

# Ensamblajes supramoleculares acuosos generados por nuevos derivados de quitosano y ácidos biliares con potencial uso biomédico

## Aqueous supramolecular assemblies generated by novel chitosan and bile acids derivatives with potential biomedical use

Aida Liliana Barbosa<sup>1,\*</sup>, Stevinson Caicedo Mora<sup>1</sup>

(1) Universidad de Cartagena, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Laboratorio de Investigaciones en Catálisis y Nuevos materiales-LICATUC, Programa de Química, Campus de Zaragocilla, Cartagena - Colombia

\*autor de correspondencia ([abarbosal@unicartagena.edu.co](mailto:abarbosal@unicartagena.edu.co))

Recibido 13/06/2025

Evaluado 11/08/2025

Aceptado 15/09/2025

<https://doi.org/10.65093/aci.v16.n3.2025.34>

### RESUMEN

El ácido desoxicólico (ADC) modificado con quitosano en solución acuosa iónica, creó polímeros anfifílicos que se auto-ensamblaron. La espectroscopia FTIR-ATR permitió estudiar su especificidad espacial y química identificando vibraciones C-H, O-H y N-H, en el rango espectral de  $2700\text{ cm}^{-1}$  a  $3700\text{ cm}^{-1}$ . La banda de estiramiento OH del agua se resolvió mediante deconvolución y ajuste de curvas gaussianas clasificando el tipo de enlaces de hidrógeno fuertes ( $\sim 3200 - 3450\text{ cm}^{-1}$ ), débiles o OH libres a ( $\sim 3550 - 3650\text{ cm}^{-1}$ ), su distribución permitió proponer estructuras de los agregados 3D con modelado asistido con IA (MAIA), estos coexisten entre sí por fuerzas hidrofóbicas y de van der Waals, gobernadas por principios termodinámicos predecibles e influencia del método de síntesis. Se determinó su estabilidad térmica en un rango de  $20^{\circ}\text{C}$ - $60^{\circ}\text{C}$ , observando rearrreglos estructurales que formaron hidrogeles elásticos, que cambiaron a un ordenamiento rígido generando cooperatividad electrostática, cuando aumentó la temperatura. Estos estudios aportaron insumos para su uso como sistemas anfitriones para moléculas hidrofóbicas y otros usos médicos.

Palabras clave: ácidos desoxicólico, geles quitosano, deconvolución FT-ATR, modelado asistido con IA

### ABSTRACT

Deoxycholic acid (DCA) modified with chitosan in ionic aqueous solution created amphiphilic polymers that self-assembled. FTIR-ATR spectroscopy allowed the study of its spatial and chemical specificity by identifying C-H, O-H, and N-H vibrations in the spectral range from ( $2700\text{ cm}^{-1}$  to  $3700\text{ cm}^{-1}$ ). The OH stretching band of water was resolved by deconvolution and Gaussian curve fitting, classifying the type of strong hydrogen bonds ( $\sim 3200\text{-}3450\text{ cm}^{-1}$ ), weak bonds, or free OH ( $\sim 3550\text{-}3650\text{ cm}^{-1}$ ). their distribution allowed us to propose 3D aggregate structures with AI-assisted modeling (MAIA), which coexist with each other through hydrophobic and van der Waals forces, governed by predictable thermodynamic principles and the influence of the synthesis method. Their thermal stability was determined in a range of  $20^{\circ}\text{C}$ - $60^{\circ}\text{C}$ , observing structural rearrangements that formed elastic hydrogels, which changed to a rigid arrangement generating electrostatic cooperativity when the temperature increased. These studies provided input for their use as host systems for hydrophobic molecules and other medical applications.

Keywords: deoxycholic acid, chitosan gels, FT-ATR deconvolution, AI-assisted modeling

## INTRODUCCIÓN

Los anfífilos poliméricos representan sistemas altamente promisorios para la administración controlada de fármacos y genes, dado que permiten reducir efectos secundarios tóxicos y mejorar la eficacia terapéutica (Fig. 1) (Virtanen & Kolehmainen, 2004; Lawson *et al.*, 2014; Parekh *et al.*, 2023). Estos materiales presentan la capacidad de formar micelas o autoagregados de manera espontánea en medio acuoso, proceso que ocurre a través de la asociación intra- e intermolecular de sus fracciones hidrofóbicas. Dicho mecanismo favorece la disminución de la energía libre interfacial (Lee *et al.*, 1998; Kim *et al.*, 2005) y conduce al establecimiento de una red tridimensional reticulada. Esta arquitectura confiere al sistema una notable capacidad de absorción de agua, lo que resulta en la formación de un hidrogel con propiedades estructurales y funcionales de interés para aplicaciones biomédicas.

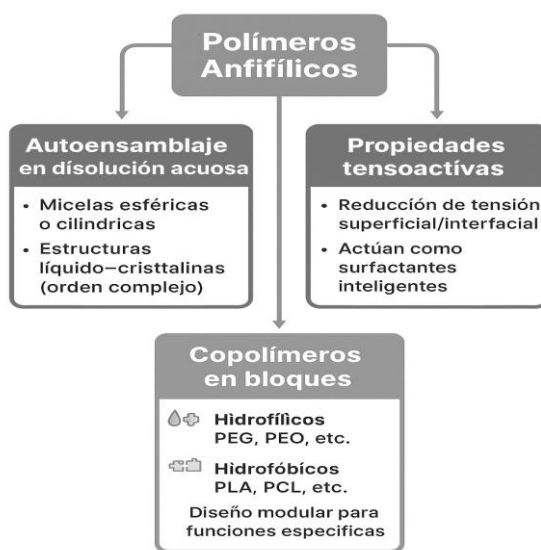


Fig. 1: Características generales de un polímero anfílico.

La limitada resistencia mecánica de los hidrogeles convencionales de quitosano se atribuye a la distribución heterogénea de los enlaces cruzados dentro de la red polimérica, lo que los hace susceptibles a la degradación bajo solicitaciones externas. En consecuencia, resulta fundamental profundizar en el estudio de las modificaciones estructurales de la red tridimensional con el propósito de incrementar su resistencia, tenacidad y tolerancia a la fatiga (Shenghua *et al.*, 2023; Kim *et al.*, 2005). La estrategia adoptada por Guo *et al.* (2020), consistió en la incorporación de interacciones no covalentes, tales como enlaces de hidrógeno, asociaciones supramoleculares (Che *et al.*, 2020) y dominios hidrofóbicos (Dong *et al.*, 2022) que actúan como puntos de unión dinámicos y reversibles. Estas interacciones reducen la tensión de dispersión de los enlaces y promueven una reticulación física adaptable, confiriendo al sistema propiedades de auto-reparación y capacidad de recuperación estructural. Los resultados sugieren que la integración de estas fuerzas secundarias optimiza la estabilidad mecánica y funcional de los hidrogeles.

La identificación de compuestos con elevada densidad de grupos hidroxilo, constituye una estrategia prioritaria en el diseño de sistemas capaces de promover interacciones intermoleculares estables. En este sentido, los ácidos biliares primarios (Figs. 2-1 al 2-5) particularmente el ácido cólico (Fig. 2-1) y el ácido desoxicólico (Fig. 2-3), representan alternativas idóneas para la generación de agregados supramoleculares con capacidad de gelificación (Lee *et al.*, 1998; Kim *et al.*, 2005). La disposición estereoespecífica de sus grupos hidroxilo, junto con la naturaleza anfífilica de su esqueleto esteroideo, favorece la formación de redes tridimensionales mediante asociaciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno. Este comportamiento permite la estabilización de arquitecturas reticuladas dinámicas en medio acuoso, confiriendo propiedades fisicoquímicas ajustables. Tales



En el caso de hidrogeles, cuya estructura depende de una red tridimensional altamente hidratada, la caracterización se realiza de manera eficiente mediante espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier en modo de reflectancia total atenuada (FTIR-ATR).

El montaje experimental de FTIR-ATR mostrado en la Fig.3, se basa en un cristal de alta densidad óptica, comúnmente de diamante o germanio, sobre el cual incide el haz infrarrojo generando múltiples reflexiones internas. El campo evanescente penetra algunos micrómetros en la muestra, permitiendo analizar materiales en estado hidratado sin necesidad de deshidratación previa (Baker *et al.*, 2014). Para garantizar la calidad de la señal, es indispensable un contacto óptico adecuado entre el hidrogel y la superficie del cristal. En este punto, debe aclararse que lo referido como “capa amortiguadora” corresponde en realidad a una abrazadera de presión o yunque, presente en todo accesorio ATR. La función de este yunque no es mantener condiciones fisicoquímicas estables, sino asegurar un contacto superficial uniforme entre la muestra y el cristal, optimizando la transmisión del campo evanescente hacia el material.

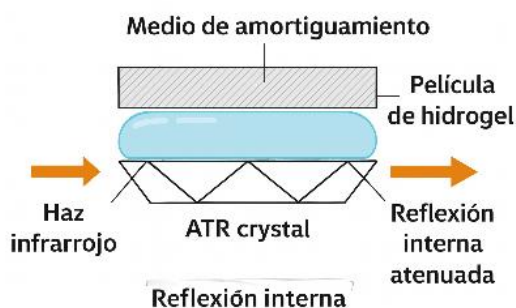


Fig. 3: Esquema representativo de la técnica de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier con reflexión total atenuada (FTIR-ATR)

La profundidad de penetración del campo evanescente, del orden de micrómetros, reduce la contribución de la fracción acuosa a granel característica de estos sistemas blandos (Kaur *et al.*, 2021), asegurando que la señal espectral provenga del volumen efectivo “bulk” del hidrogel y no únicamente de su superficie. Este efecto se logra únicamente si se garantiza un contacto óptico adecuado entre la muestra y el cristal ATR. La magnitud de dicha penetración depende de parámetros experimentales críticos, como el ángulo de incidencia del haz infrarrojo y la relación entre los índices de refracción del cristal y la muestra. Estas condiciones son determinantes para el estudio de enlaces de hidrógeno en hidrogeles, permitiendo un análisis directo sin necesidad de deshidratación extensa y revelando cambios en las bandas de absorción infrarroja, particularmente en regiones O-H y N-H, revelan procesos de formación, ruptura y variaciones en la fuerza de los enlaces de hidrógeno. De este modo, FTIR-ATR proporciona información directa sobre la estructura, estabilidad y dinámica de los hidrogeles en condiciones cercanas a su entorno real de aplicación (Branca *et al.*, 2016).

Diversos estudios han demostrado que las propiedades fisicoquímicas de los hidrogeles polianfóteros dependen de manera crítica de la energía y dinámica de los enlaces de hidrógeno, así como de la interacción de los grupos hidroxilo con el agua, factores que determinan su estabilidad estructural y funcionalidad en aplicaciones biomédicas (Barth, 2007; Baker *et al.*, 2014). En particular Branca *et al.* (2016), evidenciaron mediante espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier en modo de reflectancia total atenuada (FTIR-ATR) que las vibraciones asociadas a los grupos OH y NH desempeñan un papel central en las interacciones de polisacáridos con nanocompuestos, revelando además la reversibilidad de los procesos de contracción y expansión de redes poliméricas en función de su grado de ionización (Paladini, *et al.*, 2020). Dado que la fase acuosa constituye la fracción mayoritaria de un hidrogel, resulta esencial establecer el papel del agua y sus interacciones fisicoquímicas con la matriz polimérica. La teoría clásica de polímeros hidrófilos y redes tridimensionales ha sido revisada por Pepas & Merrill (1977) y Hoffman *et al.* (1986), para considerar que el agua no debe representarse como un medio homogéneo con propiedades uniformes, ni como un componente pasivo dentro de un modelo continuo termodinámico. Por el contrario, se reconoce que el agua se organiza en dominios

microscópicos diferenciados, cuya movilidad y dinámica dependen de la magnitud de sus interacciones con el polímero. Esta heterogeneidad se traduce en poblaciones discretas de moléculas de agua, clasificadas según su movilidad y energía de enlace (Hoffman *et al.*, 1986), lo que se contempla en la denominada teoría de los Tres Estados del Agua. Dicho modelo distingue entre agua ligada no congelable, agua ligada congelable o intermedia, y agua libre (Peppas & Merrill, 1977). Esta clasificación ha permitido comprender cómo la distribución y el estado del agua condicionan las propiedades fisicoquímicas y funcionales de los hidrogeles y otros polímeros hidrófilos, aportando un marco conceptual sólido para interpretar su comportamiento en condiciones biomédicas y tecnológicas (Enev *et al.*, 2022).

Para diferenciar las interacciones agua-polímero y caracterizar los distintos estados del agua en hidrogeles, particularmente en aquellos sensibles a estímulos externos, se ha empleado la calorimetría diferencial de barrido (DSC). En estudios publicados por Rusu en 2015 demostraron que esta técnica, complementada con análisis termogravimétrico (TGA), espectroscopía infrarroja (FTIR) y espectrometría de masas (MS), permite evaluar de manera integral el comportamiento térmico de hidrogeles modificados hidrofólicamente (Rusu *et al.*, 2015). No obstante, la espectroscopía infrarroja en modo de reflectancia total atenuada (FTIR-ATR) ofrece ventajas adicionales, al proporcionar evidencia directa sobre la energía y dinámica de los enlaces de hidrógeno, las interacciones mediadas por puentes de hidrógeno y la contribución de los grupos hidroxilo estructurales en relación con el agua (Yin *et al.*, 2013; Moll *et al.*, 2022). Estas características convierten a FTIR-ATR en una técnica poderosa de elucidación estructural

La relevancia de las interacciones moleculares en el desempeño funcional de los hidrogeles ha sido notoriamente documentada (Yin *et al.* 2013). En particular, se ha descrito que los hidrogeles de doble red basados en polizwitteriones exhiben una resistencia mecánica elevada y notables propiedades antiincrustante. Dichos hallazgos se correlacionan con los desplazamientos observados en las bandas de estiramiento O-H ( $\approx 3200-3600\text{ cm}^{-1}$ ) y las variaciones en la región de C=O ( $\approx 1650-1720\text{ cm}^{-1}$ ), que constituyen huellas espectrales directas de las interacciones moleculares. Estos cambios permiten visualizar la reorganización de la red polimérica y la estabilización de los nudos iónicos (Yin *et al.*, 2013; Moll *et al.*, 2022), aportando información crítica sobre la estructura y funcionalidad de los hidrogeles en condiciones próximas a su entorno real de aplicación.

Para realizar estudios de organización molecular en hidrogeles, cuya composición es predominantemente agua (H<sub>2</sub>O), se emplea la señal intensa correspondiente al estiramiento O-H, que domina los espectros vibracionales obtenidos mediante transmisión estándar. La resolución de las especies subyacentes se logra aplicando la técnica de deconvolución de Fourier (FD), desarrollada a principios de la década de 1980 por el grupo de Ottawa y consolidada desde entonces como herramienta estándar en espectroscopia infrarroja (IR). Esta metodología permite separar bandas intrínsecamente superpuestas, aportando mayor definición espectral (Kauppinen *et al.*, 1981).

El ajuste de curvas constituye un proceso complejo que requiere la selección adecuada de funciones de banda. Se utilizan gaussianas, lorentzianas y combinaciones mixtas gaussiano-lorentzianas con pesos arbitrarios, lo que posibilita la estimación de parámetros relacionados con la energía potencial de los enlaces y, en consecuencia, una caracterización estructural más profunda. Este enfoque permite determinar longitudes de enlace O...O en puentes de hidrógeno y clasificar dichos enlaces como fuertes, moderados o débiles, de acuerdo con modelos de Libowitzky y Jeffrey ampliamente aceptados. En particular, Libowitzky (1999) estableció una correlación cuantitativa entre las frecuencias de estiramiento O-H observadas en espectros IR y las longitudes de enlace O...O en puentes de hidrógeno. Su análisis, basado en más de 125 pares de datos de minerales, demostró que la disminución en la frecuencia de estiramiento O-H se relaciona directamente con una menor distancia O...O. Este hallazgo permitió deducir la fuerza del enlace de hidrógeno a partir de parámetros vibracionales, consolidando un marco teórico robusto para la interpretación de espectros en sistemas poliméricos hidratados como los hidrogeles (Libowitzky, 1999).

Estudios posteriores han demostrado que las frecuencias de estiramiento O-H pueden correlacionarse con descriptores estructurales externos, tales como la geometría local y el campo electrostático, en sistemas de agua adsorbida y grupos -OH presentes en superficies. Estos hallazgos evidencian que el entorno inmediato modula las correlaciones propuestas por Libowitzky (1999), aportando un marco más amplio para su

interpretación. En el caso de hidrogeles, este enfoque respalda el uso cualitativo de dichas correlaciones, aunque las estimaciones cuantitativas requieren calibraciones específicas para cada material. Por ello, la técnica se emplea con precaución al interpretar la microestructura del agua confinada en matrices poliméricas.

La presencia de múltiples subpoblaciones de vibraciones O-H en hidrogeles puede originar bandas anchas, lo que hace necesaria la aplicación de una deconvolución espectral profunda para resolver adecuadamente las contribuciones superpuestas. En este contexto, se recomienda trabajar dentro del rango de distancias O...O en puentes de hidrógeno, usándose este como descriptor estructural que permite clasificarlos como fuertes, moderados o débiles en un intervalo de 2.44-3.5 Å, reportando la incertidumbre asociada a diferencias de entorno respecto a minerales, tal como se ha señalado en estudios recientes (Röckert *et al.*, 2022). Estas incertidumbres permiten ajustar las correlaciones en entornos hidratados similares a los hidrogeles, mejorando la interpretación estructural. Por su parte, Jeffrey (1997) estableció una clasificación sistemática de los enlaces de hidrógeno en tres categorías: fuertes, moderados y débiles. Los enlaces fuertes presentan energías comparables a las covalentes; los moderados corresponden a interacciones típicas en sistemas biológicos y poliméricos; y los débiles se asemejan a fuerzas de van der Waals. Esta categorización constituye un marco conceptual sólido para comprender cómo las distintas poblaciones de agua en hidrogeles condicionan su estabilidad, dinámica y propiedades mecánicas.

El objetivo de este trabajo es analizar los mecanismos moleculares que regulan la formación de hidrogeles híbridos de quitosano y ácido desoxicólico, con especial atención a las interacciones hidrofóbicas y a los puentes de hidrógeno que determinan su arquitectura tridimensional y estabilidad en medio acuoso. Se espera establecer correlaciones entre las señales espectroscópicas obtenidas mediante FTIR-ATR y la organización estructural de los dominios hidrofóbicos, así como parámetros cuantitativos que permitan modelar la red polimérica. La aplicación de los modelos de Libowitzky y Jeffrey facilitará la interpretación de las distancias promedio O...O y la clasificación de los enlaces de hidrógeno, aportando información crítica para el modelado estructural asistido por inteligencia artificial. Los resultados anticipados contribuirán al diseño racional de hidrogeles con propiedades ajustables, orientados a mejorar la biodisponibilidad de fármacos y a seleccionar morfologías específicas para aplicaciones médicas y farmacéuticas (Toleutay *et al.*, 2023; Su *et al.*, 2024), consolidando su relevancia en el campo de los biomateriales.

## MATERIALES Y METODOS

Quitosano (CH, 2.5 x10<sup>5</sup> grados de deacetilación 82.7% Sigma Aldrich), agua desionizada, agua Pura (Milli-Q) purificada usando filtración y dialización. Ácido acético glacial (Merck). Ácido desoxicólico (ADC) (Merck millipore). Para permitir una gelificación más lenta y homogénea fue empleado Cloruro de sodio (Sigma Aldrich). Todos los reactivos fueron grado analítico.

### *Formación de hidrogeles de quitosano con ADC por gelación iónica*

Una solución 17.66mM de quitosano fue preparada con 0.033 g de CH, 0.4752 g ácido acético glacial y 5 mL de agua desionizada (Sogias *et al.*, 2010) agitados a 450 rpm por una hora a temperatura ambiente. Se añadieron 2mg de una solución 0.1M de NaCl para mantener la misma fuerza iónica en todas las disoluciones y para que la formación de agregados fuese más homogénea (Manconi *et al.*, 2005). La solución resultante se filtró antes de su uso para eliminar las impurezas. El pH resultante fue de aproximadamente 4.1.

La solución fue incorporada a 0.020 g de ADC, obteniéndose una concentración de 9.31 mM en una relación final ADC/CH de 1:2, con un pH ≈ 5. Para favorecer una incorporación rápida y homogénea de la mezcla, se sometió a agitación por vortex durante 3 minutos. Posteriormente, el hidrogel semisólido formado se mantuvo bajo agitación mecánica a 450 rpm durante 24 horas. Este procedimiento se replicó para las distintas preparaciones de hidrogeles ADC-CH, las cuales fueron agitadas magnéticamente a 450 rpm en un rango de temperaturas controlado entre 22 °C y 50 °C, manteniendo constante el volumen total de la solución. En todos los casos, el valor de pH de las mezclas ADC/quitosano se mantuvo cercano a 5, lo que asegura condiciones reproducibles de síntesis. La Tabla 1 presenta la nomenclatura y detalles de síntesis de los hidrogeles empleados en este estudio.

Tabla 1: Nomenclatura para los hidrogeles obtenido. ADC-CH método iónico.

Código	Componentes	Descripción de la síntesis	Temperatura de síntesis (°C)
S4	ADC-CH-22	Quitosano disuelto +NaCl 0.1M + ADC / 24h(450rpm)	22
S5	ADC-CH-30		30
S7	ADC -CH-36		36
S10	ADC -CH-40		40
S13	ADC -CH-50		50

### Microscopia Óptica

Con la finalidad de realizar un seguimiento del crecimiento de las partículas en el gel, fueron tomadas microfotografías empleando un instrumento portátil 200X Phone Mini Pocket Microscope with LED Light/Universal Clip, Portable DigitalMicroscope video-camera 8 Megapixeles Attachments Smartphone Motorola S6.

### Análisis espectroscópico ATR-FT-IR de los hidrogeles obtenidos.

Para la evaluación de los grupos funcionales presentes en el quitosano y en los agregados derivados de ADC-Ch se empleó un espectrofotómetro infrarrojo con transformada de Fourier (Digilab FTS7000e Fourier Transform Infrared Spectrometer) equipado con un módulo de reflectancia total atenuada (ATR) micro. Las muestras fueron depositadas directamente sobre el cristal ATR para su análisis. Los espectros se registraron en el intervalo de  $750\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ , con una resolución espectral de  $4\text{ cm}^{-1}$  y un promedio de 64 scans por muestra, garantizando una adecuada relación señal/ruido. El sistema permitió realizar mediciones FTIR tanto en modo de reflexión como en modo de transmisión, asegurando la caracterización integral de las vibraciones moleculares asociadas a los grupos funcionales del polímero y de los agregados formados.

### Información que se puede derivar del espectro ATR-FT-IR

Para resolver las bandas superpuestas en la región de estiramiento comprendida entre  $3700\text{ y }2800\text{ cm}^{-1}$  y elucidar la arquitectura supramolecular subyacente, se aplicó un protocolo de ajuste de curvas (curve-fitting). La reconstrucción matemática se realizó mediante el algoritmo iterativo de Levenberg-Marquardt, empleado para la minimización de mínimos cuadrados no lineales (Barth, 2007).

El perfil espectral experimental de cada hidrogel se aproximó como una sumatoria de componentes individuales con función de forma Gaussiana, iterando hasta alcanzar la convergencia del estadístico Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) superior a 0.999. Este enfoque permitió aislar cuantitativamente las sub-bandas ocultas en el intervalo  $3100\text{-}3700\text{ cm}^{-1}$ , discriminando entre poblaciones específicas de enlaces de hidrógeno, interacciones iónicas y asociaciones hidrofóbicas, en función de sus frecuencias y áreas integradas. La deconvolución de la banda de estiramiento asimétrica del grupo OH se efectuó utilizando el software Origin 9.0 (Microcal Software, Inc.).

Este procedimiento matemático proporcionó la base para construir la arquitectura del hidrogel a partir de tres indicadores fundamentales:

- El número de onda central ( $X_c$ ), que refleja la intensidad de la interacción.
- La semianchura a mitad de altura (FWHM,  $w$ ), que aporta información sobre el grado de orden estructural.
- La proporción de áreas (%A), que permitió establecer si la red correspondía a una matriz flexible dominada por fases fluidas (agua intersticial) o a una estructura rígida y percolada, gobernada por dominios de agua altamente organizada.

Estos parámetros fueron calculados de acuerdo con la Ecuación 1 implementada en el software OriginLab.

$$y = y_o + \frac{A}{w \sqrt{\frac{\pi}{4 \ln(2)}}} \exp\left(-4 \ln(2) \frac{(x - x_c)^2}{w^2}\right) \quad (1)$$

Donde el significado físico de cada termino es:

$y_o$  (offset/línea base): Representa el desplazamiento vertical de la señal. Es la absorbancia de fondo sobre la cual se asienta la señal vibracional, para nuestra población de los datos estuvo en un valor constante de (0,01097) todos, lo que indica una línea base corregida y compartida.

$x_c$  (Centro /Posición): Es el número de onda central. Indica la posición exacta en el eje X donde ocurre la máxima absorbancia de la señal, indicando la energía de la transición en la que los enlaces del grupo funcional químico están vibrando.

A (Área / Intensidad Integrada): Es el área bajo la curva del pico. Es proporcional a la concentración de las especies químicas que generan esa señal y a su coeficiente de extinción.

w (ancho /ancho a media altura FWHM): Según la formulación matemática mostrada en la imagen, este término corresponde al FWHM (Full Width at Half Maximum) o ancho a media altura. Representa qué tan "ancho" es la señal al 50% de su altura máxima.

La predominancia de las poblaciones químicas presentes en los geles sintetizados se determinó mediante el cálculo del área correspondiente a cada banda obtenida en la deconvolución espectral. Estas bandas fueron identificadas y codificadas como  $A_{p1}$  a  $A_{p5}$ . La suma de cada contribución individual permitió obtener el área total de la banda ( $A_{total}$ ), a partir de la cual se calculó la contribución porcentual de cada sub-banda empleando la Ecuación 2. Este análisis cuantitativo proporcionó la base para una interpretación fisicoquímica orientada a establecer el estado del agua presente en los sistemas, diferenciando entre poblaciones de agua intersticial, asociada o altamente estructurada en función de la distribución relativa de las áreas espectrales.

La predominancia de las poblaciones químicas presentes en los geles sintetizados fue hallada calculando el área de cada banda de la deconvolución, los cuales se marcaron como  $A_{p1}$  a  $A_{p5}$ , sumando cada contribución se obtuvo el área total de la banda ( $A_{total}$ ) y la contribución porcentual utilizando la Ec. 2, para hacer una interpretación fisicoquímica y encontrar el estado del agua presente en los sistemas.

$$A_{total} = A_{p1} + A_{p2} + A_{p3} + A_{p4} + A_{p5} \quad (2)$$

La clasificación del enlace y el cálculo de la distancia (la longitud promedio de los puentes de hidrógeno), se hizo empleando la correlación empírica de Libowitzky (ver Ec. 3 y Ec. 4), explicada anteriormente, la cual relaciona directamente el número de onda central del pico  $X_c$  y la distancia de enlace  $d(O...O)$  en Ångströms. Así de esta forma indirecta se tiene una idea de la "densidad de reticulación" (crosslinking).

$$v = 3592 - 304 \cdot 10^9 \exp\left(\frac{-d(O \dots O)}{0.1321}\right) \quad (3)$$

Para hallar la distancia, se invierte la ecuación:

$$d(O \dots O) = -0.1321 \cdot \ln\left(\frac{3592 - v}{304 \cdot 10^9}\right) \quad (4)$$

Siendo  $v$ : número de onda experimental de la señal (en  $\text{cm}^{-1}$ ).

•  $d(O...O)$ : distancia entre el átomo de oxígeno "donador" (el que tiene el H) y el oxígeno "aceptor" (el vecino) en Angstroms (Å).

•  $3592 \text{ cm}^{-1}$ : valor teórico de un grupo -OH "libre" en una matriz sólida ideal sin puentes de hidrógeno.

•  $0.1321$ : Es un parámetro de decaimiento que describe qué tan rápido se debilita el enlace covalente O-H al acercarse otro oxígeno.

Para encontrar las interacciones agua-polímero y fuerzas débiles tipo van der Waals, presentes en sistemas biológicos y poliméricos, fue empleada la clasificación de los enlaces de hidrogeno encontrados por Jeffrey, tabla 2.

Tabla 2: Clasificación de Jeffrey los enlaces de hidrogeno, fuertes, moderados y débiles.

Tipo de interacción	Fuerte Fuertemente covalente	Moderado Medianamente electrostática	Débil Electrostática/dispersión
Longitud de enlace (Å)			
H...A	1.2- 1.5	1.5-2.2	>2.2
Estiramiento de X-H (Å)	0.08-0.25	0.02-0.08	<0.02
X-H versus H...A	X-H $\cong$ H...A	X-H<...A	X-H $\ll$ H...A
X...A(Å)	2.2-2.5	2-5-3.2	>3.2
Direccionalidad	fuerte	Moderado	Débil
Angulo de enlace [°]	170-180	>130	>90
Energía de enlace [kcal/mol-1]	15-40	4-15	<4
Porcentaje de desplazamiento de la señal IR relacionada $\Delta\bar{\nu}_{XH}[cm^{-1}]$	25%	10-25%	<10%
Desplazamiento de señales de $^1H$ a un campo campo inferior (RMN)	14-22	<14	

Nota: Los datos numéricos son sólo valores orientativos (tomado de - Jeffrey, 1997).

#### Modelado estructural asistido por computadora.

La elucidación de los enlace y condiciones jerárquicas supramoleculares en la serie de hidrogeles S4-S13, se abordó mediante la deconvolución espectral de la banda  $\nu(O-H)/Amida I$ , la validez de este enfoque se sustenta en la premisa mecanocuántica de que en un oscilador armónico el enlace O-H, actúa como un reportero sensible del entorno electrostático local; específicamente, el desplazamiento batocrómico (red shift) de la frecuencia fundamental (Wang *et al.*, 2004), es proporcional a la magnitud de la distorsión electrónica, inducida por la formación de enlaces de hidrógeno, este fenómeno lo formalizo Libowitzky a través de su relación empírica (Ecs.3 y 4) propuesta por Libowitzky (Libowitzky, 1999; Röckert *et al.*, 2022), la cual es relevante para ajustar correlaciones en entornos hidratados similares a hidrogeles.

Para elucidar el diseño supramolecular subyacente, se implementó un flujo de trabajo de modelado generativo impulsado por inteligencia artificial (IA). Los parámetros cuantitativos derivados de la deconvolución espectral ATR-FT-IR para los hidrogeles estudiados, específicamente los centroides de frecuencia, las áreas integradas de las sub-bandas Gaussianas, los valores de  $d(O...O)$ , el tipo de interacción y clasificación de enlaces de hidrogeno fueron utilizados, como condiciones de contorno topológicas para la generación estructural (Flór *et al.*, 2024).

El algoritmo interpretó las firmas vibracionales (conjunto único de frecuencia (posición), intensidad (altura) y forma (ancho) de una banda de absorción en el espectro IR, que identifica inequívocamente no solo a un grupo químico, sino a su estado de interacción específico).

Los desplazamientos a baja frecuencia ( $\sim 3250\text{ cm}^{-1}$ ) dictaron las coordenadas de los anclajes iónicos fuertes ( $NH_3^+...COO^-$ ), mientras que las bandas alifáticas definieron los límites volumétricos de los dominios hidrofóbicos auto-ensamblados.

Este enfoque data-driven permitió reconstruir un modelo 3D representativo a mesoescala de los 'puntos de unión, visualizando la sinergia entre el núcleo hidrofóbico de ácido desoxicólico (ADC) y la matriz hidrofílica de quitosano, transcribiendo directamente el panorama de interacción espectroscópica en una morfología espacial coherente. El flujo de trabajo metodológico y la lógica de decisión algorítmica fueron esquematizados (ver Fig. 4), utilizando el paquete de software de código abierto Graphviz (Gansner & North, 2000), empleando el motor de diseño 'dot' para la visualización jerárquica dirigida.

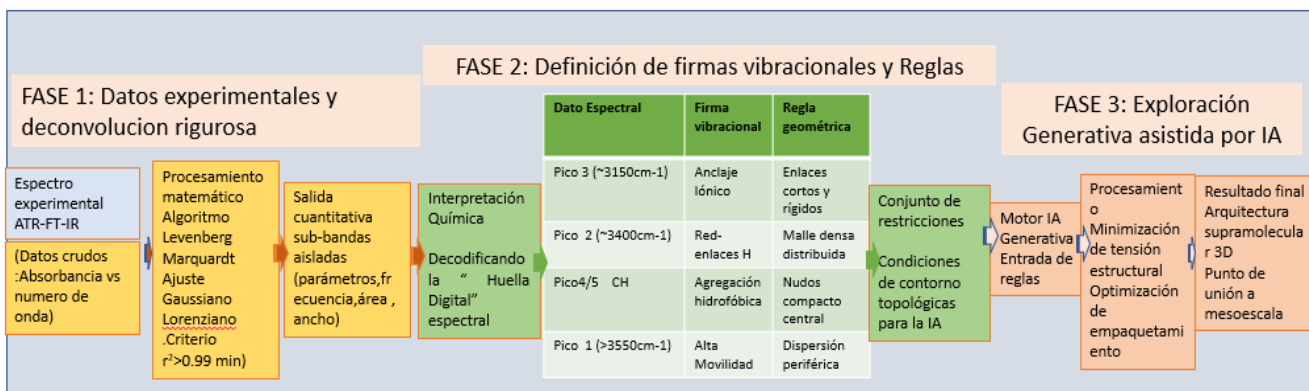


Fig. 4: Flujo de trabajo metodológico para la reconstrucción estructural in silico de hidrogeles supramoleculares basada en datos espectroscópicos (Gansner & North, 2000)

En la caracterización espectroscópica de redes supramoleculares complejas, como son los hidrogeles polianfólitos S4-S13, la deconvolución de la banda O-H/Amida I, fue fundamental en la identificación de subpoblaciones vibracionales discretas (Torii, 2015). Sin embargo, para hacer una buena interpretación fisicoquímica no se toman exclusivamente la presencia de modos extremos como fueron los "nudos iónicos" de ultra-alta energía, que arrojaron un valor  $d$  aproximado de 2.63 Å en S4/S10, lo cual podría ofrecer una visión fragmentada y sesgada de la realidad estructural del material. Para corregir este aspecto se calculó el promedio ponderado de distancia de enlace-H ( $d_{prom}$ ) (ver valores Tabla 3), permitiendo llevar el análisis desde una descripción puramente topológica (qué tipos de enlaces existen), hacia una representación con datos estadísticos del estado global del sistema bajo hidratación.

El valor de la Longitud Promedio del puente de Hidrógeno, ( $d_{prom}$ ), se realizó usando la ec. 5

$$d_{prom} = \Sigma(\text{contribucion}_i * d_i) \quad (5)$$

Siendo:  $d_i = d(O \dots O)[\text{Å}]$  para cada pico deconvolucionado. Fueron tomados como valores de esa distancia promedio para el agua líquida pura (25 °C) un valor aproximado de 2.85 Å y para el hielo hexagonal (0 °C) un valor aproximado de 2.76 Å para fines comparativos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### *Estructura, morfología y los detalles de los hidrogeles formados por microscopia óptica*

Los hidrogeles formados entre quitosano y ácido desoxicólico representan sistemas supramoleculares con propiedades estructurales y funcionales modulables por condiciones iónicas. La interacción entre el grupo amino del quitosano y los grupos carboxilo e hidrofóbicos del ácido biliar favoreció la autoorganización en redes tridimensionales con capacidad de retención de agua y respuesta a estímulos externos. La morfología macroscópica de los cinco sistemas obtenidos a temperaturas distintas (S4, S5, S7, S10, S13) (ver Fig. 5), presentan un aspecto blanco opaco, con variaciones en consistencia, homogeneidad y volumen aparente, debido a diferencias como variación de la proporción molar de los componentes, cambios de temperatura, pH del medio, variación de la fuerza iónica y el tiempo de maduración del gel (Ma *et al.*, 2016).

Se pudo apreciar que la adición de iones monovalentes como ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ) estabilizó los hidrogeles moderadamente, además de mostrar un hinchamiento que fue ligeramente reversible en los sistemas S4, S5 y S7. Empleando un microscopio óptico in situ fue posible hacer un acercamiento al reactor de síntesis, para ver la evolución temporal del sistema S4 durante 24 horas seguidas. Los primeros 60 minutos fueron cruciales porque un hidrogel no es un estado estático, sino un proceso dinámico de ensamblaje, como lo muestra la micrografía (ver Fig.5f).

En las primeras imágenes (arriba a la izquierda), se observan estructuras como gotas líquidas o "burbujas" con bordes muy definidos sobre un fondo oscuro o turbio, lo que refleja un fenómeno de separación de fases líquido-líquido o coacervación que ha sido descrito para los agregados moleculares de Quitosano modificado hidrofóticamente (Mortera Domínguez, 2003).



Fig. 5: Aspecto físico de los agregados sintetizados por el método iónico S4 al S13. f) seguimiento óptico de la cinética de gelificación para el agregado molecular ADC-Quitosano

Para este sistema, se ha reportado la formación de microdominios o gotas coacervadas como resultado de interacciones hidrofólicas y electrostáticas, especialmente en presencia de ácidos biliares como el desoxicólico. Estas gotas pueden actuar como núcleos de agregación supramolecular, donde la concentración local de polímero es significativamente mayor que en el medio circundante, favoreciendo la formación de redes tipo hidrogel (Kumar *et al.*, 2004; Kumar, 2000), una vez la formación de las microgotas avanza 30 minutos se observa la nucleación y crecimiento de agregados (parte intermedia), apreciando formas redondeadas y suaves que empiezan a llenarse de "apariencia" blanca, texturas granulares y estructuras floculantes (como nubes de algodón), como evidencia que está ocurriendo la transición Sol-Gel, los puntos blancos son agregados supramoleculares, los cuales se producen porque las interacciones hidrofólicas, superan a la repulsión electrostática y el movimiento browniano. También se podría deducir que estas estructuras blancas y opacas indicarían posiblemente que los agregados son grandes (mayores a 400 nm, dispersando la luz visible).

Estos hallazgos sugieren que la gelificación en la muestra S4 es heterogénea, no se forma una red invisible y perfecta de una sola vez, sino que se están formando "islotas" de gel, que luego se conectan (Rinaudo *et al.*, 2006). En la parte inferior/derecha (ver Fig. 5f) se ve el proceso de maduración y sinéresis local pasadas 16 horas, las estructuras parecen fusionarse en masas más grandes y amorfas esto está de acuerdo con el fenómeno de coalescencia y maduración de Ostwald (Tanaka *et al.*, 1992), en ella los dominios pequeños se unen para formar dominios grandes para reducir la energía superficial, donde se pierde la definición de las "gotas" iniciales y domina una textura rugosa. Esto concuerda con lo reportado para sistemas donde la alta densidad de interacciones hidrofólicas induce una rápida asociación polimérica, generando regiones de alta densidad de reticulación (flóculos) dispersas en el medio acuoso (Fielden, 2025). Para los hidrogeles S10 y S13 el aspecto fue más contraído con menor hinchamiento.

#### Análisis FT-IR de los Hidrogeles de ADC- Quitosano

La caracterización espectroscópica mediante FT-IR proporcionó una evidencia directa de las interacciones moleculares que gobiernan la formación y estabilidad de la red supramolecular en los hidrogeles de quitosano-ácido desoxicólico (CS-DCA). El análisis del espectro FT-ATR mostró una banda ancha y compleja para los agregados supramoleculares sintetizados en el rango de  $3600\text{cm}^{-1}$ - $2700\text{cm}^{-1}$  (ver Fig. 6a), como resultado de la superposición de las vibraciones de estiramiento O-H de los grupos hidroxilo del quitosano, el ADC, las moléculas de agua (tanto libre como ligada), así como el estiramiento N-H de los grupos amino primarios y secundarios del quitosano. La intensidad y anchura de esta banda es indicativo de poseer una extensa red de enlaces de hidrógeno (Kumirska *et al.*, 2010), sumado a que la observación de vibraciones tipo C-H alifáticos, dieron información crucial sobre el estado de hidratación y el empaquetamiento molecular.

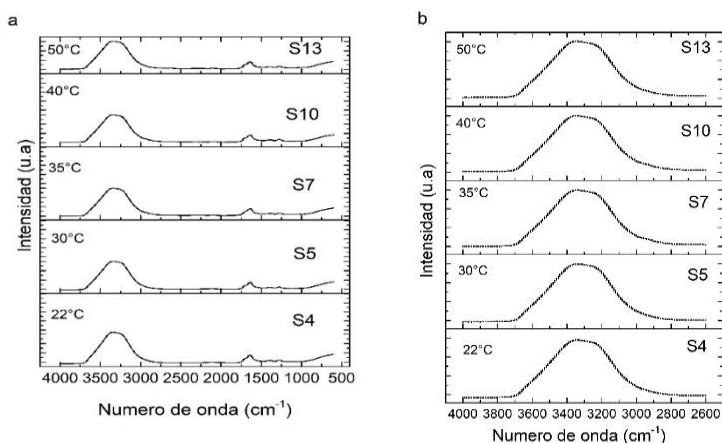


Fig. 6: Espectros FT-ATR de los agregados molecular ADC-Quitosano S4 al S13 sintetizados por el método iónico (a) región de frecuencias vibracionales  $4000\text{cm}^{-1}$ - $500\text{cm}^{-1}$  (b) frecuencias vibracionales  $2700\text{cm}^{-1}$ - $3700\text{cm}^{-1}$ .

Para diferenciar la formación del complejo polielectrolito (PEC) de una simple mezcla física, se verificó que en la región de ( $1710\text{ cm}^{-1}$ - $1740\text{ cm}^{-1}$ ) la banda del ácido libre para las muestras (S5-S13), fuera de intensidad muy baja o desapareciera, para el presente estudio se vio una banda intensa alrededor de  $1715\text{ cm}^{-1}$  del ácido desoxicólico, correspondiente al grupo carbonilo (C=O) de un ácido carboxílico protonado (COOH) (Palmer *et al.*, 2007; Enev *et al.*, 2022). Podemos notar que la ausencia de la señal del ADC significa que perdió su protón ( $\text{H}^+$ ), convirtiéndose totalmente en carboxilato ( $-\text{COO}^-$ ), estando químicamente disponible para interactuar electrostáticamente con el quitosano.

Continuando con la confirmación de la formación del hidrogel, se estudió la banda "híbrida" de la interacción iónica entre  $\sim 1530\text{ cm}^{-1}$ - $1560\text{ cm}^{-1}$ , muy crítica debido a que en esta ventana de frecuencia, existe una superposición compleja y vibran simultáneamente tres especies químicas distintas las cuales dan tres contribuciones: Flexión N-H (Amida II) representando el movimiento de "tijera" de los grupos N-H en la cadena de quitosano, deformación simétrica del Amonio ( $-\text{NH}_3^+$ ) esta última fue crucial, ya que mostró la prolongación del grupo amino ( $-\text{NH}_2$ ) del quitosano para formar el gel, se evidencia que su vibración cambió y cayó exactamente en la zona  $\sim 1530\text{ cm}^{-1}$ - $1550\text{ cm}^{-1}$  (Sogias *et al.*, 2010). Finalmente se verificó el estiramiento asimétrico del carboxilato ( $-\text{COO}^-$ ) del ácido desoxicólico, que al perder su protón (ionizarse) hace que el grupo ácido vibre fuertemente, como se observa entre  $1540\text{ cm}^{-1}$  y  $1560\text{ cm}^{-1}$  (ver Fig. 6a). Las muestras (S4-S13) revelaron la coexistencia de la señal ( $-\text{NH}_3^+$ ) y ( $-\text{COO}^-$ ) en la misma frecuencia  $1540\text{ cm}^{-1}$ , con una intensidad alta, la cual fue asignada a la superposición de las vibraciones de deformación del grupo  $\delta$ -NH del catión amonio y el estiramiento asimétrico del anión carboxilato, considerada la huella dactilar de una mayor complejidad en la red del polielectrolito, mostrando la eficiencia de la reacción de gelificación. Este pico fuerte e intenso refleja que los grupos no están vibrando aislados sino como un par iónico acoplado, si el pico fuera débil o difuso, indicaría que hay grupos ácido libres ( $-\text{COOH}$ ) o aminos libres ( $-\text{NH}_2$ ) que no reaccionan (Lawrie *et al.*, 2007).

Cabe precisar que la introducción simultánea de grupos carboxilo ( $-\text{COOH}$ ) y grupos amino ( $-\text{NH}_2$ ) en la red de los hidrogeles, cambió la química del sistema. Pasando de tener un hidrogel polielectrolito simple (aniónico o catiónico) a un hidrogel polianfólito (o zwitteriónico, dependiendo del pH) (Chialvo & Cummings, 1994; Gorbaty & Kalinichev, 1995), donde ocurrió una transferencia de protones dentro del material, los grupos ácidos ( $-\text{COOH}$ ) cedieron su protón convirtiéndose en aniones Carboxilato ( $-\text{COO}^-$ ) y los grupos básicos ( $-\text{NH}_2$ ) han aceptado ese protón formando cationes Amonio ( $-\text{NH}_3^+$ ), creándose una red interna de puentes salinos (Interacciones Iónicas).

La banda Amida I centrada en  $1635\text{ cm}^{-1}$ , presente en las muestras (S4-S13) fue atribuida principalmente al estiramiento (C=O) de los residuos N-acetilglucosamina (Torii, 2015), indicando que los segmentos acetilados del quitosano participaron en una red estable de enlaces de hidrógeno intra e intermoleculares, contribuyendo a la

rigidez conformacional del esqueleto polimérico, independientemente de los sitios de entrecruzamiento iónico (Barth, 2007). Una clara resolución espectral entre las bandas Amida I ( $1635\text{ cm}^{-1}$ ) y el complejo iónico ( $\sim 1540\text{ cm}^{-1}$ ), en los hidrogeles sintetizados a menor temperatura (S4, S5) denota un ordenamiento estructural de largo alcance en el esqueleto polimérico, mientras que el ensanchamiento observado en S13 podría sugerir una transición hacia conformaciones más desordenadas y entornos de enlace heterogéneos inducidos térmicamente (Torii, 2015).

#### Ajustes por deconvolución de espectros FTIR-ATR

Se examinaron a profundidad los cambios en la banda de estiramiento de OH en el intervalo de  $3100\text{--}3700\text{ cm}^{-1}$  en los complejos polielectrolitos (PECs) acuoso tipo zwitteriónico, de ADC-Quitosano a diferentes temperaturas, mediante la deconvolución de la señal. La Figura 7 muestra que cada banda tuvo entre cinco y cuatro funciones gaussianas, con un ajuste estadístico ( $R^2 > 0.999$ ) indicando que el modelo matemático explicó el 99.9% de la varianza de los datos experimentales, permitiendo realizar un estudio de física-química profundo para encontrar rasgos estructurales y posibles aplicaciones de los sistemas sintetizados. Las muestras de los (PECs) de ADC-Quitosano S4, S5, S7, S10 reportaron cinco sub-poblaciones vibracionales distintas, en tanto que en la muestra S13 solo se identificaron cuatro.

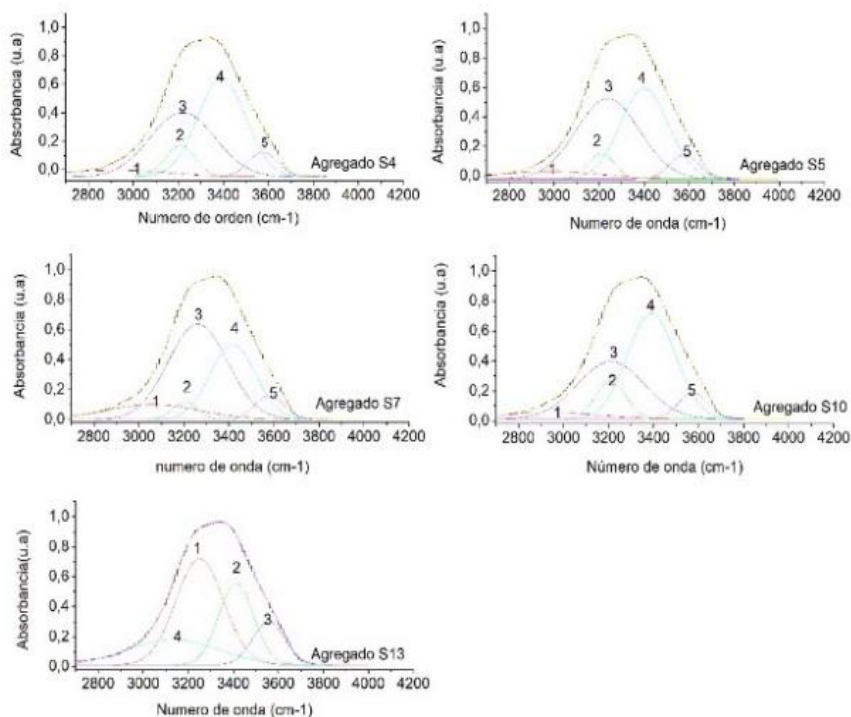


Fig. 7: Deconvolución de la banda de vibración de estiramiento de OH del agua contenida en los hidrogeles de ADC-Quitosano (S4-S13) preparados a distintas temperaturas. Las líneas punteadas representan las bandas de componentes gaussianas y la línea continua representa el contorno espectral calculado. La línea superior representa la desviación absoluta con respecto a la línea experimental.

La deconvolución también permitió establecer las categorías para los enlaces de hidrógeno, siendo fuertes los comparables en energía a los enlaces covalentes, enlaces moderados que representan interacciones típicas en sistemas biológicos y poliméricos y enlaces débiles que se asemejan a fuerzas de van der Waals, para los geles sintetizados S4 al S13 resultados que se presentan en la (Tabla 3) (Sun *et al.*, 2013; Enev, *et al.*, 2022). Al igual que el cálculo de la distancia de enlace  $d(O...O)$  y la longitud promedio de los puentes de hidrógeno realizados con las ec.3 y ec.4.

Tabla 3: Parámetros de deconvolución estructurales de la red  $\nu(\text{O-H})$  /Amida I para hidrogeles de polianfolito ADC-CH obtenidos por el método iónico. Basados en análisis gaussiano y correlación de Libowitzky<sup>a</sup>

Muestra	Comp.	Posición (cm <sup>-1</sup> )	FWHM (cm <sup>-1</sup> )	(w)	Área A (%)	Contrib.	d(O...O) [Å] <sup>b</sup>	Clasificación Jeffrey <sup>c</sup>	Asignación estructural <sup>d</sup>
S4 (d <sub>prom.</sub> =2.74Å)	p1	2924	556			6.5	2.633	Fuerte	Nudo iónico (-COO...NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )
	p2	3210	154			8.2	2.707	Fuerte	Orden local similar al hielo.
	p3	3219	342			37.0	2.710	Fuerte	Red estructurada.
	p4	3393	254			41.9	2.793	Moderado	Agua intersticial en masa
	p5	3575	153			6.4	3.100	Débil	Agua libre superficial/ Defectos.
S10 (d <sub>prom.</sub> =2.76Å)	p1	2939	540		5.8		2.64	Fuerte	Nudo iónico (trampa profunda)
	p2	3210	162		10.0		2.71	Fuerte	Dominios cristalinos
	p3	3210	350		33.3		2.71	Fuerte	Red dispersa
	p4	3391	253		44.1		2.79	Moderado	Fase móvil dominante
	p5	3575	154		6.7		3.12	Débil	Agua libre
S5 (d <sub>prom.</sub> =2.75Å)	p1	2981	526			6.7	2.64	Fuerte	Puentes salinos.
	p2	3209	143		6.0		2.71	Fuerte	(Transición) Orden local
	p3	3238	333		43.8		2.72	Fuerte	Dominio de la red estructurada.
	p4	3400	253		37.5		2.80	Moderado	Agua intersticial (reducida)
	p5	3577	151		6.0		3.11	Débil	Agua libre.
S7 (d <sub>prom.</sub> =2.77Å)	p1	3059	491		12.2		2.66	Fuerte	Agregado iónico masico
	p2	3206	130		3.7		2.70	Fuerte	Dominios rígidos.
	p3	3262	311		48.8		2.73	Fuerte	Red rígida percolada.
	p4	3418	239		29.4		2.81	Moderado	Líquido confinado.
	p5	3579	149		6.0		3.16	Débil	Agua libre.
S13	p4*	3135	468		19.5		2.68	Fuerte	Estructura tridimensional muy densa y unida fuertemente (reticulada).

CONTINUACIÓN TABLA 3

Muestra	Comp.	Posición (cm <sup>-1</sup> )	FWHM (cm <sup>-1</sup> )	(w)	Área Contrib. A (%)	d(O...O) [Å] <sup>b</sup>	Clasificación Jeffrey <sup>c</sup>	Asignación estructural <sup>d</sup>
(d <sub>prom</sub> = 2.74 Å)	p1	3250	250		43.8	2.72	Fuerte	Fase estructurada homogénea.
	p2	3412	182		24.7	2.81	Moderado	Agua intersticial.
	p3	3556	167		11.9	3.02	Débil	Agua libre

Siendo  $x_c$ : Número de onda central del pico gaussiano. FWHM (w): Ancho máximo a media altura (Full Width at Half Maximum), como aproximado de indicador de heterogeneidad entrópica. P1-P5: Nomenclatura asignada según el orden energético de deconvolución (de menor a mayor energía), <sup>a</sup> Calculado usando  $d(\text{O}\cdots\text{O}) [\text{Å}] = 2.6443 \ln(35920/\nu_{\text{cm}^{-1}})$ . <sup>b</sup> Distancia de equilibrio Donor-Aceptor. <sup>c</sup> Clasificación de acuerdo con Jeffrey (1997) para enlaces de hidrógeno fuertes (<2.65 Å), moderados (2.65-2.80 Å) y débiles (>2.80 Å). <sup>d</sup> Basado en la deconvolución de datos experimentales para los sistemas S4-S13.

El análisis de los resultados presentados en la Tabla 3, revela un paisaje termodinámico complejo donde la competencia entre la medida de desorden conformacional del agua y el contenido de calor de los nudos iónicos direcciona el estado físico de los hidrogel. Al aplicar rigurosamente la función de correlación de Libowitzky a los datos experimentales obtenidos por FT-ATR, se trasciende la descripción cualitativa para cuantificar las distancias interatómicas de equilibrio ( $d_{\text{o}\cdots\text{o}}$ ), permitiendo establecer una relación estructura-propiedad fundamentada, en la mecánica estadística de la red de hidratación (Libowitzky, 1999). El análisis comparativo de los parámetros espectrales (posición  $x_c$ , ancho w y contribución (%A)) demuestra que, pese a la similitud química de los precursores, la topología de la red varía drásticamente entre un régimen "dinámico-elástico" (S4, S10) y un régimen "estático-compacto" (S7, S13), gobernado por la naturaleza y distribución de los puntos de reticulación física. Al aplicar la función de correlación  $d(\text{O}\cdots\text{O}) = 2.6443 \ln(35920/\nu_{\text{obs}})$  a las frecuencias centrales extraídas de la deconvolución espectral, se obtuvieron las distancias interatómicas de equilibrio oxígeno-oxígeno y nitrógeno-oxígeno.

Este procedimiento permitió, por primera vez en estos sistemas, mapear el paisaje de energía potencial sin recurrir a simulaciones computacionales, basándose exclusivamente en evidencia experimental espectroscópica (Ping *et al.*, 2001; Russo & Tanaka, 2014).

En el análisis de los sistemas S4 y S10, la deconvolución espectral reveló de manera consistente la presencia de una población vibracional de baja energía ( $\nu_1$ ), localizada en el intervalo de 2924-2940 cm<sup>-1</sup>. La aplicación de la ecuación de Libowitzky (1999) a esta frecuencia indicó una distancia interatómica de 2.63 Å, valor que, según la clasificación de Jeffrey, corresponde a un enlace de hidrógeno fuerte tipo donador-aceptor (D...A entre 2.50 y 2.65 Å). Este tipo de enlace, con incipiente carácter covalente, sugiere energías superiores a 60 kJ/mol, significativamente mayores que las ~20 kJ/mol del agua líquida.

La presencia de estas distancias excepcionalmente cortas en un medio acuoso hinchado constituye una evidencia experimental directa de la formación de "nudos iónicos" o pares de contacto íntimo, originados entre grupos carboxilato (-COO<sup>-</sup>) desprotonados y amonio (-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>) de la cadena polimérica. Este hallazgo confirma que la matriz polianfólita no solo organiza el solvente, sino que genera estados de confinamiento energético profundos, esenciales para la estabilidad supramolecular del hidrogel.

En los sistemas sintetizados, correspondientes a geles polianfólitos, esta población vibracional se asigna a la formación de "nudos iónicos" o pares salinos de contacto íntimo (-COO<sup>-</sup> ... H<sub>2</sub>O<sub>punte</sub>... NH<sub>3</sub><sup>+</sup>). En este escenario, la molécula de agua estructural queda atrapada en un pozo de potencial profundo, perdiendo sus grados de libertad rotacional y actuando como un puente dieléctrico de alta permitividad que estabiliza la interacción. Este hallazgo es acorde con los trabajos de Gong (2023) sobre la formación de dominios de sacrificio en geles polianfólitos (Sun *et al.*, 2013) y aporta evidencia espectroscópica refinada que demuestra que estas interacciones no son estáticas. Por el contrario, representan mínimos profundos en el paisaje de energía potencial, lo que sugiere una dinámica supramolecular altamente organizada. La ausencia de este modo vibracional de alta energía en el

agua pura confirma que la estructuración observada es inducida exclusivamente por la topología de carga específica de la matriz polimérica empleada en los sistemas S4 y S10. Este resultado constituye una prueba experimental directa de que la arquitectura de los geles polianfólitos genera estados de confinamiento energético únicos, imposibles de reproducir en medios acuosos no estructurados. Aunque esta población representa solo una fracción minoritaria del área espectral total (6.5 % en S4 y 5.8 % en S10), su impacto en la integridad mecánica del hidrogel es desproporcionado. Estas entidades funcionan como puntos de anclaje de alta energía, equivalentes a los “enlaces químicos de sacrificio” descritos en por Gong (2023), capaces de disipar tensión mediante ruptura controlada y reconexión reversible, contribuyendo de manera decisiva a la resiliencia supramolecular del material.

Estos enlaces, de naturaleza débil y reversible, desempeñan un papel esencial en la disipación de energía mecánica: bajo tensión se rompen de manera controlada y se reconectan reversiblemente, evitando la propagación de fracturas y reforzando la resiliencia estructural del material. Este mecanismo otorga a la matriz polimérica una notable capacidad de amortiguamiento supramolecular, donde incluso una población vibracional minoritaria contribuye de forma decisiva a la robustez y durabilidad del hidrogel.

Cabe destacar que la funcionalidad de los sistemas S4 y S10 no depende únicamente de la presencia de estos nudos iónicos, sino de su coexistencia con una fase dominante de agua intersticial móvil ( $p_4$ ), cuya interacción complementaria asegura la estabilidad global del gel. En ambos sistemas, la población  $p_4$  está en el intervalo  $\approx 3391\text{-}3393\text{ cm}^{-1}$ , con un  $d$  aprox  $2.79\text{ \AA}$  y constituye la fracción mayoritaria (41.9% y 44.1%, respectivamente). Esta distancia de  $2.79\text{ \AA}$  es característica del agua “bulk” líquida a temperatura ambiente, donde la red de enlaces de hidrógeno es fluctuante y cooperativa (López Paz, 1999). La evidencia espectroscópica indica una *segregación de microfases nanométricas*, con un esqueleto polimérico compactado por *nudos iónicos ultracortos* ( $p_1$ ) que definen la forma macroscópica, inmerso en una matriz de *agua líquida* ( $p_4$ ) que aporta difusión y flexibilidad. El *ancho de banda de  $p_1$*  ( $>540\text{ cm}^{-1}$ ) confirma un entorno anarmónico y heterogéneo, característico de una red con alto desorden configuracional. En consecuencia, los sistemas S4 y S10 se clasifican como *redes elásticas con nudos de alta energía*, adecuadas para aplicaciones que demandan simultáneamente transporte de masa eficiente y elevada resiliencia mecánica.

El análisis del hidrogel S5 marcó un punto de inflexión termodinámico en la serie. Se observó un desplazamiento hipsocrómico del modo fundamental de los nudos iónicos ( $p_1$ ) hacia  $2981\text{ cm}^{-1}$ , correspondiente a una relajación de la distancia de enlace a  $2.645\text{ \AA}$ . Aunque este enlace sigue clasificándose como fuerte, su energía de cohesión es menor que en S4. Más relevante aún fue la inversión en la distribución de poblaciones: la fase dominante dejó de ser el agua líquida intersticial (37.5 %) y pasó a la red estructurada o “agua intermedia” ( $p_3$ ,  $3238\text{ cm}^{-1}$ ,  $d \approx 2.72\text{ \AA}$ ), que alcanzó el 43.8 %. Esta distancia es análoga a la del agua en entornos confinados o en la segunda capa de hidratación de proteínas (Mazza *et al.*, 2011; Laage, *et al.*, 2017). La predominancia de esta población indica que la densidad de reticulación en S5 ha alcanzado un umbral crítico donde las cadenas poliméricas están lo suficientemente próximas para que sus esferas de hidratación se superpongan, restringiendo la movilidad del solvente.

La predominancia de  $p_3$  indica que la densidad de reticulación en S5 alcanzó un umbral crítico, donde las cadenas poliméricas se aproximan lo suficiente para que sus esferas de hidratación se superpongan, restringiendo la movilidad del solvente. En consecuencia, S5 representa una “transición núcleo-capa”, caracterizada por la percolación rígida de la red, con reducción del volumen libre para el transporte difusivo observado en S10, a cambio de una mayor estabilidad dimensional estática.

El sistema S7 mostró una redistribución vibracional que sugiere un ordenamiento estructural distinto al resto de la serie. Aunque conserva componentes de baja frecuencia, el centro de gravedad espectral y el ancho de banda a media altura (FWHM) evidencian una predominancia de distancias interatómicas en el rango de  $2.68\text{-}2.72\text{ \AA}$ , situadas en la frontera entre enlaces de hidrógeno fuertes y moderados según criterio de Jeffrey (1997). Se destaca la mayor contribución de la población  $p_1$  (12.2 %), centrada en  $3059\text{ cm}^{-1}$  ( $d \approx 2.66\text{ \AA}$ ), lo que sugiere la formación de clusters iónicos extensos o dominios de segregación polimérica, en contraste con los nudos puntuales observados en S4.

Simultáneamente, la población de red estructurada (p3) domina con un 48.8 % del área total y una distancia de 2.73 Å. El promedio global ponderado ( $d_{\text{prom}} = 2.77 \text{ \AA}$ ) coincide con la distancia O...O del hielo hexagonal ( $I_h$ ) a 0 °C, 2.76 Å, y con valores reportados para aguas confinadas en nanoporos, como lo discuten algunos autores (Ping *et al.*, 2021; Gallo & Rovere, 2021; Wilkins *et al.*, 2024), indicando un estado de orden de largo alcance impuesto por la red polimérica. La elevada fracción de área integrada (%A) asociada con una menor anchura de las bandas de estas poblaciones intermedias y una reducción del agua libre ( $p5 \approx 6 \%$ ,  $>3400 \text{ cm}^{-1}$ ), conducen a una baja movilidad molecular o frustración estérica, donde el agua deja de actuar como solvente y pasa a integrarse como agua de red estructural acorde con Laage *et al.* (2017) y Gallo & Rovere (2021), restringiéndose sus modos rotacionales y traslacionales, este fenómeno fue estudiado por Barique *et al.* (2018), quienes encontraron que temperaturas elevadas contribuyen con la reorganización de los estados de agua.

En conjunto, estos resultados demuestran que S7 se encuentra en un estado termodinámico cercano a su punto isoelectrico estructural, con máxima compactación y mínima fracción de agua intersticial. Espectroscópicamente, el material se asemeja más a un hidrato sólido que a un gel convencional, clasificándose como un "sólido iónico masivo" o gel en estado vítreo-hidratado

Por el contrario, el S13 adquirió la máxima densificación homogénea, presentando una característica espectral única la ausencia de los componentes de muy baja frecuencia ( $<3000 \text{ cm}^{-1}$ ) observados en los otros geles. Su "nudo" más fuerte ( $p4^*$ ) aparece a  $3135 \text{ cm}^{-1}$  ( $d \text{ aprox } 2.68 \text{ \AA}$ ), significativamente más débil que en S4/S10. La señal espectral en estos hidrogeles muestra una contribución significativa de modos vibracionales por encima de  $3400 \text{ cm}^{-1}$  ( $d > 2.80 \text{ \AA}$ ), correspondiente a la categoría de enlaces de hidrógeno débiles en la escala de Jeffrey. Estas distancias son típicas del agua líquida desordenada, donde la red de enlaces se rompe y reforma en escalas de tiempo de aproximadamente picosegundos. La coexistencia de estas poblaciones de alta energía (distancias largas, enlaces débiles) con las poblaciones de baja energía (distancias cortas, enlaces fuertes) en el mismo volumen de muestra interpelado por el haz ATR sugiere una heterogeneidad a nanoescala. Sin embargo, S13 posee el  $d_{\text{promedio}}$  más corto de todos los materiales sintetizados (2.72 Å), lo que indica que toda la matriz está uniformemente comprimida. La población dominante ( $p1$  a  $3250 \text{ cm}^{-1}$ ) constituye el 43.8% del sistema con una distancia de 2.71 Å.

Esta homogeneidad estructural sugiere que S13 no depende de puntos de anclaje inusuales, sino de una alta densidad de reticulación covalente o cooperativa uniforme que distribuye la tensión equitativamente. En este hidrogel la deconvolución expone una separación de fases a nivel molecular en la que hay dominios ricos en polímero, donde el agua está fuertemente ligada (Bound Water), según la terminología de Peppas (Peppas & Merrill, 1977; en su teoría de los tres estados del agua en hidrogeles), explicando que hay una coexistencia con canales de solvente, donde el agua se comporta como un fluido newtoniano libre (Culver *et al.*, 2018). Esta segregación de fases espectroscópica es crítica, ya que Ping *et al.* (2001), establecieron que la movilidad del agua en estas regiones "débiles" es la responsable primaria de los fenómenos de transporte difusivo y marcaría su uso en aplicaciones biológicas (Culver *et al.*, 2018; Ping *et al.*, 2001; Tran *et al.*, 2019). Por lo tanto, el espectro del S13 no indica un fallo en la reticulación, sino un diseño de poros más abiertos o menos interactivos electrostáticamente en comparación con la densa red iónica del S4 (Rodríguez-Cruz *et al.*, 2025), lo que podría definirla espectroscópicamente como una "Red homogénea compacta", termodinámicamente estable pero carente de la capacidad de disipación de energía y la porosidad dinámica que hacen especiales a los sistemas S4 y S10.

En todos los materiales analizados, la asignación de la banda Amida I se complicó por la superposición de la vibración  $\nu(\text{N-H})$  del enlace peptídico ( $\sim 3300 \text{ cm}^{-1}$ ) con la envolvente agua (Torii, 2015). No obstante, en los hidrogeles S4-S13 la intensidad de la señal O-H resultó concluyente. Si la Amida I fuese dominante, se observaría una distorsión aguda y no gaussiana en torno a  $3300 \text{ cm}^{-1}$ , lo cual no ocurre. Bajo la Ley de Beer-Lambert, más del 95 % de la señal integrada corresponde a la respuesta dieléctrica del agua, aunque la deconvolución permitió aislar la contribución matricial.

En los espectros donde las componentes Amida I y Amida II (sobretono de Fermi a  $\sim 3080 \text{ cm}^{-1}$ ) se resolvieron con claridad, se observaron desplazamientos de frecuencia correlacionados con la intensidad de los nudos iónicos. En el hidrogel S4, el acoplamiento vibracional entre el modo N-H y los modos del agua circundante evidenció que los grupos amida no son meros espectadores, sino participantes activos en la estabilización de

clústeres de agua. Este mecanismo de cooperatividad, descrito previamente por Kobko & Dannenberg (2003) y Torii (2015), confirma una interpenetración íntima entre el solvente y el esqueleto polimérico, descartando la existencia de superficies hidrofóbicas significativas en la matriz.

La correlación de los datos de deconvolución de los modos vibracionales para cada una de las muestras junto con sus características microestructurales y tipos de enlace (ver Tabla 3), permitió realizar un análisis asistido por diseño computacional, usando Gemini Pro 3.0 para construir la evolución supramolecular de los hidrogeles ADC-Ch. Esto reveló una dependencia crítica de la topología del hidrogel respecto a la temperatura de síntesis (Muzzarelli & Muzzarelli, 2008).

Se evidenció que los geles formados no tienen una estructura uniforme, sino una microestructura heterogénea y auto-organizada que se puede describir a nivel supramolecular, y está regida por un mecanismo de auto-ensamblaje jerárquico. Se trata de una red 3D de nanofibras o agregados moleculares interconectados, estabilizados por interacciones débiles pero cooperativas de naturaleza electrostática. La estructura principal del gel se basa en el entrecruzamiento iónico entre los grupos amino protonados del quitosano ( $-\text{NH}_3^+$ ) y los grupos carboxilato del ácido desoxicólico ( $-\text{COO}^-$ ). Paralelamente, la naturaleza anfipática del ADC promueve interacciones hidrofóbicas que generan nodos de agregación, lo cual ha sido descrito por estudios de Dong *et al.* (2022), mientras que una red secundaria de puentes de hidrógeno estabiliza la matriz tridimensional, lo cual es coincidente con los estudios de Che *et al.* (2020) y Rodríguez-Cruz *et al.* (2025).

Para apreciar el efecto de la temperatura de preparación sobre la red 3D formada de cada gel, se realizó un análisis pormenorizado de los cambios ocurridos en los hidrogeles (Fig. 8).

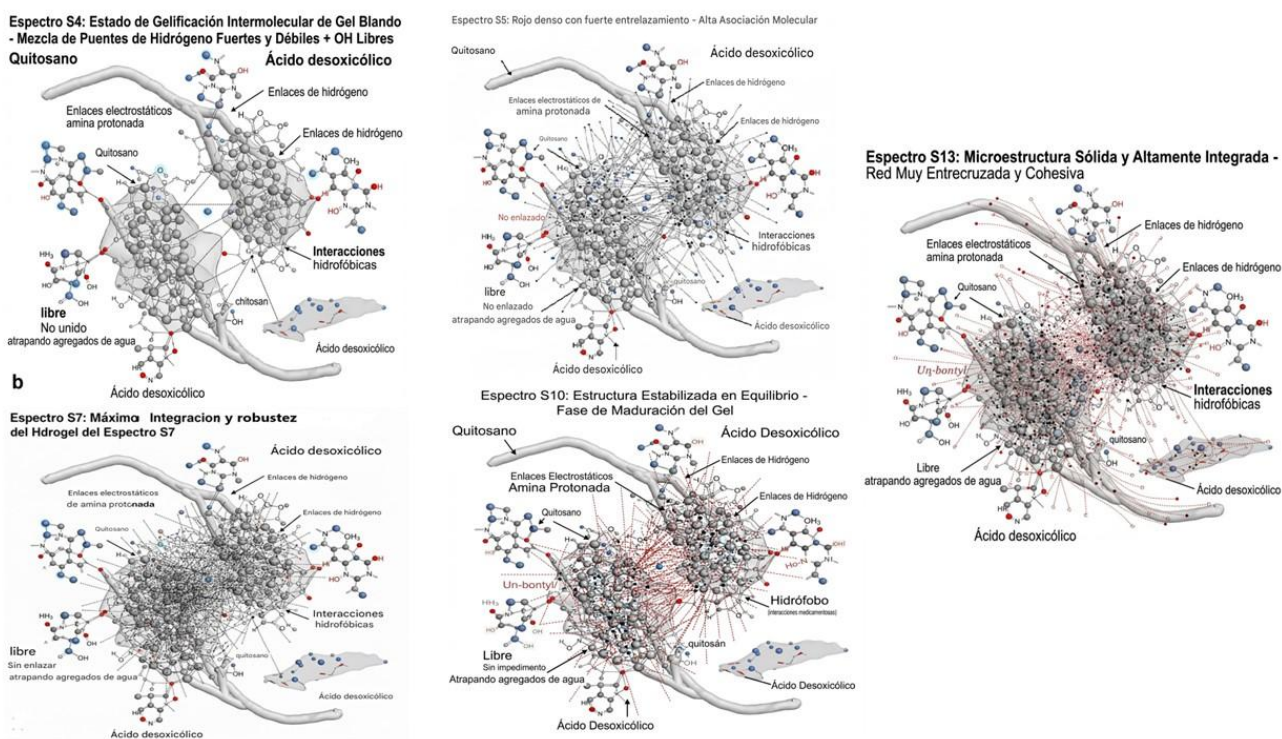


Fig. 8: Evolución de las microestructuras de los hidrogeles de ADC-Quitosano (S4-S13) obtenidas por modelado generativo impulsado por inteligencia artificial (IA).

El análisis de la muestra S4 obtenida a 22 °C (Fig. 8-S4) mostró un área total de 373.22, con predominio en la región de hidroxilos. La deconvolución reveló que el pico 4 ( $3400\text{ cm}^{-1}$ ) aportó el área más significativa (119.02),

indicando una predominancia de puentes de hidrógeno de fuerza media. La microestructura resultante corresponde a una red laxa y heterogénea, donde coexisten hidroxilos libres (pico 5,  $3580\text{ cm}^{-1}$ ) y uniones incipientes, reflejando un estado con alta movilidad segmentaria y captura activa de agua.

Al incrementar la temperatura en  $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ , el hidrogel S5 alcanzó un área total de 409.36, con dominancia del pico 3 ( $3240\text{ cm}^{-1}$ , área 163.95), lo que marcó una transición crítica hacia puentes de hidrógeno fuertes. Se aprecia en la Fig.8-S5 una red más densa con menor volumen intersticial de acorde con estudios de Yoo *et al.* (2005). La drástica reducción del área de los picos de grupos libres (Picos 1, 2 y 5) confirma que la mayoría de los sitios activos del quitosano han sido comprometidos en el entrelazamiento supramolecular (Muzzarelli & Muzzarelli, 2008; Shenghua *et al.*, 2023; Mejía-Torres *et al.*, 2024).

Se pudo notar cambios de máxima robustez y entrecruzamiento en el gel S7 con un aumento de  $6\text{ }^{\circ}\text{C}$  que produjo un área total de 429.01, con el pico 3 ( $3260\text{ cm}^{-1}$ ) alcanzando su máximo (209.75) la más alta registrada para esta señal, corroborando la alta sensibilidad térmica del material (Hoffman *et al.*, 1986). La microestructura se mostró altamente integrada y compacta que se aprecia en el centro de la red 3D (Fig.8-S7), con un equilibrio entre interacciones electrostáticas y puentes de hidrógeno, y mínima presencia de hidroxilos libres concordante con los hallazgos de Kim *et al.* (2005), formándose una estructura compacta y altamente auto-organizada apreciando una reducción del área gris de la zona derecha (Fig. 8-S7), este fenómeno fue también observado por Muzzarelli & Muzzarelli (2008), como efecto de la temperatura.

El modelado sugiere una máxima integración, donde las interacciones hidrofóbicas entre los núcleos esteroidales del ácido desoxicólico actúan como nodos de reticulación física cooperativa, restringiendo la movilidad de las cadenas de quitosano (Fig. 8-S7).

A  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , el hidrogel S10 presentó un área total de 441.63, con el pico 4 ( $3395\text{ cm}^{-1}$ , área 204.51) retomando relevancia frente al pico 3. Este comportamiento refleja una fase de maduración, caracterizada por una red más uniforme y funcional, donde el equilibrio entre puentes fuertes y débiles disipa tensiones internas y genera una morfología homogénea y estable apreciado en la Fig. 8S-10. La temperatura permitió una cinética acelerada y la intensificación del efecto hidrofóbico que condujo a una "hiper-reticulación física", señalada por el entramado rojo en la Fig. 8S-10.

Finalmente, el hidrogel S13, sintetizado a  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ , alcanzó el área total más elevada (442,57). La señal dominante correspondió al pico 1 ( $3250\text{ cm}^{-1}$ , área 202.59), confirmando la formación de una microestructura sólida y altamente cohesiva, apreciada en la Fig.8S10. La elevada densidad de interacciones moleculares sugiere un estado cercano a la sinéresis o transición vítrea, generando una matriz tridimensional altamente integrada con una mínima movilidad de cadenas y propiedades mecánicas superiores a expensas de la elasticidad, dentro del régimen de geles blandos. El método iónico de síntesis, junto con la acción del quitosano, introdujo rigidez adicional y sitios de anclaje que aumentaron la densidad de enlaces cruzados señalados en color rojo (Fig. 8-S13) y modificando la porosidad de la matriz (Ladeira *et al.*, 2021).

Una vez estudiados los perfiles espectroscópicos, los efectos microestructurales, la matriz 3D y la estabilidad térmica de los hidrogeles S4 al S13, se construyó la Tabla 4 donde se describen las posibles aplicaciones biomédicas, su mecanismo de acción farmacéutica junto con aspectos críticos a tener en cuenta para perfeccionar su uso fisiológico.

Los resultados mostrados en la Tabla 4 muestran que la transición de estos hidrogeles desde el laboratorio hacia la clínica depende no solo de su topología supramolecular, sino de su estabilidad termodinámica en condiciones fisiológicas simuladas. El "perfil espectroscópico dominante" constituye la "huella dactilar" termodinámica del material, derivada directamente de la distribución de poblaciones vibracionales O-H y la ecuación de Libowitzky. Las muestras (S4, S10) mostraron un perfil Dinámico/Bifurcado que se define experimentalmente por una dualidad topológica: la coexistencia de una fase mayoritaria de agua intersticial móvil (>40%,  $d$  aprox  $2.79\text{ \AA}$ ) estabilizada por escasos "nudos iónicos" de ultra-alta energía ( $d < 2.64\text{ \AA}$ ) valores de la (Tabla 3), validando el mecanismo de enlaces de sacrificio descrito por (Gong, 2023) para redes con a la tenacidad.

Tabla 4: Aplicaciones basada en la arquitectura de deconvolución FTIR- y modelamiento asistido por computador con IA para los hidrogeles ADC-CH obtenidos por el método iónico.

Sistema	Perfil Espectroscópico Dominante (Causa Molecular)	Propiedad Funcional Derivada (Fenomenología)	Aplicación Biomédica Primaria (Target)
S4 / S10	Dinámico / Bifurcado <ul style="list-style-type: none"> <li>• Alto contenido de Agua Libre (<math>A_{\text{libre}} &gt; 40\%</math>)</li> <li>• Nudos Iónicos Profundos (<math>d \text{ aprox } 2.63 \text{ \AA}</math>)</li> </ul>	Alta Difusividad & Tenacidad <p>Permeabilidad rápida de solutos hidrosolubles combinada con resistencia a la fractura por disipación de energía (sacrificio de nudos).</p>	Apósitos Avanzados (Wound Dressing) & Parches Transdérmicos
S5	Transición / Gating <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento de Agua Estructurada (<math>A_{\text{enlace}} \text{ aprox } 44\%</math>)</li> <li>• Cierre de poros (Reducción de agua libre <math>A_{\text{libre}}</math>)</li> </ul>	Permeabilidad Selectiva <p>Barrera difusiva moderada. La red comienza a actuar como un filtro estérico para moléculas de alto peso molecular.</p>	Sistemas de Liberación Modulada (Depots Subcutáneos)
S7	Rígido / Sólido Iónico <ul style="list-style-type: none"> <li>• Estructura tipo Hielo (<math>d_{\text{promedio}} \text{ aprox } 2.76 \text{ \AA}</math>)</li> <li>• Máxima estructuración (<math>A_{\text{enlace}} \text{ pprox } 49\%</math>)</li> </ul>	Soporte de Carga & Bio-mimética Densa <p>Módulo elástico elevado. Comportamiento viscoelástico similar a tejidos avasculares densos.</p>	Ingeniería de Cartilago & Scaffolds de Regeneración
S13	Compacto / Homogéneo <ul style="list-style-type: none"> <li>• Malla uniforme (<math>d_{\text{promedio}} = 2.72 \text{ \AA}</math>)</li> <li>• Ausencia de nudos extremos</li> </ul>	Estabilidad Dimensional <p>Bajo hinchamiento excesivo. Estructura predecible y consistente sin defectos locales.</p>	Implantes de Relleno (Fillers) o Lentes Terapéuticos

El perfil de transición/gating el cual mostro (S5), marca espectroscópicamente el punto de inversión, donde el agua estructurada (P3) supera volumétricamente al agua libre, indicando un cierre de poros o restricción hidrodinámica. En tanto que la clasificación del hidrogel (S7) como rígido/sólido iónico, fundamentado en un ( $d_{\text{promedio}}=2.767\text{\AA}$ ), cristalográficamente isostructural con el hielo  $I_h$ , evidencio una red estática de largo alcance según los criterios de Jeffrey (1997). Finalmente, el perfil compacto/homogéneo encontrado para (S13) refleja una distribución gaussiana estrecha centrada en  $2.72 \text{ \AA}$  sin poblaciones extremas, característico de redes densamente reticuladas (Peppas & Merrill, 1977) con baja entropía configuracional.

Parte de la tabla 4 proyecta las propiedades funcionales, que podrían generarse a partir de las estructuras obtenidas para cada uno de los ensamblajes supramoleculares, como una manifestación macroscópica del paisaje termodinámico del agua que se ha cuantificado espectroscópicamente mediante FT-IRATR. Se espera que la alta difusividad y tenacidad de los sistemas (S4, S10), que fue forjada de la coexistencia de una fase líquida percolada ( $p_4 > 40\%$ ), podrían maximizar el coeficiente de difusión para el transporte de masa, debido a que estaría anclada mecánicamente por nudos iónicos "sacrificiales" ( $d < 2.64 \text{ \AA}$ ), esto podrían disipar energía de fractura mediante una ruptura reversible, estas características permitirían su uso como apósitos avanzados.

La permeabilidad selectiva que podría encontrarse en el hidrogel (S5), se origina porque la solvatación estructurada ( $p_3$ ) desplaza al agua libre, reduciendo el volumen hidrodinámico disponible e imponiendo barreras estéricas, que aumentan la tortuosidad siendo útil para sistemas de liberación modulada. La matriz cuasi-cristalina del sistema (S7) con un  $d_{\text{promedio}}=2.767\text{\AA}$  (isostructural con el hielo  $I_h$ ), lo hace candidato para soporte de carga y Bio-mimética densa, este hidrogel presentó la máxima densidad de energía cohesiva lo que impide la deformación bajo estrés compresivo, semejante a un cartilago y scaffolds de regeneración.

Finalmente, la red homogéneamente densificada, con una gran estabilidad dimensional de la muestra (S13) con ( $d_{\text{promedio}}=2.72\text{Å}$ ) y termodinámicamente equilibrada, minimizaría las fluctuaciones osmóticas locales y podría eventualmente garantizar una integridad estructural isotrópica, siendo útil para implantes.

## CONCLUSIONES

La aplicación rigurosa de la deconvolución espectral, acoplada a la correlación de Libowitzky, permitió mapear con precisión el paisaje energético de los hidrogeles S4-S13, revelando transiciones de fase inéditas en el agua confinada. Se identificó que la superelasticidad en sistemas polianfólticos (S4, S10), surge de interacciones iónicas que comprimen el enlace de hidrógeno más allá del límite del agua líquida ( $d \approx 2.63\text{Å}$ ), generando nodos de sacrificio dentro de matrices dominadas por agua móvil. En contraste, S7 evolucionó hacia un “sólido iónico” con agua tipo hielo ( $d \approx 2.76\text{Å}$ ), mientras que S13 mostró densificación homogénea. Estos hallazgos confirman que las propiedades macroscópicas dependen no solo de la química polimérica, sino del promedio ponderado de distancias interatómicas del solvente confinado. La dualidad estructural “puntos rígidos en una matriz fluida” valida la naturaleza jerárquica del material y ofrece un mapa de ruta para diseñar hidrogeles con aplicaciones diferenciadas en apósitos, administración de fármacos y bioingeniería de tejidos duros.

## AGRADECIMIENTOS

Al apoyo financiero de la Universidad de Cartagena para realizar estancia posdoctoral y sabático entre U. Cartagena-U. Montreal. Al grupo de polímeros Dr. Julian Zhu. Facultad de Ciencias Departamento de Química, Sección Polímeros de la Universidad de Montreal, por sus enseñanzas, comentarios e ideas para analizar. Al Dr. Guillaume Beaudoin por la toma de los espectros FTIR-ATR.

## REFERENCIAS

- Baker, M.J., Trevisan, J., Bassan, P., Bhargava, R., Butler, H.J., Dorling, K.M., *et al.* (2014). Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials. *Nature Protocols*, 9 (8), 1771-1791. <https://doi.org/10.1038/nprot.2014.110>
- Barique, M.A., Tsuchida, E., Ohira, A. & Tashiro, K. (2018). Effect of elevated temperatures on the states of water and their correlation with the proton conductivity of Nafion. *ACS Omega*, 3(1), 349-360. <https://doi.org/10.1021/acsomega.7b01765>
- Barth, A. (2007). Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (Bioenergetics)*, 1767 (9), 1073-1101. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2007.06.004>
- Bellini, A.M., Mencini, E., Quaglio, M. P., Guarneri, M. & Fini, A. (1990). *Archiv der Pharmazie*, 323, 201. <https://doi.org/10.1002/ardp.19903230404>
- Bhat, S., Leikin-Gobbi, D., Konikoff, F.M. & Maitra, U. (2006). *Biochimica et Biophysica Acta*, 1760, 1489. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2006.06.013>
- Branca, C., D'Angelo, G., Crupi, C., Khouzami, K., Rifici, S., Ruello, G., *et al.* (2016). Role of the OH and NH vibrational groups in polysaccharide-nanocomposite interactions: A FTIR-ATR study on chitosan and chitosan/clay films. *Polymer*, 99, 614-622. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2016.07.086>
- Che, Y., Gaitzsch, J., Liubimtsev, N., Zschoche, S., Bauer, T., Appelhans, D., *et al.* (2020). Double cross-linked supramolecular hydrogels with tunable properties based on host-guest interactions. *Soft Matter*, 16 (29), 6733-6742. <https://doi.org/10.1039/D0SM00833H>
- Chialvo, A.A. & Cummings, P.T. (1994). Hydrogen bonding in supercritical water. *The Journal of Chemical Physics*, 101 (5), 4466-4469. <https://doi.org/10.1063/1.467432>

- Culver, H.R., Clegg, J.R. & Peppas, N.A. (2018). Analyte-responsive hydrogels: Intelligent materials for biosensing and drug delivery. *Accounts of Chemical Research*, 51 (11), 2600-2608. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.6b00533>
- Dong, X., Yao, F., Jiang, L., Liang, L., Sun, H., He, S., et al. (2022). Facile preparation of a thermosensitive and antibiofouling physically crosslinked hydrogel/powder for wound healing. *Journal of Materials Chemistry B*, 10 (13), 2215-2229. <https://doi.org/10.1039/D2TB00027J>
- Enev, V., Sedláček, P., Řihák, M., Kalina, M. & Pekař, M. (2022). IR-supported thermogravimetric analysis of water in hydrogels. *Frontiers in Materials*, 9, 931303. <https://doi.org/10.3389/fmats.2022.931303>
- Fielden, S.D.P. (2025). Ostwald ripening as a tool for controlling dynamic nanomaterials. *Advanced Materials Technologies*. <https://doi.org/10.1002/agt2.70116>
- Flór, M., Wilkins, D.M., de la Puente, M., Laage, D., Cassone, G., Hassanali, A., et al. (2024). Dissecting the hydrogen bond network of water: Charge transfer and nuclear quantum effects. *Science*, 386 (6712), eads4369. <https://doi.org/10.1126/science.ads4369>
- Gallo, P. & Rovere, M. (2021). *Physics of liquid matter*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-68349-8>
- Gansner, E.R. & North, S.C. (2000). An open graph visualization system and its applications to software engineering. *Software: Practice and Experience*, 30 (11), 1203-1233. [https://doi.org/10.1002/1097-024X\(200009\)30:11<1203::AID-SPE338>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/1097-024X(200009)30:11<1203::AID-SPE338>3.0.CO;2-N)
- Gong, J.P. (2023). *Polymer Physics Prize Winner: Toughening hydrogels with sacrificial bonds*. *Bulletin of the American Physical Society*. American Physical Society March Meeting 2023. Retrieved from <https://ui.adsabs.harvard.edu/abs/2023APS..MAR.C6002G>
- Gorbaty, Y.E. & Kalinichev, A.G. (1995). Hydrogen bonding in supercritical water. 1. Experimental results. *The Journal of Physical Chemistry*, 99 (15), 5336-5340. <https://doi.org/10.1021/j100015a016>
- Guo, Y., Bae, J., Fang, Z., Li, P., Zhao, F. & Yu, G. (2020). Hydrogels and hydrogel-derived materials for energy and water sustainability. *Chemical Reviews*, 120(15), 7642-7707. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00345>
- Hoffman, A.S., Afrasiabi, A. & Dong, L.C. (1986). Thermally reversible hydrogels. II: Delivery and selective removal of substances from aqueous solutions. *Journal of Controlled Release*, 4(3), 213-222. [https://doi.org/10.1016/0168-3659\(86\)90045-4](https://doi.org/10.1016/0168-3659(86)90045-4)
- Jeffrey, G.A. (1997). *An introduction to hydrogen bonding*. Oxford University Press.
- Kauppinen, J.K., Moffatt, D.J., Mantsch, H.H. & Cameron, D.G. (1981). Fourier self-deconvolution: A method for resolving intrinsically overlapped bands. *Applied Spectroscopy*, 35, 271-276.
- Kaur, H., Rana, B., Tomar, D., Kaur, S. & Jena, K.C. (2021). *Fundamentals of ATR-FTIR spectroscopy and its role for probing in-situ molecular-level interactions*. In *Modern techniques of spectroscopy* (pp. 3-37). Springer Nature. [https://doi.org/10.1007/978-981-33-6084-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-981-33-6084-6_1)
- Kim, K., Kwon, S., Park, J. H., Chung, H., Jeong, S. Y., & Kwon, I. C. (2005). Physicochemical characterizations of self-assembled nanoparticles of glycol chitosan-deoxycholic acid conjugates. *Biomacromolecules*, 6, 1154-1158. <https://doi.org/10.1021/bm049305m>
- Kobko, N. & Dannenberg, J.J. (2003). Cooperativity in amide hydrogen bonding chains: Relation between energy, position, and H-bond chain length in peptide and protein folding models. *The Journal of Physical Chemistry A*, 107 (48), 10389-10395. <https://doi.org/10.1021/jp0365209>

- Kumar, M.N.V.R., Muzzarelli, R.A.A., Muzzarelli, C., Sashiwa, H. & Domb, A.J. (2004). Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. *Chem. Rev.*, 104, 12, 6017-6084. <https://doi.org/10.1021/cr030441b>
- Kumar, M.N.V R. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive & Functional Polymers*, 46 (1), 1-27. [https://doi.org/10.1016/S1381-5148\(00\)00038-9](https://doi.org/10.1016/S1381-5148(00)00038-9)
- Kumirska, J., Czerwicka, M., Kaczyński, Z., Bychowska, A., Brzozowski, K., Thöming, J., *et al.* (2010). Application of spectroscopic methods for structural analysis of chitin and chitosan. *Marine Drugs*, 8 (5), 1567-1636. <https://doi.org/10.3390/md8051567>
- Laage, D., Elsaesser, T. & Hynes, J.T. (2017). Water dynamics in the hydration shells of biomolecules. *Chemical Reviews*, 117 (16), 10694-10725. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00765>
- Ladeira, N.M.B., Donnici, C.L., de Mesquita, J.P. & Pereira, F.V. (2021). Preparation and characterization of hydrogels obtained from chitosan and carboxymethyl chitosan. *Journal of Polymer Research*, 28 (335). <https://doi.org/10.1007/s10965-021-02682-z>
- Lawrie, G., Keen, I., Drew, B., Chandler-Temple, A., Rintoul, L., Fredericks, P., *et al.* (2007). Interactions between alginate and chitosan biopolymers characterized using FTIR and XPS. *Biomacromolecules*, 8 (8), 2533-2541. <https://doi.org/10.1021/bm070014y>
- Lawson, G., Ogwu, J. & Tanna, S. (2014). Counterfeit tablet investigations: Can ATR FT/IR provide rapid targeted quantitative analyses? *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*, 5 (6), 214. <https://doi.org/10.4172/2155-9872.1000214>
- Lee, K.Y., Kwon, I.C., Kim, Y.H., Jo, W.H. & Jeong, S. Y. (1998). Structural determination and interior polarity of self-aggregates prepared from deoxycholic acid-modified chitosan in water. *Macromolecules*, 31, 378-383. <https://doi.org/10.1021/ma9711304>
- Libowitzky, E. (1999). Correlation of O-H stretching frequencies and O-H...O hydrogen bond lengths in minerals. *Monatshefte für Chemie*, 130 (8), 1047-1059. <https://doi.org/10.1007/s007060050137>
- López de la Paz, M. (1999). *Cooperatividad de enlaces de hidrógeno en el reconocimiento molecular de carbohidratos* (Tesis doctoral inédita). Universidad Autónoma de Madrid, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Orgánica. <http://hdl.handle.net/10486/671250>
- Ma, S., Yu, B., Pei, X. & Zhou, F. (2016). Structural hydrogels. *Polymer*, 98, 516-535. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2016.06.051>
- Manconi, M., Aparicio, J., Seyler, D., Vila, A.O., Figueruelo, J.F. & Molina, F. (2005). *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 271, 102. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2005.05.050>
- Mazza, M.G., Stokely, K., Pagnotta, S.E., Bruni, F., Stanley, H.E. & Franzese, G. (2011). More than one dynamic crossover in protein hydration water. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108 (50), 19873-19878. <https://doi.org/10.1073/pnas.1104299108>
- Mejía-Torres, D.G., Espinosa-Andrews, H. & Rodríguez-Rodríguez, R. (2024). Self-healing, injectable chitosan-based hydrogels: Structure, properties, and applications. *Materials Advances*, 5 (1). <https://doi.org/10.1039/D4MA00131A>
- Moll, V., Beć, K.B., Grabska, J. & Huck, C.W. (2022). Investigation of water interaction with polymer matrices by near-infrared (NIR) spectroscopy. *Molecules*, 27(18), 5882. <https://doi.org/10.3390/molecules27185882>

- Mortera Domínguez, G. M. (2003). *Modificación hidrofóbica de conjugados biocatalíticos basados en quitosano* (Tesis de maestría). Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado de <https://hdl.handle.net/20.500.14330/TES01000325920>
- Muzzarelli, R. & Muzzarelli, C. (2008). *Chitin and chitosan hydrogels*. In K. G. Harding (Ed.), *Chitin and chitosan: Sources, chemistry and applications* (pp. 849-888). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9781845695873.849>
- Paladini, G., Venuti, V., Crupi, V., Majolino, D., Fiorati, A. & Punta, C. (2020). FTIR-ATR analysis of the H-bond network of water in branched polyethyleneimine/TEMPO-oxidized cellulose nano-fiber xerogels. *Cellulose*, 27 (15), 8605-8618. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-03248-9>
- Palmer, M.E., Graham, R.A., Williams, J.A. & Blanchard, J.S. (2007). Infrared spectroscopic studies of bile acids and their interaction with phospholipid membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (Biomembranes)*, 1768 (2), 310-318. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2006.11.012>
- Parekh, P.Y., Patel, V.I., Khimani, M.R. & Bahadur, P. (2023). Self-assembly of bile salts and their mixed aggregates as building blocks for smart aggregates. *Advances in Colloid and Interface Science*, 312, 102844. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2023.102844>
- Parra-Barraza, H., Burboa, M., Sanchez-Vázquez, M., Juárez, J., Goycoolea, F. & Valdez, M. (2005). Chitosan-cholesterol and chitosan-stearic acid interactions at the air-water interface. *Biomacromolecules*, 6 (4), 2416-2426. <https://doi.org/10.1021/bm050145o>
- Peppas, N.A. & Merrill, E.W. (1977). Crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogels as swollen elastic networks in water. *Journal of Applied Polymer Science*, 21 (7), 1763-1770. <https://doi.org/10.1002/app.1977.070210705>
- Ping, Z.H., Nguyen, Q.T., Chen, S.M., Zhou, J.Q. & Ding, Y.D. (2001). States of water in different polymers: DSC and FTIR studies. *Polymer*, 42 (20), 8461-8467. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(01\)00358-5](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(01)00358-5)
- Qin, C., Du, Y., Xiao, L., Li, Z. & Gao, X. (2002). Effect of hydrogen peroxide treatment on the molecular weight and structure of chitosan. *Polymer Degradation and Stability*, 76 (2), 211-218. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(02\)00016-2](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(02)00016-2)
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31 (7), 603-632. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>
- Röckert, A., Kullgren, J. & Hermansson, K. (2022). Predicting frequency from the external chemical environment: OH vibrations on hydrated and hydroxylated surfaces. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 18 (12), 7683-7694. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.2c00789>
- Rodríguez-Cruz, J.J., Chapa-Villarreal, F.A., Duggal, I. & Peppas, N.A. (2025). Advanced rational design of polymeric nanoparticles for the controlled delivery of biologics. *Journal of Controlled Release*, 401, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2024.12.015>
- Rusu, A.G., Popa, M.I., Lisa, G. & Vereștiuc, L. (2015). Thermal behavior of hydrophobically modified hydrogels using TGA/FTIR/MS analysis technique. *Thermochimica Acta*, 613, 28-40. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2015.05.018>
- Russo, J. & Tanaka, H. (2014). Understanding water's anomalies with locally favored structures. *Nature Communications*, 5 (1), 3556. <https://doi.org/10.1038/ncomms4556>
- Shenghua, L., Zhang, S., Zuo, J., Liang, S., Yang, J., Wang, J., et al. (2023). Progress in preparation and properties of chitosan-based hydrogels. *International Journal of Biological Macromolecules*, 242 (2), 124915. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124915>

- Sogias, I.A., Khutoryanskiy, V.V. & Williams, A.C. (2010). Exploring the factors affecting the solubility of chitosan in water. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 211 (4), 426-433. <https://doi.org/10.1002/macp.200900385>
- Soto Tellini, V.H. (2006). *Estructuras supramoleculares generadas por ciclodextrinas, adamantanos y ácidos biliares* Tesis (Doctorado en Química). Facultad de Ciencias, Departamento de Química Física, Universidad de Santiago de Compostela.
- Soto, V.H., Jover, A., Meijide, F., Vázquez Tato, J., Galantini, L. & Pavel, N. V. (2007). Supramolecular hydrogels from bile acid derivatives. *Advanced Materials*, 19 (12), 1752-1757. <https://doi.org/10.1002/adma.200602233>
- Su, E., Yelemessova, G., & Toletay, G. (2024). Strain rate sensitive polyampholyte hydrogels via well-dispersed XLG sheets. *Polymer Bulletin*, 81 (22), 10631-10644. <https://doi.org/10.1007/s00289-023-04971-0>
- Sun, T.L., Kurokawa, T., Kuroda, S., Ihsan, A.B., Akasaki, T., Sato, K., *et al.* (2013). Physical hydrogels composed of polyampholytes demonstrate high toughness and viscoelasticity. *Nature Materials*, 12 (10), 932-937. <https://doi.org/10.1038/nmat3713>
- Tanaka, T., Annaka, M., Ilmain, F., Ishii, K., Kokufuta, E., Suzuki, A., *et al.* (1992). *Phase transitions of gels. En Mechanics of Swelling* (pp. 683-703). Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-76909-6\\_40](https://doi.org/10.1007/978-3-642-76909-6_40)
- Toletay, G., Su, E. & Yelemessova, G. (2023). Equimolar polyampholyte hydrogel synthesis strategies with adaptable properties. *Polymers*, 15 (14), 3131. <https://doi.org/10.3390/polym15143131>
- Torii, H. (2015). Amide I vibrational properties affected by hydrogen bonding out-of-plane of the peptide group. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 6 (4), 727-733. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcllett.5b00004>
- Tran, T., Lin, C., Chaurasia, S. & Lin, H. (2019). Elucidating the relationship between states of water and ion transport properties in hydrated polymers. *Journal of Membrane Science*, 574, 299-308. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2019.02.012>
- Virtanen, E. & Kolehmainen, E. (2004). Use of bile acids in pharmacological and supramolecular applications. *European Journal of Organic Chemistry*, 2004 (18), 3385-3399. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200300699>
- Wang, Z., Pakoulev, A., Pang, Y. & Dlott, D. D. (2004). Vibrational substructure in the OH stretching transition of water and HOD. *The Journal of Physical Chemistry A*, 108 (19), 3957-3964. <https://doi.org/10.1021/jp048545t>
- Willemen, H.M., de Smet, L.C.P.M., Koudijs, A., Stuart, M.C.A., Heikamp-de Jong, I.G.A.M., Marcelis, A.T. M., *et al.* (2002). Supramolecular polymers from hydrogen-bonded self-complementary monomers. *Angewandte Chemie International Edition*, 41(22), 4275-4279. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20021115\)41:22<4275::AID-ANIE4275>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20021115)41:22<4275::AID-ANIE4275>3.0.CO;2-0)
- Wilkins, F.M., de la Puente, D.M., Laage, D., Cassone, G., Hassanali, A. & Roke, S. (2024). Dissecting the hydrogen bond network of water: Charge transfer and nuclear quantum effects. *Science*, 386 (6712), eads4369. <https://doi.org/10.1126/science.ads4369>
- Yin, H., Akasaki, T., Lin, S.T., Kurokawa, T., Gong, J.P. & Osada, Y. (2013). Double network hydrogels from polyzwitterions: High mechanical strength and excellent antibiofouling properties. *Journal of Materials Chemistry B*, 1 (29), 3685-3693. <https://doi.org/10.1039/c3tb20521a>
- Yoo, H. S., Lee, J. E., Chung, H., Kwon, I. C., & Jeong, S. Y. (2005). Self-assembled nanoparticles containing hydrophobically modified glycol chitosan for gene delivery. *Journal of Controlled Release*, 103 (1), 235-243. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2004.11.033>

