



## PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Proyecto Interno  Proyecto Semilla  Proyecto Junior  Proyecto Multi e Inter Disciplinario

Investigación Básica  Investigación Aplicada  Investigación Pedagógica  Innovación

**DEPARTAMENTO:** CIENCIAS NUCLEARES

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:** APLICACIONES DE ACELERADORES DE PARTICULAS

### 1 Proyecto de Investigación

**Título:**

Preparación de hidrogeles de ácido hialurónico, obtenido a partir de crestas de pollos broiler, y polivinil pirrolidona (PVP), asistida por radiación beta, para la liberación del fármaco estradiol

**Resumen del proyecto (máximo 200 palabras)**

El ácido hialurónico juega un importante rol en las propiedades mecánicas y de transporte del cuerpo. Sus hidrogeles son utilizados con fines terapéuticos, cosméticos y médicos. Es por ello que se plantea un estudio del proceso de obtención del ácido hialurónico, a partir de crestas de pollos broiler y el desarrollo de un hidrogel con base, en ácido hialurónico y PVP.

Se determinarán las condiciones adecuadas para el proceso de extracción de un crudo de ácido hialurónico, a partir de crestas de pollos broiler. Para ello, se removerá la grasa del tejido con uso de etanol al 95 %, luego se utilizarán distintas soluciones de papaína y NaCl. Se utilizará la sal cuaternaria de amonio, CTAB, al 1%, para formar un complejo con el crudo de ácido hialurónico, posteriormente, se determinarán las condiciones favorables de extracción y aislamiento del ácido hialurónico, mediante el uso de diferentes soluciones de cloroformo, que permitan obtener ácido hialurónico de mayor grado de pureza.

Este ácido será caracterizado mediante análisis FTIR, contenido de ácidos urónicos y presencia de N-acetil hexosamina, para luego mezclarlo con PVP a distintas concentraciones. Estas mezclas serán irradiadas con radiación beta, en dosis de 2 a 110 kGy, para obtener el hidrogel. Los hidrogeles obtenidos serán caracterizados de acuerdo con el grado de entrecruzamiento, grado de hinchamiento, contenido de agua en el equilibrio, análisis térmico diferencial y, finalmente, grado de reticulación mediante el análisis por espectrofotometría de infrarrojo de los constituyentes y el hidrogel producido. Una vez obtenidos y caracterizados los hidrogeles, se procederá a elaborar una pseudo-tableta de estradiol y se estudiará su liberación en condiciones que simulen a las del organismo humano.

**Palabras clave (4-6):** Hidrogel, crestas de pollo, ácido hialurónico, PVP, radiación beta, estradiol.



<b>2 Datos personales y académicos del Director del Proyecto</b>		
Apellidos: Luna Aguilera Nombres: Gloria Maribel.		Teléfono casa: 023515364
Cédula de Identidad: 1104011745	Teléfono celular: 0999130765	
Cargo actual en la EPN: Profesor Agregado a tiempo completo Nivel I Grado 3 del Departamento de Ciencias Nucleares, Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria de la EPN.		
Dirección particular: Carcelén, calle E2 N87-163 y Av. Jaime Roldós Aguilera/ Quito		Teléfono oficina: 2976300 Ext. : 2107 Correo electrónico: <a href="mailto:maribel.luna@epn.edu.ec">maribel.luna@epn.edu.ec</a>
<b>Formación de pregrado y posgrado</b>		
<b>Títulos</b>	<b>Fecha</b>	<b>Institución / Universidad/País</b>
Ingeniero Químico	Junio 2009	Escuela Politécnica Nacional/Ecuador
Máster en Ingeniería Nuclear y Aplicaciones	Octubre 2010	Universidad Autónoma de Madrid /España

<b>3 Datos personales y académicos del Profesor colaborador</b>		
Apellidos: Sinche Serra Nombres: Marco Vinicio		Teléfono casa: 2408415
Lugar y fecha de nacimiento: Quito, 2 de junio, 1984	Teléfono celular: 0995778114	
Cargo actual en la EPN: Docente del Departamento de Ciencias Nucleares		
Dirección particular: Estocolmo E 2-54 y Av. Amazonas		Teléfono oficina: 2976300 Ext.: 4204 Correo electrónico: <a href="mailto:marco.sinche@epn.edu.ec">marco.sinche@epn.edu.ec</a>
<b>Formación de pregrado y posgrado</b>		
<b>Títulos</b>	<b>Fecha</b>	<b>Institución / Universidad</b>
Ingeniero Agroindustrial	15-06-2009	Escuela Politécnica Nacional / Ecuador
Máster en Agronomía	22-08-2013	University of Florida / Estados Unidos de América

<b>4 Datos personales del personal administrativo de investigación (opcional)</b>		
Apellidos: Nombres:		Teléfono casa:
Lugar y fecha de nacimiento:	Teléfono celular:	
Cargo actual en la EPN:	Teléfono oficina:	
Dirección particular:		Ext. EPN: Correo electrónico:
<b>Formación de pregrado y posgrado</b>		
<b>Títulos</b>	<b>Fecha</b>	<b>Institución / Universidad</b>



5 **Objetivos, relevancia, productos y resultados esperados de esta propuesta de investigación**

**5.1 Objetivos**

**5.1.1 Objetivo General**

Preparar hidrogeles de ácido hialurónico, obtenido a partir de crestas de pollos broiler, y polivinil pirrolidona (PVP), asistida por radiación beta, para recubrimiento del fármaco estradiol.

**5.1.2 Objetivos Específicos**

- a. Adaptar una metodología para la remoción de grasa de crestas de pollos broiler, con el uso de etanol.
- b. Definir las concentraciones de cloruro de sodio y/o papaína que incrementen la cantidad de ácido hialurónico recuperado a partir del tejido de las crestas de pollos broiler.
- c. Definir las mejores condiciones de pH y concentración de cloroformo en el aislamiento y purificación del ácido hialurónico.
- d. Determinar la mejor composición de ácido hialurónico y PVP, y la dosis óptima de radiación beta que permitan el mayor porcentaje de entrecruzamiento y grado de hinchamiento del hidrogel.
- e. Evaluar la estructura y reticulación del hidrogel obtenido por radiación beta.
- f. Evaluar la degradación del hidrogel y la liberación del estradiol en el tiempo de acción del medicamento en soluciones que simulen las del organismo humano.

**5.2 Relevancia de esta propuesta de investigación y su relación con la(s) Línea(s) de investigación asociadas.**

La obtención de ácido hialurónico, como materia prima en la elaboración de hidrogeles, constituye un importante objetivo para la industria cosmética, alimentaria y biomédica, principalmente por la complejidad y altos costos de los procesos de extracción y purificación. Se estima que para el año 2017, la industria del ácido hialurónico bordee los 2,5 billones de dólares (Giji y Arumugam, 2014, p. 62).

El ácido hialurónico es muy utilizado con fines terapéuticos, cosméticos y médicos, debido a que juega un importante rol en las propiedades mecánicas y de transporte del cuerpo, estimula la producción natural de colágeno, ayuda a acelerar el proceso de cicatrización e interactúa con varias proteínas para organizar la matriz extracelular y mantener la homeostasis de los tejidos. Es por este motivo que la ciencia biomédica ha desarrollado una serie de hidrogeles a partir de este ácido, para propósitos de regeneración de tejidos (Dicker et al., 2014, p. 1,3; Price, Myers, Leigh y Navsaria, 2005, pp. 392–402; Sáenz, Fabián, Garrido, Lozano-Platonoff y Contreras, 2010, p.254).

La utilización de hidrogeles de ácido hialurónico y PVP ha tomado gran importancia, dado que estos presentan un alta retención de agua y biodegradabilidad, lo cual permite que sean utilizados en cosmetología y en liberación controlada de medicamentos (Lim et al., 2011, p. 437)

Los hidrogeles con base en ácido hialurónico han demostrado tener un gran potencial como polímeros biocompatibles, con aplicaciones en los campos de la liberación controlada de fármacos, ingeniería de tejidos y viscosuplementación (Kanchana, Arumugam, Giji y Balasubramanian, 2013, p. 1; Khanmohammadi, Khoshfetrat, Eskandarneshad, Sani y Ebrahimi, 2014, p. 4 371).

Por otra parte, se conoce que el PVP tiene propiedades humectantes, absorbe grandes cantidades de agua, tiene facilidad en formar películas y es tolerado por el organismo. A pesar de que su monómero, la vinil pirrolidona es carcinogénico, su polímero, el PVP es completamente inocuo, ventaja que puede ser aprovechada para elaborar hidrogeles que aporten humedad y ayuden a la liberación de fármacos dentro del organismo humano (Suárez, 2012, p. 13).



La radiación beta se utiliza para modificar las propiedades físicas y químicas de algunos polímeros. Producen radicales libres que promueven el entrecruzamiento y/o la degradación de las cadenas poliméricas (Martínez, Benavides y Carrasco, 2010, p. 449)

Por lo anteriormente expuesto, es importante realizar una investigación sobre la elaboración de hidrogeles biodegradables y biocompatibles reticulados por radiación beta, a partir de ácido hialurónico y PVP, dos polímeros de gran funcionalidad. El uso de hidrogeles formados por estos dos componentes en recubrimientos para fármacos tiene un gran potencial para la liberación controlada de medicamentos (Lencina et al., 2015, p. 642).

Se ha seleccionado el estradiol, una hormona femenina, como fármaco a ser recubierto y posteriormente liberado. En mujeres adultas, este fármaco se ha prescrito como un anticonceptivo oral con un tiempo aproximado de acción en el organismo humano de 24 h, en dosis de 1-2 mg. Se utiliza en terapia de reemplazo hormonal, ya que ha presentado grandes beneficios en el organismo humano como son la disminución de los síntomas de la menopausia, reducción de dolencias coronarias, reducción de alteraciones óseas como la osteoporosis y, consecuentemente, la disminución de riesgos de fracturas (Rogero, Lorenzetti, Chin y Lugao, 2002, p. 1 447).

Este proyecto se enmarca dentro de la línea de investigación Aplicaciones de aceleradores de partículas, en la cual se estudiarán los efectos que las radiaciones generarán dentro de la estructura del hidrogel y los biopolímeros constituyentes, apoyados para esto en el análisis por espectrofotometría de infrarrojos, de los componentes antes y después de ser irradiados.

Con esta investigación se plantea, además, elaborar un recubrimiento para la liberación controlada de un medicamento, al mismo tiempo que se aprovecha un residuo agroindustrial como son las crestas de gallos, las cuales poseen una importante cantidad de ácido hialurónico (Kogan, Šoltés, Stern y Mendichi, 2007, p. 395). El hidrogel obtenido y los resultados de esta investigación podrán ser de gran valor para las industrias biofarmacéuticas y médicas.

### 5.3 Productos esperados

- a. Publicaciones científicas (obligatorio);
- b. Disertación a la Comunidad Politécnica;
- c. Proyecto de Titulación;
- d. Tesis de Grado (maestría o doctorado);
- e. Aplicación tecnológica construida o implementada;
- f. Patente presentada;
- g. Perfil de proyecto de mayor impacto científico, técnico, pedagógico o de innovación.

### 5.4 Detalle de los resultados esperados

- a. Metodología adaptada para remover la mayor cantidad de grasa de las crestas de pollo broiler.
- b. Concentraciones de cloruro de sodio y papaina capaces de lograr la mayor extracción del ácido hialurónico, a partir de las crestas de pollos broiler.
- e. Mejores condiciones de pH y concentraciones de cloroformo para aislar y purificar el ácido hialurónico.
- d. Mejores concentraciones de ácido hialurónico y PVP, y dosis óptimas de radiación beta para lograr el mayor porcentaje de entrecruzamiento y el mayor grado de hinchamiento del hidrogel.
- e. Evaluación de la estructura y reticulación del hidrogel obtenido a través de radiación beta.
- f. Evaluación de la degradación del hidrogel y liberación del estradiol en el tiempo de acción del fármaco en el organismo humano.



6	<p><b>Descripción, metodología y cronograma de trabajo</b></p> <p><b>6.1 Descripción, metodología y diseño del proyecto (Máximo dos carillas)</b></p> <p>El desarrollo del presente proyecto considera la ejecución de dos etapas: la obtención del ácido hialurónico a partir de crestas de pollos broiler, y la preparación de hidrogeles de ácido hialurónico y PVP reticulados con radiación beta</p> <p><i>1. Obtención de ácido hialurónico</i></p> <p>Para la obtención del ácido hialurónico se utilizarán crestas de pollo broiler (CPB) procedentes del mercado central de Sangolquí, cantón Rumiñahui en la provincia de Pichincha. Se adoptará la metodología de Lago (2007), desarrollada para la obtención de ácido hialurónico a partir del cordón umbilical humano, según las diferencias en concentraciones e impurezas de estos dos sustratos (Kogan et al., 2007, p.395).</p> <p><i>1. a. Desengrasado de las CPB.-</i> Se agregarán 500 mL de etanol al 95 % a 250 g de CPB, previamente molidas. Se agitará la mezcla por 2 h, se dejará reposar 20 min y se decantará el etanol. Este proceso se repetirá entre 6 a 8 veces. Una vez realizado este procedimiento se secarán las crestas en una estufa, a 60 °C por 4 h.</p> <p><i>1. b. Preparación de un crudo de ácido hialurónico (CAH) a partir del tejido.-</i> Las CPB desengrasadas y secas serán sumergidas en distintas soluciones en una relación (1:4), se utilizarán las siguientes composiciones:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- 0,2 % de NaCl.</li><li>- 0,1 % de papaína.</li><li>- 0,1 % de NaCl y 0,1 % papaína.</li><li>- 0,2 % de NaCl y 0,05 % de papaína.</li><li>- 0,05 % de NaCl y 0,1 % de papaína.</li></ul> <p>Con el fin de encontrar la mejor concentración de NaCl y/o papaína, estas suspensiones serán agitadas durante 24 h y posteriormente, serán centrifugadas a 4 000 rpm por 20 min, para separar el CAH del tejido. Se medirá la absorbancia del sobrenadante a 257 y a 280 nm, para determinar la presencia de ácidos nucleicos y proteínas, respectivamente (Balazs, 1979, p. 5; Lago, 2007, p. 43).</p> <p>Al sobrenadante de la etapa anterior se añadirán 20 % v/v de una solución de bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) al 1 %, para acomplejar el ácido hialurónico, que será precipitado y separado junto con otras impurezas, en una centrífuga por un lapso de 20 min a 3 000 rpm (Lago, 2007, p. 32-33). El precipitado obtenido será resuspendido en una solución 0,4 mol/L de NaCl, al centrifugar, a 3 000 rpm por 20 min, el CAH quedará suspendido en el sobrenadante y será precipitado por la adición de 3 volúmenes de etanol (Danishefsky y Bella, 1966, p. 145).</p> <p><i>1. c. Aislamiento y purificación del ácido hialurónico (AH).-</i> Para eliminar las proteínas se agregarán diferentes dosis de cloroformo a diferentes valores de pH con un diseño factorial 2<sup>2</sup>; 2 niveles de concentración de cloroformo (10 % y 20 %) (Lago, 2007, p. 39) y 2 niveles de valores de pH (4,0 y 5,0) (Balazs, 1979, p. 7). Se aprovechará la fase acuosa y se desechará la fase clorofórmica e interfase. La variable de respuesta será la concentración de AH, medida por espectrofotometría a 520 nm, con el empleo de una curva de calibración que utilizará AH (Sigma Aldrich) como estándar de referencia (Kanchana et al., 2013, p. 3).</p> <p>Finalmente, el ácido hialurónico será precipitado al agregar 3 volúmenes de acetona y, posteriormente será filtrado y secado a 45 °C (Lago, 2007, p. 68).</p> <p><i>1. d. Caracterización del ácido hialurónico obtenido.-</i> El ácido hialurónico se caracterizará por espectrofotometría UV. Se prepararán soluciones al 1 % del ácido hialurónico obtenido, en una solución 0,15 mol/L de NaCl, y se medirá la absorbancia a 257 y a 280 nm, (Balazs, 1979, p. 5).</p>
---	---



Además se compararán los espectros de IR del AH obtenido, con los de AH de referencia proveniente de crestas de gallo, marca Sigma Aldrich.

Se determinará el contenido de ácidos urónicos (AU) espectrofotométricamente a 530 nm, por el método de Blumenkrantz y Asboe-Hansen, con metahidroxibifenilo, y con el empleo de una curva de calibración, que utilizará ácido glucurónico como estándar de referencia; el contenido de AU se expresará en forma porcentual en base seca (Lago, 2007, p. 36). Mientras que, la presencia de N-acetil hexosaminas será determinada por el método Elson-Morgan, con N'N'-dimetilbenzaldehído en medio ácido a temperatura entre 65 y 70 °C, el color rojo vino indicará de forma cualitativa la presencia de N-acetil hexosaminas (Lago, 2007, p. 35).

## 2. Preparación de un hidrogel de ácido hialurónico y PVP reticulado con radiación beta

*2a. Preparación del hidrogel.-* Se realizará un modelo factorial 1 X 5; 1 nivel de porcentaje en peso de ácido hialurónico (HA) (1%) y 5 niveles de concentración en peso de polivinil pirrolidona (PVP) (1 %, 3 %, 5 %, 7 % y 10 %) (Lim et al., 2011, p. 437). Se colocarán estas soluciones en fundas ziploc de PET de 50 x 50 mm por lado, selladas herméticamente. Las muestras por duplicado y con una sola repetición serán irradiadas (Desai, Koshy, Hilderbrand, Mooney y Joshi, 2015, p. 32; Shachar et al., 2011, p. 153) con radiación beta producida por el acelerador lineal de electrones de la EPN, para lograr su entrecruzamiento, con dosis de entre 2 y 110 kGy (Morais et al., 2013, p. 135; Shachar, Tsur-Gang, Dvir, Leor y Cohen, 2011, p. 153). Los hidrogeles serán secados a 50 °C, por 50 h y luego conservados a - 4 °C (Catanzano et al., 2015, p. 8). Las variables de respuesta serán el porcentaje de gelación y el grado de hinchamiento.

*2. b. Caracterización del hidrogel.-* El hidrogel obtenido será caracterizado a través de la determinación del porcentaje de gelación, porcentaje de hinchamiento, contenido de agua en el equilibrio, análisis térmico diferencial y análisis por espectrofotometría de infrarrojos. Las materias primas (AH y PVP) también serán caracterizadas por DSC e IR, para comparar los espectros del producto con los de sus materias primas.

El grado de entrecruzamiento del hidrogel será determinado de acuerdo con la medida del porcentaje de gelación, para lo cual las muestras de hidrogel serán tamizadas en malla 200 mesh y lavadas tres veces con agua destilada, posteriormente se extraerá el agua destilada en un autoclave, a 100 °C, por 4 h. El gel remanente será secado a 40 °C, hasta llegar a peso constante. El porcentaje de gelación se determinará gravimétricamente mediante la relación entre el peso del hidrogel seco antes de la extracción y el peso después de la extracción (Lencina et al., 2015, p. 643).

Para determinar el grado de hinchamiento se reducirá el área de las pastillas de xerogel, hasta 10 mm x 10 mm. Cada pastilla se colocará en 100 mL de una solución buffer. Después de que el líquido superficial sea removido de la pastilla, los pesos de las muestras serán tomados a diferentes tiempos. Se repite el procedimiento hasta que el peso de la muestra sea constante. Se utilizará el método gravimétrico mediante una relación entre el peso del hidrogel a tiempo t, respecto al peso inicial (Jiménez Pardo, 2014, pp. 92 – 93; Lencina et al., 2015, p. 643; Lim et al., 2011, p. 437). La degradación del hidrogel se hará mediante un estudio de pérdida de peso del mismo con base en el método gravimétrico.

Para el estudio de la reticulación se realizará un análisis térmico diferencial para observar el comportamiento del hidrogel con la temperatura y, espectrofotometría de infrarrojos tanto del hidrogel como de las materias primas con el fin de conocer si el producto presenta características de sus materias primas o presenta tendencias hacia el AH o el PVP (Lim et al., 2011, p. 440).

*2. c. Elaboración de la pseudo-tableta de estradiol.-* Se solubilizará el xerogel de 10 X 10 mm mencionado en el punto 2. b. en una solución alcohólica de estradiol al 5 % (Roger, Lorenzetti, Chin y Lugao, 2002, p. 1 448), y se dejará solidificar en refrigeradora por 16 h. Luego se colocará la pseudo-tableta en un desecador para que el alcohol residual se evapore. La cantidad de estradiol en la pseudo-tableta será determinado por el método gravimétrico antes y después del recubrimiento (Lencina et al., 2015, p. 643).



2. d. *Estudio de la liberación del estradiol.*- Se utilizarán tres diferentes soluciones, una solución de HCl con pH 2 que es similar el pH existente en los jugos gástricos, una solución de pH 4 que es similar al jugo pancreático y una solución tampón fosfato-salina de pH 7.4 la cual emula el líquido de la matriz extracelular humana (Mataix y Martínez, 2013, pp. 13, 18); en cada una se colocará una pseudo-tableta y utilizará un baño termostático a una temperatura de 37°C con agitación constante. En todos los casos, se tomarán alícuotas de 0.5 mL cada hora durante el primer día y después a las 24, 48 y 72 h. Las muestras serán analizadas en HPLC y se las comparará con una curva de calibración hecha con una solución de estradiol de 10 ppm, para determinar el porcentaje de liberación de este fármaco en la solución tampón (Lencina et al., 2015, p. 643).

#### Referencias Bibliográficas

1. Balazs. (1979). Ultrapure hyaluronic acid and the use thereof. United States.
2. Catanzano, O., D'Esposito, V., Acierno, S., Ambrosio, M. R., De Caro, C., Avagliano, C., ... Quaglia, F. (2015). Alginate-hyaluronan composite hydrogels accelerate wound healing process. *Carbohydrate Polymers*, 131, 407-414. doi:10.1016/j.carbpol.2015.05.081
3. Danishefsky, I., y Bella, J. The Sulfated Mucopolysaccharides Human Umbilical Cord\*. *The Journal of Biological Chemistry*, 241(1), 143-146. Recuperado de: <http://www.jbc.org/content/241/1/143.full.pdf+html> (Diciembre, 2015).
4. Desai, R. M., Koshy, S. T., Hilderbrand, S. A., Mooney, D. J., y Joshi, N. S. (2015). Versatile click alginate hydrogels crosslinked via tetrazine-norbornene chemistry. *Biomaterials*, 50, 30-37. doi: 10.1016/j.biomaterials.2015.01.048
5. Dicker, K. T., Gurski, L. A., Pradhan-Bhatt, S., Witt, R. L., Farach-Carson, M. C., y Jia, X. (2014). Hyaluronan: A simple polysaccharide with diverse biological functions. *Acta Biomaterialia*, 10(4), 1558-1570. doi:10.1016/j.actbio.2013.12.019
6. Giji, S., y Arumugam, M. (2014). Isolation and Characterization of Hyaluronic Acid from Marine Organisms. In *Marine Carbohydrates: Fundamentals and Applications, Part A* (1st ed., Vol. 72, pp. 61-77). Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-12-800269-8.00004-X
7. Jiménez Pardo, I. (2014). *Hidrogel termosensibles y fotopolimerizables derivados de pluronic® para aplicaciones biomédicas.* (Tesis Doctoral). Universidad de Zaragoza, Zaragoza, España.
8. Kanchana, S., Arumugam, M., Giji, S., y Balasubramanian, T. (2013). Isolation, characterization and antioxidant activity of hyaluronic acid from marine bivalve mollusc *Amussium pleuronectus* (Linnaeus, 1758). *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 2(1), 1-7. doi: 10.1016/j.bcdf.2013.06.001
9. Khanmohammadi, M., Khoshfetrat, A. B., Eskandarneshad, S., Saní, N. F., y Ebrahimi, S. (2014). Sequential optimization strategy for hyaluronic acid extraction from eggshell and its partial characterization. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 20(6), 4 371-4 376. doi: 10.1016/j.jiec.2014.02.001
10. Kogan, G., Šoltés, L., Stern, R., y Mendichi, R. (2007). Hyaluronic Acid: a Biopolymer With Versatile Physico-Chemical and Biological Properties. En R. A. Petherick (Ed.), *Handbook of Polymer Research: Monomers, Oligomers*, (pp. 393-439). Nova Science Publishers, Inc.
11. Lago, G. (2007). Cordones umbilicales residuales, nueva fuente de obtención de ácido hialurónico y sus fracciones. (Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Farmacéuticas Centro de Histoterapia Placentaria, Ciudad de la Habana, Cuba.
12. Lencina, M. M. S., Ciolino, A. E., Andreucetti, N. A., y Villar, M. A. (2015). Thermoresponsive hydrogels based on alginate-g-poly(N-isopropylacrylamide) copolymers obtained by low doses of gamma radiation. *European Polymer Journal*, 68, 641-649. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2015.03.071
13. Lim, Y. M., Gwon, H. J., Park, J. S., Nho, Y. C., Shim, J. W., Kwon, I. K., ... Baik, S. H. (2011). Synthesis and properties of hyaluronic acid containing copolymers crosslinked by gamma-ray irradiation. *Macromolecular Research*, 19(5), 436-441. doi: 10.1007/s13233-011-0513-9



14. Martínez, M. E., Benavides, R., y Carrasco, H. (2010). Efecto de la radiación ionizante en polímeros. *Contribuciones del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares al avance de la Ciencia y la Tecnología* (pp. 448–463). Mexico, DF.
15. Mataix, J., y Martínez, E. (2013). Sistema digestivo. Bases fisiológicas. En Océano (Ed.), *Tratado de Nutrición Y Alimentación Humana. Volumen I* (2da. Edici. p. 2032). Mexico, DF.
16. Morais, D. S., Rodrigues, M. A., Silva, T. I., Lopes, M. A., Santos, M., Santos, J. D., y Botelho, C. M. (2013). Development and characterization of novel alginate-based hydrogels as vehicles for bone substitutes. *Carbohydrate Polymers*, 95(1), 134–142. doi: 10.1016/j.carbpol.2013.02.067
17. Price, R. D., Myers, S., Leigh, I. M., y Navsaria, H. A. (2005). The Role of Hyaluronic Acid in Wound Healing Assessment of Clinical Evidence. *American Journal of Clinical Dermatology*, 6(6), 393–402. doi: 10.2165/00128071-200506060-00006
18. Rogero, S. O., Lorenzetti, S. G., Chin, G., y Lugao, A. (2002). Hidrogel de Poli (1-Vinil-2-Pirrolidona) (PVP) como matriz polimérica para sistema de liberacao de fármaco. *Rev. Bras. Pesq. Des*, 4(3), 1447–1449.
19. Sáenz, C., Fabián, M. R., Garrido, X., Lozano-Platonoff, A., y Contreras, J. (2010). Eficacia del ácido hialurónico en crema al 0.2 % en el tratamiento de úlceras por presión grados III y IV en pacientes hipoalbuminemicos: serie 8 casos. *Dermatología Cosmética, Médica Y Quirúrgica*, 8(4), 249–254.
20. Shachar, M., Tsur-Gang, O., Dvir, T., Leor, J., y Cohen, S. (2011). The effect of immobilized RGD peptide in alginate scaffolds on cardiac tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 7(1), 152–162. doi: 10.1016/j.actbio.2010.07.034
21. Suarez, G. (2012). *Obtención de micro y nano hidrogeles termosensibles en base a poli (n-isopropilacrilamida) y alginato*. (Proyecto de Grado para optar al título de Licenciado en Química). Universidad Simón Bolívar, Sartenejas, Venezuela.





**6.2 Cronograma de actividades**

No.	Actividad	Meses											
		1-2		3-4		5-6		7-8		9-10		11-12	
1	Revisión bibliográfica												
2	Adquisición de materiales												
3	Determinación de la metodología para desengrasado con etanol												
4	Definición de las concentraciones de NaCl y/o papaína más favorables para lograr la extracción del ácido hialurónico a partir del tejido												
5	Definición de las mejores condiciones de pH y concentración de cloroformo para aislar y purificar el ácido hialurónico												
6	Determinación de las mejores dosis de radiación y la composición óptima para lograr el entrecruzamiento y el mayor grado de hinchamiento del hidrogel.												
7	Evaluación de la estructura y degradación del hidrogel												
8	Elaboración de la pseudo-tableta de estradiol y la determinación del tiempo de degradación del hidrogel												
9	Redacción de informes finales												

**7 Fechas de inicio y fin**

Inicio: 1-6-2016


Fin: 31-5-2017



8	<b>Infraestructura, equipos y fondos adicionales.</b> <b>8.1 Infraestructura y equipos</b> El Laboratorio de Química Orgánica, el Laboratorio de Investigaciones Aplicadas y el Laboratorio del Acelerador de Electrones cuentan con los siguientes equipos disponibles: Baño termostático, equipo HPLC marca AGILLENT con detector UV, espectrofotómetro marca HITACHI modelo 1900, centrífuga Modelo 2000 E, pH-metro marca HANNA modelo HI 3220. Acelerador lineal de electrones ELU-6U <b>8.2 Breve justificación del equipo requerido</b> Se necesita mantener soluciones en agitación y a temperaturas sobre 50 °C durante las preparaciones de las soluciones de PVP y AH, por lo cual se requiere los agitadores magnéticos y la plancha de calentamiento. <b>8.3 Fondos Adicionales</b> - <i>No existen fondos adicionales</i>
---	---

9	<b>Presupuesto estimado para la ejecución del presente proyecto (anual)</b>  <ul style="list-style-type: none"><li>- <i>Los costos para la elaboración del presupuesto estimado no deben incluir IVA.</i></li><li>- <i>Las maquinarias y equipos deberán tener una proforma local con un representante autorizado en el país.</i></li><li>- <i>En el caso de PIMI, se deberá aclarar en cual departamento permanecerán las maquinarias y equipos</i></li></ul> <p style="text-align: center;"><u>Primer Año</u></p> <table border="1"><thead><tr><th>Lista de ítems</th><th>Cantidad solicitada (US \$)</th><th>Porcentaje de Ejecución (%)</th></tr></thead><tbody><tr><td>1. Contratación Servicios Personales por Contrato <i>Ayudantes de Investigación</i></td><td>0,00</td><td></td></tr><tr><td style="text-align: right;"><b>Subtotal</b></td><td><b>0,00</b></td><td></td></tr><tr><td>2. Maquinaria y Equipos</td><td></td><td></td></tr><tr><td style="text-align: right;"><b>Subtotal</b></td><td><b>0,00</b></td><td></td></tr><tr><td>3. Reactivos y materiales de laboratorio:</td><td></td><td></td></tr><tr><td style="text-align: right;"><b>Subtotal</b></td><td><b>0,0</b></td><td></td></tr><tr><td>4. Literatura especializada</td><td></td><td></td></tr><tr><td style="text-align: right;"><b>Subtotal</b></td><td><b>0,00</b></td><td></td></tr><tr><td>5. Viajes técnicos y de muestreo</td><td></td><td></td></tr><tr><td style="text-align: right;"><b>Subtotal</b></td><td><b>0,00</b></td><td></td></tr><tr><td>6. Presentación de ponencias en congresos internacionales y Publicaciones</td><td></td><td></td></tr><tr><td style="text-align: right;"><b>Subtotal</b></td><td><b>0,00</b></td><td></td></tr><tr><td style="text-align: center;"><b>TOTAL PRESUPUESTO</b></td><td><b>0,00 + IVA</b></td><td><b>100</b></td></tr></tbody></table>	Lista de ítems	Cantidad solicitada (US \$)	Porcentaje de Ejecución (%)	1. Contratación Servicios Personales por Contrato <i>Ayudantes de Investigación</i>	0,00		<b>Subtotal</b>	<b>0,00</b>		2. Maquinaria y Equipos			<b>Subtotal</b>	<b>0,00</b>		3. Reactivos y materiales de laboratorio:			<b>Subtotal</b>	<b>0,0</b>		4. Literatura especializada			<b>Subtotal</b>	<b>0,00</b>		5. Viajes técnicos y de muestreo			<b>Subtotal</b>	<b>0,00</b>		6. Presentación de ponencias en congresos internacionales y Publicaciones			<b>Subtotal</b>	<b>0,00</b>		<b>TOTAL PRESUPUESTO</b>	<b>0,00 + IVA</b>	<b>100</b>
Lista de ítems	Cantidad solicitada (US \$)	Porcentaje de Ejecución (%)																																									
1. Contratación Servicios Personales por Contrato <i>Ayudantes de Investigación</i>	0,00																																										
<b>Subtotal</b>	<b>0,00</b>																																										
2. Maquinaria y Equipos																																											
<b>Subtotal</b>	<b>0,00</b>																																										
3. Reactivos y materiales de laboratorio:																																											
<b>Subtotal</b>	<b>0,0</b>																																										
4. Literatura especializada																																											
<b>Subtotal</b>	<b>0,00</b>																																										
5. Viajes técnicos y de muestreo																																											
<b>Subtotal</b>	<b>0,00</b>																																										
6. Presentación de ponencias en congresos internacionales y Publicaciones																																											
<b>Subtotal</b>	<b>0,00</b>																																										
<b>TOTAL PRESUPUESTO</b>	<b>0,00 + IVA</b>	<b>100</b>																																									



<b>10</b>	<b>Lugar y Fecha / Firma del Director del Proyecto</b>	
	<p align="center">Quito, 08 de Junio del 2016</p> <p>Nombre: Gloria Maribel Luna Aguilera CC: 1104011745</p>	 Firma del Director

<b>DECLARACION DEL JEFE DE DEPARTAMENTO</b>	
<p>Esta propuesta ha sido aprobada por el Consejo del Departamento de Ciencias Nucleares, <b>al que pertenece el Director del Proyecto</b>, en Sesión extraordinaria del 24 de mayo de 2016 mediante Resolución No. 23-16 y las instalaciones, incluyendo personal, edificios, equipo y recursos financieros están a disposición del aplicante de acuerdo con las especificaciones que se encuentran en esta aplicación.</p>	
 JEFE DEL DEPARTAMENTO/INSTITUTO Nombre: Dra. Florinella Muñoz CC: 170458202-0	<p>Quito, 08 de Junio de 2016</p> Lugar y fecha

**HOJA DE VIDA DEL DIRECTOR DEL PROYECTO**

Datos personales	
<b>Luna Aguilera</b>	<b>Gloria Maribel</b>
Apellidos	Nombres
M: ( )    F: (X )    1982/09/15	Ecuatoriana
Sexo	Fecha de Nacimiento
	Nacionalidad
	<a href="mailto:maribel.luna@epn.edu.ec.com">maribel.luna@epn.edu.ec.com</a>
	E-mail
	Teléfono oficina: 2976300 ext. 2107
	2507 144 ext. 2273
Carcelén, calle E2 N87-163 y Av. Jaime Roldós Aguilera/ Quito	Celular: 099 9130 765
	Teléfono casa: 2556 437
Dirección particular / Ciudad	

Educación Universitaria. Proveer el nombre de los títulos de pregrado y postgrado (Ing., Magister, Ph.D.)				
Títulos	Período	Institución/Universidad	Ciudad/País	Tema de tesis de grado
Máster en Ingeniería Nuclear y Aplicaciones	2009-2010	Universidad Autónoma de Madrid y CIEMAT	Madrid/España	Análisis de la Metodología MARSSIM para la liberación de suelos descontaminados de radionucleidos
Ingeniera Química	2002-2009	Escuela Politécnica Nacional	Quito/Ecuador	Desarrollo del Manual de Procedimientos Operacionales Específicos del LIA y cálculo de incertidumbre de un método de determinación de pesticidas órganoclorados

Experiencia investigativa y en ejecución de proyectos (cite los tres más relevantes)		
Período	Título del proyecto	Posición /Actividades realizadas
2015-2016	PII-DCN-002-2015: Obtención de un hidrogel de quitosano mediante radiación para determinar su aplicación en la adsorción de cromo en aguas	Directora del Proyecto Interno



2013-2014	PIS 13-27: Determinación de la distribución de dosis máxima y mínima absorbidas por un insumo médico dentro de la cámara de irradiación de la fuente de cobalto-60 de la EPN mediante un modelo digital desarrollado en el programa Monte Carlo N-Particle	Directora del Proyecto Semilla
2012-2013	PIS 12-27: Preparación de hidrogeles para el tratamiento de efluentes coloreados, con base en polisacáridos y alcohol polivinílico (PVA) por medio de irradiación beta con un acelerador lineal de electrones	Directora del Proyecto Semilla
2012-2013	Proyecto Interno PII-DCN-2012-004: Rediseño del sistema de tratamiento de agua de la piscina de almacenamiento de la fuente de cobalto-60 del Laboratorio de Tecnología de Radiaciones, para mantener valores de conductividad del agua menores a 10 $\mu$ S/cm.	Directora del Proyecto Interno

**Publicaciones, patentes, prototipos o productos (cite las cinco más relevantes o las más recientes)**

1.	Luna, G., 2011, (CD-ROM), "Tecnologías de Fusión Nuclear", XII Encuentro de Física, Escuela Politécnica Nacional, Facultad de Ciencias, Quito, Ecuador.
2.	Luna, G. y Vidachea, S., 2010, "Análisis de la metodología MARSSIM y su aplicación en el proceso de liberación de suelos descontaminados de radionucleicos", Serie Ponencias MINA 2009-2010, Proyectos Fin de Máster, UAM-CIEMAT, Madrid España.

**Experiencia profesional, otros trabajos científicos y técnicos**

1.	Profesor Agregado a tiempo completo Nivel 1 Grado 3 del Departamento de Ciencias Nucleares, Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria. Desde Enero del 2012 hasta Septiembre de 2014.
2.	Profesor Agregado I a tiempo completo del Departamento de Ciencias Nucleares, Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria. Desde Enero del 2012 hasta Septiembre de 2014.
3.	Profesional III del Departamento de Ciencias Nucleares, Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria. Desde Agosto del 2010 hasta Diciembre del 2011.
4.	Ayudante del Laboratorio de Química Orgánica del Departamento de Ciencias Nucleares de la Escuela Politécnica Nacional. Desde Septiembre del 2006 hasta Marzo del 2009
5.	Profesora de las cátedras de: - Química Orgánica en la Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria desde Marzo 2011 hasta la fecha. - Tecnología Orgánica en la Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria desde Septiembre de 2010 hasta la fecha. - Modelado y Control Automático desde Septiembre de 2014 hasta la fecha.

**HOJA DE VIDA DEL DOCENTE COLABORADOR DEL PROYECTO**