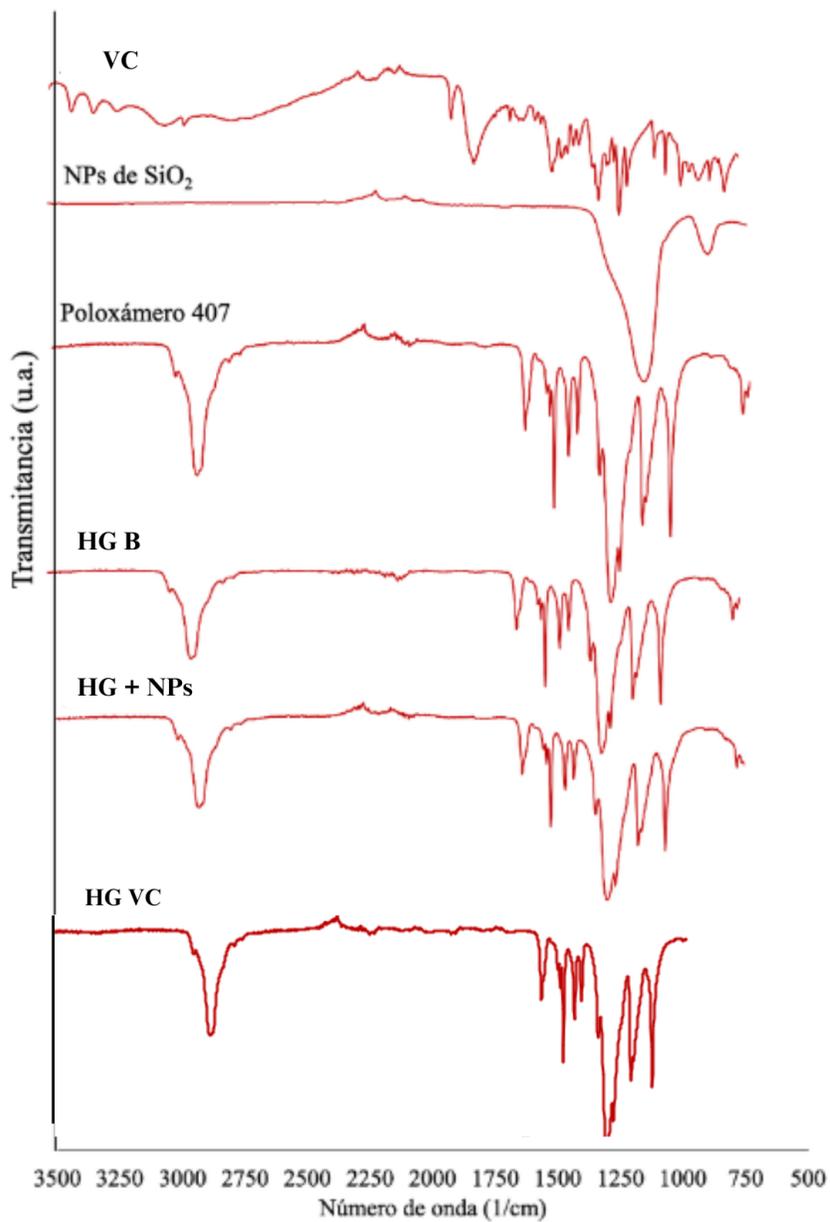


Figura 18. Espectros de infrarrojo de las materias primas y HGs fabricados.

### 11.5 Temperatura transición sol-gel

En el siguiente diagrama podemos observar los resultados obtenidos para la prueba de transición sol- gel de los distintos HGs. Para el caso del HG B, el HG + NPs y el HC VC, se presenta el comienzo de gelificación por arriba de los 21 °C, donde comienza a

observarse el gel de una apariencia más viscosa hasta el punto de ser difícil de fluir. El punto de transición de gelificación total queda por arriba de los 27.5 °C, lo que nos permite comprobar que el HG gelificará haciendo contacto con la temperatura de la piel, en el siguiente diagrama podemos observar el comportamiento mencionado (Figura 18).

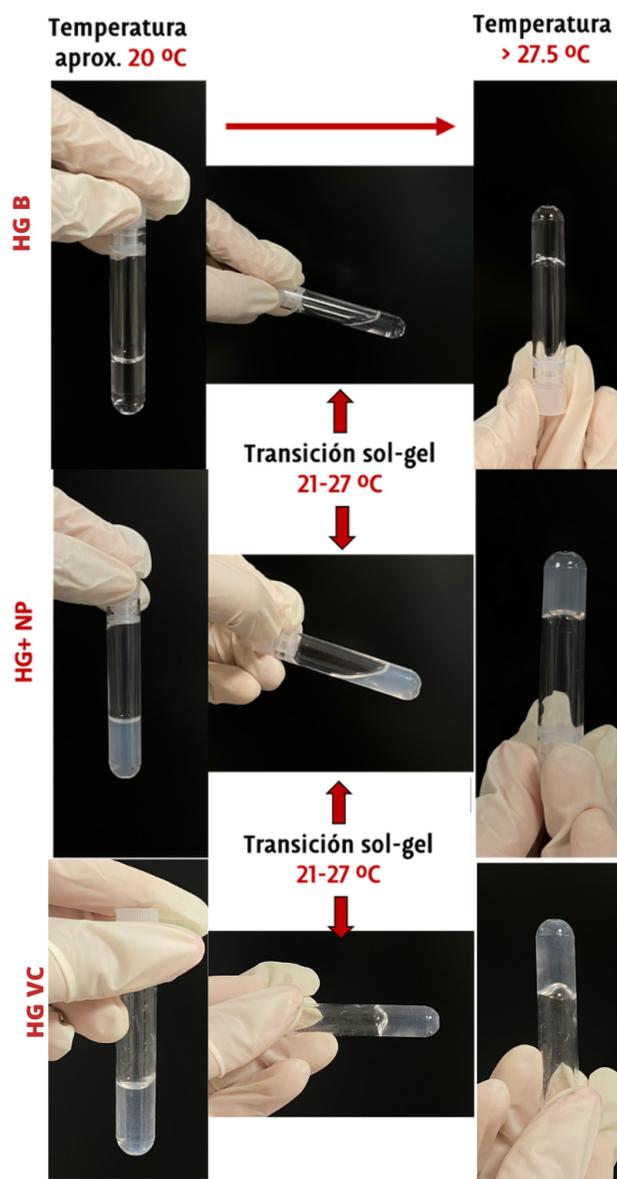


Figura 19. Transición sol- gel de los HG, comportamiento a 20 °C, 21- 27 °C y superior a 27.5 °C.

### 11.6 Prueba de dispersión del HG

Como resultado de la prueba podemos observar que se presenta una mejor dispersión con un número de tres atomizaciones del HG como se presenta en la Figura 20, por lo que sería recomendable una aplicación de 3 a 4 atomizaciones para proporcionar una capa adecuada al paciente. La dispersión del HG B, HG + NPs y el HG VC, no tiene diferencias significativas en la formación de capa. Aunque no hay un tamaño promedio universal para las heridas crónicas, ya que pueden variar ampliamente en tamaño dependiendo de la causa subyacente y la ubicación en el cuerpo, se han reportado diferentes estudios que muestran un promedio de aproximadamente  $5 \text{ cm}^2$ . En un estudio de 61 pacientes con úlceras venosas de la pierna, el tamaño promedio de la herida fue de  $5.5 \text{ cm}^2$  (López-López et al., 2017). En otro estudio de 70 pacientes con úlceras por presión en el sacro, el tamaño promedio de la herida fue de  $5.2 \text{ cm}^2$  (Reddy et al., 2013). En un estudio de 54 pacientes con úlceras diabéticas en el pie, el tamaño promedio de la herida fue de  $4.1 \text{ cm}^2$  (Yap et al., 2015). De acuerdo con el área seleccionada ( $5 \text{ cm}^2$ ) se obtuvo que la cantidad de HG VC fue de aproximadamente  $80 \pm 7 \text{ mg}$  por cada 3 atomizaciones, lo que representa un total de  $1.28 \text{ ng}$  de VC aplicada.

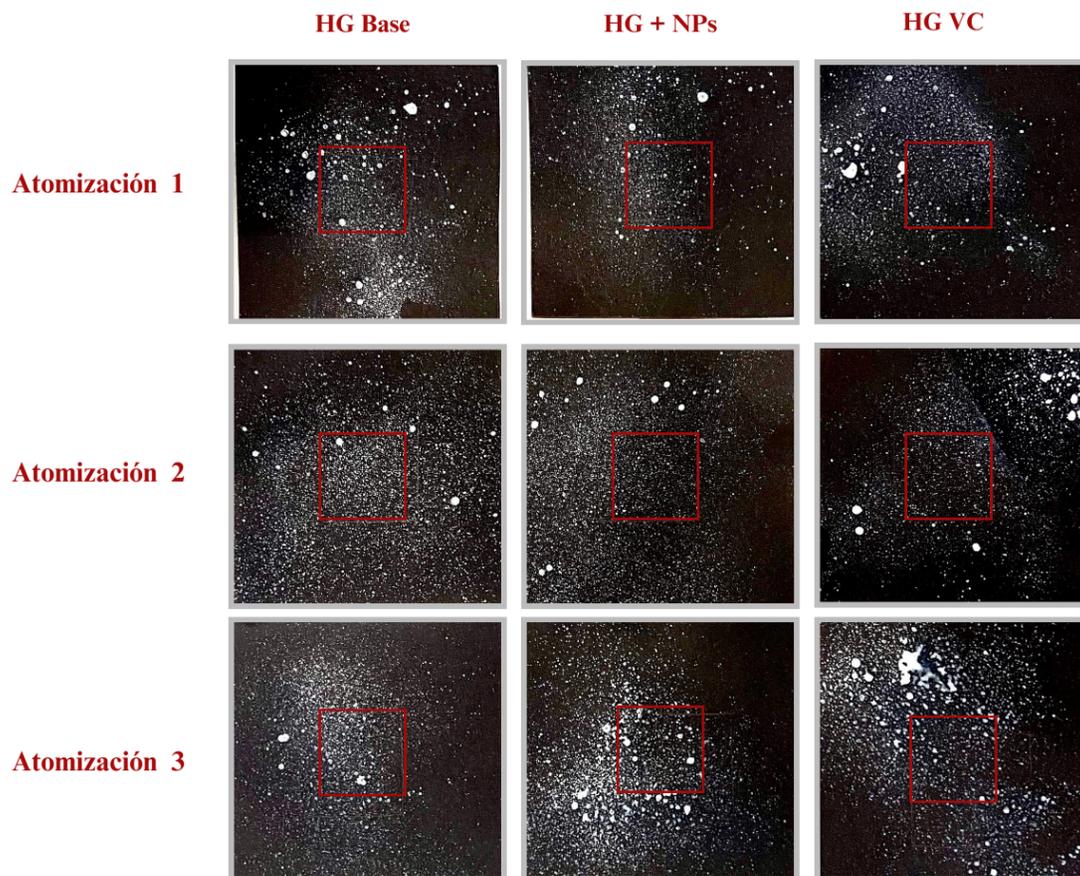


Figura 20. Capa formada por atomizaciones de los diferentes HGs con un área de dispersión de  $5 \text{ cm}^2$  seleccionada por el cuadro rojo.

## 12. Conclusiones y recomendaciones

La concentración establecida para los HGs, 17.5 % Poloxámero 407 y 1 % de NPs  $SiO_2$  funcionalizadas, demostró tener resultados óptimos en las pruebas termosensibles, de optimización y gelificación. Por un lado, comprobamos que la encapsulación de la VC fue posible con una %EE del 33.3% y una EC de 1.06 ug/ml, con lo que podemos asegurar una acción para el propósito deseado. Por otro lado, en la prueba SEM observamos la incorporación de las NPs comprobando su integración en la matriz, mientras que en la prueba FTIR observamos que la banda predominante es la del Poloxámero 407, esto debido al porcentaje del compuesto en el producto, analizamos que la banda alrededor de los 2800 se asocia a al grupo funcional -CH<sub>2</sub>, mientras que la banda alrededor de los 1100 cm<sup>-1</sup>, está relacionada con el grupo -C-O-C-. Para la prueba termosensible, se comprobó se presenta un punto de transición a gel posterior a los 27.5 °C, teniendo contacto con una herida cutánea el gel solidificará formando una capa bien distribuída gracias a la aplicación por atomización al encontrarse en una temperatura corporal humana (<35 °C). La prueba de dispersión comprobó que un mínimo de 3 atomizaciones por el dispersor puede proporcionar una capa suficientemente distribuída para ser potencialmente efectiva en la herida contando con una cantidad de 80 +/- 7 mg de HG VC. Finalmente, podemos concluir que el producto cuenta con características que serán de ayuda en la cicatrización de una herida crónica, contando con cierta ventaja sobre otros productos en el mercado, como la aplicación sin manipulación directa con la herida al ser mediante aplicación de *spray*, su propiedad antimicrobiana gracias a las NPs, y los beneficios con los que cuenta la estructura del HG al ser un material semejante a la estructura del tejido y propiciando su regeneración. Se debe mantener el producto en refrigeración. Aún se deben de realizar las pruebas *in vitro* y posteriormente las *in vivo* para poder ofrecerlo en el mercado, pero la

perspectiva de orientarlo al campo de acción de las heridas crónicas en los hospitales es amplia y seguramente sería adquirido por estas áreas.

### 13. Perspectivas

Como perspectivas más cercanas se incluyen realizar pruebas en células *in vitro* para evaluar la eficacia y seguridad del HG antes de su evaluación para su uso en heridas en animales y posteriormente en humanos.

Las posibles células a utilizar para los modelos *in vitro* incluyen principalmente tres tipos de células, cuyas estructuras se muestran en la Figura 21.

- Queratinocitos: Siendo las células principales que componen la capa más externa la epidermis es de gran relevancia probar el producto en ella pues estas son responsables de proporcionar una barrera protectora contra el ambiente y ayudan en la cicatrización de heridas.
- Células del sistema inmunológico: Estas células incluyen los linfocitos T, los macrófagos y los neutrófilos, sería importante probar el producto para observar la respuesta de las células con la aceptación del producto.
- Melanocitos: Estas células son responsables de proteger la piel de los dañinos rayos UV del sol, producen el pigmento que da color a la piel y serían relevantes debido al efecto de las ROS.

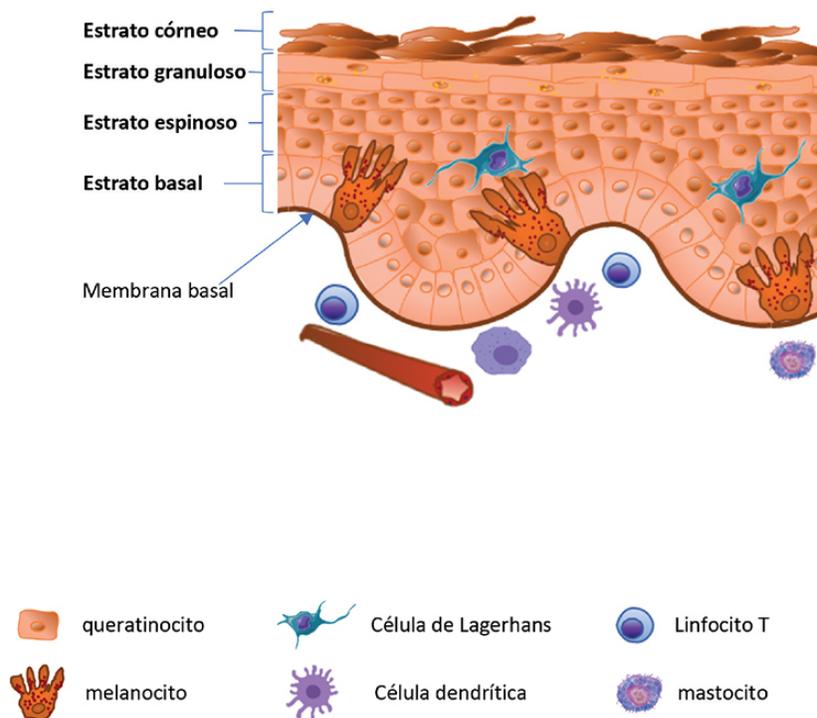


Figura 21. Estructura de la epidermis en la piel sana subdividida en los estratos que la constituyen y células que forman parte, queratinocitos, melanocitos y células inmunológicas (Imagen tomada de Albanesi et al., 2018)

Las pruebas de eficacia incluirían una prueba de penetración cutánea y la observación de la actividad biológica con las células tisulares. Para las pruebas de seguridad se incluirían pruebas de irritación y sensibilidad dérmica, pero sobre todo pruebas de toxicidad celular, las cuales se espera solo muestran que no existe daño en las células dérmicas.

Se buscarán alternativas para evadir el uso de animales para las pruebas *in vivo* del HG, sin embargo, es importante reconocer que probar el HG en heridas de animales inducidos a una enfermedad crónica como la diabetes, nos daría un panorama más amplio sobre la eficacia del producto comparado con la sanación de una herida a la que no se le aplica el mismo.

Siendo el caso, los modelos animales que se pueden utilizar para evaluar la efectividad y seguridad son:

- Ratas y ratones: Se pueden utilizar para evaluar la irritación dérmica, la permeabilidad cutánea, la liberación de fármacos y la cicatrización de heridas. Además, de que se ha demostrado se pueden utilizar ratones diabéticos para tratar de un caso más real de una herida crónica (Shi et al., 2022, Zhang et al., 2019).
- Conejos: Tienen una piel más delgada y sensible que los ratones y las ratas, lo que los hace más apropiados para evaluar la irritación cutánea y la permeabilidad (Nagpal et al., 2018, Shi et al., 2018).
- Cerdos: Su piel es muy similar a la piel humana en términos de estructura y composición, lo que los hace muy útiles para la evaluación de HGs para aplicación cutánea. Se pueden utilizar para evaluar la irritación dérmica, la permeabilidad cutánea, la liberación de fármacos y la cicatrización de heridas (Li et al., 2019).
- Ovejas: De igual forma, tienen una piel similar a la piel humana, y se utilizan a menudo para la evaluación de HG para aplicación cutánea. Se pueden utilizar para evaluar la permeabilidad cutánea, la liberación de fármacos y la cicatrización de heridas (Ribeiro et al., 2019).

El *spray* se espera pueda tener aplicación clínica para hospitales y venderse comercialmente para que los pacientes con enfermedades crónicas puedan tener acceso fácil a este producto para el tratamiento adecuado de sus heridas (Figura 22). Se espera de igual manera que el costo sea accesible para los consumidores compitiendo con productos para el cuidado de la piel y su regeneración que dependiendo de la marca, la concentración de ingredientes activos, el tamaño del envase y el lugar de compra pueden oscilar entre los

100 y los 500 MXN por un envase de tamaño promedio, precio con el que el producto estaría compitiendo.



Figura 22. Perspectiva de aplicación del producto final en *spray* sobre pie diabético.

## Referencias

1. Anu Mary Ealia, S., & Saravanakumar, M. P. (2017). A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 263, 032019. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/263/3/032019>
2. *Apósitos de polímeros naturales para regeneración de piel*. (s/f). Recuperado el 10 de marzo de 2023, de [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0188-95322016000300235&script=sci\\_arttext\\_plus&tlng=es](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0188-95322016000300235&script=sci_arttext_plus&tlng=es)
3. Apósitos de polímeros naturales para regeneración de piel. (2016). *Revista mexicana de ingeniería biomédica*, 37(3), 235–249. <https://doi.org/10.17488/RMIB.37.3.4>
4. *Ascorbic Acid—The Chemical Company*. (s/f). Recuperado el 10 de marzo de 2023, de <https://thechemco.com/chemical/ascorbic-acid/>
5. Bilbao, N. (2009). Antisépticos y desinfectantes. *Farmacia Profesional*, 23(4), 37–39.
6. Bajpai, A. K., Shukla, S., Bhanu, S., & Kankane, S. (2008). Responsive Polymers in Controlled Drug Delivery. *Progress in Polymer Science*, 33, 1088–1118. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2008.07.005>
7. Bitar, A., Ahmad, N., Fessi, H., & Elaissari, A. (2012). Silica-based nanoparticles for biomedical applications. *Drug discovery today*, 17, 1147–1154. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2012.06.014>
8. Borena, B. M., Martens, A., Broeckx, S. Y., Meyer, E., Chiers, K., Duchateau, L., & Spaas, J. H. (2015). Regenerative Skin Wound Healing in Mammals: State-of-the-Art on Growth Factor and Stem Cell Based Treatments. *Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, 36(1), 1–23. <https://doi.org/10.1159/000374049>
9. Bowers, S., & Franco, E. (2020). Chronic Wounds: Evaluation and Management. *American Family Physician*, 101(3), 159–166.
10. Burke, K. E. (2004). Photodamage of the skin: Protection and reversal with topical antioxidants. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 3(3), 149–155. <https://doi.org/10.1111/j.1473-2130.2004.00067.x>
11. *Cab-O-Sil M5P*. (s/f). Recuperado el 9 de marzo de 2023, de <https://www.univarsolutions.com/cab-o-sil-m5p-16121378>
12. *Cabot Carbon Limited CAB-O-SIL Division Pension Scheme*. (s/f). Cabot Corporation. Recuperado el 9 de marzo de 2023, de <https://www.cabotcorp.com/information/cabot-carbon-limited-cab-o-sil-division-pension-scheme>
13. *Calcium-Dependent Conformation of Desmoglein 1 Is Required for its Cleavage by Exfoliative Toxin—Journal of Investigative Dermatology*. (s/f). Recuperado el 27 de marzo de 2023, de [https://www.jidonline.org/article/S0022-202X\(15\)30370-5/fulltext](https://www.jidonline.org/article/S0022-202X(15)30370-5/fulltext)
14. Caritá, A. C., Fonseca-Santos, B., Shultz, J. D., Michniak-Kohn, B., Chorilli, M., & Leonardi, G. R. (2020). Vitamin C: One compound, several uses. Advances for delivery, efficiency and stability. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 24, 102117. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2019.102117>
15. Chai, Q., Jiao, Y., & Yu, X. (2017). Hydrogels for Biomedical Applications: Their

- Characteristics and the Mechanisms behind Them. *Gels*, 3(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/gels3010006>
16. *Columna vertebral*. (s/f). Kenhub. Recuperado el 11 de marzo de 2023, de <https://www.kenhub.com/es/library/anatomia-es/columna-vertebral>
  17. *CORPORECTOMÍA de lumbar 5—De búsqueda*. (s/f). Recuperado el 11 de marzo de 2023, de <https://mx.search.yahoo.com/search?fr=mcafee&type=E210MX91215G0&p=CORPORECTOM%C3%8DA+de+lumbar+5>
  18. Department of Nanotechnology, SRM University, Kaatankulathur, Tamil Nadu, India, J., P., K., V., T., A., T., K., C., R., S. R., Rubab, M., Khan, I., Elahi, F., Oh, D.-H., & G., D. (2019). Application of Nanoparticles in Food Preservation and Food Processing. *Journal of Food Hygiene and Safety*, 34(4), 317–324. <https://doi.org/10.13103/JFHS.2019.34.4.317>
  19. Descotes, J. (Ed.). (2004). Chapter 9 Regulatory aspects of immunotoxicity evaluation. En *Immunotoxicology of Drugs and Chemicals: An Experimental and Clinical Approach* (Vol. 1, pp. 257–268). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S1873-9822\(04\)80010-8](https://doi.org/10.1016/S1873-9822(04)80010-8)
  20. *Difference Between Silica and Silicon Dioxide*. (2018, agosto 20). Compare the Difference Between Similar Terms. <https://www.differencebetween.com/difference-between-silica-and-silicon-dioxide/>
  21. *Difference Between Silica and Silicon Dioxide | Compare the Difference Between Similar Terms*. (s/f). Recuperado el 20 de marzo de 2023, de <https://www.differencebetween.com/difference-between-silica-and-silicon-dioxide/>
  22. Ehrenreich, M., & Ruszczak, Z. (2006). Update on tissue-engineered biological dressings. *Tissue Engineering*, 12(9), 2407–2424. <https://doi.org/10.1089/ten.2006.12.2407>
  23. *Energies | Free Full-Text | Binding Materials for MOF Monolith Shaping Processes: A Review towards Real Life Application*. (s/f). Recuperado el 3 de abril de 2023, de <https://www.mdpi.com/1996-1073/15/4/1489>
  24. Feynman, R. P. (1992). There's plenty of room at the bottom [data storage]. *Journal of Microelectromechanical Systems*, 1(1), 60–66. <https://doi.org/10.1109/84.128057>
  25. Franco, D., Calabrese, G., Guglielmino, S. P. P., & Conoci, S. (2022). Metal-Based Nanoparticles: Antibacterial Mechanisms and Biomedical Application. *Microorganisms*, 10(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091778>
  26. Frykberg, R. G., & Banks, J. (2015). Challenges in the Treatment of Chronic Wounds. *Advances in Wound Care*, 4(9), 560–582. <https://doi.org/10.1089/wound.2015.0635>
  27. Gethin, G. (2012). Understanding the inflammatory process in wound healing. *British Journal of Community Nursing, Suppl*, S17-18, S20, S22. <https://doi.org/10.12968/bjcn.2012.17.sup3.s17>
  28. group, bangkok hospital. (s/f). *Burn Wound Healing: Pathophysiology and Current Management of Burn Injury*. Recuperado el 9 de marzo de 2023, de <https://www.bangkokmedjournal.com/article/burn-wound-healing-pathophysiology-and-current-management-of-burn-injury/44/article>
  29. Gulrez, S., Al-Assaf, S., & Phillips, G. (2011). Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications. En *Prog Mol Environ Bioeng* (Vol. 51). <https://doi.org/10.5772/24553>
  30. Handbook of diet, nutrition and the skin. (s/f). *Human Health Handbooks*. Recuperado el 27 de marzo de 2023, de <https://www.wageningenacademic.com/doi/pdf/10.3920/978-90-8686-729-5>

31. Hennink, W. E., & van Nostrum, C. F. (2002). Novel crosslinking methods to design hydrogels. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54(1), 13–36. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(01\)00240-x](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(01)00240-x)
32. *Heridas crónicas y agudas, un problema de salud pública que cuesta alrededor de 2 mil millones de pesos mensuales.* (s/f). Recuperado el 9 de marzo de 2023, de <https://www.pmfarma.com.mx/noticias/17379-heridas-cronicas-y-agudas-un-problema-de-salud-publica-que-cuesta-alrededor-de-2-mil-millones-de-pesos-mensuales.html>
33. *Heridas representan un problema de salud muy caro.* (2019, julio 16). El Economista. <https://www.economista.com.mx/arteseideas/Heridas-representan-un-problema-de-salud-muy-carro-20190715-0148.html>
34. *Herramientas estadísticas, de análisis de datos y de mejora de procesos | Minitab.* (s/f). Recuperado el 9 de marzo de 2023, de <https://www.minitab.com/es-mx/>
35. Hobson, R. (2014). Vitamin E and wound healing: An evidence-based review. *International Wound Journal*, 13(3), 331–335. <https://doi.org/10.1111/iwj.12295>
36. *Home.* (s/f). Cabot Corporation. Recuperado el 9 de marzo de 2023, de <https://www.cabotcorp.com/>
37. *How To Speed Wound Healing | Apotheco.* (2021, mayo 15). <https://www.apothecopharmacy.com/blog/how-to-speed-wound-healing/>
38. Huang, H., Qi, X., Chen, Y., & Wu, Z. (2019). Thermo-sensitive hydrogels for delivering biotherapeutic molecules: A review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 27(7), 990–999. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2019.08.001>
39. Hussain, S. M., Hess, K. L., Gearhart, J. M., Geiss, K. T., & Schlager, J. J. (2005). In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. *Toxicology in Vitro*, 19(7), 975–983. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2005.06.034>
40. Jeong, B., Kim, S. W., & Bae, Y. H. (2012). Thermosensitive sol–gel reversible hydrogels. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64, 154–162. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.012>
41. Kamoun, E. A., Kenawy, E.-R. S., Tamer, T. M., El-Meligy, M. A., & Mohy Eldin, M. S. (2015). Poly (vinyl alcohol)-alginate physically crosslinked hydrogel membranes for wound dressing applications: Characterization and bio-evaluation. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(1), 38–47. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.12.003>
42. Kaur, A., Midha, S., Giri, S., & Mohanty, S. (2019). Functional Skin Grafts: Where Biomaterials Meet Stem Cells. *Stem Cells International*, 2019, e1286054. <https://doi.org/10.1155/2019/1286054>
43. Kim, K. J., Joe, Y. A., Kim, M. K., Lee, S. J., Ryu, Y. H., Cho, D.-W., & Rhie, J. W. (2015). Silica nanoparticles increase human adipose tissue-derived stem cell proliferation through ERK1/2 activation. *International Journal of Nanomedicine*, 10(1), 2261–2272. <https://doi.org/10.2147/IJN.S71925>
44. Kim, Y., Samadi, A., Gwag, E. H., Park, J., Kwak, M., Park, J., Lee, T. G., & Kim, Y. J. (2021). Physiological and Behavioral Effects of SiO<sub>2</sub> Nanoparticle Ingestion on *Daphnia magna*. *Micromachines*, 12(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/mi12091105>
45. Klouda, L., & Mikos, A. G. (2008). Thermoresponsive hydrogels in biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 68(1), 34–45. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2007.02.025>
46. Kohane, D. S., & Langer, R. (2008). Polymeric Biomaterials in Tissue Engineering. *Pediatric Research*, 63(5), Article 5.

- <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000305937.26105.e7>
47. *Kolliphor® P 407 Geismar | Poloxamers.* (s/f). BASF Pharma. Recuperado el 9 de marzo de 2023, de <https://pharma.basf.com/products/kolliphor-p-407-geismar>
  48. *KOLLIPHOR P 407.* (s/f). Recuperado el 9 de marzo de 2023, de <https://www.farcospharma.com/prodotti/materie-prime/52-farmaceutici-eccipienti/3317-kolliphor-p-407-detail.html>
  49. Lalau, C. M., Simioni, C., Vicentini, D. S., Ouriques, L. C., Mohedano, R. A., Puerari, R. C., & Matias, W. G. (2020). Toxicological effects of AgNPs on duckweed (*Landoltia punctata*). *Science of The Total Environment*, 710, 136318. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136318>
  50. Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., Vander Elst, L., & Muller, R. N. (2008). Magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. *Chemical Reviews*, 108(6), 2064–2110. <https://doi.org/10.1021/cr068445e>
  51. Lazarus, G. S., Cooper, D. M., Knighton, D. R., Margolis, D. J., Pecoraro, R. E., Rodeheaver, G., & Robson, M. C. (1994). Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. *Archives of Dermatology*, 130(4), 489–493.
  52. Lee, A. R., & Tojo, K. (1998). Characterization of skin permeation of vitamin C: Theoretical analysis of penetration profiles and differential scanning calorimetry study. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 46(1), 174–177. <https://doi.org/10.1248/cpb.46.174>
  53. Li, L., Gu, Z., Gu, W., Liu, J., & Xu, Z. P. (2016). Efficient drug delivery using SiO<sub>2</sub>-layered double hydroxide nanocomposites. *Journal of Colloid and Interface Science*, 470, 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2016.02.042>
  54. Lima, Cc., Pereira, Apc., Silva, Jrf., Oliveira, Ls., Resck, Mcc., Grechi, Co., Bernardes, Mtcp., Olímpio, Fmp., Santos, Amm., Incerpi, Ek., & Garcia, Jad. (2009). Ascorbic acid for the healing of skin wounds in rats. *Brazilian Journal of Biology*, 69(4), 1195–1201. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842009000500026>
  55. Lin, J.-Y., Selim, M. A., Shea, C. R., Grichnik, J. M., Omar, M. M., Monteiro-Riviere, N. A., & Pinnell, S. R. (2003). UV photoprotection by combination topical antioxidants vitamin C and vitamin E. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 48(6), 866–874. <https://doi.org/10.1067/mjd.2003.425>
  56. Liu, P., Zhai, M., Li, J., Peng, J., & Wu, J. (2002). Radiation preparation and swelling behavior of sodium carboxymethyl cellulose hydrogels. *Radiation Physics and Chemistry*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Radiation-preparation-and-swelling-behavior-of-Liu-Zhai/3c5dc236b763ccc6dfd8821e544f7c3d4dad7565>
  57. Liu, Y., & Cao, A. (2017). Chapter One - Encapsulating Proteins in Nanoparticles: Batch by Batch or One by One. En C. V. Kumar (Ed.), *Methods in Enzymology* (Vol. 590, pp. 1–31). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2016.12.001>
  58. Mansur, H. S., Oréface, R. L., & Mansur, A. A. P. (2004). Characterization of poly(vinyl alcohol)/poly(ethylene glycol) hydrogels and PVA-derived hybrids by small-angle X-ray scattering and FTIR spectroscopy. *Polymer*, 45(21), 7193–7202. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2004.08.036>
  59. Mantha, S., Pillai, S., Khayambashi, P., Upadhyay, A., Zhang, Y., Tao, O., Pham, H. M., & Tran, S. D. (2019). Smart Hydrogels in Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Materials*, 12(20), Article 20. <https://doi.org/10.3390/ma12203323>
  60. Martha, S. H., & Carlos, B. D. (s/f). EFICIENCIA DE ENCAPSULACION Y CAPACIDAD DE CARGA DE ANTOCIANINAS DE *Vaccinium floribundum* Kunt EN NANOPARTICULAS DE ZEINA. *infoANALÍTICA*, 8(1), 83–97.

61. Martínez, J. R., Palomares-Sánchez, S., Ortega-Zarzosa, G., Ruiz, F., & Chumakov, Y. (2006). Rietveld refinement of amorphous SiO<sub>2</sub> prepared via sol-gel method. *Materials Letters*, 60(29–30), 3526–3529. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2006.03.044>
62. McCarty, S. M., & Percival, S. L. (2013). Proteases and Delayed Wound Healing. *Advances in Wound Care*, 2(8), 438–447. <https://doi.org/10.1089/wound.2012.0370>
63. Medifácil, M.-. (2022, agosto 2). Implicaciones legales de las úlceras por presión—Mölnlycke. *Mölnlycke*. <https://molnlycke.medifacil.com/implicaciones-legales-de-las-ulceras-por-presion-pr-evencion/>
64. Mei, L., Xu, K., Zhai, Z., He, S., Zhu, T., & Zhong, W. (2019). Doxorubicin-reinforced supramolecular hydrogels of RGD-derived peptide conjugates for pH-responsive drug delivery. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 17(15), 3853–3860. <https://doi.org/10.1039/C9OB00046A>
65. Moore, M. (2022, mayo 17). Effects of Oxidative stress | HHC. *Life Science Product Helvetica Health Care*. <https://www.h-h-c.com/what-is-oxidative-stress-and-how-does-it-affect-your-health/>
66. Moores, J. (2013). Vitamin C: A wound healing perspective. *British Journal of Community Nursing, Suppl*, S6, S8-11. <https://doi.org/10.12968/bjcn.2013.18.sup12.s6>
67. Murray, J. C., Burch, J. A., Streilein, R. D., Iannacchione, M. A., Hall, R. P., & Pinnell, S. R. (2008). A topical antioxidant solution containing vitamins C and E stabilized by ferulic acid provides protection for human skin against damage caused by ultraviolet irradiation. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 59(3), 418–425. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2008.05.004>
68. Murugadoss, S., Lison, D., Godderis, L., Van Den Brule, S., Mast, J., Brassinne, F., Sebaihi, N., & Hoet, P. H. (2017). Toxicology of silica nanoparticles: An update. *Archives of Toxicology*, 91(9), 2967–3010. <https://doi.org/10.1007/s00204-017-1993-y>
69. N. Lionetti, *A Balancing Act: Stabilizing Vitamin C for Skin Benefits. Cosmetics & Toiletries* 135, 44- 51 (2020). - *Buscar con Google*. (s/f). Recuperado el 27 de marzo de 2023, de [https://www.google.com/search?q=N.+Lionetti%2C+A+Balancing+Act%3A+Stabilizing+Vitamin+C+for+Skin+Benefits.+Cosmetics+%26+Toiletries+135%2C+44-+51+\(2020\).&rlz=1C1CHBD\\_esMX919MX919&oq=N.+Lionetti%2C+A+Balancing+Act%3A+Stabilizing+Vitamin+C+for+Skin+Benefits.+Cosmetics+%26+Toiletries+135%2C+44-+51+\(2020\).&aqs=chrome..69i57.296j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8](https://www.google.com/search?q=N.+Lionetti%2C+A+Balancing+Act%3A+Stabilizing+Vitamin+C+for+Skin+Benefits.+Cosmetics+%26+Toiletries+135%2C+44-+51+(2020).&rlz=1C1CHBD_esMX919MX919&oq=N.+Lionetti%2C+A+Balancing+Act%3A+Stabilizing+Vitamin+C+for+Skin+Benefits.+Cosmetics+%26+Toiletries+135%2C+44-+51+(2020).&aqs=chrome..69i57.296j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8)
70. Nakagawa, H., Kano, M., Hasebe, S., Suzuki, T., & Wakiyama, N. (2013). Real-time monitoring of lubrication properties of magnesium stearate using NIR spectrometer and thermal effusivity sensor. *International Journal of Pharmaceutics*, 441(1), 402–413. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.11.014>
71. Naseem, T., & Durrani, T. (2021). The role of some important metal oxide nanoparticles for wastewater and antibacterial applications: A review. *Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 3. <https://doi.org/10.1016/j.eneco.2020.12.001>
72. *NCATS Inxight Drugs—HYDRATED SILICA*. (s/f). Recuperado el 3 de abril de 2023, de <https://drugs.ncats.io/drug/Y6O7T4G8P9>
73. *New trends in face rejuvenation by hyaluronic acid injections—Andre—2008—Journal of Cosmetic Dermatology—Wiley Online Library*. (s/f). Recuperado el 27 de marzo de 2023, de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1473-2165.2008.00402.x>

74. *Nutrición en el proceso de curación de heridas: Una revisión narrativa.* (s/f). Recuperado el 10 de marzo de 2023, de <https://www.smimport.com/blog/nutricion-en-el-proceso-de-curacion-de-heridas-una-revision-narrativa-n49>
75. Paul, W., & Sharma, C. P. (2010). Inorganic nanoparticles for targeted drug delivery. En *Biointegration of Medical Implant Materials* (pp. 204–235). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9781845699802.2.204>
76. [PDF] *Formulation and stability of ascorbic acid in topical preparations* | Semantic Scholar. (s/f). Recuperado el 27 de marzo de 2023, de <https://www.semanticscholar.org/paper/Formulation-and-stability-of-ascorbic-acid-in-Sheraz-Ahmed/7a3f6479a2f582c7c290aae1116f9b41a4a630b3>
77. (PDF) *Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications.* (s/f). Recuperado el 13 de marzo de 2023, de [https://www.researchgate.net/publication/221914137\\_Hydrogels\\_Methods\\_of\\_Preparation\\_Characterisation\\_and\\_Applications](https://www.researchgate.net/publication/221914137_Hydrogels_Methods_of_Preparation_Characterisation_and_Applications)
78. Phuong, H. T., Thoa, N. K., Tuyet, P. T. A., Van, Q. N., & Hai, Y. D. (2022). Cellulose Nanomaterials as a Future, Sustainable and Renewable Material. *Crystals*, 12(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/cryst12010106>
79. *Plásticos con nanopartículas para su desintegración por degradación.* (2022, marzo 1). <https://www.pt-mexico.com/articulos/plasticos-con-nanoparticulas-para-su-desintegracion-por-degradacion>
80. Pourjavadi, A., & Kurdtabar, M. (2007). Collagen-based highly porous hydrogel without any porogen: Synthesis and characteristics. *European Polymer Journal*, 43(3), 877.
81. *Pressure Injuries—Dermatologic Disorders.* (s/f). MSD Manual Professional Edition. Recuperado el 3 de abril de 2023, de <https://www.msmanuals.com/professional/dermatologic-disorders/pressure-injury/pressure-injuries>
82. Priyanka, K. P., Sukirtha, T. H., Balakrishna, K. M., & Varghese, T. (2016). Microbicidal activity of TiO<sub>2</sub> nanoparticles synthesised by sol–gel method. *IET Nanobiotechnology*, 10(2), 81–86. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2015.0038>
83. *Proyecto de Investigación Denise.* (s/f). Google Docs. Recuperado el 9 de marzo de 2023, de [https://docs.google.com/document/d/1qjmwMl5uldVMc5rSORAFdcqSzJON9Mxb89lrQJ7X3Yc/edit?usp=embed\\_facebook](https://docs.google.com/document/d/1qjmwMl5uldVMc5rSORAFdcqSzJON9Mxb89lrQJ7X3Yc/edit?usp=embed_facebook)
84. Puerari, R. C., Ferrari, E., Oscar, B. V., Simioni, C., Ouriques, L. C., Vicentini, D. S., & Matias, W. G. (2021). Acute and chronic toxicity of amine-functionalized SiO<sub>2</sub> nanostructures toward *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 212, 111979. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.111979>
85. Ramirez-Acuña, J. M., Cardenas-Cadena, S. A., Marquez-Salas, P. A., Garza-Veloz, I., Perez-Favila, A., Cid-Baez, M. A., Flores-Morales, V., & Martinez-Fierro, M. L. (2019). Diabetic Foot Ulcers: Current Advances in Antimicrobial Therapies and Emerging Treatments. *Antibiotics*, 8(4), 193. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8040193>
86. Salavati-Niasari, M., & Davar, F. (2009). Synthesis of copper and copper(I) oxide nanoparticles by thermal decomposition of a new precursor. *Materials Letters*, 63(3–4), 441–443. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2008.11.023>
87. Salud, S. de. (s/f-a). *La temperatura corporal normal oscila entre 36.5°C y 37°C.* gob.mx. Recuperado el 4 de abril de 2023, de

- <http://www.gob.mx/salud/articulos/la-temperatura-corporal-normal-oscila-entre-36-5-c-y-37-c>
88. Salud, S. de. (s/f-b). *Pie diabético, una de las complicaciones más comunes de la diabetes*. gob.mx. Recuperado el 9 de marzo de 2023, de <http://www.gob.mx/salud/articulos/pie-diabetico-una-de-las-complicaciones-mas-comunes-de-la-diabetes>
  89. Sánchez-López, E., Gomes, D., Esteruelas, G., Bonilla, L., Lopez-Machado, A. L., Galindo, R., Cano, A., Espina, M., Ettcheto, M., Camins, A., Silva, A. M., Durazzo, A., Santini, A., Garcia, M. L., & Souto, E. B. (2020). Metal-Based Nanoparticles as Antimicrobial Agents: An Overview. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*, *10*(2), 292. <https://doi.org/10.3390/nano10020292>
  90. Sandhiya, V., & Ubaidulla, U. (2020). A review on herbal drug loaded into pharmaceutical carrier techniques and its evaluation process. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, *6*(1), Article 1. <https://doi.org/10.1186/s43094-020-00050-0>
  91. Sato, Y., Matsui, H., Sato, R., & Harashima, H. (2018). Neutralization of negative charges of siRNA results in improved safety and efficient gene silencing activity of lipid nanoparticles loaded with high levels of siRNA. *Journal of Controlled Release*, *284*, 179–187. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.06.017>
  92. Schreml, S., Szeimies, R. M., Prantl, L., Karrer, S., Landthaler, M., & Babilas, P. (2010). Oxygen in acute and chronic wound healing. *The British Journal of Dermatology*, *163*(2), 257–268. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2010.09804.x>
  93. Selvarajan, V., Obuobi, S., & Ee, P. L. R. (2020). Silica Nanoparticles—A Versatile Tool for the Treatment of Bacterial Infections. *Frontiers in Chemistry*, *8*, 602. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00602>
  94. Sheraz, M., Khan, M., Ahmed, S., Kazi, S., & Ahmad, I. (2015). Stability and Stabilization of Ascorbic Acid. *Household & Personal Care Today*, *10*, 20–25.
  95. *Silica Nanoparticle Applications in Biomedicine*. (2018, octubre 17). News-Medical.Net. <https://www.news-medical.net/life-sciences/Silica-Nanoparticle-Applications-in-Biomedicine.aspx>
  96. *Silicon Dioxide (Inactive Ingredient)*. (s/f). Drugs.Com. Recuperado el 3 de abril de 2023, de <https://www.drugs.com/inactive/silicon-dioxide-170.html>
  97. *Silicon Dioxide Nanoparticles—Nanografi*. (s/f). Recuperado el 13 de marzo de 2023, de <https://nanografi.com/nanoparticles/single-metal-oxide-nanoparticles/silicon-dioxide-nanoparticles/>
  98. Smita, S., Gupta, S. K., Bartonova, A., Dusinska, M., Gutleb, A. C., & Rahman, Q. (2012). Nanoparticles in the environment: Assessment using the causal diagram approach. *Environmental Health*, *11*(1), S13. <https://doi.org/10.1186/1476-069X-11-S1-S13>
  99. Stamford, N. P. J. (2012). Stability, transdermal penetration, and cutaneous effects of ascorbic acid and its derivatives. *Journal of Cosmetic Dermatology*, *11*(4), 310–317. <https://doi.org/10.1111/jocd.12006>
  100. Stan, D., Tanase, C., Avram, M., Apetrei, R., Mincu, N., Mateescu, A. L., & Stan, D. (2021). Wound healing applications of creams and “smart” hydrogels. *Experimental Dermatology*, *30*(9), 1218–1232. <https://doi.org/10.1111/exd.14396>
  101. *Study of the characteristics and properties of the SiO<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub>/Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> material obtained by the sol-gel process* | *Scientific Reports*. (s/f). Recuperado el 3 de abril de 2023, de <https://www.nature.com/articles/s41598-020-80310-4>

102. Telang, P. S. (2013). Vitamin C in dermatology. *Indian Dermatology Online Journal*, 4(2), 143–146. <https://doi.org/10.4103/2229-5178.110593>
103. *The Antibacterial Activity of SnO<sub>2</sub> Nanoparticles against Escherichia coli and Staphylococcus aureus* | *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences* | Full Text. (s/f). Recuperado el 3 de abril de 2023, de <https://brieflands.com/articles/zjrms-1053.html>
104. *The Basics of Wound Care*. (s/f). American College of Cardiology. Recuperado el 3 de abril de 2023, de <https://www.acc.org/latest-in-cardiology/articles/2015/11/24/15/14/http%3a%2f%2fwww.acc.org%2flatest-in-cardiology%2farticles%2f2015%2f11%2f24%2f15%2f14%2fthe-basics-of-wound-care>
105. Thuresson, S. (s/f). *The effect of temperature on the chemical stability of Vitamin C in a cosmetic product*.
106. Tiwari, D. K., Behari, J., & Sen, P. (2008). *Application of Nanoparticles in Waste Water Treatment*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Application-of-Nanoparticles-in-Waste-Water-Tiwari-Behari/b0c1ed0870d31e524421cfb765ddc35ddb0911e3>
107. *Topic*. (s/f). Recuperado el 3 de abril de 2023, de <https://www.aafp.org/pubs/afp/topics/by-topic.html>
108. Tottoli, E. M., Dorati, R., Genta, I., Chiesa, E., Pisani, S., & Conti, B. (2020). Skin Wound Healing Process and New Emerging Technologies for Skin Wound Care and Regeneration. *Pharmaceutics*, 12(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12080735>
109. *Toxic Potential of Materials at the Nanolevel* | *Science*. (s/f). Recuperado el 3 de abril de 2023, de <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1114397>
110. Valdés, F. (2006). Vitamina C. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 97(9), 557–568. [https://doi.org/10.1016/S0001-7310\(06\)73466-4](https://doi.org/10.1016/S0001-7310(06)73466-4)
111. Valencia-Gómez, L. E., Martel-Estrada, S. A., Vargas-Requena, C. L., Rodríguez-González, C. A., Olivas-Armendariz, I., Valencia-Gómez, L. E., Martel-Estrada, S. A., Vargas-Requena, C. L., Rodríguez-González, C. A., & Olivas-Armendariz, I. (2016). Apósitos de polímeros naturales para regeneración de piel. *Revista mexicana de ingeniería biomédica*, 37(3), 235–249. <https://doi.org/10.17488/rmib.37.3.4>
112. Vig, K., Chaudhari, A., Tripathi, S., Dixit, S., Sahu, R., Pillai, S., Dennis, V. A., & Singh, S. R. (2017). Advances in Skin Regeneration Using Tissue Engineering. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/ijms18040789>
113. *Vitamin C Benefits, Sources, Supplements, & More*. (s/f). Recuperado el 3 de abril de 2023, de <https://www.webmd.com/diet/features/the-benefits-of-vitamin-c>
114. *Vitamin C: Do Daily Mega-Doses Accelerate Wound Healing*. (s/f). Recuperado el 10 de marzo de 2023, de <https://www.woundsource.com/blog/vitamin-c-do-daily-mega-doses-accelerate-wound-healing>
115. Wang, J., Wang, H., Xu, H., Li, J., Zhang, X., & Zhang, X. (2022). Solid lipid nanoparticles as an effective sodium aescinate delivery system: Formulation and anti-inflammatory activity. *RSC Advances*, 12(11), 6583–6591. <https://doi.org/10.1039/D1RA07638H>
116. Wang, K., Jiang, H., Li, W., Qiang, M., Dong, T., & Li, H. (2018). Role of Vitamin C in Skin Diseases. *Frontiers in Physiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00819>

117. Watanabe, M., Kawano, K., Yokoyama, M., Opanasopit, P., Okano, T., & Maitani, Y. (2006). Preparation of camptothecin-loaded polymeric micelles and evaluation of their incorporation and circulation stability. *International Journal of Pharmaceutics*, 308(1), 183–189. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.10.030>
118. Wen, W., Guo, J., Zhao, X., Li, X., Yang, H., & Chen, J.-K. (2018). Synthesis of an Efficient S/N-Based Flame Retardant and Its Application in Polycarbonate. *Polymers*, 10(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/polym10040441>
119. What are the treatment options for chronic wounds? (2018). En *InformedHealth.org [Internet]*. Institute for Quality and Efficiency in Health Care (IQWiG). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326436/>
120. *What is Oxidative Stress and How to Analyze it.* (s/f). Recuperado el 27 de marzo de 2023, de <https://www.h-h-c.com/what-is-oxidative-stress-and-how-to-analyze-it/>
121. *Wound healing. Normal wound healing | DermNet.* (s/f). Recuperado el 3 de abril de 2023, de <https://dermnetnz.org/cme/wound-healing/normal-wound-healing>
122. Zhang, L., Lerner, S., Rustrum, W. V., & Hofmann, G. A. (1999). Electroporation-mediated topical delivery of vitamin C for cosmetic applications. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics (Lausanne, Switzerland)*, 48(2), 453–461. [https://doi.org/10.1016/s0302-4598\(99\)00026-4](https://doi.org/10.1016/s0302-4598(99)00026-4)
123. Zulkiflee, I., Masri, S., Zawani, M., Salleh, A., Amirrah, I. N., Wee, M. F. M. R., Yusop, S. M., & Fauzi, M. B. (2022). Silicon-Based Scaffold for Wound Healing Skin Regeneration Applications: A Concise Review. *Polymers*, 14(19), Article 19. <https://doi.org/10.3390/polym14194219>
124. Giuliano, E., Paolino, D., Fresta, M., & Cosco, D. (2018). Mucosal Applications of Poloxamer 407-Based Hydrogels: An Overview. *Pharmaceutics*, 10(3), 159. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10030159>
125. Schmolka I.R. Physical basis for poloxamer interactions. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1994;720:92–97. doi: 10.1111/j.1749-6632.1994.tb30437.x. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
126. Dumortier G., Grossiord J.L., Agnely F., Chaumeil J.C. A review of poloxamer 407 pharmaceutical and pharmacological characteristics. *Pharm. Res.* 2006;23:2709–2728. doi: 10.1007/s11095-006-9104-4. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
127. Mayol L., Biondi M., Quaglia F., Fusco S., Borzacchiello A., Ambrosio L., La Rotonda M.I. Injectable thermally responsive mucoadhesive gel for sustained protein delivery. *Biomacromolecules.* 2011;12:28–33. doi: 10.1021/bm1008958. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
128. Mansuri S., Kesharwani P., Jain K., Tekade R.K., Jain N.K. Mucoadhesion: A promising approach in drug delivery system. *React. Funct. Polym.*

2016;100:151–172. doi: 10.1016/j.reactfunctpolym.2016.01.011. [CrossRef] [Google Scholar]

129. Kim, J. (2020). Skin Temperature Measurement: A Review. *IEEE Sensors Journal*, 20(4), 1603-1612. doi: 10.1109/jsen.2019.2956658
130. Kim, H., & Bae, S. (2013). Evaluation of the anti-wrinkle efficacy of vitamin C derivatives in vitro and in vivo. *Journal of Cosmetic Science*, 64(1), 35-50.