



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE INGENIERÍA

PASTILLA BIODEGRADABLE DE  
 $\text{CaCO}_3$  + POLI- $\epsilon$ -CAPROLACTONA COMO SISTEMA  
DE LIBERACIÓN LOCAL DE MEDICAMENTOS:  
FABRICACIÓN Y PRUEBAS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
INGENIERO MECÁNICO  
P R E S E N T A :  
CARLOS ROBERTO ESCOBEDO CANSECO

DIRECTORA DE TESIS:  
DRA. MA. CRISTINA PIÑA BARBA

2000



279426



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mi madre y mi abuelo.

A Inés.

A la memoria de mi abuela.

## **Agradecimientos.**

A la Dra. Cristina Piña por todo su apoyo y por permitirme acercarme a su bellísima persona.

Al Dr. Antonio Martínez Richa y a Adriana Castro, porque gracias a ellos se pudo llevar a cabo este trabajo.

A la Quím. Leticia Baños, al Dr. Ricardo Vera, y al Sr. Raúl Reyes por su valiosa contribución.

A mis cuates (lista absolutamente democrática, nada de jerarquías): Mariana (Rana), Edgar (el dorito) y familia, Jorge (el tilín) y familia, Héctor (el MacCake) y familia, Héctor (Hir) y familia, Marco (señora gorda), Alma (Loui), Montse, Alejandro, Víctor, Diego, Giovanna, Humberto, Ezequiel (el cheque), Fernando, Omar, Enrique (Pasca), Pablo, Laura, Tere, Pillín, Alex, Tania, Luis, Yoatzin, Beatriz, Marco, Vivi, Juan Pablo, Chucho, Claudia, Tomás, Aida, Maritza, Chela, Paty, Ana, Tuntún, Berzalet, y todos aquellos que no recordé al momento de escribir esto.

A todos y cada uno de los que componen mi familia.

A los niños de Casa Cuna Coyoacán.

Al inigualable staff del laboratorio de Biomateriales.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Ingeniería por mi formación y la libertad de pensamiento.

Al Instituto de Investigaciones en Materiales por acercarme a la investigación y permitirme desarrollar el presente trabajo.

A la Coordinación de Programas de Becas para Tesis de Licenciatura (PROBETEL).

A CONACYT por su apoyo en el proyecto 31345-U.

Una cosa que he aprendido en una larga vida es que toda nuestra ciencia, comparada con la realidad, es primitiva e infantil, pero es lo más precioso que tenemos.

ALBERT EINSTEIN

¡ Otro más que engrosa  
el montón de los que no  
quieren ser uno más del  
montón !

Quino.

# Índice

<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>CAPÍTULO I. ANTECEDENTES.</b>	
1. Aspectos fundamentales en biomateriales.	3
2. Los sistemas de liberación local como alternativa en la administración de medicamentos.	7
3. Tipos de sistemas de liberación local de medicamentos.	8
4. Polímeros utilizados para la liberación local de medicamentos.	11
5. Cerámicos utilizados para la liberación local de medicamentos.	13
6. Materiales compuestos utilizados para la liberación local de medicamentos.	14
7. Biodegradación.	15
<b>CAPÍTULO II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.</b>	
1. Hipótesis.	23
2. Objetivos.	23
<b>CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODO</b>	
1. Selección del polímero para la fabricación pastillas biodegradables.	25
2. Obtención de los materiales para la fabricación de las pastillas biodegradables.	28
a. Poli- $\epsilon$ -caprolactona.	28
b. $\text{CaCO}_3$ a partir de cascarón de huevo de gallina.	29
3. Caracterización de los materiales.	29
a. Difracción de rayos X.	30
b. Microscopio electrónico de barrido (MEB).	35
c. Espectroscopía IR	40

4. Fabricación de las pastillas.	41
5. Pruebas de degradación de las pastillas.	41
6. Análisis de resultados de las pruebas de degradación.	43

#### **CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.**

1. Selección del polímero para la fabricación pastillas biodegradables.	44
2. Obtención de los materiales para la fabricación de las pastillas biodegradables.	45
a. Poli- $\epsilon$ -caprolactona.	45
b. Calcita a partir de cascarón de huevo de gallina.	46
3. Caracterización de los materiales.	46
a. Difracción de rayos X.	46
b. Microscopio electrónico de barrido (MEB).	49
c. Espectroscopía IR	51
4. Fabricación de las pastillas.	56
5. Pruebas de degradación de las pastillas.	57
6. Análisis de resultados de las pruebas de degradación.	64

<b>CONCLUSIONES.</b>	69
----------------------	----

<b>PERSPECTIVAS.</b>	71
----------------------	----

<b>APÉNDICE 1.</b>	73
--------------------	----

<b>APÉNDICE 2.</b>	75
--------------------	----

<b>REFERENCIAS</b>	77
--------------------	----

## INTRODUCCIÓN.

El suministro de medicamentos por vía oral e intravenosa, involucra riesgos y desventajas. Los riesgos del suministro oral de algunos medicamentos van desde la aparición de padecimientos tales como gastritis, úlceras estomacales, reacciones alérgicas y laceraciones en boca y encías, hasta la pérdida del oído.

Cuando los medicamentos son necesarios por un tiempo prolongado, la administración intravenosa presenta el riesgo de formación de aneurismas o la afectación de músculos en la zona de aplicación.

Una desventaja más que presentan ambos tipos de suministro es la utilización de vehículos para conducir el medicamento hasta el lugar en donde se le requiere. El simple hecho de introducir una sustancia ajena al organismo, como los medicamentos, representa ya un riesgo desde el punto de vista de biocompatibilidad o de posibles reacciones que se pudiesen presentar. Cuando el medicamento es suministrado junto con un vehículo, se introducen dos sustancias ajenas al organismo lo cual incrementa los riesgos. Además, el aprovechamiento del medicamento resulta ser muy bajo debido a su conducción a través del torrente sanguíneo.

Una desventaja más que presentan los tipos de administración mencionados es que la utilización de dosis mucho mayores a las que se requieren. Esto debido a que la mayor parte del medicamento se eliminará en distintos órganos del cuerpo antes de llegar al lugar requerido, elevan el costo de los sistemas, tanto orales como intravenosos.

En suma o de manera independiente, los problemas antes mencionados hacen que un gran número de personas queden imposibilitadas de acceder a los sistemas de administración de medicamentos por vía oral o intravenosa.

Como alternativa, existe una rama de los Biomateriales dedicada a diseñar dispositivos que suministren los medicamentos *in situ*. Esta disciplina, denominada *sistemas de liberación local de medicamentos (DDS)*, requiere de la participación de distintas áreas del conocimiento como lo es la Física, la Química o la Medicina para el desarrollo teórico de nuevos dispositivos, y de ciencias aplicadas para su fabricación, análisis e implementación, entre las que destaca la Ingeniería Mecánica. El papel del Ingeniero Mecánico en ésta área, incluye la selección de los materiales que servirán para la fabricación de los sistemas de liberación; el desarrollo de tecnología y equipo para la fabricación

de los mismos; el diseño y manufactura de los sistemas, así como su evaluación. Sin embargo, la participación de otras disciplinas es crucial para el trabajo del Ingeniero en esta área. El diseño o la selección de un material para la fabricación de un sistema de liberación de medicamentos está íntimamente ligado con aspectos biológicos y conceptos médicos.

En esta rama de los Biomateriales, se emplean materiales metálicos, cerámicos y poliméricos, siendo éstos últimos los más utilizados. Por otra parte, son muy pocos los materiales compuestos usados como sistemas de liberación de medicamentos.

Los DDS con más aceptación hoy en día, son sistemas de costo elevado y manufacturados, casi en su totalidad, en el extranjero, lo que hace muy difícil que las personas en nuestro país los adquieran.

En el presente trabajo se buscó obtener un dispositivo con las características necesarias para hacer un sistema de liberación local de medicamentos con un costo accesible a cualquier persona. Se propuso fabricar un material compuesto en forma de pastilla hecho de un polímero biodegradable y un cerámico bioabsorbible. La utilización del polímero se debió a que en el área de los DDS, el estudio de los materiales poliméricos ha sido mucho más extenso en comparación a los otros materiales. De esta manera, se partió de un polímero que fuera de relativo bajo costo, que hubiera sido estudiado y probado como biomaterial, y que se pudiera conseguir dentro del país: *poli-ε-caprolactona (PCL)*. El material cerámico utilizado fue *carbonato de calcio (CaCO<sub>3</sub>)* a partir de cascarón de huevo de gallina. La utilización de este material tuvo la finalidad de disminuir, aún más, el costo del dispositivo.

Una vez que fueron seleccionados y caracterizados los materiales, se fabricaron pastillas del material compuesto.

Posteriormente, las pastillas fueron sometidas a pruebas de degradación para conocer cómo y cuánto se degradan en soluciones que simulan el medio fisiológico. El análisis de la degradación de las pastillas se realizó en base a los datos de pérdida de masa que tuvieron a lo largo de las pruebas, y en base a la observación de sus superficies por medio de microscopía electrónica.

# CAPÍTULO I. ANTECEDENTES.

## **Aspectos Fundamentales en Biomateriales.**

La utilización de vidrio en prótesis oculares, del oro y de la madera en prótesis dentales y ortopédicas, entre otros, han sido materiales protagonistas, desde hace muchos siglos, de la historia de los biomateriales. Posteriormente, la aparición de los polímeros fue un suceso de suma trascendencia para la ciencia de los biomateriales. Debido a la facilidad de fabricación y a su baja densidad, una gran cantidad de plásticos fueron ensayados desde el inicio de este siglo. Un ejemplo lo constituye el Polimetilmetacrilato (PMMA), introducido a la odontología en 1937, el cual fue utilizado como implante ocular durante la Segunda Guerra Mundial. Después de la guerra, se realizaron experimentos con el material de los paracaídas (Vinyon N) utilizándolo como prótesis vascular. Sin embargo, los resultados obtenidos de todas estas prácticas no fueron del todo alentadores debido a la alta toxicidad de algunos de los polímeros implantados, por lo que la utilización de los plásticos en el campo médico tuvo que tornarse más estricta y cuidadosa.

A principios de los años 60 el PMMA, polietileno de ultra alto peso molecular, y el acero inoxidable fueron utilizados como prótesis total de cadera. Sin embargo, hasta aquellos años el término “biomaterial” no había sido utilizado en las investigaciones. Aunque es difícil establecer una fecha exacta para la aparición del término, se cree que fue introducido en los últimos años de la década de los 60s mediante el simposio de biomateriales realizado en la Universidad de Clemson, E.U.A. El éxito de este simposio dio como resultado la formación de la Sociedad de Biomateriales en 1975, con lo cual se inició una nueva disciplina y con ésta, la necesidad de establecer términos y definiciones antes inexistentes.

En realidad no existen definiciones estrictamente aceptadas, ni derivaciones etimológicas satisfactorias en el ámbito de los biomateriales y la bioingeniería. Estas han sido introducidas en el campo de la ingeniería biomédica en años recientes como respuesta a la necesidad de asignar un nombre a las nuevas disciplinas, materias y aplicaciones, y han venido aceptándose en el vocabulario de uso común.

Una definición frecuentemente utilizada de biomaterial es *aquél material que es utilizado en el tratamiento de pacientes y el cual interacciona con el tejido biológico por un tiempo relativamente largo*.

El énfasis de la definición radica en el contacto entre el material y los tejidos del paciente, lo cual distingue al biomaterial de cualquier otro material utilizado por cirujanos o físicos, como son los escalpelos, o los carburos de tungsteno utilizados en la odontología.

En efecto, la definición excluye a todos aquellos materiales que tienen contacto con tejidos por tiempos cortos (Ratner, 1996).

Otro concepto básico en el área de los Biomateriales es el de biocompatibilidad. Este concepto se ha definido como *la relación bilateral entre el material y el ambiente biológico en el cual se encuentra implantado*.

La biocompatibilidad se refiere principalmente a las interacciones químicas que toman parte entre el material y los fluidos corporales, y las respuestas fisiológicas a estas reacciones. Así, la biocompatibilidad de los materiales metálicos está controlada por la interacción electroquímica que resulta del desprendimiento de iones metálicos, o en algunos casos, de partículas insolubles, dentro del tejido, y la toxicología de estas sustancias. De manera similar, la biocompatibilidad de los plásticos en el contexto de la respuesta del tejido suave, es controlada por la manera en que los fluidos circundantes extraen los monómeros residuales, aditivos, y productos degradantes.

Otro factor de suma importancia en la biocompatibilidad es la forma física del implante. La forma de un implante tiene influencia en la aceptación del implante.

En la biocompatibilidad, el indicativo más importante de la interacción entre el material implantado y el tejido del cuerpo es la respuesta celular en la vecindad inmediata al implante, lo que puede medirse por métodos médico-biológicos.

Se pueden dividir a los biomateriales en tres grandes grupos de acuerdo con su uso: prótesis externas (órtesis), prótesis internas y sistemas de administración de medicamentos.

Una prótesis es un dispositivo que sustituye total o parcialmente, una parte del organismo, ya sea tejido u órgano. De esta manera, una prótesis externa es un dispositivo que está en contacto con tejidos del cuerpo, pero que no se

implanta mediante una cirugía. Algunos ejemplos de prótesis externas son las piernas artificiales, brazos artificiales, orejas, piel, etc.

Entre las prótesis internas encontramos sustitutos de hueso y órganos artificiales, las cuales, a diferencia de las externas, se implantan mediante una cirugía y se encuentran rodeados de tejidos y fluidos biológicos el resto del tiempo.

Otros biomateriales son utilizados para administrar o liberar productos farmacológicos. Por ejemplo, algunos polímeros sintéticos se adhieren a la piel liberando hormonas que penetran al tejido por sus poros y algunos cementos ortopédicos son capaces de almacenar antibióticos para ser liberados dentro del organismo y evitar infecciones posteriores. Normalmente los biomateriales son productos sintéticos que están siendo fabricados de metales, plásticos o cerámicos.

El desarrollo de un biomaterial involucra varias áreas del conocimiento como la Física, la Medicina y la Ingenierías. Las primeras se encargan tanto de la definición de una necesidad como del desarrollo teórico de los dispositivos que satisfacen a tal necesidad. El papel del ingeniero involucra el diseño, fabricación y evaluación de tales dispositivos. En la Tabla 1.1, se muestran los pasos a seguir en el desarrollo de un biomaterial y las disciplinas involucradas en cada etapa, desde la idea de satisfacer una necesidad hasta la evaluación del producto (Ratner, 1996).

**Tabla 1.1.** Pasos a seguir en el diseño, fabricación e implementación de un biomaterial, así como las disciplinas involucradas.

<i>IDEA</i>	<b>ACCIÓN</b>	<b>DISCIPLINA/PERSONA INVOLUCRADA</b>	
↓	Identificación de la necesidad Tratamiento Reemplazo de un órgano Cosmético	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Físico/Dentista</li> <li>• Investigador</li> <li>• Inventor</li> </ul>	
	Diseño del dispositivo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Físico</li> <li>• Ingeniero</li> </ul>	
	Síntesis del Material	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ceramista</li> <li>• Metalurgista</li> <li>• Químico</li> </ul>	
	Pruebas de los materiales Propiedades mecánicas Toxicología Bioreacción del cuerpo hacia el material	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bioingeniero</li> <li>• Ingeniero Mecánico</li> <li>• Bioquímico</li> <li>• Veterinario</li> </ul>	
	Fabricación	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ingeniero</li> <li>• Técnicos en manufactura</li> </ul>	
	Esterilización y empaquetamiento	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bioingeniero</li> <li>• Diseñador Industrial</li> </ul>	
	Pruebas del dispositivo Toxicología Biointeracción <i>in vivo</i> Pruebas en animales	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bioingeniero</li> <li>• Físico/Dentista</li> <li>• Veterinario</li> </ul>	
	Regulación Aprobación normativa Pruebas clínicas Estudios clínicos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Especialista en regulación</li> <li>• Agencia regulatoria</li> <li>• Congresos</li> </ul>	
	Uso clínico	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Físico</li> <li>• Médico/Dentista</li> </ul>	
	<i>PACIENTE</i>	Análisis del material implantado Examinación patológica Análisis de falla	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Patólogo</li> <li>• Bioingeniero</li> <li>• Ingeniero</li> </ul>

## **Los sistemas de liberación local como alternativa en la administración de medicamentos.**

Los accidentes debidos principalmente a automotores, en los que hay exposición de hueso, cada día son más frecuentes en México. Al año, son registrados más de 50 000 casos de este tipo, en donde llega a infectarse el hueso de algún miembro del cuerpo y frecuentemente tiene que ser amputado. Una de estas infecciones es la osteomielitis postquirúrgica, que requiere de medicamentos que resultan muy agresivos para el cuerpo, ocasionando frecuentemente daños a otros órganos.

Existen personas que desarrollan infecciones en hueso por Salmonela y por Espondilitis lumbar; otras que presentan Osteomielitis crónica u Osteomielitis postraumática. En ocasiones el uso de prótesis como sustituto de tejido óseo promueve infecciones en los huesos y en el tejido suave que está en contacto con éstas, muchas veces asociadas con la presencia de Estafilococo dorado como agente causal. La mayoría de los cirujanos, en especial los cirujanos ortopédicos, acuerdan que la razón principal para no remover un implante es la posibilidad de una infección. Cualquier intervención quirúrgica trae consigo el riesgo de iniciar una infección.

Las personas con diabetes son muy vulnerables a contraer infecciones en hueso. La osteomielitis y la infección de tejido suave, son las razones principales de amputación de miembros en los pacientes diabéticos. En ocasiones, los médicos consideran más práctico amputar el miembro infectado que someter al paciente a un tratamiento medicamentoso de alto riesgo. Una solución utilizada en la actualidad por los médicos en los pacientes que presentan infecciones de hueso es el tratamiento con antibióticos de manera oral o intravenosa.

Los tratamientos con antibióticos por vía oral e intravenosa presentan diferentes efectos secundarios en el organismo. Uno de ellos, en el caso de la administración oral, es la gastritis que puede producir sangrado, úlceras y erosión de las paredes internas del estómago. El tratamiento con antibióticos de manera oral involucra riesgos que pueden ir desde laceraciones en distintas partes del cuerpo como en encías y boca, las cuales pueden causar desde la pérdida de los dientes, hasta la del oído.

Una desventaja más en este tipo de administración es el desperdicio de medicamento. Debido al paso del fármaco a través de varios órganos, la cantidad que llega hasta el lugar requerido es mínimo, en ocasiones solamente un 10% de éste. Lo cual representa un desperdicio sustantivo de recursos.

En cuanto al tratamiento con antibióticos de manera intravenosa, se presentan varios problemas: si se requiere del suministro de antibiótico por tiempos que van de semanas a meses, este representa un riesgo para la formación de aneurismas en la zona del tratamiento. En otras ocasiones, como en el caso de la osteomielitis crónica, se requiere de la reincidencia en la aplicación del fármaco para combatir la infección, lo cual puede provocar inmunidad al antibiótico, etc.

El uso de materiales para la liberación de antibióticos de manera local ha surgido como un método de administración alternativo para evitar las desventajas que el suministro por vía oral e intravenosa involucran, evitando además la utilización de vehículos. Además, este tipo de sistemas pueden ser empleados no sólo en el caso de infecciones de hueso sino en una amplia gama de tratamientos a base de medicamentos.

La investigación de materiales para la liberación de medicamentos ha arrojado a la luz diversos materiales de los cuales la mayoría son poliméricos, varios son cerámicos, y una mínima parte son materiales compuestos.

### **Tipos de sistemas de liberación local de medicamentos.**

Los sistemas de liberación de medicamentos se clasifican de acuerdo al mecanismo por el cual se administra el medicamento (Tabla 1.2).

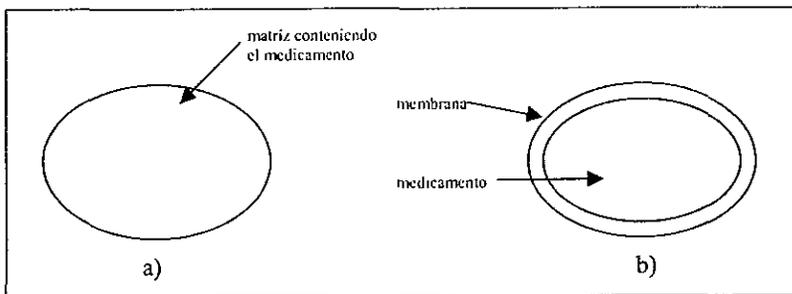
**Tabla 1.2.** Tipos de sistemas de liberación de medicamentos y los mecanismos por los que se administran.

Tipo de sistema	Mecanismo de administración
Controlado por difusión	Difusión a través de una membrana Difusión a través de un polímero
Controlado por penetración de agua	Sistemas osmóticos
Controlado químicamente	Erosión del material (superficial) Erosión/difusión
Sistemas regulados externamente	Sistemas magnéticos Sistemas regulados por ultrasonido Sistemas regulados químicamente

Sistemas controlados por difusión.

En estos el medicamento se encuentra rodeado de una membrana o de un polímero (Figura 1.2). Cuando se utiliza un polímero, el medicamento es dispersado dentro de una matriz polimérica, y la administración se realiza por difusión a través del polímero. La liberación del medicamento depende de la solubilidad del medicamento y puede ser modelado matemáticamente (Higuchi, 1961).

El segundo caso es cuando el medicamento está rodeado de una membrana y la administración ocurre por difusión a través de la membrana.

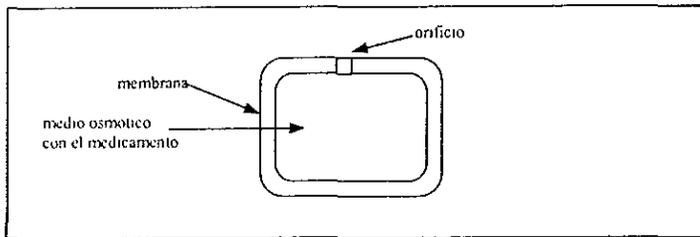


**Figura 1.1.** a) Matriz polimérica conteniendo el medicamento.  
b) Medicamento rodeado por una membrana.

### Sistemas controlados por penetración de agua.

En estos sistemas la liberación del medicamento se debe al agua que penetra dentro de los mismos. El medicamento se encuentra contenido en un medio osmótico el cual está rodeado por una membrana semipermeable con un orificio (Figura 1.3).

Cuando el agua penetra el sistema a través de la membrana, el medicamento sale por el orificio de ésta.



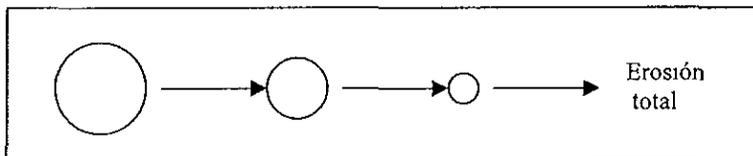
**Figura 1.2.** Sección transversal de un sistema osmótico.

### Sistemas controlados químicamente.

Algunos polímeros pueden sufrir una reacción hidrolítica en sus superficies. Entre estos polímeros se encuentran los poliésteres y los polianhídridos.

En este tipo de sistemas, el medicamento se encuentra disperso en una matriz polimérica y ésta presenta una erosión superficial debido a las reacciones ocasionadas por reacciones químicas o por agentes biológicos.

La administración del medicamento se efectúa conforme el dispositivo pierde masa (Figura 1.4).



**Figura 1.3.** Sistema bioerosionable. Libera el medicamento a la vez que se degrada dentro del organismo.

## Sistemas regulados externamente.

En este tipo de sistemas, el medicamento se libera del sistema por medio de medios externos. Por ejemplo, en el caso de los sistemas magnéticos, el medicamento se encuentra mezclado junto con pequeñas esferas magnéticas en una matriz polimérica. Cuando se aplica un campo magnético externo al sistema, se incrementa o se reduce la tasa de difusión del medicamento a través del polímero.

## **Polímeros utilizados para administración local de medicamentos.**

Una aplicación muy importante que han tenido los polímeros es en la administración local de medicamentos. Distintos hidrogeles han sido desarrollados exitosamente y aplicados en esta área. El Polihidroximetil metacrilato, por ejemplo, ha sido estudiado como sistema de administración de antibióticos (Abrahams y Ronel, 1975). Las modificaciones a la geometría del implante, así como la relación de los copolímeros y distintos cambios estructurales permiten el control de la dosificación. El copolímero formado a base de los geles hidrofílicos butil metacrilato (BMA) y el hidroxietilmetacrilato (HEMA) ha sido desarrollado para administrar medicamentos en el tratamiento de tumores. Se ha observado que cuando la cantidad de BMA en relación con la de HEMA del copolímero se incrementa, la tasa de difusión del medicamento disminuye (Drobnik, 1974).

Otro tipo de material desarrollado para la administración local de medicamentos son los implantes degradables. En este caso, el medicamento es administrado conforme el material implantado se degrada dentro del cuerpo humano.

La variación en la composición de los copolímeros hacen que éstos se degraden con mayor o menor rapidez, lo cual repercute en la dosis de medicamento liberada. Un copolímero que ha sido muy bien estudiado está formado por Ácido Poliláctico (PLA) y Ácido Poliglicólico (PGA) (Gilding *et al*, 1978). Este sistema fue implantado en tejido óseo, se obtuvieron tiempos de degradación que van de las 2 semanas a los 6 meses para una concentración de 25 a 100% de PLA (Miller *et al*, 1977). La desventaja de este copolímero es que su obtención en laboratorio es muy tardada por lo que resulta ser bastante caro (\$37,250 dólares el kilogramo, SIGMA, 1999).

Un copolímero biodegradable que se presenta como un buen candidato para sistema de liberación de medicamentos es el que se forma de polióxido de etileno (PEO) y polietileno-tereftalato (PET) en un rango de 50 a 70% de PEO. La ventaja de este copolímero es que se pueden predecir la degradación que éste sufrirá en un lapso de tiempo determinado. La variación en su relación PET/PEO permite diseñar un sistema que se biodegrade por completo en un periodo de 2 a 12 semanas (Reed, 1977). Otra ventaja más es que su polimerización es controlable (Gilding *et al*, 1977) y puede ser obtenido en fibras o películas. Además, tanto el PEO como el PET se pueden obtener comercialmente a un costo relativamente bajo, y posteriormente se pueden someter a procesos de esterilización con la finalidad de que puedan ser utilizados como implantes. La desventaja de este copolímero radica en que los anillos aromáticos del PET no se presentan naturalmente en los tejidos, lo cual representa un riesgo en cuanto a toxicidad. Aún así, el copolímero no aparenta ser tóxico (Hench, 1982).

### Poli-ε-caprolactona

El éxito que se ha tenido en la utilización de polímeros lácticos y glicólicos como sistemas absorbibles de liberación de medicamentos ha permitido iniciar la experimentación y evaluación de otros poliésteres con los mismos propósitos. Los polímeros que más se han estudiado en esta categoría son las caprolactonas, polihidroxibutaratos, y algunos polímeros de otros α-hidroxiácidos. Estos polímeros han sido desarrollados originalmente como plásticos sintéticos que pueden ser degradados por microorganismos en el medio ambiente.

La policaprolactona es un polímero semicristalino. Su alta solubilidad, su bajo punto de fusión (59-64°C) y su excepcional habilidad de mezclarse con otros materiales ha permitido su aplicación como biomaterial. La policaprolactona se degrada a un ritmo más lento que el ácido poliláctico (PLA), por lo que puede ser utilizado como un dispositivo de administración de medicamentos que permanece activo por más de un año.

En base a un gran número de pruebas, la ε-caprolactona y la policaprolactona son considerados como materiales no tóxicos y biocompatibles en cuanto a tejidos se refiere. En Europa, la policaprolactona es utilizada actualmente como grapas degradables en la sutura de heridas postquirúrgicas y en sistemas de liberación de anticonceptivos, lo cual es una prueba de que tanto la

policaprolactona como los copolímeros que contengan a ésta, tendrán muchas aplicaciones más en el futuro.

### **Cerámicos utilizados para la administración local de medicamentos.**

Los materiales cerámicos más utilizados en el diseño de sistemas para la liberación local de medicamentos son, hasta ahora, los fosfatos de calcio. Una de las formas en que se han empleado es en la fabricación de bloques con un espacio central cilíndrico en donde se halla el medicamento. Se procura que los bloques tengan una porosidad de entre 10 y 200  $\mu\text{m}$  por medio de la cual el medicamento es liberado. Un sistema de este tipo fue desarrollado por Yoshitaka et al en la Universidad Médica de Osaka en Japón (Yoshitaka, 1992), para el tratamiento de Osteomielitis e infecciones postquirúrgicas. Para este experimento utilizaron bloques de hidroxiapatita de 10 x 10 x 10 mm, sinterizados a 1200°C por dos horas, con cavidades cilíndricas en el centro. En cada sistema, 75 mg de Gentamicina fueron puestos en la cavidad central y ésta fue cerrada. Las mediciones de este experimento, muestran que la Gentamicina fue liberada de dosis mayores a menores a lo largo de un periodo de 60 a 90 días. Una desventaja de este sistema es que los bloques de hidroxiapatita no son biodegradables a corto plazo. Su degradación total puede tardar más de 5 años.

Otro tipo de cerámicos empleado como biomaterial, aunque no con la misma frecuencia que los fosfatos de calcio, son los carbonatos de calcio, y en particular la calcita.

#### Calcita ( $\text{CaCO}_3$ ).

Su composición química: CaO, 56%;  $\text{CO}_2$ , 44% teniendo impurezas como el Mg, Fe, Mn (hasta el 8%), mucho más raramente Zn (hasta el 2%), y Sr. Cristaliza en el sistema hexagonal y su dureza es de 3.0 en la escala de Mohs. En la mayoría de los casos es incolora o blanca lechosa, pero a veces las impurezas le comunican claros matices gris, amarillo, rosa, rojo, pardo y negro. El brillo es vítreo. Su peso específico es de entre 2.6-2.8, y en los cristales químicamente puros es 2.72 a los 23 °C.

Los cúmulos de cristales de calcita junto con otros minerales se observan en las cavidades terrestres. Son muy conocidas las formaciones estalactíticas y estalagmíticas de calcita en las cuevas entre calizas. Los agregados continuos granulares en grandes masas se denominan mármoles. Las variedades densas

criptocristalinas de rocas de calcita, con frecuencia estratificadas se denominan calizas. Las calizas porosas, que contienen minúsculas conchas se conocen bajo el nombre de “creta”. A veces, debido a la precipitación de carbonato de calcio de los manantiales calientes, se forman variedades compactas y semitransparentes, con dibujo de líneas finas, denominadas “ónice de mármol”.

Por vía sedimentaria, sobretudo en los mares, se constituyen enormes masas de  $\text{CaCO}_3$ , inicialmente bajo la forma de limos calcáreos, plantas y animales avertebrados muertos. Posteriormente, todas esas substancias se transforman en calizas.

Por otro lado, la calcita, junto con otros compuestos de calcio como la hidroxiapatita, se encuentra presente en los huesos, razón por la cual el estudio de este material es de gran importancia para la medicina.

La calcita ha tenido muchas aplicaciones en la industria, sin embargo, durante la revisión bibliográfica que se llevó a cabo para realizar el presente trabajo no se encontró alguna aplicación de la calcita en cuanto a sistemas de liberación de medicamentos.

### **Materiales compuestos utilizados para la administración local de medicamentos.**

Los materiales compuestos biodegradables han sido desarrollados principalmente con la finalidad de atender a problemas de fracturas óseas. Sólo una pequeña parte de la investigación se ha dirigido a los sistemas de liberación de medicamentos (Ratner, 1996). En el primer caso, se han utilizado polímeros como el PLA y el PGA, y fibras de carbono orientadas para fabricar el material compuesto. El incremento en las propiedades mecánicas del material cuando es reforzado con las fibras de carbono lo hace un buen candidato para sustitución de hueso en fracturas que así lo requieren.

Otro material compuesto que se ha investigado con fines ortopédicos es aquel formado por PLA y fibras basadas en fosfatos de calcio. Diversos estudios hechos al material han revelado una buena compatibilidad de éste, pero una tasa elevada de degradación y de disminución en sus propiedades mecánicas algunas semanas después de la implantación.

Los materiales antes mencionados, además de cumplir con su función ortopédica, contienen medicamentos que previenen infecciones en el área intervenida. Estos medicamentos son liberados a través de los poros del material. Algunos materiales, entre los que destacan algunos cementos óseos, tienen una densidad muy alta, y en ocasiones esto dificulta la liberación del medicamento, debido a que los poros son muy pequeños.

## **Biodegradación.**

### Biodegradación de los polímeros.

Son cuatro los términos que son normalmente utilizados para referirse al evento en el cual un polímero desaparece después de que es implantado dentro del cuerpo humano. Estos son biodegradación, bioerosión, bioabsorción y bioreabsorción. Sin embargo, al revisar la bibliografía se puede notar que no existe una diferencia evidente entre los cuatro. Aunque se ha buscado establecer definiciones que se puedan aplicar de manera general en el ámbito de los biomateriales, existe aún una confusión en la terminología (Williams, 1987). La Sociedad Europea de Biomateriales recomienda utilizar el término biodegradación sólo cuando se quiere enfatizar que un agente biológico, por ejemplo, una enzima, es el componente dominante durante la degradación de un material. De esta manera, el término “bioerosión” incluye procesos físicos como la disolución, y químicos como la ruptura de las cadenas del polímero. En este término el prefijo “bio” indica que ocurre bajo condiciones fisiológicas, a diferencia de otros procesos causados por altas temperaturas, medios ácidos o alcalinos, etc.

Los términos “bioreabsorción” y “bioabsorción” son frecuentemente usados para definir que un polímero es degradado por actividad celular (fagocitosis) en un ambiente biológico e incorporados al cuerpo humano. De cualquier manera estos términos no han sido definidos claramente.

La investigación en biomateriales se ha inclinado por desarrollar aquellos materiales con características de estabilidad muy elevadas. De hecho se han obtenido materiales prácticamente indestructibles, en términos de degradación, como lo son el Teflon y el Kevlar. Por otro lado, la investigación acerca de materiales biodegradables es relativamente nueva (Ratner, 1996). La variedad de materiales biodegradables existentes en el mercado es muy pobre

como para satisfacer las necesidades que los problemas biomédicos involucran.

Los materiales biodegradables deben cumplir con normas más estrictas de biocompatibilidad que aquellos que no lo son. Además de considerar los componentes con los que fue fabricado el material a implantar y los posibles tóxicos que este contenga antes de ser implantado (monómeros residuales, estabilizadores, iniciadores de polimerización, etc.), se debe considerar la toxicidad de los productos de la degradación. Es debido a estas consideraciones que el número de materiales que se pueden utilizar con estos fines resulta reducido.

Durante la década pasada se han realizado un sinnúmero de estudios toxicológicos de materiales candidatos para usarse en implantes biodegradables, sin embargo, muy pocos han sido aceptados por la *U.S. Food and Drug Administration* (FDA). Entre los materiales poliméricos están el PLA, el PGA y la PDS, que son utilizados cotidianamente. Otros tipos de polímeros, como la PCL y los polianhídridos, parecen ser materiales que prometen buenos resultados, por lo que están siendo evaluados en la actualidad.

#### *Mecanismo de bioerosión.*

Heller (Heller, 1987) ha sugerido definir un “polímero bioerosionable” como aquel polímero insoluble en agua que es transformado bajo “condiciones fisiológicas” en un polímero soluble en agua. El proceso de bioerosión está ligado a cambios macroscópicos del implante y en sus propiedades físicas y mecánicas tales como hinchamiento, deformación o desintegración estructural; pérdida de peso y una eventual pérdida de sus funciones.

Existen dos tipos de bioerosión de acuerdo a la literatura (Heller, 1987). La bioerosión volumétrica es aquella en donde la tasa de la cantidad de agua absorbida por el material excede a la tasa con la que el material se transforma en uno soluble en agua. En este proceso la erosión ocurre en todo el volumen del material, presentándose grietas y cambios en su morfología y en su estructura original. Este fenómeno se presenta comúnmente en materiales hidrofílicos. El otro tipo se denomina bioerosión superficial. En éste, la tasa de la cantidad de agua que penetra al material es menor que la tasa con la cual se transforma en un material soluble en agua. La degradación, en este caso, se limita a la superficie del material por lo que éste se vuelve cada vez más

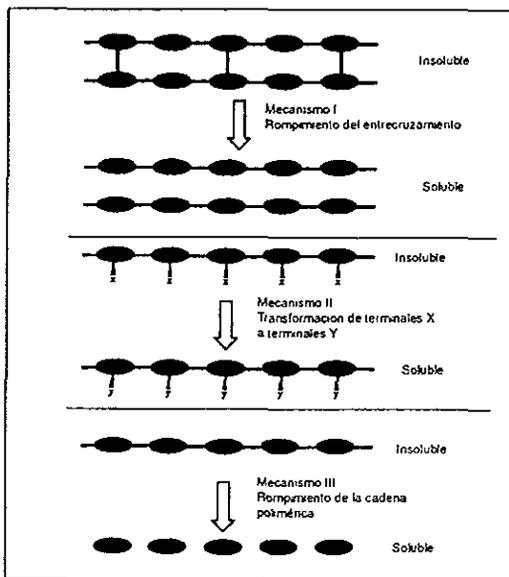
delgado. Para que este fenómeno se presente, el material debe ser lo suficientemente hidrofóbico para impedir la absorción de una gran cantidad de líquido.

Otro tipo de bioerosión superficial es la llamada *bioerosión enzimática superficial*. Las enzimas, al no poder penetrar dentro de un material, llevan a cabo una degradación del mismo a nivel superficial. Este fenómeno ha sido observado en dispositivos hechos de policaprolactona (Pitt *et al.*, 1984).

El mecanismo por medio del cual un polímero insoluble en agua se transforma en uno soluble se denomina *mecanismo de degradación química*.

#### *Mecanismo de degradación química.*

Existen tres tipos de degradación química. En el primero las uniones entre las cadenas de un polímero entrecruzado insoluble en agua se rompen volviéndolo soluble. El segundo se presenta con la transformación de las cadenas secundarias (ramificaciones) de un polímero insoluble en agua por grupos polarizados, con lo que el polímero se vuelve soluble en agua. El tercero se presenta cuando se rompen los enlaces entre los monómeros de una misma cadena polimérica insoluble en agua, transformando la cadena en fragmentos solubles en agua de bajo peso molecular.



**Figura 1.4.** Mecanismos de degradación química de un polímero.

Debido a que las reacciones descritas pueden ser mediadas por agua o por agentes biológicos, se hace posible distinguir entre una biodegradación hidrolítica y una biodegradación biológica.

Se ha establecido que la cantidad de agua disponible en los tejidos varía muy poco entre distintas personas. Por otro lado, la actividad enzimática de las personas varía muy ampliamente. Es por esto que la degradación de aquellos materiales que presentan un proceso hidrolítico es más predecible que aquellos que presentan una degradación biológica.

### *Biodegradación hidrolítica.*

La hidrólisis es la ruptura de grupos moleculares cuando reaccionan con el agua. Puede ser catalizada por ácidos, bases, sales o enzimas. La susceptibilidad de un polímero a este tipo de degradación la determina su estructura química, su morfología, sus dimensiones y el medio.

Entre los biomateriales hidrolizables comúnmente usados se encuentran los ésteres, las amidas, y los carbonatos. Algunos otros polímeros que contienen grupos éter, acetal, nitrilo, fosfato o metilenos activos, hidrolizan bajo condiciones especiales. Entre los polímeros que son muy estables a la hidrólisis se encuentran el poliestireno, el polipropileno, el polietileno, el politetrafluoro-etileno y el cloruro de polivinilo.

La tasa de hidrólisis, en un polímero, tiende a incrementarse cuando en la cadena principal se presenta una gran proporción de grupos hidrolizables, cuando el polímero tiene baja cristalinidad, bajo nivel de entrecruzamiento, una gran área de exposición al medio en relación a su volumen, o cuando está sometido a esfuerzos mecánicos. Entre los factores que tienden a inhibir la hidrólisis se encuentran la presencia de una alta cristalinidad del polímero y un alto nivel de entrecruzamiento.

El cuerpo humano es, normalmente, un medio reactivo altamente controlado, por lo que la mayoría de los implantes se encuentran en un medio acuoso, isotérmico (37°C), neutro (pH 7.4), aséptico, y fotoprotectado. Aparentemente este medio puede ser reproducido *in vitro* fácilmente, pero las interacciones de los fluidos corporales que involucran actividad celular, activadores, receptores, inhibidores, etc. producen respuestas muy agresivas contra cualquier material implantado, lo cual puede acelerar la degradación del mismo.

### *Biodegradación de la poli(ε-caprolactona).*

La biodegradación de la PCL ha sido intensamente estudiada en los últimos 30 años (Pitt, 1984) debido a que resulta un material con características adecuadas para su utilización como biomaterial.

De la misma manera que los polímeros lácticos, la PCL y sus copolímeros, se degradan tanto *in vitro* como *in vivo* por hidrólisis simple (Pitt, 1980), y la variación en la tasa de degradación se debe tanto al tamaño y la forma del dispositivo como a los materiales que se adicionen.

La degradación de la PCL puede ser descrita por la penetración del agua dentro de la matriz del polímero siguiendo a ésta una hidrólisis simple, lo cual se refleja en una disminución del peso molecular. Una característica de este tipo de degradación es que el peso de la muestra permanece constante por un periodo de tiempo relativamente largo, y la muestra no pierde peso sino hasta que el peso molecular de las cadenas del polímero ha decrecido lo suficiente (Veld, 1993). La biodegradación de la PCL puede ser predicha mediante la siguiente ecuación (Veld, 1993):

$$\text{Para hidrólisis sin catálisis: } 1/M_n = 1/M_n^0 + kt$$

$$\text{Para hidrólisis catalítica: } \ln(M_n) = \ln(M_n^0) - kt$$

donde:

$M_n$  = Peso molecular.

$M_n^0$  = Peso molecular inicial.

$k = 1 \times 10^{-2}$  semanas<sup>-1</sup>

La degradación reportada por Veld *et al*, de discos de PCL de  $M_n = 40,000$  con pesos de entre 20 y 30 mg en una solución Ringer con pH de 7.4 y a una temperatura de 37°C muestra que los discos perdieron el 5% de su peso en un lapso de 50 semanas.

Por otro lado, el mecanismo de degradación de la PCL, tanto en laboratorio como en conejos, fue estudiado mediante la medición de la viscosidad del polímero a lo largo de 60 semanas (Pitt, 1990). De acuerdo a estos experimentos, los polímeros se degradaron en dos fases. En la primera ocurrió

un rompimiento hidrolítico aleatorio de varias cadenas, de lo cual se derivó una disminución en el peso molecular del polímero, sin registrarse ningún decremento del peso de la muestra. En la segunda fase los fragmentos de bajo peso molecular y las partículas pequeñas fueron conducidas fuera del área de implantación por solubilización o por fagocitosis, lo cual se tradujo en una pérdida de peso de la muestra. La degradación total de la PCL duró de 2 a 4 años.

### Biodegradación de materiales cerámicos.

La utilización de los materiales cerámicos como materiales biodegradables y bioabsorbibles tiene su origen en el trabajo de Dreesman en 1894 con el uso del *veso de Paris* (Sulfato de Calcio) para rellenar defectos en hueso. Desde que se observó que este material fue absorbido por el organismo y fue reemplazado por hueso, su publicación ha servido de base para la investigación y el uso de materiales cerámicos biodegradables.

Los cerámicos presentes en los huesos son numerosos: hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}[\text{PO}_4]_6[\text{OH}]_2$ ), fosfato de calcio  $\text{CaHPO}_4$ , carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ), entre otros. Como los iones calcio, el  $\text{PO}_4$  y los  $\text{OH}^-$  pueden ser reemplazados por otros grupos, un gran número de sales pueden servir como materiales para fabricar cerámicos biodegradables.

#### *Carbonatos de calcio.*

Los carbonatos de calcio han sido investigados esporádicamente, y estudios realizados a implantes muestran que son absorbidos y reemplazados por tejido óseo. Un implante de calcita en perros mostró que el mineral fue degradado y absorbido en algunos meses (Chirrof *et al*, 1975), indicando un comportamiento similar a otros carbonatos de calcio. La biocompatibilidad de los carbonatos de calcio se debe a su presencia en los minerales constitutivos del hueso. En este estudio realizado por Chiroff (Chirrof *et al*, 1975) no se encontró encapsulamiento del material, sino un leve crecimiento de hueso en algunas partes de la superficie del mineral implantado.

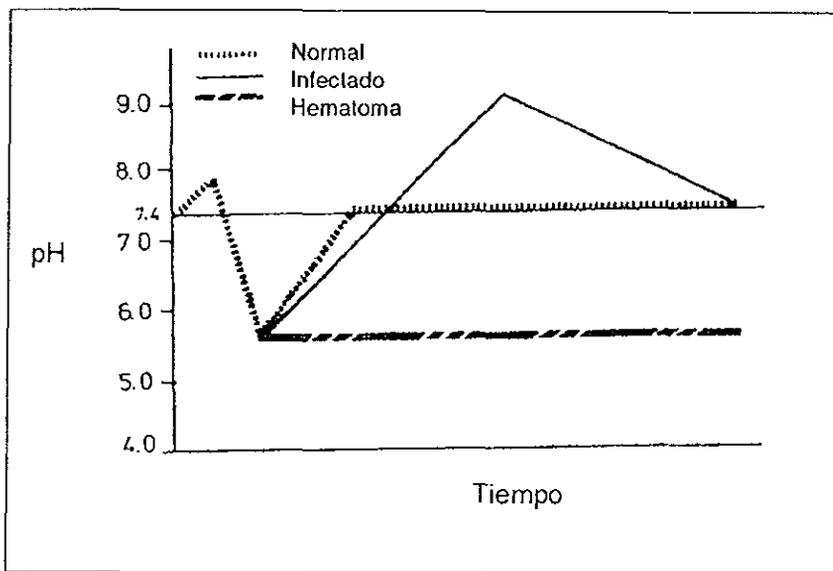
### Simulación de la degradación de un biomaterial.

La complejidad en la evaluación de la degradación de un biomaterial en el laboratorio radica en la simulación del ambiente fisiológico.

Las soluciones comúnmente usadas para simular un ambiente fisiológico son las soluciones Hank y Ringer (Barbosa, 1991). La composición de estas soluciones se muestra en la Tabla 1.3.

El problema que se presenta en la simulación del ambiente fisiológico al emplear estas soluciones es que la degradación del biomaterial *in vivo* puede ser influenciada por otros factores. La actividad celular, los cambios en el pH del ambiente o la presencia de infecciones, pueden acelerar la degradación del biomaterial. En ocasiones, con la finalidad de simular un medio más agresivo, se utilizan soluciones ácidas. Una solución de este tipo es la *Solución Tampón Citrato (Buffer Citrato)*, compuesta de citrato y ácido clorhídrico, utilizada en el presente trabajo.

Los cambios de pH, que pueden ser una causa para acelerar el proceso de degradación de un biomaterial, reportados para tejidos infectados o tejidos con hematomas cercanos se muestran en la Figura 1.6.



**Fig. 1.6.** Representación esquemática de los cambios de pH que ocurren en un tejido después de una cirugía (ASTM, 1979).

**Tabla 1.3.** Soluciones que sirven para simular el ambiente fisiológico y sus componentes.

Solución	Componentes		
Solución Hank (11,12)	NaCl	8.0	g/l
	CaCl <sub>2</sub>	0.14	“
	KCl	0.40	“
	NaHCO <sub>3</sub>	0.35	“
	MgCl <sub>6</sub> H <sub>2</sub> O	0.10	“
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.06	“
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.06	“
	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.06	“
	glucosa	1.0	“
Solución Ringer (13)	NaCl	8.6	“
	CaCl <sub>2</sub>	0.33	“
	KCl	0.30	“
	pH 7.0		
Solución Ringer (7,14)	NaCl	6.3	g/l
	KCl	0.374	“
	NaHCO <sub>3</sub>	2.44	“
	MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.203	“
	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.123	“
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.071	“
	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	0.069	“
	pH 7.4		

## **CAPÍTULO II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.**

### **Hipótesis.**

- El cascarón de huevo de gallina contiene carbonatos de calcio, el cual podría servir como materia prima para la fabricación de un sistema de administración local de medicamentos.
- Un material compuesto de poli- $\epsilon$ -caprolactona y carbonato de calcio será biodegradable.
- Un material compuesto a base de poli- $\epsilon$ -caprolactona y carbonato de calcio se degradará con mayor rapidez que los sistemas de poli- $\epsilon$ -caprolactona desarrollados para la administración local de medicamentos.
- La degradación del material compuesto a base de poli- $\epsilon$ -caprolactona y carbonato de calcio variará de acuerdo al medio en el cual se encuentre inmerso.

### **Objetivos.**

Con este trabajo se busca seleccionar y caracterizar los materiales para fabricar un sistema de liberación local de medicamentos bioerosionable, fabricar pastillas con los materiales seleccionados y someter a las pastillas a pruebas de degradación. Para llevar a cabo esto se deberán cumplir los siguientes puntos:

- Los materiales utilizados, así como el sistema terminado, deben ser biocompatibles.
- El sistema deberá fabricarse con materiales de relativo bajo costo.
- El sistema deberá fabricarse por medio de procesos sencillos.
- Los procesos de fabricación deberán llevarse al cabo a temperaturas inferiores a las cuales los medicamentos se desestabilizan.
- El sistema deberá ser biodegradable.
- El tiempo de degradación del sistema deberá ser de entre 4 y 8 semanas.

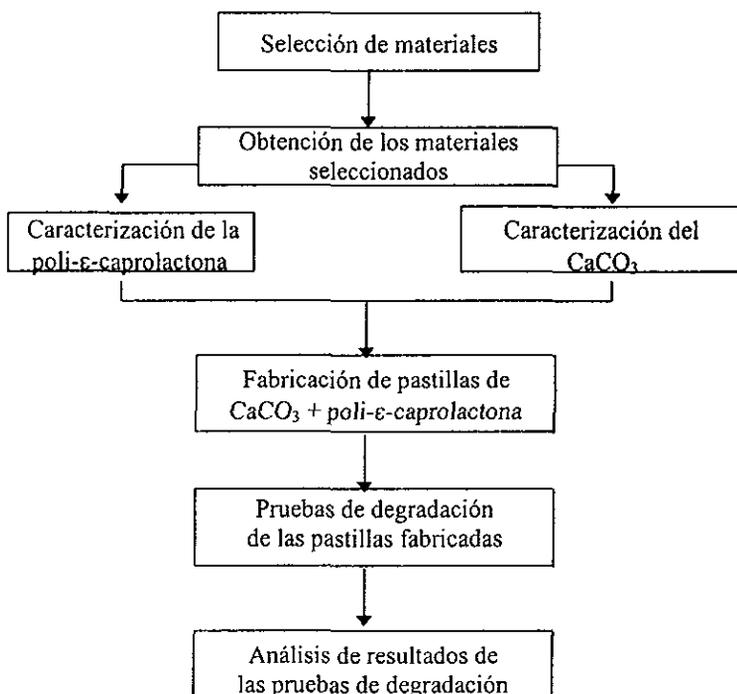
### CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODO.

#### MATERIALES.

Para la realización del presente trabajo se utilizaron los siguientes materiales: calcita obtenida de cascarón de huevo de gallina, poli-ε-caprolactona y cloroformo; y se emplearon las siguientes soluciones: solución Ringer (pH 7.4) y solución citrato (pH 5.0). La solución Ringer fue preparada en el laboratorio, en el caso de la solución citrato se utilizó la *Solución tampón lista para su uso citrato/ácido clorhídrico* referido a SRM de NIST preparada por ALDRICH, S.A.

#### MÉTODO.

La metodología que se utilizó para realizar el presente trabajo se presenta en el siguiente esquema:



## **Selección del polímero para la fabricación de pastillas biodegradables.**

La mayoría de las veces, la selección de materiales se realiza a partir de las propiedades mecánicas de los materiales en cuestión, sin embargo, al seleccionar los materiales para un sistema de liberación de medicamentos inmediatamente resaltan factores y conceptos biológicos o médicos que resultan de suma trascendencia y que difícilmente pueden ser cuantificados, como la biocompatibilidad o la toxicidad. En particular, para un sistema de liberación de medicamentos bioerosionable, las propiedades como la tensión, compresión o dureza no resultan de suma importancia. Debido a lo anterior, la selección del polímero para el sistema que se intenta fabricar se realizó a partir de los requerimientos básicos de un material para ser considerado biomaterial.

Las etapas de selección sistemática de materiales pueden resumirse en:

1. Análisis de los requisitos para el funcionamiento de un componente.
2. Desarrollo de soluciones alternativas al problema.
3. Evaluación de las diferentes soluciones.
4. Descripción de la solución óptima.

Para lo cual se debe tomar en cuenta las siguientes consideraciones:

- A. Requerimientos de funcionalidad.
- B. Requerimientos de procesabilidad.
- C. Costos.
- D. Rentabilidad.
- E. Resistencia bajo condiciones de servicio.

Para un sistema de liberación local de medicamentos bioerosionable, los requerimientos de funcionalidad básicos son la biocompatibilidad, la toxicidad y la degradabilidad. La biocompatibilidad y la toxicidad debido a que son aspectos que cualquier implante debe cumplir para evitar tanto el riesgo de una respuesta negativa del cuerpo humano, como la afectación de éste con sustancias nocivas; el requerimiento de degradabilidad radica en la naturaleza de los sistemas de liberación erosionable, los cuales liberan el medicamento a la vez que se degradan dentro del organismo (capítulo I). Sin embargo, la disponibilidad y el costo de los materiales resultan de gran trascendencia al mismo tiempo.

Para la selección del material polimérico que posteriormente sería mezclado con  $\text{CaCO}_3$  para la fabricación del sistema de liberación, se utilizó una matriz de decisiones, haciendo un previo estudio de los materiales que podrían cumplir con los requerimientos antes mencionados. Una matriz de decisiones es una tabla en donde se jerarquizan las propiedades para saber cuál debe tener mayor peso, y posteriormente, en base a esta jerarquía, se evalúan los materiales propuestos. El resultado es una lista de materiales en donde la primera opción representa el mejor material, respecto a las propiedades con las que se evaluó, y la última opción representa el peor material de la lista.

Debido a que las propiedades empleadas para evaluar los materiales propuestos para el presente trabajo no se pueden calificar cuantitativamente, fue necesario establecer un criterio cualitativo para cada una de éstas. El criterio fue el de ponderar con un 5 a la mejor característica, con un 3 a la característica media y con un 1 a la característica peor.

A continuación se presentan cada una de las propiedades consideradas para seleccionar los materiales y el criterio establecido para llevar a cabo la evaluación.

*Índice de degradabilidad.* La finalidad del sistema de liberación local que se intenta fabricar es que se biodegrade en un tiempo menor a otros sistemas reportados, los cuales tardan años en degradarse, por lo que se ponderó la degradabilidad de los materiales con el valor más alto para aquellos que más fácilmente se degradan quedando de la siguiente manera:

- 1 = baja degradabilidad.
- 3 = mediana degradabilidad.
- 5 = alta degradabilidad.

*Índice de biocompatibilidad.* Cualquier material que vaya a ser introducido en el cuerpo debe ser biocompatible (capítulo I), lo cual involucra la respuesta de los tejidos que rodeen al material. La biocompatibilidad de los materiales propuestos se evaluó en base a los resultados de biocompatibilidad o rechazo reportados quedando de la siguiente manera:

- 1 = rechazo reportado.
- 3 = biocompatibilidad aparente/ biocompatibilidad no probada.
- 5 = biocompatible.

*Índice de toxicidad.* Un material tóxico representa un grave riesgo para la salud, por lo que la toxicidad es una propiedad fundamental en la selección del polímero que contendrá el sistema de liberación de medicamentos.

1 = tóxico.

3 = aparentemente no tóxico/ poco reportado.

5 = no tóxico.

*Índice de disponibilidad del material.* Si bien esta no es una propiedad del material, es un factor que debe tomarse en cuenta debido a que se busca fabricar el sistema de liberación de medicamentos. La ponderación de este índice se hizo consultando los laboratorios científicos que se encargan de distribuir los materiales en México, y algunas universidades mexicanas que se encargan de obtener polímeros para aplicaciones médicas.

Se consideró que un material tiene baja disponibilidad cuando no se pudiese adquirir por medio de los laboratorios que distribuyen material en México; mediana disponibilidad cuando el material se tuviera que importar y tardara mucho tiempo en adquirirse; y alta disponibilidad cuando el material se pudiera obtener por medio de algún proveedor científico o que se pudiera obtener en alguna universidad mexicana.

1 = baja disponibilidad.

3 = mediana disponibilidad.

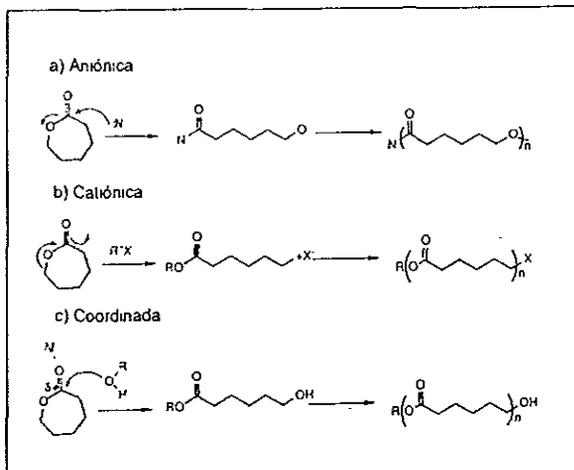
5 = alta disponibilidad.

El costo no se tomó en cuenta en esta fase de selección debido a que algunos materiales se obtienen en universidades y el cálculo del costo de obtención resultaba deficiente, o bien no se tenía acceso al costo comercial de alguno de éstos.

## Obtención de los materiales para la fabricación de las pastillas biodegradables.

### Poli-ε-caprolactona.

Las poli-ε-caprolactonas (PCLs) han sido sintetizadas de la polimerización aniónica, catiónica o coordinada de la ε-caprolactona. Una descripción esquemática de la polimerización de la caprolactona utilizando estos tres mecanismos se muestra en la Figura 3.1.



**Figura 3.1.** Síntesis de la PCL a partir de catalisis aniónica, catiónica y coordinada.

Se han reportado varios iniciadores y distintas condiciones de polimerización, para cada tipo de catalizador. Las aminas ternarias, el tolueno y el benceno resultan sistemas efectivos para la reacción aniónica (Morton, 1985).

En cuanto a la polimerización catiónica, se pueden obtener homopolímeros de alto peso molecular (>50,000), utilizando catalizadores como el di-*n*-butil de zinc, aluminio, estaño, magnesio y titanio, a una temperatura de polimerización de 120°C.

Para la polimerización de la poli-ε-caprolactona usada en este trabajo se utilizó el monómero ε-caprolactona y Oxalato de Estaño como catalizador. Primero se pesó el monómero y el iniciador bajo atmósfera de nitrógeno seco. Después se sumergió el frasco de reacción en un baño de aceite a temperatura constante. Cuando el tiempo de reacción hubo finalizado, la masa se disolvió con diclorometano y se filtró al vacío con la finalidad de eliminar trazas de

catalizador. Una vez hecho esto, el polímero se precipitó en metanol frío y se separó mediante filtración al vacío y se dejó secar a temperatura ambiente por lo menos dos días. Al finalizar éstos se obtuvo el poliéster como un polvo blanco muy fino.

La obtención del polímero utilizado para este trabajo fue llevada a cabo por el Dr. Antonio Martínez Richa y la tesista Adriana Castro de la Facultad de Química de la Universidad de Guanajuato.

### Carbonato de calcio a partir de cascarón de huevo de gallina.

Se procesaron los dos tipos de cascarones, rojo y blanco, por separado. Una cantidad de aproximadamente 500g de cada uno se sumergió en agua hirviendo por un tiempo para quitar la membrana interna de cada uno de éstos y dejarlos perfectamente limpios. Una vez hecho esto, los cascarones se pulverizaron en una licuadora. Posteriormente, el polvo se tamizó con una malla de 0.063mm.

Con base en un experimento anterior a este trabajo realizado en el laboratorio de Biomateriales del Instituto de Investigaciones en Materiales, en donde se compactó polvo de cascarón rojo y cascarón blanco por separado en una montadora metalográfica, se observó que el cascarón de huevo rojo contiene un material que aglutina al polvo de manera diferente que en el caso del cascarón blanco (apéndice 1).

Con base en lo anterior se obtuvieron los polvos de los dos tipos de cascarón con la finalidad de caracterizarlos para saber qué los diferencia.

### **Caracterización de los materiales.**

La caracterización de los materiales tiene por objeto conocer si los materiales que se están obteniendo son adecuados para utilizarse como Biomateriales. En cuanto a la poli- $\epsilon$ -caprolactona, la caracterización servirá para conocer si la el polímero que se obtuvo es el mismo que el que se reporta en la bibliografía como biocompatible y así poder utilizarlo en la fabricación del material compuesto. En el caso del carbonato de calcio obtenido a partir de cascarón de huevo, la caracterización servirá para conocer si éste contiene el tipo de carbonato de calcio que se ha reportado en la literatura como biocompatible

(calcita) y la proporción de éste en relación con los otros materiales de los que se encuentre formado el cascarón.

Para llevar a cabo la caracterización, se emplearon diferentes técnicas: la difracción de rayos X para conocer de qué materiales cristalinos están compuestos los materiales, así como la proporción cristalina y amorfa de cada uno de ellos; la microscopía electrónica para estudiar la superficie del cascarón de huevo, así como la superficie de las pastillas de material compuesto antes y después de ser sometidas a las pruebas de degradación; y la espectroscopia de IR para conocer si los materiales obtenidos corresponden, en su totalidad, a los materiales reportados y registrados en la base de datos del espectrómetro, o si alguno de ellos presenta algún otro componente.

A continuación se mencionan las técnicas empleadas haciendo una introducción de la teoría en la que se basa su funcionamiento.

### Difracción de Rayos X.

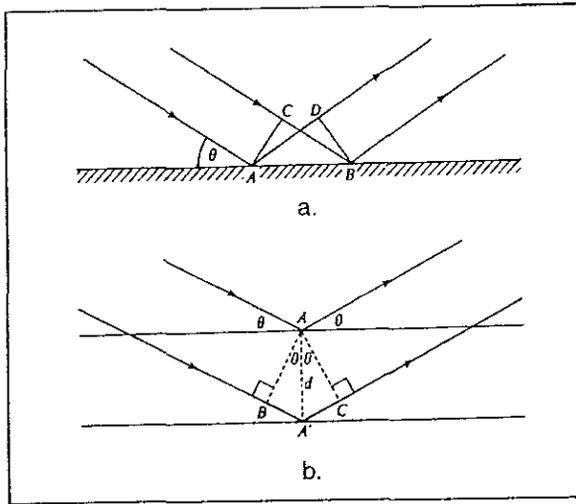
En 1912, von Laue propuso por primera vez que los rayos X podrían ser difractados por los cristales. Y fue en esta época cuando se dedujo, en base a la geometría de los cristales, que la estructura atómica de éstos se presenta en arreglos tridimensionales periódicos.

En 1913, W. L. Bragg propuso una interpretación del fenómeno de difracción que experimentan los cristales. Su explicación parte de la idea de que la estructura de los cristales está formada por un conjunto de planos atómicos paralelos entre sí y separados una distancia  $d$ . Para explicar esto era necesario demostrar que el haz reflejado en cualquier punto de la superficie de un plano está en fase con el haz reflejado en cualquier otro punto de otro plano.

Si se consideran dos puntos, A y A' (Figura 3.2), ambos separados por una distancia  $d$  que es la distancia interplanar, la condición para que los haces reflejados estén en fase está dada por:

$$BA' + A'C = n\lambda$$

donde  $n$  es un número entero de longitudes de onda  $\lambda$ .



**Figura 3.2.** Rayos paralelos reflejados: a) en distintos puntos de un plano y b) en distintos planos.

De la Figura 3.2 se puede observar que:

$$BA' = A'C = d \sin \theta$$

por lo que:

$$2d \sin \theta = n \lambda$$

expresión conocida como la ley de Bragg, condición con la que se pudo explicar el fenómeno de difracción en los cristales.

### *Difracción de Polvos.*

Esta técnica es empleada para obtener información acerca de la estructura, composición y estado de materiales policristalinos. Se utilizan unos cuantos miligramos de una muestra pulverizada a fin de que se produzca una orientación al azar de muchos cristales.

La técnica utiliza un haz de rayos X monocromático el cual es dirigido a un material cristalino observándose una difracción de éste en distintos ángulos respecto de su trayectoria original. La relación entre la longitud de onda del haz de rayos X,  $\lambda$ , el ángulo de difracción,  $2\theta$ , y la distancia entre cada grupo

de planos atómicos de la estructura cristalina de la muestra,  $d$ , está dada por la ley de Bragg.

El difractómetro de rayos X tiene un contador de radiación para detectar la intensidad del haz difractado el cual se mueve a lo largo de un goniómetro de círculo que está sincronizado con el portamuestras para detectar el ángulo del haz difractado. Mientras el portamuestras se mueve un ángulo  $\theta$ , el contador se mueve un ángulo  $2\theta$ . Esta relación evita que algún rayo sea desviado por el vidrio del portamuestras (Figura 3.3).

Con la ley de Bragg es posible calcular las distancias interplanares del material que se estudia. Mientras el espaciado interplanar depende únicamente de las dimensiones de la celda cristalina unitaria, las intensidades de la difracción de los rayos son una función de la posición de los átomos en la celda unitaria.

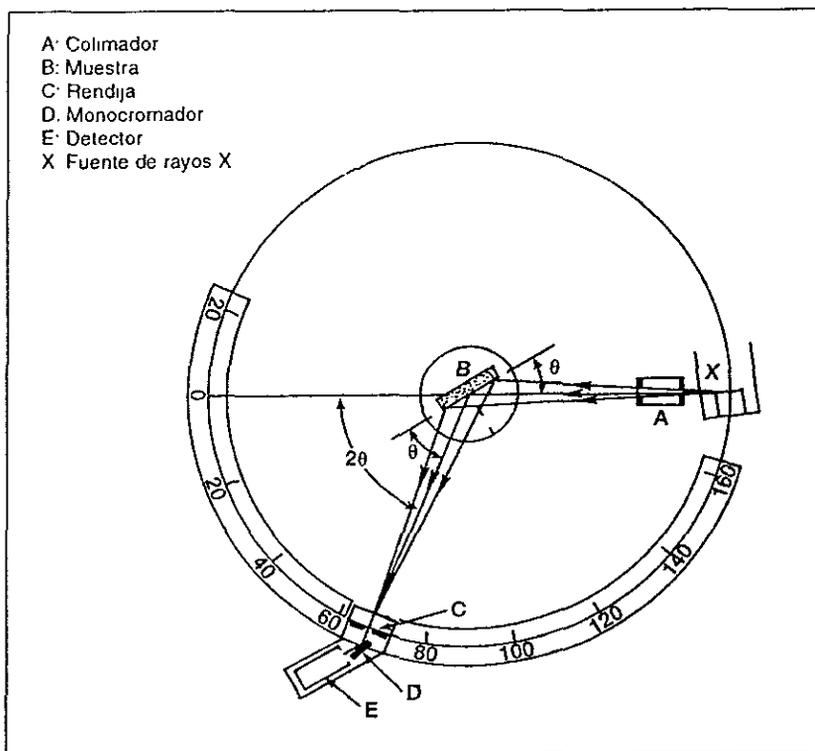


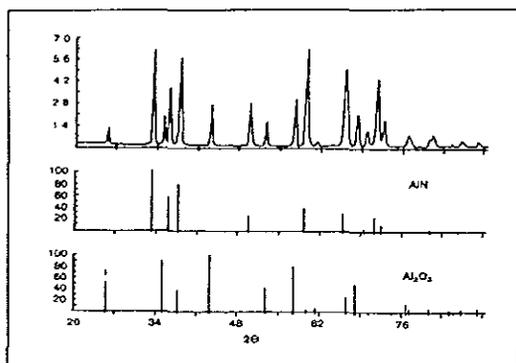
Figura 3.3. Difractómetro de polvos.

El patrón de difracción de rayos X de un material puede ser considerado como su huella dactilar. Cada material posee un único patrón de difracción. De esta manera, cuando se requiere identificar un material desconocido se compara su espaciamiento interplanar y las intensidades de su patrón de difracción con los patrones y espaciamientos archivados (Figura 3.4).

Hasta la fecha se han publicado alrededor de 50,000 patrones, y comúnmente la comparación se hace mediante una computadora y los patrones archivados en una base de datos contenidos en ésta.

Los carbonatos de calcio, al ser materiales policristalinos, presentan patrones de difracción de rayos X, por lo que el material empleado en este trabajo fue caracterizado mediante esta técnica.

De acuerdo a lo anterior, esta técnica fue empleada con la finalidad de conocer el tipo de carbonato de calcio del que está formado el cascarón de huevo de gallina, y si existe algún otro componente cristalino en éste.



**Figura 3.4.** Resultados de la identificación de un material que contiene AlN y  $Al_2O_3$ .

#### *Difracción de rayos X para la caracterización de Polímeros.*

La técnica de difracción de rayos X también es empleada para obtener información acerca de la cristalinidad y composición de las fases de polímeros semicristalinos.

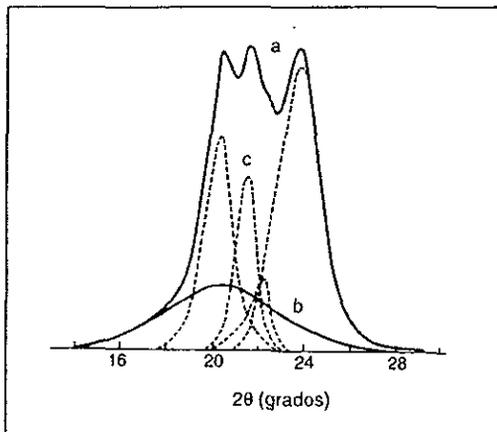
Las muestras empleadas en esta técnica pueden ser películas, fibras, pellets, polvos o geles. Normalmente se utilizan de 100 mg a 1 g de material.

El análisis en esta técnica se hace en base al patrón de difracción de dos polímeros hipotéticos: uno completamente cristalino y uno completamente amorfo.

El patrón del polímero cristalino estaría formado por una serie de picos agudos, correspondiendo cada uno de ellos a la difracción de uno de los planos cristalográficos (Figura 3.5a). El patrón del polímero amorfo sería una ancha curva que representaría el promedio de la separación entre las cadenas del polímero (Figura 3.5b). Por lo tanto, el patrón de un polímero semicristalino es una serie de picos superpuestos en la curva de un patrón amorfo (Figura 3.5 c).

A partir de un patrón de difracción puede calcularse el grado de cristalinidad del polímero. Esto se hace calculando la relación entre el área bajo la curva de los picos y el área total bajo la curva del patrón de difracción.

La poli- $\epsilon$ -caprolactona, siendo un polímero semicristalino, puede ser caracterizada por medio de esta técnica y de este modo, conocer la proporción cristalina de la poli- $\epsilon$ -caprolactona obtenida, lo cual repercute en la rapidez con que ésta se degradará en el medio fisiológico (capítulo I).



**Figura 3.5.** Patrón de difracción de un polímero semicristalino.

Para conocer los patrones de difracción de los cascarones de huevo blanco y rojo y la proporción cristalina de la poli- $\epsilon$ -caprolactona obtenidos se utilizó el difractómetro de polvos *Siemens D5000*.

Con el uso del programa de cómputo DIFRACCT, incluido en la computadora del difractor, fue posible calcular el área bajo las curvas de los picos de cada una de las muestras. En el caso del cascarón de huevo, el cálculo sirvió para conocer el porcentaje de los tipos de cristales que componen el material. En el caso del polímero, el cálculo sirvió para conocer la proporción cristalina del mismo.

### Microscopio Electrónico de Barrido (MEB).

La función principal de los microscopios electrónicos de barrido (MEB) actuales radica en aumentar la imagen de una parte de una muestra determinada con la finalidad de estudiar diversas propiedades de ésta, tales como la topografía de su superficie y su composición.

La microscopía electrónica ha sido una herramienta importante en la ciencia de los Biomateriales. Su utilización incluye el estudio de la superficie de implantes, que involucra el conocimiento de topografía, reconocimiento de materiales que componen el implante, así como los posibles defectos microscópicos que pudiera haber lo cual repercute en la respuesta que tendrá el cuerpo hacia el biomaterial, la evaluación de la corrosión que pudiera haber sufrido un implante y los organismos responsables.

De esta manera, el MEB fue de gran utilidad en este trabajo ya que permitió evaluar la degradación que sufrieron las pastillas que fueron sometidas a las pruebas de degradación y deducir la manera en que se lleva a cabo tal degradación, además sirvió para conocer la estructura microscópica del cascarón de huevo.

Para evaluar las imágenes obtenidas en el MEB, es necesario conocer la manera en que éste opera. A continuación se explica el principio de funcionamiento y los componentes de un MEB, así como su relación con el trabajo realizado.

Físicamente, el microscopio consiste de tres componentes principales: la columna electrónica, una consola de operación y de monitoreo, y de una fuente que suministra la energía necesaria para las dos anteriores. Las componentes principales de un microscopio electrónico de barrido se muestran en la Figura 3.6.

La columna del microscopio consiste en una cámara en donde se introduce la muestra, dos o tres lentes electromagnéticas, un cañón electrónico montado sobre una plataforma a prueba de vibraciones y un sistema de vacío.

El cañón electrónico consiste de un filamento de tungsteno que es calentado mediante una corriente de alta frecuencia y mantenido a un potencial muy negativo en relación a tierra, una malla que recubre al filamento y un ánodo. El cañón electrónico produce un haz de electrones y los acelera hasta que éstos alcanzan una energía que va de 1 a 40 keV. La formación de las imágenes depende del tipo de señal detectada en el barrido de la superficie de la muestra, como lo pueden ser luz y los rayos X o electrones secundarios. Esto permitió conocer la superficie de las pastillas obtenidas, antes y después de ser degradadas, y tener una idea de su interacción en el medio que las rodea. Por interacción, se entiende el posible daño que las pastillas pudieran causar a los tejidos circundantes debido a su morfología o a su movimiento, así como la diferencia en la liberación de los medicamentos contenidos en la matriz de material compuesto debido al cambio de porosidad de las pastillas que, a su vez, es debido a la degradación que han sufrido, y al mismo tiempo, el daño que el medio le ha causado a las pastillas.

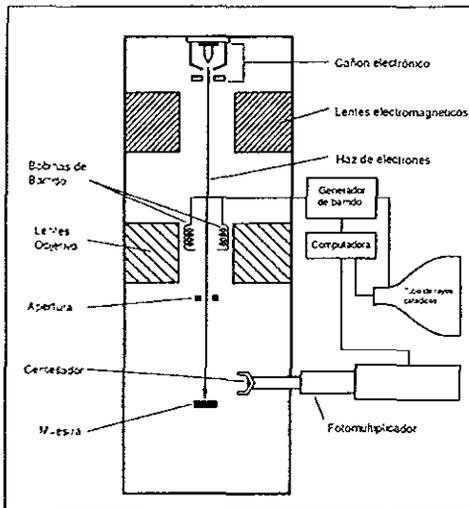
El diámetro del haz producido directamente por un cañón convencional es demasiado largo como para generar una imagen lo suficientemente definida a grandes aumentos. Los lentes electrónicos consisten en pares de bobinas electromagnéticas que son utilizados para reducir el diámetro del haz y dirigirlo hacia la muestra de manera que el foco del haz incida precisamente en la muestra, en este caso en la superficie de las pastillas.

Las bobinas de barrido consisten en dos pares de electroimanes montados directamente uno por encima del otro. El par superior se utiliza para desviar el haz de electrones hacia un ángulo pequeño en donde la dirección y la magnitud de la desviación son determinadas por la excitación relativa de las bobinas de ese par. El par siguiente es utilizado para desviar el haz en la dirección opuesta de manera que pueda pasar por la apertura central de la última lente. Cuando las bobinas están operando, su excitación es regida por un generador de barrido de manera que el haz puntual de electrones que incide sobre la superficie de la muestra pueda hacer un barrido sobre ésta. De esta manera se pudieron obtener las imágenes de las superficies de las pastillas.

Las señales del generador de barrido determinan la velocidad de barrido y el tamaño del área barrida. El par final de bobinas es un electroimán que compensa el astigmatismo que el haz de electrones pueda traer consigo debido

al paso a través de los lentes anteriores. Las condiciones astigmáticas de la imagen son conocidas por la geometría oval del haz incidente en la muestra, debido a que el foco del haz se encuentra ya sea por debajo o por arriba de la superficie de ésta. En este caso las bobinas logran enfocar el haz y conseguir uno con geometría incidente circular. La mayoría de los microscopios electrónicos de barrido son capaces de generar un haz de electrones incidente de un tamaño menor a los 10nm.

En la base de la columna del microscopio se encuentra una cámara en donde se introdujeron las pastillas, la cual está construida de manera que éstas se puedan mover desde el exterior en dos o tres sentidos ortogonales. El haz de electrones que emerge del último lente para dirigirse hacia esta cámara interactuó con la superficie de las pastillas a una profundidad de aproximadamente 1  $\mu\text{m}$ . Esta interacción permitió que se pudiera llevar a cabo análisis de rayos X en zonas muy pequeñas con la finalidad de obtener información sobre la composición de zonas puntuales de las imágenes observadas.



**Figura 3.6.** Esquema de un microscopio electrónico de barrido.

La mayoría de los controles del microscopio se encuentran incluidos en una consola cercana a la columna. La consola contiene los controles para la operación de las lentes, el cañón de electrones, el equipo de detección de las señales y el generador de barrido. Conectados a la consola se encuentran dos tubos de rayos catódicos. Uno de ellos es utilizado para visualizar la imagen de la muestra, y el otro para registrar las imágenes.

### *Interacciones entre el haz electrónico y la muestra.*

Las interacciones entre el haz de electrones y la superficie de la muestra deben ser consideradas para comprender cómo se forma la imagen en un MEB. Si la muestra es un aislante, la carga tenderá a incrementarse, por lo que se deberá cubrir a la muestra con una delgada capa de algún material conductor, oro o carbón evaporados son los más usados, o bien, se deberá operar el microscopio a un potencial bajo. La desventaja de trabajar con potenciales bajos radica en que el brillo de la fuente de electrones es reducido, dando como resultado una disminución del rendimiento del MEB. Debido a esto, lo más común es el recubrimiento de los materiales aislantes con una película de material conductor. Como las pastillas pueden ser consideradas como un material aislante, fue necesario recubrirlas con una capa de oro antes de introducir las al microscopio electrónico, y de esta manera no se tuvo que trabajar a un potencial bajo.

Algunos de los electrones incidentes, *electrones primarios*, interactúan con los átomos de la superficie de la muestra a una profundidad de aproximadamente 1  $\mu\text{m}$ . Al hacerlo, se produce una cascada de electrones secundarios que emergen de la muestra y son detectados por un centellador para formar la imagen de la superficie de la muestra.

Otros electrones pueden sufrir una dispersión al interactuar con los átomos de la superficie de la muestra, dando como resultado un chorro de electrones retrodispersados. La recolección de estos electrones permite identificar la composición de la muestra.

### *Modos de Operación del MEB.*

Los modos de operación del MEB radican en las distintas formas de obtener la señal de video. Estas son:

⇒ Modo de emisión. Es el modo más comúnmente usado, en el cual los electrones secundarios son detectados para formar una imagen que muestra la topografía de la muestra. Algunos de los electrones primarios de alta energía chocan con átomos de la muestra y al reflejarse pierden energía moviéndose más lentamente. Éstos son detectados por un sistema fotomultiplicador/centellador.

- ⇒ Modo de reflexión. Algunos de los electrones primarios son retrodispersados de la superficie de la muestra con pequeñas pérdidas de energía. En este modo los electrones son detectados de dos formas diferentes. En una el sistema fotomultiplicador/centellador es utilizado de manera en que los electrones secundarios sean repelidos y los retrodispersados aceptados. En la otra se utilizan dos detectores de estado sólido montados muy cerca de la muestra. Cuando los electrones retrodispersados colisionan con el material semiconductor del detector dando como resultado la aparición de una corriente en un circuito externo. El uso principal de este modo está relacionado con la topografía y la variación en la composición de la superficie de la muestra.
- ⇒ Modo de transmisión. En este modo los electrones detectados pasan a través de la muestra.
- ⇒ Modo de absorción: la corriente entre la muestra y tierra es detectada. En general, la señal obtenida por este modo es complementaria de un modo emisor + reflectivo. No da información distinta a los otros modos y se pierde el beneficio de tener un detector sensible. Para algunas aplicaciones no hay otro modo de obtener la señal.
- ⇒ Modo de rayos X: la radiación X es detectada por un microanalizador que utilizando un detector dispersivo puede llevar a cabo microanálisis elemental.
- ⇒ Modo Auger: los electrones Auger son grupos de electrones secundarios rasantes a la superficie con energías características en el rango de 0 a 2 keV. Aún cuando este modo ofrece buenos resultados en el análisis de elementos livianos, lo cual se dificulta en el modo de rayos X, es una técnica especializada y no representa un modo práctico de utilización del MEB.

Se utilizó el microscopio electrónico de barrido *LEICA Cambridge Stereoscan 440*, en modo de emisión, para estudiar la superficie del cascarón de huevo y las pastillas antes de ser expuestas al experimento de degradación y después de éste, y el modo de rayos X para determinar la composición de las pastillas en algunos puntos de su superficie. Esto nos permitió conocer las partes de la pastilla que estaban formadas de  $\text{CaCO}_3$  y las partes que estaban formadas de poli- $\epsilon$ -caprolactona.

## Espectroscopia de Infrarrojo.

Esta técnica es utilizada para identificar materiales, determinar la composición de mezclas, monitorear la evolución de reacciones, y proporcionar información acerca de la estructura molecular de los materiales.

Las muestras pueden estar en fase sólida, líquida o gaseosa y la cantidad de material necesario para llevar a cabo el análisis es del orden de miligramos.

El análisis mediante esta técnica está basado en el hecho de que las moléculas tienen frecuencias de vibración internas específicas. Estas frecuencias están en la región del infrarrojo del espectro electromagnético:  $\sim 4000\text{cm}^{-1}$  a  $\sim 200\text{ cm}^{-1}$ .

Cuando un haz de radiación infrarroja es dirigido a una muestra, ésta absorberá la radiación en frecuencias correspondientes a su frecuencia vibracional molecular, pero transmitirá cualquier frecuencia diferente a ésta.

A la gráfica de energía absorbida vs frecuencia se le llama espectro de infrarrojo de un material.

La identificación de un material mediante esta técnica se hace posible gracias a que cada material tiene un espectro infrarrojo específico, lo cual fue de gran utilidad en el presente trabajo para saber la composición de los materiales que fueron obtenidos. En el caso del cascarón de huevo rojo y el cascarón de huevo blanco, la técnica de espectroscopia de IR sirvió para comparar sus espectros con el espectro del carbonato de calcio registrado en la base de datos del espectroscopio y así saber si efectivamente los cascarones están compuestos únicamente por carbonatos de calcio, o de lo contrario conocer de qué otro material están compuestos. A la vez sirvió para conocer si existe una diferencia entre ambos cascarones que pudiera justificar el fenómeno observado en experimentos que anteceden el presente trabajo (apéndice 1).

Por otra parte, esta técnica fue empleada para cerciorar que el espectro de la poli- $\epsilon$ -caprolactona corresponda al espectro registrado en la base de datos del espectroscopio, o de lo contrario conocer la diferencia en su composición química.

El espectrómetro de infrarrojo *Nicolet 510P* fue utilizado para caracterizar tanto el cascarón de huevo de gallina, como la PCL.

## **Fabricación de las pastillas.**

Para fabricar las pastillas se utilizó polvo de cascarón blanco de huevo de gallina, la PCL obtenida y cloroformo para disolverla. La razón por la que se utilizó cascarón blanco es que éste está conformado en su totalidad por calcita, que es un tipo de carbonato de calcio el cual ha sido reportado como biocompatible (capítulo I), en cambio, el cascarón rojo presenta una diferencia en su espectro de IR, lo cual hace pensar que está compuesto por otros materiales además del carbonato de calcio (calcita).

Las cantidades de material utilizadas para la fabricación de las pastillas, en base a experimentos anteriores realizados en el Laboratorio de Biomateriales del IIM, fueron: 5.6g de  $\text{CaCO}_3$ , 1g de PCL y 1ml de cloroformo.

La PCL fue disuelta en el cloroformo, y posteriormente mezclada con el  $\text{CaCO}_3$  para formar una pasta homogénea. La mezcla fue vaciada en 11 moldes plásticos de 9mm de diámetro y 3mm de profundidad y se dejó secar por 48 horas.

Una vez secas, las pastillas formadas con la mezcla fueron sacadas de los moldes plásticos y se esterilizaron con radiación UV. Todo a una temperatura de 21°C. Las pastillas fabricadas de este material fueron numeradas 1, 2,...,11.

## **Pruebas de degradación.**

Debido a que la tasa de degradación del material compuesto de  $\text{CaCO}_3$  + poli- $\epsilon$ -caprolactona es desconocida y no se ha reportado en la bibliografía que se consultó para realizar éste trabajo, se propuso determinar la degradación de las pastillas midiendo la disminución de la masa de cada una de ellas en dos medios distintos. La variación del pH de los medios responde al fenómeno de acidificación local postquirúrgica mencionado en el capítulo I, y la variación del medio a que el medio fisiológico contiene diferentes agentes que pueden degradar con mayor o menor rapidez a las pastillas (capítulo I).

Se pesaron las pastillas individualmente, fueron colocadas dentro de recipientes individuales (Figura 3.7) y a cada uno de éstos se agregó 50ml de solución: solución Ringer pH 7.4 a las pastillas 1, 2, 3, 4 y 5, y solución citrato pH 5.0 a las pastillas 6, 7, 8, 9 y 10.



**Figura 3.7.** Pastilla sometida a la prueba de degradación.

Los recipientes se introdujeron en una incubadora a  $37^{\circ}\text{C}$  . Estos, fueron sacados a periodos regulares de tiempo con la finalidad de pesar las pastillas y cambiar 5ml de solución de cada uno de los recipientes por nueva solución con objeto de no saturar el sistema. Para las pastillas sumergidas en solución Ringer el tiempo entre mediciones fue de 8 días aproximadamente, ya que se esperaba tener una degradación lenta, pero a la vez se hacía necesario tener datos suficientes para realizar análisis estadísticos. Para las pastillas sumergidas en solución citrato el tiempo entre mediciones fue de 6 días ya que se esperaba tener una degradación más acelerada que las pastillas en solución Ringer.

Para medir la masa de cada una de las pastillas se procedió de la siguiente manera. Se sacaban las pastillas del recipiente. Se secaban con aire frío, por 3 minutos y se pesaban en una balanza BOSCH con resolución de 0.0001g.

Una vez que las pastillas eran pesadas se regresaron al recipiente que les correspondía. Posteriormente se esterilizaron los recipientes junto con las pastillas en radiación UV por 1 hora. Después se introdujeron de nuevo en la incubadora.

Al finalizar las pruebas de degradación las pastillas se analizaron mediante MEB.

## **Análisis de resultados de las pruebas de degradación.**

El análisis de los resultados de la prueba de degradación se realizaron por medio de tres herramientas.

En primer lugar, por medio de la gráfica de las medias de los porcentajes de masa de las pastillas contra el tiempo y el ajuste de los datos a una línea de tendencia. Esto con la finalidad de extrapolar los datos y poder conocer el porcentaje de masa de las pastillas en el futuro.

En segundo lugar, se realizaron dos análisis de varianza (ANOVA, apéndice 2). El primero para saber si los datos de porcentaje de masa varían significativamente entre pastillas, y el segundo para saber si los datos de porcentaje de masa varían significativamente entre días.

En tercer lugar se realizaron dos pruebas de contrastes LSD (apéndice 2). La primera para saber si el promedio del porcentaje de masas para cada uno de los días de medición (días 0, 9, 16, 25, 37, 46 y 56 para las pastillas en solución fosfato, y días 0, 6, 12 y 19 para las pastillas en solución citrato) varían significativamente entre sí la segunda para saber si el promedio de porcentaje de masa de cada pastilla varía significativamente respecto a las otras. La variación significativa de los datos se puede expresar en términos de degradación: el valor promedio de las masas de las pastillas es diferente en un día determinado (día 0, por ejemplo) y otro, significativamente diferente, en un día posterior (día 9, por ejemplo). La variación entre ambos datos querría decir que las pastillas sufrieron una pérdida de masa en el lapso de tiempo entre ambas mediciones (9 días para el ejemplo dado), esto es, sufrieron una biodegradación. Esta herramienta resulta de gran importancia debido a que uno de los objetivos principales de la tesis es la de probar que el material que se está fabricando en forma de pastilla es biodegradable.

## CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Selección del polímero para la fabricación de pastillas biodegradables.

Las propiedades que se utilizaron para seleccionar el polímero fueron las siguientes:

- A. Índice de degradabilidad.
- B. Índice de biocompatibilidad.
- C. Índice de toxicidad.
- D. Índice de disponibilidad del material.

La jerarquización de las propiedades se muestra en la siguiente tabla.

**Tabla 4.1.** Tabla de decisiones para las propiedades del material a seleccionar.

Propiedad	1	2	3	4	5	6	Decisiones Positivas	Factores de peso
A	0	0	1				1	0.17
B	1			0	1		2	0.33
C		1		1		1	3	0.50
D			0		0	0	0	0.00
Suma							6	1.00

Por otra parte, después de realizar una extensa revisión bibliográfica, los polímeros que fueron escogidos para tomar parte de la selección fueron los siguientes:

- Copolímero PEO/PET.
- Poli- $\epsilon$ -caprolactona (PCL).
- Ácido Poliláctico (PLA).
- Ácido Poliglicólico (PGA).
- Polimetilmetacrilato (PMMA).
- Polivinil alcohol (PVA).

Estos fueron evaluados mediante la matriz de selección que se muestra a continuación:

Tabla 4.2. Matriz de selección para evaluar los polímeros de acuerdo a las propiedades con las que fueron evaluados.

Material	Índice de degradabilidad (0.17)	Índice de Bio-compatibilidad (0.33)	Índice de Toxicidad (0.50)	Índice de Disponibilidad (0.00)	Factor de Funcionalidad	Opción
PEO/PET	5 (100)	3 (60)	3 (60)	5 (100)	66.8	3
PCL	3 (60)	5 (100)	5 (100)	5 (100)	93.2	2
PLA	5 (100)	5 (100)	5 (100)	1 (20)	100	1
PGA	5 (100)	5 (100)	5 (100)	1 (20)	100	1
PMMA	1 (20)	3 (60)	3 (60)	5 (100)	53.2	4
PVA	5 (100)	3 (60)	3 (60)	5 (100)	66.8	3

Del resultado de la columna de “opciones” muestra que la mejor opción son los polímeros PLA y PGA. Estos polímeros fueron descartados debido a su elevado costo (\$37,000 dólares/kg aproximadamente) y se decidió considerar al polímero que seguía en turno de acuerdo a las opciones de la matriz de selección: PCL.

La poli-ε-caprolactona (PCL) ha sido obtenida en la Facultad de Química de la Universidad de Guanajuato. Para el presente trabajo, fue posible colaborar con personas de esta institución y tener acceso a este material para la fabricación del material compuesto: CaCO<sub>3</sub> + poli-ε-caprolactona, en forma de pastillas, que sirviera como sistema de liberación local de medicamentos bioerosionable.

Debido a lo anterior, el polímero finalmente seleccionado fue la poli-ε-caprolactona.

### **Obtención de los materiales para la fabricación de pastillas biodegradables.**

#### Poli(ε-caprolactona).

El poliéster obtenido por el Dr. Antonio Martínez Richa y la tesista Adriana Castro en la Universidad Autónoma de Guanajuato, fue un polímero lineal en forma de polvo blanco muy ligero de gravedad específica de 1.46, relación M/I de 100 y peso molecular de 6593.

Al ser un polímero lineal y de bajo peso molecular, la biodegradación de la poli- $\epsilon$ -caprolactona obtenida será más acelerada en el ambiente fisiológico en comparación con la biodegradación de los polímeros reportados en artículos de biodegradación citados anteriormente.

Por otra parte, un polímero de estas características es más fácil de degradar por los microorganismos que los polímeros que presentan entrecruzamiento o cadenas más largas. Debido a lo anterior y a las características de biocompatibilidad y toxicidad que presenta, la poli- $\epsilon$ -caprolactona que se obtuvo resulta un material con características adecuadas para su utilización en sistemas de liberación local de medicamento con la característica de ser un biomaterial que pueda ser degradado con mayor rapidez que otros sistemas hechos a base de policaprolactonas que han sido reportados (Veld, 1993).

### Carbonato de Calcio a partir de cascarón de huevo de gallina.

Se obtuvieron dos tipos de polvo: uno con un ligero tono rojizo, a partir de cascarón rojo, y otro blanco con un ligero tono gris, a partir de cascarón blanco; ambos de 0.063mm, o menor, de tamaño de polvo.

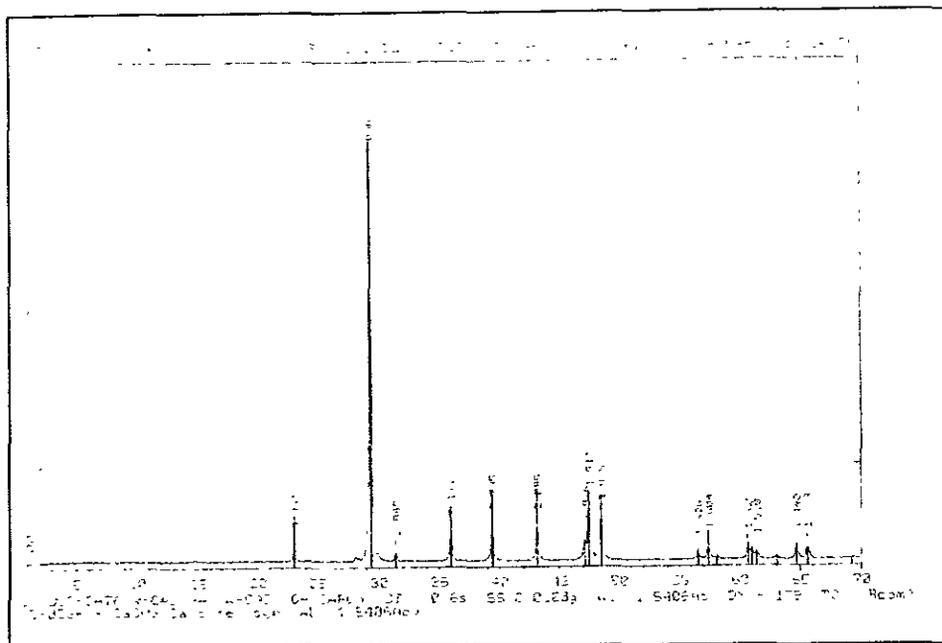
Debido a la gran cantidad de huevo de gallina que se consume en la ciudad y a que el cascarón del mismo es considerado, en la mayoría de los casos, material de desecho, el proceso de obtención del  $\text{CaCO}_3$  se hace fácil y de muy bajo costo. La única etapa en la obtención del  $\text{CaCO}_3$  con la finalidad de utilizarlo en aplicaciones biomédicas que podría ser de un costo relativamente elevado es la esterilización.

### **Caracterización de los materiales.**

#### Difracción de Rayos X.

#### *Carbonato de calcio a partir de cascarón de huevo.*

Tanto el cascarón rojo como el cascarón blanco presentaron el mismo difractograma (Figura 4.1).



**Figura 4.1.** Difractograma del cascarón de huevo de gallina. La base de datos del difractor lo asocia con calcita.

Por otro lado, en la Tabla 4.3 se muestran los datos de las distancias interplanares ( $d$ ) del carbonato de calcio, en Amstrongs, reportados en la literatura.

**Tabla. 4.3.** Distancias interplanares para la calcita. (International Centre for Diffraction Data)

<b>d (Å)</b>	3.86	3.035	2.845	2.495	2.285	2.095	1.927	1.913
<b>Intensidad</b>	12	100	3	14	18	18	5	17
<b>d (Å)</b>	1.875	1.626	1.604	1.587	1.525	1.518	1.510	1.473
<b>Intensidad</b>	17	4	8	2	5	4	3	2

Se puede observar, en el patrón de difracción, que los picos obtenidos coinciden con los reportados para la Calcita, así como las intensidades relativas, presentándose la máxima a la distancia interplanar de 3.035Å.

La diferencia en las distancias interplanares es del orden de milésimas de Amstrongs, por lo cual se puede identificar la muestra como calcita, de hecho la computadora asociada al sistema de difracción de rayos X, al comparar el patrón del cascarón de huevo con los patrones de su base de datos, la identificó como calcita en su totalidad, es decir, se concluye que el cascarón blanco de huevo de gallina está constituido únicamente por calcita (carbonato de calcio).

### *Poli(ε-caprolactona)*

El difractograma de la poli(ε-caprolactona) se muestra en la Figura 4.2. El polímero no fue identificado por la computadora debido a que el patrón de difracción de la poli(ε-caprolactona) no está archivado en su base de datos. Por medio del programa DIFRACCT se calculó el porcentaje de área cristalina y el de área amorfa del polímero resultando 52.89% y 47.11% respectivamente.

La trascendencia del porcentaje de estructura amorfa del polímero radica en la forma en que la PCL se degrada en un medio fisiológico (capítulo I). La parte del polímero que sufre en primera instancia la degradación es la amorfa, seguida por la degradación, más lenta, de la parte cristalina. Entre mayor sea la proporción de estructura cristalina de la PCL, más lento ocurrirá la degradación.

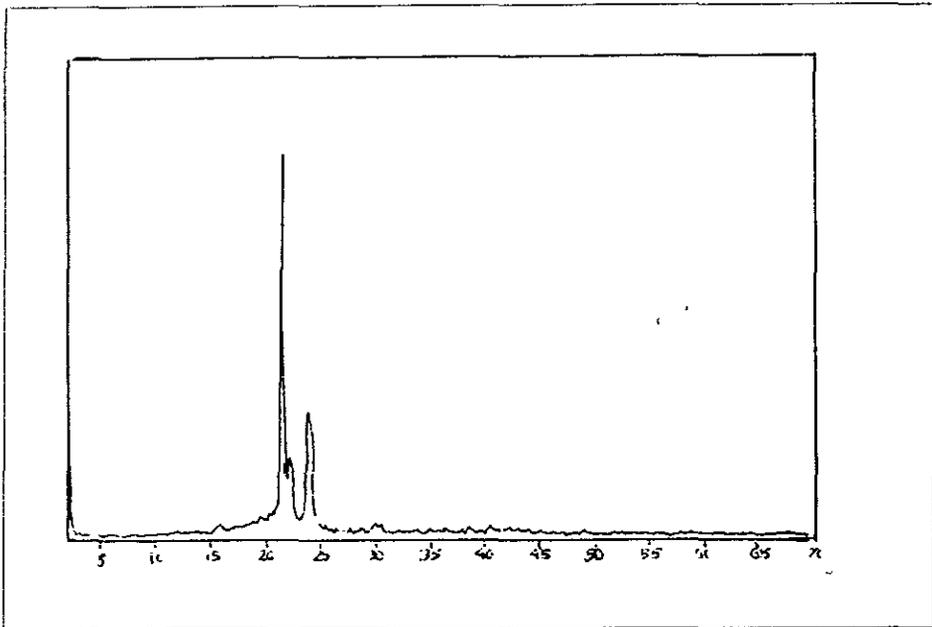


Figura 4.2. Diffractograma de la muestra de PCL.

Microscopio Electrónico de Barrido.

Por medio del microscopio *LEICA Cambridge Stereoscan 440* se observó el cascarón de huevo de gallina antes de ser pulverizado.

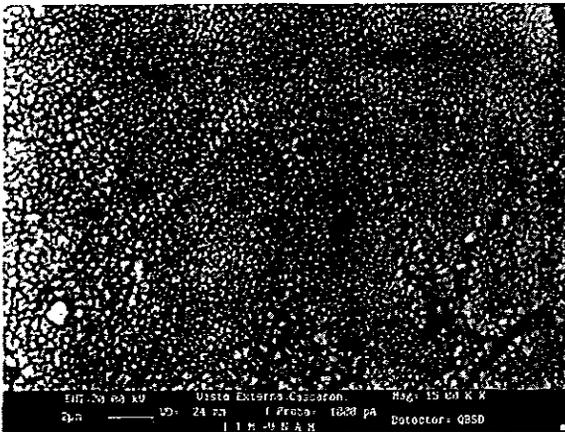
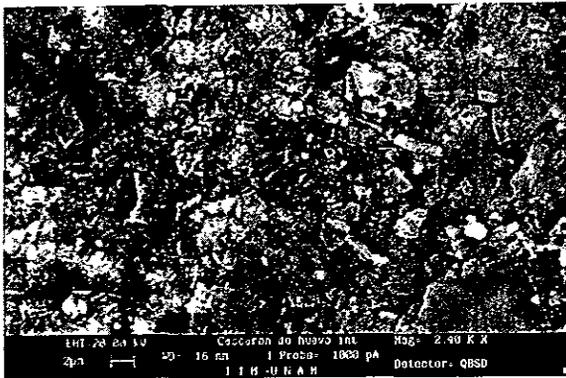


Figura 4.3. Parte externa del cascarón de huevo a 15,000 aumentos.

En la Figura 4.3 se pueden observar partículas de carbonato de calcio de muy diversos tamaños. Esto se deduce a partir del microanálisis químico realizado con el MEB en donde se encontraron los elementos calcio, carbono y oxígeno. Aunque presenta microgrietas, la superficie es, en general, homogénea. La parte de la superficie que se muestra en esta figura está, en su totalidad en foco, lo que cual quiere decir que está en un solo plano. EL tamaño de las partículas que se pueden observar es del orden de décimas de micrómetro. Entre menor sea el tamaño de las partículas, más fácil podrá ser asimilado el material por medio de la actividad dentro del cuerpo.



**Figura 4.4.** Parte interna del cascarón de huevo a 24,000 aumentos.

Como se puede observar en la Figura 4.4, la parte interior del cascarón de huevo se presenta mucho menos homogénea que la parte exterior (Figura 4.3). Además presenta partículas irregulares que no forman parte de la superficie sino que están por encima de ésta. La presencia de estas partículas se puede deber a que la superficie no está completamente libre de la película polimérica que cubre al cascarón internamente. Lo anterior no pudo ser corroborado debido a que el microanálisis químico hecho con el MEB revela únicamente la presencia de los elementos calcio, carbono, y oxígeno, sin embargo, la presencia de hidrógeno puede indicar la presencia de un material ajeno al carbonato de calcio.

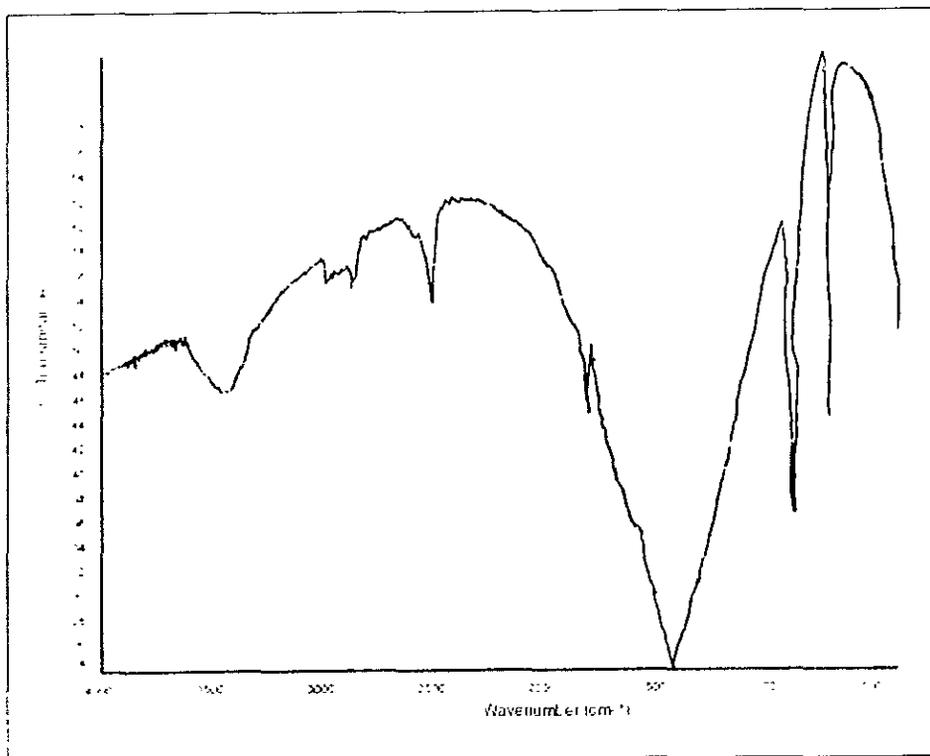
## Espectroscopia de Infrarrojo.

### *Carbonato de calcio a partir de cascarón de huevo.*

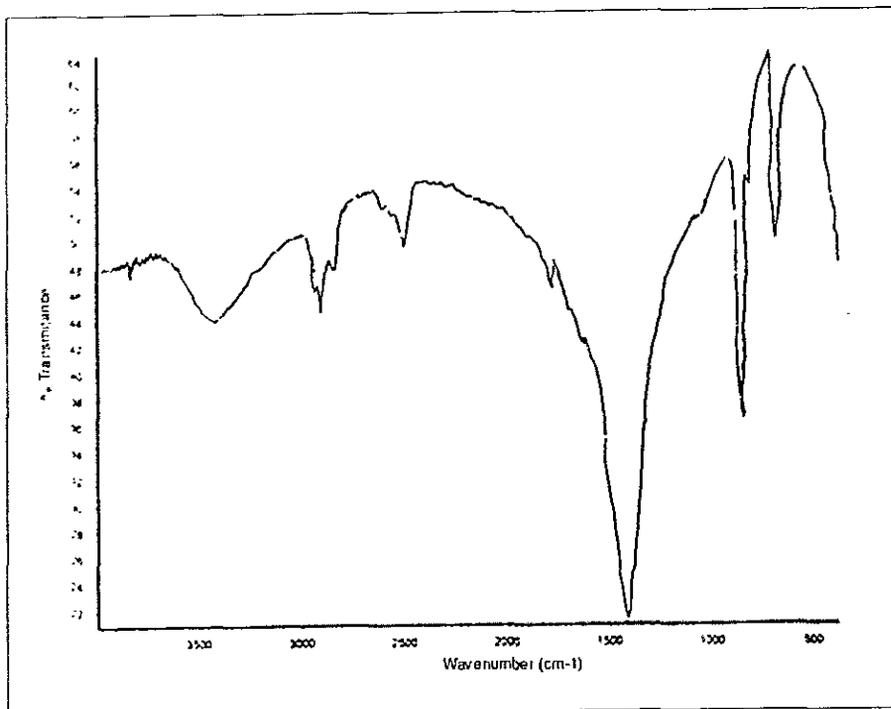
Por medio del espectrómetro de infrarrojo *Nicolet 510P*, se analizaron dos muestras: de cascarón rojo y de cascarón blanco. En las Figuras 4.5, 4.6 y 4.7 se muestran, respectivamente, los espectros IR del carbonato de calcio registrado en la base de datos del espectrómetro que corresponden al cascarón rojo de huevo de gallina y del cascarón blanco.

Como se puede observar, el espectro del cascarón blanco y el de carbonato de calcio son iguales. Los picos que tienen valores de transmitancia más bajos se presentan a las mismas frecuencias y con las mismas intensidades en ambos espectros. Esto muestra, al igual que en el caso de la difracción de rayos X, que el cascarón blanco de huevo de gallina está constituido de carbonato de calcio en su totalidad, de lo contrario, presentaría picos a frecuencias diferentes de las que presenta el carbonato de calcio como consecuencia de la presencia de materiales ajenos al carbonato de calcio.

Por otro lado, el espectro del cascarón rojo presentó una pequeña diferencia respecto a los espectros del carbonato de calcio y el de cascarón blanco, en las frecuencias que van de los 2800 a los 3000  $\text{cm}^{-1}$ . Para conocer la razón por la cual se presentó esta diferencia, se realizó la comparación del espectro del cascarón rojo con otros espectros registrados en la base de datos de la computadora del espectrómetro IR. La comparación se llevó a cabo utilizando todos aquellos materiales que presentan una transmitancia parecida a la que se presenta en el espectro del cascarón en las frecuencias que van de los 2800 a los 3000  $\text{cm}^{-1}$ . La conclusión a la que se llegó después de hacer varias comparaciones, fue que la diferencia en la transmitancia a las frecuencias antes mencionadas puede deberse a la presencia de colágena (ver glosario). A su vez, la presencia de colágena puede deberse a varios factores: que el cascarón rojo contenga colágena; que la película polimérica que está dentro del cascarón contenga colágena y que el cascarón que haya sido sometido a la técnica de espectroscopia IR no haya sido limpiado lo suficiente y hayan quedado restos de esta película en la muestra de polvo de cascarón.



**Figura 4.5.** Espectro IR del carbonato de calcio.



**Figura 4.6.** Espectro IR del cascarón rojo, el cual presenta una diferencia en las frecuencias entre 2800 y 3000  $\text{cm}^{-1}$  respecto al espectro del  $\text{CaCO}_3$ .

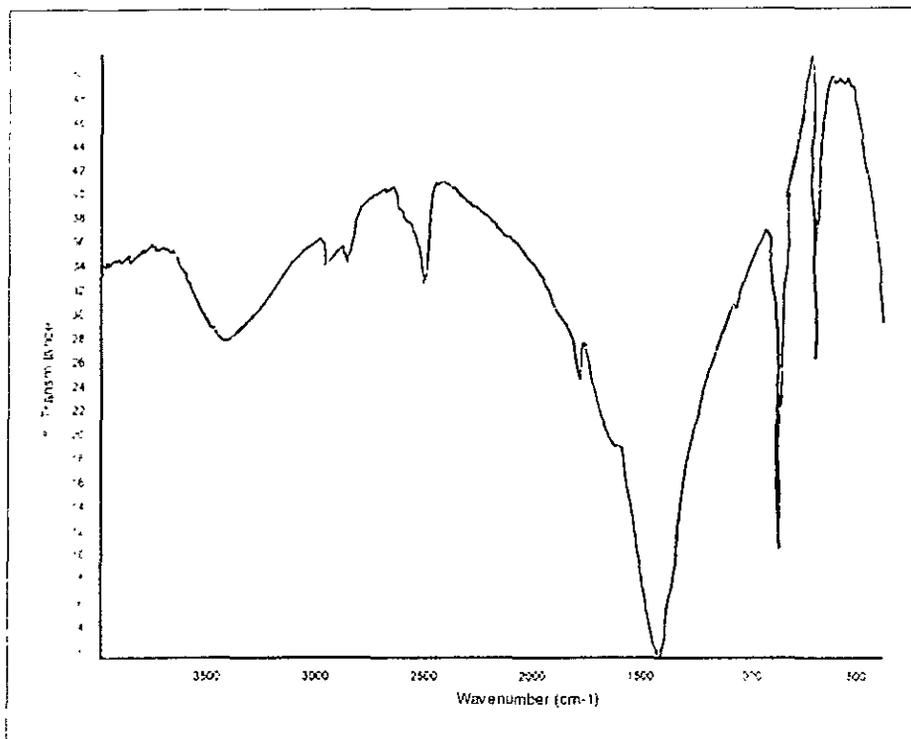
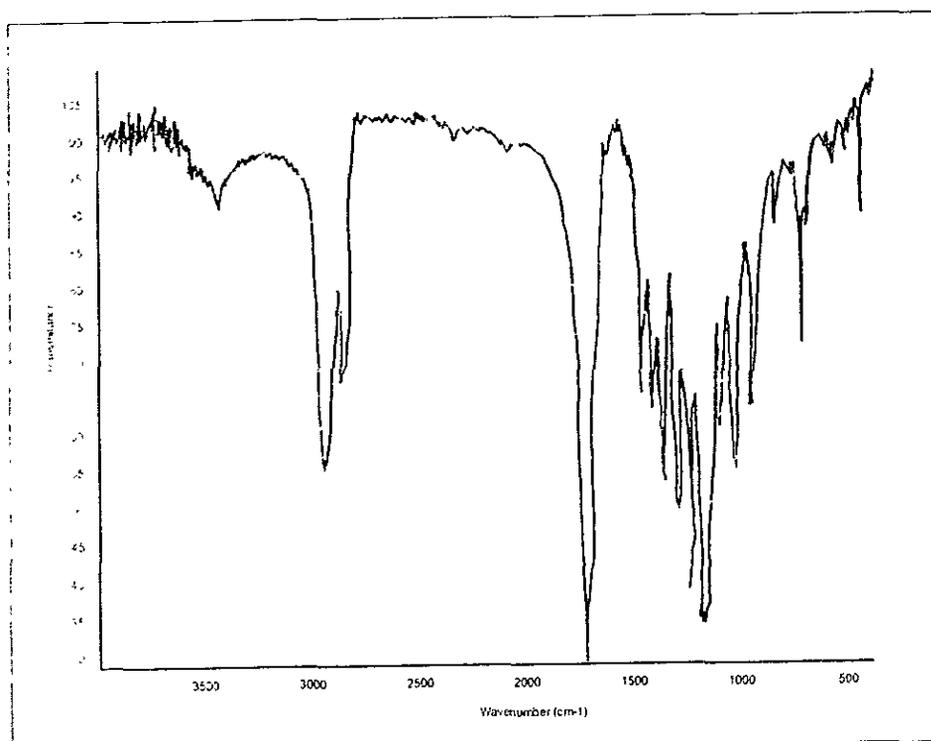


Figura 4.7. Espectro del cascarón blanco.

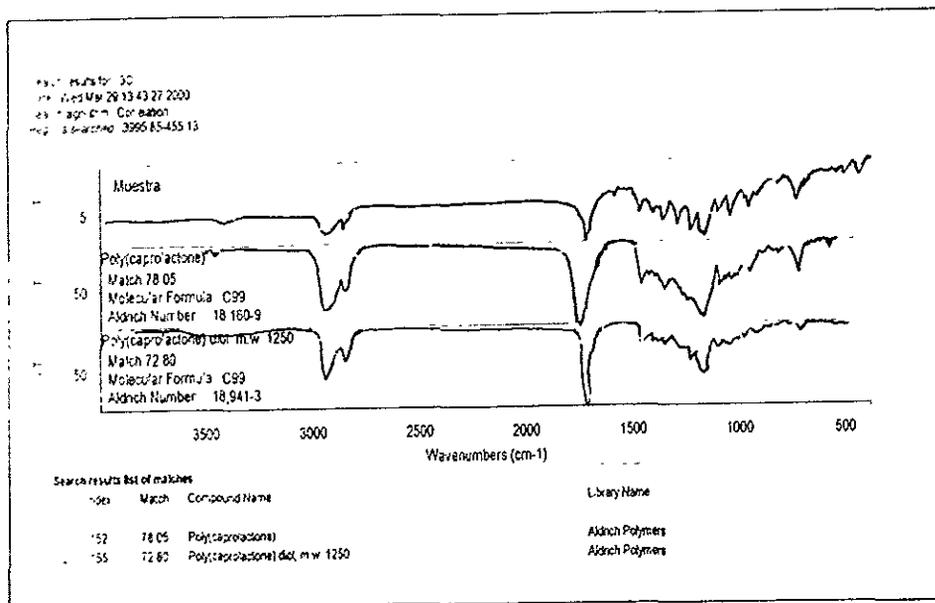
## *Poli( $\epsilon$ -caprolactona)*

Por medio del espectrómetro de infrarrojo se analizó una muestra de la PCL obtenida. En la Figura 4.8 se puede observar el espectro IR de la PCL. El espectro IR de la muestra de PCL también fue comparado con los patrones de la base de datos de la computadora del equipo. La comparación dio como resultado la asociación de la muestra con dos patrones de la base de datos: poli-caprolactona y poli-caprolactona-diol (Figura 4.9).

El pico que presenta la poli-caprolactona-diol a la frecuencia  $3500\text{cm}^{-1}$ , correspondiente al grupo diol, no está presente en el patrón de la muestra. En cambio, el patrón de la poli(caprolactona) presenta un pico muy pequeño a tal frecuencia, de manera muy similar al patrón de la muestra.



**Figura 4.8.** Espectro IR de la PCL obtenida.



**Figura 4.9.** Comparación del espectro de la PCL obtenida con los espectros archivados en el espectrómetro.

### Fabricación de las pastillas.

Durante el vaciado de la pasta de  $\text{CaCO}_3$ , PCL y cloroformo en los moldes plásticos, se observó que ésta se endurecía al cabo de 1 minuto, aproximadamente, como consecuencia de la evaporación del cloroformo, lo cual impedía la conformación de la pastilla, y en cambio quedaba una masa granulosa muy frágil, por lo que se decidió utilizar solo aquellas pastillas que se conformaron con pasta vaciada en un tiempo menor a 1 minuto.

De esta manera, se obtuvieron 15 pastillas de  $\text{CaCO}_3$  + PCL de 9mm de diámetro y de entre 3 y 3.5mm de espesor con superficies lisas y homogéneas, presentando un acabado brillante y un color grisáceo, de las cuales 11 se apartaron y enumeraron: 1,2,3,...,11. Las otras 4 pastillas fueron cortadas para cerciorarse de que no hubiera quedado aire mientras el material endurecía, lo cual resultó afirmativo, la apariencia de la pastilla en las secciones cortadas

de la misma manera, lisa y homogénea, a diferencia de que no presentaron un acabado brillante.

Debido a que las pruebas de degradación de las pastillas y el análisis de estas pruebas se llevará a cabo en base a la pérdida de masa que tengan las pastillas a lo largo del tiempo, es necesario conocer la masa de las pastillas obtenidas (Tabla 4.4).

**Tabla 4.4.** Masa de las pastillas fabricadas.

<b>Pastilla</b>	1	2	3	4	5	6
<b>Masa (g)</b>	0.4395	0.4527	0.4464	0.4628	0.4700	0.4550
<b>Pastilla</b>	7	8	9	10	11	
<b>Masa (g)</b>	0.4188	0.4150	0.4359	0.4311	0.4269	

### **Pruebas de degradación de las pastillas.**

Las pastillas 1, 2, 3, 4 y 5 fueron sometidas a la prueba de degradación en solución Ringer (pH 7.4) a 37°C. Las condiciones de este medio son frecuentemente utilizadas para simular el medio fisiológico del organismo en estado normal (capítulo I). Las pastillas 6, 7, 8, 9 y 10 se sometieron a la prueba de degradación en solución citrato (pH 5.0) a 37°C. Esta solución, mucho más agresiva que la solución Ringer, corresponde a la simulación de las condiciones anormales que se pueden presentar en el medio fisiológico debidas a diversos factores: acidificación local postquirúrgica, presencia de infecciones, hematomas, etc (capítulo I).

Para saber la cantidad de masa que perdía cada pastilla durante las pruebas de degradación, se midió la masa de cada una de las pastillas a intervalos regulares de tiempo. Para las pastilla en solución Ringer la medición de masa se realizó cada 8 días aproximadamente, y para las pastillas en solución citrato cada 6 días aproximadamente. El tiempo entre mediciones para la solución citrato fue menor debido a la suposición de que las pastillas sumergidas en este medio se degradarían más rápidamente que aquellas inmersas en solución Ringer.

En las Tablas 4.5 y 4.7 se muestran las masas correspondientes de cada una de las pastillas y el día en que fue realizada la medición durante el experimento de degradación para las soluciones Ringer y citrato respectivamente. Los valores que corresponden a las columnas de *Prom. días* y *Desv. días* son, respectivamente, el promedio y la desviación estándar de la masa de todas las pastillas para un día específico. Los valores de las filas *Prom. Pastillas* y *Desv. Pastillas* son el promedio y la desviación estándar de las 7 mediciones de la masa de cada pastilla.

Con el objeto de facilitar la comprensión del comportamiento de degradación de las pastillas dentro de las soluciones, es necesario normalizar los datos obtenidos en la prueba, lo que se hizo considerando la masa inicial de cada pastilla como el 100%, los demás porcentajes representan la cantidad de masa que posee cada pastilla cuando ya se han degradado en relación con su masa inicial por lo que se obtuvieron las Tablas 4.6 y 4.8. La razón de utilizar porcentaje de masa es para tener una misma base con la cual comparar los resultados de las mediciones entre pastillas.

Si se comparan los resultados de la Tabla 4.6 con los de la Tabla 4.8, se puede observar que la degradación para las pastillas que estuvieron sumergidas en solución Ringer fue menor que aquellas que estuvieron sumergidas en solución citrato. La variación en la degradación se debe a que el medio citrato es más agresivo que el fosfato.

La tabla 4.6 muestra valores de *desviación estándar por día* menores que los de la tabla 4.8, lo cual significa que los datos de la primera varían menos respecto a su media, siendo así más confiables que los datos de la segunda. En cuanto a los datos de *desviación estándar por pastilla* de éstas tablas, se puede apreciar que para la tabla 4.8 los datos son mucho mayores con respecto a la otra, lo cual quiere decir que la variación de masa, con respecto al promedio, para cada pastilla fue mayor.

**Tabla 4.5.** Masa de las pastillas 1,2,3,4 y 5 durante la prueba de degradación (solución Ringer), promedio y desviación estándar: por pastilla y por día.

Días	Pastilla 1	Pastilla 2	Pastilla 3	Pastilla 4	Pastilla 5	Promedio por día	Desv. Est. por día
0	0.4395 g	0.4527 g	0.4464 g	0.4628 g	0.4700 g	0.4543 g	0.0123 g
9	0.4385 g	0.4508 g	0.4421 g	0.4592 g	0.4631 g	0.4507 g	0.0106 g
16	0.4341 g	0.4487 g	0.4398 g	0.4560 g	0.4588 g	0.5575 g	0.0105 g
25	0.4297 g	0.4452 g	0.4372 g	0.4528 g	0.4567 g	0.4443 g	0.0111 g
37	0.4247 g	0.4398 g	0.4346 g	0.4479 g	0.4502 g	0.4394 g	0.0103 g
46	0.4211 g	0.4375 g	0.4296 g	0.4444 g	0.4471 g	0.4359 g	0.0107 g
56	0.4176 g	0.4321 g	0.4257 g	0.4408 g	0.4452 g	0.4323 g	0.0112 g
<b>Promedio por pastilla</b>	0.4293 g	0.4438 g	0.4365 g	0.4520 g	0.4559 g		
<b>Des. Est. por pastilla</b>	0.0085 g	0.0076 g	0.0072 g	0.0090 g	0.0080 g		

**Tabla 4.6.** Porcentaje de masa de las pastillas 1,2,3,4 y 5 durante la prueba de degradación (solución Ringer), promedio y desviación estándar: por pastilla y por día.

Días	Pastilla 1	Pastilla 2	Pastilla 3	Pastilla 4	Pastilla 5	Promedio por día	Desv. Est. por día
0	100.00 %	100.00 %	100.00 %	100.00 %	100.00 %	100.00 %	0.0000 %
9	99.77 %	99.58 %	99.04 %	99.22 %	98.53 %	99.23 %	0.4852 %
16	98.77 %	99.12 %	98.52 %	98.53 %	97.62 %	98.51 %	0.5554 %
25	97.77 %	98.34 %	97.94 %	97.84 %	97.17 %	97.81 %	0.4221 %
37	96.63 %	97.15 %	97.36 %	96.78 %	95.79 %	96.74 %	0.6061 %
46	95.81 %	96.64 %	96.24 %	96.02 %	95.13 %	95.97 %	0.5613 %
56	95.02 %	95.45 %	95.36 %	95.25 %	94.142 %	95.16 %	0.2930 %
<b>Promedio por pastilla</b>	97.68 %	98.04 %	97.78 %	97.66 %	96.99 %		
<b>Des. Est. por pastilla</b>	1.9417 %	1.6793 %	1.6066 %	1.7311 %	1.9112 %		

**Tabla 4.7.** Masa de las pastillas 1,2,3,4 y 5 durante la prueba de degradación (solución citrato), promedio y desviación estándar: por pastilla y por día.

Días	Pastilla 6	Pastilla 7	Pastilla 8	Pastilla 9	Pastilla 10	Promedio por día	Desv. Est. por día
0	0.4550 g	0.4188 g	0.4150 g	0.4359 g	0.4311 g	0.4312 g	0.0159 g
6	0.3487 g	0.3323 g	0.3387 g	0.3643 g	0.3405 g	0.3449 g	0.0123 g
12	0.3188 g	0.3101 g	0.2964 g	0.3483 g	0.3212 g	0.3190 g	0.0191 g
19	0.2699 g	0.2903 g	0.2800 g	0.3323 g	0.2911 g	0.2927 g	0.0238 g
<b>Promedio por pastilla</b>	0.3481 g	0.3379 g	0.3325 g	0.3702 g	0.3460 g		
<b>Desv. Est. por pastilla</b>	0.0783 g	0.0566 g	0.0603 g	0.0457 g	0.0602 g		

**Tabla 4.8.** Porcentaje de masa de las pastillas 1,2,3,4 y 5 durante la prueba de degradación (solución citrato), promedio y desviación estándar: por pastilla y por día.

Días	Pastilla 6	Pastilla 7	Pastilla 8	Pastilla 9	Pastilla 10	Promedio por día	Desv. Est. por día
0	100.00 %	100.00 %	100.00 %	100.00 %	100.00 %	100.00 %	0.0000 %
6	76.64 %	79.35 %	81.61 %	83.57 %	78.98 %	80.03 %	2.6526 %
12	70.07 %	74.04 %	71.42 %	79.90 %	74.121 %	73.99 %	3.7827 %
19	59.32 %	69.32 %	67.47 %	76.23 %	67.52 %	67.97 %	6.0288 %
<b>Promedio por pastilla</b>	76.51 %	80.68 %	80.13 %	84.163 %	80.25 %		
<b>Desv. Est. por pastilla</b>	17.213 %	13.518 %	14.1227 %	10.486 %	13.983 %		

Las superficies de las pastillas antes y después de que se degradasen, fueron estudiadas por medio del microscopio electrónico de barrido *LEICA Cambridge Stereoscan 440*.

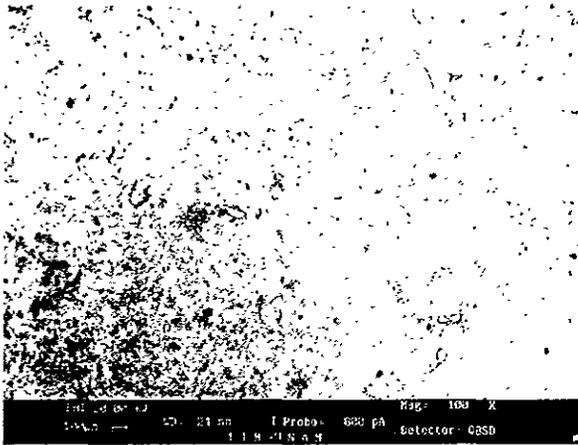
En las Figuras 4.10 y 4.11 se muestra la superficie de una pastilla sin degradar a 100 y 900 aumentos respectivamente. Como se puede observar, la superficie se presenta lisa y relativamente homogénea.

En las Figuras 4.12, 4.13, 4.14 y 4.15 se muestran las pastillas que fueron sometidas a las pruebas de degradación.

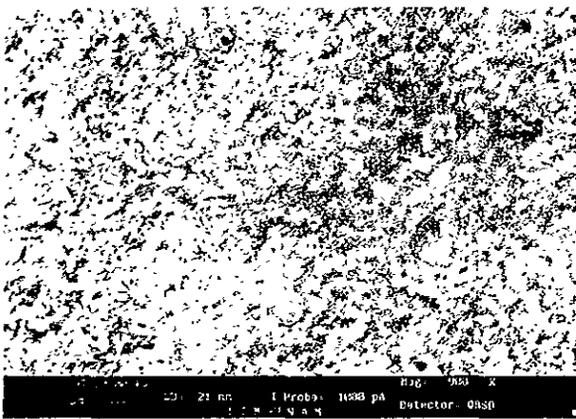
En las Figuras 4.12 y 4.13 se muestran las superficies de dos pastillas a 100 aumentos tras haber sido sometidas a la prueba de degradación en soluciones Ringer y citrato respectivamente. La primera muestra grandes grietas mientras que la segunda presenta cavidades de diversos tamaños. Aunque ambas exhiben una superficie muy irregular, la pastilla que estuvo en solución citrato presenta más partes de su superficie que no se logran enfocar en la imagen en comparación con la pastilla en solución Ringer. Esto se debe a que dichas partes de la superficie están en diferentes planos.

En las Figuras 4.14 y 4.15 se muestran las superficies de las mismas pastillas que las Figuras 4.12 y 4.13 pero a 900 aumentos. En estas se puede observar que la superficie de la pastilla que estuvo inmersa en solución citrato presenta más irregularidades que la que estuvo en solución Ringer. De hecho, ésta última presenta aún partes planas en su superficie a diferencia de la primera. Esta diferencia en la degradación de la superficie de ambas pastillas se observó en diversas partes de las mismas.

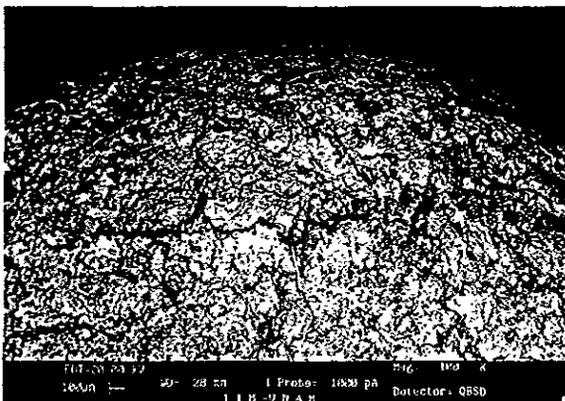
En base a las imágenes y a los antecedentes de la degradación de los materiales que constituyen las pastillas, se puede tener una idea de la forma en que se está llevando a cabo la degradación. Aparentemente, y a manera de hipótesis, se presentó una reacción hidrolítica del medio con el polímero provocando una ruptura de las cadenas del polímero. Al mismo tiempo, el  $\text{CaCO}_3$  que no estaba lo suficientemente adherido al polímero se separaron de éste. Posteriormente, los grupos de bajo peso molecular, conteniendo partículas de  $\text{CaCO}_3$  adheridas, se separaron del material, dejando las cavidades que muestran las imágenes de las pastillas degradadas.



**Figura 4.10.** Pastilla sin degradar a 100 aumentos.



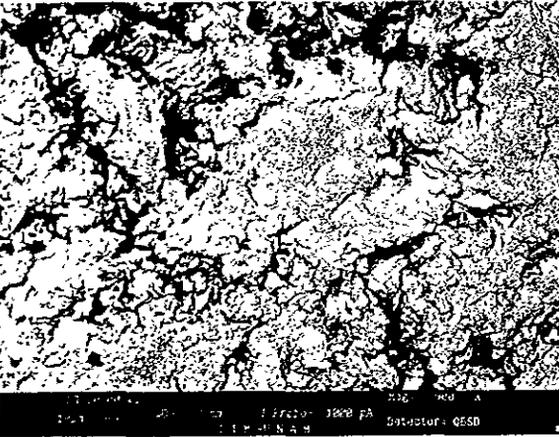
**Figura 4.11.** Pastilla sin degradar a 900 aumentos.



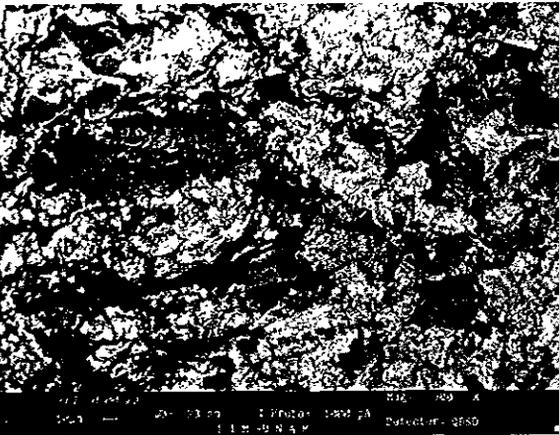
**Figura 4.12.** Pastilla degradada en solución Ringer a 100 aumentos.



**Figura 4.13.** Pastilla degradada en solución citrato a 100 aumentos.



**Figura 4.14.** Pastilla degradada en solución Ringer a 900 aumentos.

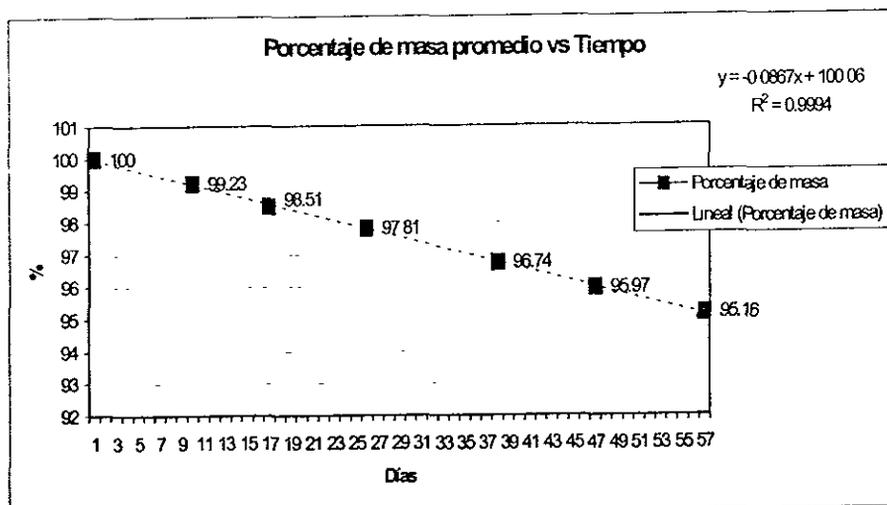


**Figura 4.15.** Pastilla degradada en solución citrato a 900 aumentos.

## Análisis de resultados de las pruebas de degradación.

### Solución fosfato.

Si se elabora una gráfica de la media de los porcentajes de degradación contra tiempo los datos se pueden ajustar a una línea de tendencia (Figura 4.16).



*Figura 4.16. Gráfica de porcentaje de masa vs tiempo con ajuste lineal.*

El ajuste presenta un valor de  $R^2$  confiable, por lo que se puede utilizar para realizar una extrapolación de datos con la finalidad de predecir la degradación de las pastillas en el futuro.

La extrapolación de datos para un porcentaje de masa promedio del 50% según el modelo matemático de la Figura 4.16 es:

$$x(50) = 577 \text{ días}$$

Lo cual quiere decir que en 577 días las pastillas hubieran perdido el 50% de su masa en promedio.

Este modelo matemático, aunque la  $R^2$  sea muy cercana a 1, no contempla la variación en la velocidad de degradación debida a los cambios físicos y químicos del material. La disminución en las propiedades mecánicas de las pastillas, el cambio en su morfología, la ruptura de las cadenas poliméricas, la saturación o el cambio del pH del medio que las rodea podrían variar la velocidad de degradación. Sin embargo, lo que se podría esperar, teniendo en cuenta los cambios físicos y químicos antes mencionados, es que las pastillas se degradaran con mayor rapidez de lo que predice el modelo matemático lineal. Esto sirve de sustento a la suposición de que las pastillas se degradarán con mayor rapidez que las películas hechas a base a PCL solamente (Veld, 1993) que tardan de 4 a 5 años en degradarse por completo. La trascendencia de esto radica en que los sistemas de liberación de medicamentos para infecciones en hueso deben administrar altas dosis durante tiempos relativamente cortos. La administración prolongada de antibióticos tan agresivos como lo que se utilizan en las infecciones de hueso resulta un grave riesgo en cuanto a toxicidad. De esta manera, las pastillas obtenidas, al degradarse con mayor rapidez, administrarán el medicamento durante un periodo de tiempo más corto que las películas de PCL antes mencionadas. El tiempo ideal de degradación de un DDS para esta aplicación es de entre 4 y 8 semanas.

El análisis de ANOVA de una vía, aceptando la significancia con  $p < 0.05$ , entre las pastillas dio como resultado:  $F = 0.2299$  y  $p = 0.9194$ ; por lo que no hay diferencia significativa entre las pastillas 1, 2, 3, 4 y 5. El que no haya diferencia significativa entre pastillas quiere decir que la pérdida de masa promedio de las pastillas fue muy parecida.

En cuanto al ANOVA de una vía, aceptando la significancia con  $p < 0.05$ , entre los días dio como resultado:  $F = 84.255$  y  $p = 13 \times 10^{-17}$ , por lo que la diferencia de porcentaje de masa entre los días en que se realizaron las mediciones es significativa, lo cual quiere decir que las pastillas sufren una degradación considerable.

El resultado de la prueba de contrastes LSD entre pastillas muestra que no existe diferencia significativa entre los promedios de los porcentajes de masa de cada pastilla (Tabla 4.9), lo cual reitera la idea de que las pastillas se degradaron de manera muy semejante, como lo mostró el ANOVA.

El resultado de la prueba de contrastes LSD entre días se muestra en la Tabla 4.10. Los resultados resultaron significativos en su totalidad. La variación

significativa del promedio del porcentaje de las pastillas entre cada uno de los días, refuerza la idea de que las pastillas sufrieron una degradación considerable entre los días en que se efectuaron las mediciones.

**Tabla 4.9.** Valores de  $p$  obtenidos de la prueba de contrastes (LSD) entre pastillas. Significancia aceptada con  $p < 0.01$ .

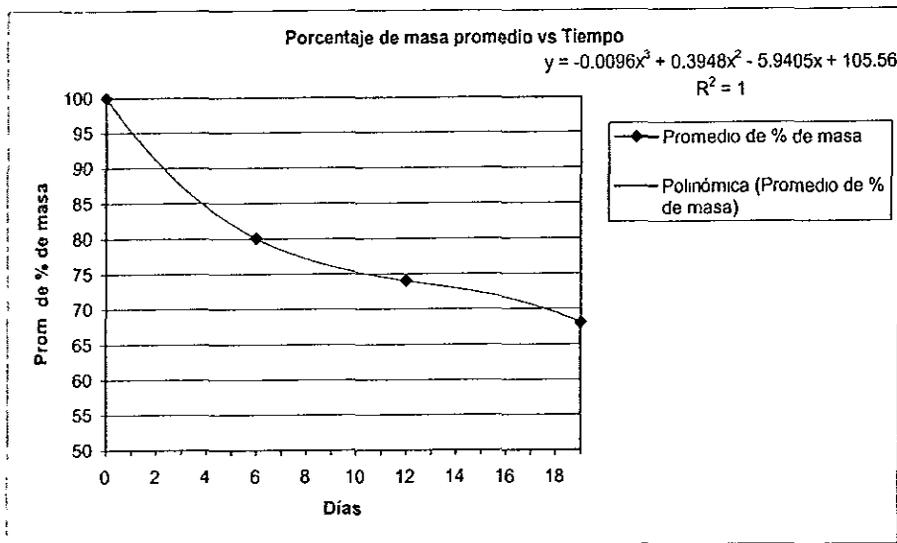
Pastillas	1	2	3	4	5
1					
2	0.9174				
3	0.7120	0.7905			
4	0.9871	0.9047	0.7001		
5	0.2808	0.5125	0.3593	0.5918	

**Tabla 4.10.** Valores de  $p$  obtenidos de la prueba de contrastes (LSD) entre días. Significancia aceptada con  $p < 0.01$ .

Días	0	9	16	25	37	46	56
0							
9	0.00000						
16	0.00000	0.00263					
25	0.00000	0.00000	0.01716				
37	0.00000	0.00000	0.00000	0.00059			
46	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00911		
56	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00676	

### *Solución Citrato.*

La gráfica de la media de los porcentajes de degradación para las pastillas que estuvieron sumergidas en solución citrato se graficaron y se ajustaron a un polinomio como lo muestra la Figura 4.17.



**Figura 4.17.** Gráfica de porcentaje de masa vs tiempo con ajuste polinomial.

Se utilizó un ajuste polinomial debido a que el valor de  $R^2$  del ajuste lineal resulta muy bajo. Con el ajuste polinomial, teniendo una  $R^2$  muy confiable, se puede hacer una extrapolación para un porcentaje de masa promedio del 50%:

$$x(50) = 25.85 \text{ días}$$

Lo cual quiere decir que en aproximadamente 26 días, las pastillas hubieran perdido el 50% de su masa en promedio.

Al igual que el modelo lineal para las pastillas en solución fosfato, este modelo polinomial no contempla las variaciones en las propiedades mecánicas de la pastilla, sin embargo, de acuerdo a la degradación que se observó en estas pastillas y a las mediciones de masa, la predicción del modelo matemático resulta confiable.

El análisis de ANOVA de una vía, aceptando la significancia con  $p < 0.05$ , entre las pastillas dio como resultado:  $F = 0.17956$  y  $p = 0.94544$ , por lo que no hay diferencia significativa entre las pastillas 6, 7, 8, 9 y 10.

En cuanto al ANOVA de una vía, aceptando la significancia con  $p < 0.05$ , entre los días dio como resultado:  $F = 67.05663$  y  $p = 28 \times 10^{-10}$ , por lo que la diferencia de porcentaje de masa entre los días en que se realizaron las mediciones es significativa, lo cual quiere decir que las pastillas sufren una degradación considerable.

El resultado de la prueba de contrastes LSD entre pastillas muestra que no existe diferencia significativa entre los promedios de los porcentajes de masa de cada pastilla (Tabla 4.11).

El resultado de la prueba de contrastes LSD entre días (Tabla 4.12) muestra que los resultados resultaron significativos en su totalidad. La significancia entre días quiere decir que las pastillas sufrieron una degradación considerable entre los días en que se efectuaron las mediciones.

**Tabla 4.11.** Valores de  $p$  obtenidos de la prueba de contrastes (LSD) entre pastillas. Significancia aceptada con  $p < 0.01$ .

Pastillas	6	7	8	9	10
6					
7	0.6819				
8	0.7220	0.9566			
9	0.4121	0.6764	0.6374		
10	0.7127	0.9666	0.9899	0.6463	

**Tabla 4.12.** Valores de  $p$  obtenidos de la prueba de contrastes (LSD) entre días. Significancia aceptada con  $p < 0.01$ .

Días	0	6	12	19
0				
6	$3.33 \times 10^{-7}$			
12	$8.91 \times 10^{-9}$	0.0229		
19	$4.4 \times 10^{-10}$	0.0001	0.0234	

## CONCLUSIONES.

Actualmente, distintas disciplinas han tenido que fusionarse o trabajar en conjunto para satisfacer las necesidades del ser humano. Nuevas disciplinas como la Ingeniería Biomédica, la Ciencia de los Biomateriales, entre otras, se presentan como áreas interdisciplinarias en donde interactúan médicos, biólogos, físicos, químicos e ingenieros. La importancia de éstos últimos radica en la aplicación de sus conocimientos para la solución de problemas, desarrollo de equipo y tecnología en esta área, que difícilmente los profesionales de las otras disciplinas involucradas podrían llevar a cabo debido a la orientación de los conocimientos adquiridos en su formación profesional. Las conclusiones de este trabajo permiten ejemplificar lo anterior, ya que sin acudir a la biología o a la medicina sus aplicaciones son en estos campos.

- El cascarón de huevo de gallina contiene calcita, que es un carbonato de calcio que se utiliza en el área biomédica como biomaterial por ser un cerámico biocompatible y bioabsorbible.
- Mientras que el espectro de IR del cascarón blanco de huevo de gallina y el de carbonato de calcio resultaron iguales, el espectro de cascarón rojo de huevo de gallina presentó una diferencia con respecto a ambos.
- La poli- $\epsilon$ -caprolactona es un polímero biodegradable, biocompatible, que puede ser obtenido en laboratorios por medio de procesos relativamente sencillos, haciéndolo un material con características suficientes para emplearlo como un biomaterial biodegradable para la fabricación de sistemas de liberación local de medicamentos.
- El material compuesto de calcita, obtenida a partir de cascarón de huevo de gallina, y de poli- $\epsilon$ -caprolactona ( $M_w = 6593$ ,  $M/I = 100$ ), en forma de pastilla, es un material biocompatible y biodegradable.
- La degradación de las pastillas se presenta con la ruptura de las cadenas del polímero al reaccionar hidrolíticamente con el medio que les rodea, dando lugar a grupos de bajo peso molecular que se desprenden del material ocasionando la erosión de la superficie del mismo.

- Las pastillas obtenidas se degradan con mayor rapidez que los sistemas de liberación de medicamentos de policaprolactona reportados.
- La degradación de las pastillas que se sumergieron en solución citrato fue más acelerada que la de las pastillas que estuvieron inmersas en solución fosfato.
- La velocidad de degradación de las pastillas varía de acuerdo con el medio en el que se encuentran.

El papel actual del ingeniero en las ciencias biomédicas abarca el diseño y la fabricación de implantes, biomateriales, prótesis, órtesis, órganos artificiales, entre otros, lo cual no le corresponde a los médicos, biólogos o físicos. Los conocimientos del ingeniero son fundamentales para el desarrollo de este tipo de tecnología en donde los conocimientos de varias disciplinas se fusionan para satisfacer las necesidades de salud del ser humano.

## PERSPECTIVAS.

- Como la tasa de degradación de las pastillas varía de acuerdo al medio que les rodea, y el cuerpo humano, al presentar actividad celular, posible acidificación o infección del área de implantación, es un medio que puede resultar más agresivo que las soluciones en las que se sumergieron las pastillas durante las pruebas de degradación, es muy posible que la degradación que presenten las pastillas dentro del organismo sea diferente a la que se reporte en este trabajo, por lo que se hacen necesarias pruebas de degradación *in vivo*.
- La velocidad de degradación de las pastillas varió de acuerdo al medio en el que se encontraban. Las soluciones utilizadas para simular el medio fisiológico en el presente trabajo, varían en composición y en pH. Lo que se desconoce es si la velocidad de degradación de las pastillas es más susceptible a un cambio de pH que a un cambio en los componentes químicos del medio, o viceversa, lo cual podría ser estudiado sometiendo a las pastillas a dos pruebas de degradación distintas: una en un mismo medio y a diferentes pH, y la otra en medios distintos pero que tengan el mismo pH.
- Las pastillas que se fabricaron para la realización de este trabajo no contuvieron medicamento alguno, simplemente se seleccionaron los materiales para la fabricación de un material compuesto biocompatible y biodegradable. La aplicación que se pensó para este material fue la de ser un sistema de liberación local de medicamentos que administrara el fármaco *in situ* conforme se fuera degradando. Con la finalidad de conocer la cantidad de medicamento liberado por las pastillas, se hace necesario fabricar pastillas que contengan algún medicamento, y que sean sometidas a pruebas de degradación. Una técnica que podría ser muy útil para conocer la cantidad de medicamento liberado es la espectroscopia de UV.

- Dos características más de las pastillas que podrían influir de gran manera en la velocidad de degradación de éstas son la morfología y las dimensiones. Puede ser que tanto la forma como el tamaño de las pastillas incrementen o decrezcan su velocidad de degradación. Sería muy interesante someter a pruebas de degradación a pastillas de diferentes formas y tamaños.

## Apéndice 1.

### Compactación de cascarón de huevo de gallina.

Este experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Metalografía de las instalaciones de la Facultad de Ingeniería de la UNAM.

#### Objetivo.

Compactar polvo de cascarón blanco de huevo de gallina por un lado, y cascarón rojo de huevo de gallina por otro lado, para formar discos.

#### Material y equipo.

- Cascarón de huevo de gallina rojo y blanco pulverizado y tamizado, con tamaño de polvo igual o menor a 0.063mm.
- Agua destilada.
- Montadora metalográfica automática modelo *Simplimet 2000*.
- Pipeta graduada.

#### Experimento.

Se mezclaron 10 gramos de cascarón rojo de huevo de gallina con 5 ml de agua destilada.

Una vez obtenida la mezcla, se introdujo en la montadora metalográfica y se compactó durante 11 minutos a una presión de 2800psi y una temperatura de 120°C, con una precarga de 120psi.

Después se realizó el mismo procedimiento pero utilizando cascarón blanco de huevo de gallina.

Se repitió el experimento 10 veces con la finalidad de obtener 5 discos de cada cascarón.

#### Resultados.

Se obtuvieron 5 discos de cascarón rojo, de 32mm de diámetro y 3mm de espesor.

Los discos que se intentaron fabricar con cascarón blanco no lograron conformarse y se desbarataron antes de sacarlos de la montadora metalográfica.

Los discos de cascarón rojo resultaron bastante bien conformados y con una apariencia muy sólida.

**Conclusiones.**

El cascarón rojo de huevo de gallina, a diferencia del cascarón blanco, contiene algún material que permite que el polvo de este material se aglutine bajo las condiciones en las que fue realizado este experimento.

## Apéndice 2.

### Análisis de Varianza (ANOVA) con una variable de clasificación.

El análisis de varianza se utiliza para probar si dos muestras difieren *significativamente* con respecto a cierta propiedad.

El problema del análisis se reduce a probar la hipótesis:

$$H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_c$$

donde  $\mu$  es la media de la propiedad que se está evaluando y  $c$  el número de muestras.

Considerando el siguiente arreglo:

$X_{11}$	$X_{12}$	$\dots$	$X_{1j}$	$\dots$	$X_{1c}$
$X_{21}$	$X_{22}$	$\dots$	$X_{2j}$	$\dots$	$X_{2c}$
$\vdots$	$\vdots$		$\vdots$		$\vdots$
$X_{i1}$	$X_{i2}$	$\dots$	$X_{ij}$	$\dots$	$X_{ic}$
$\vdots$	$\vdots$		$\vdots$		$\vdots$
$\underline{X_{n1}}$	$\underline{X_{n2}}$		$\underline{X_{nj}}$		$\underline{X_{nc}}$
$\underline{x_{\cdot 1}}$	$\underline{x_{\cdot 2}}$		$\underline{x_{\cdot j}}$		$\underline{x_{\cdot c}}$

en donde  $x_{ij}$  es la medición  $i$ -ésima de la columna  $j$ -ésima de una tabla de mediciones;  $c$  es el número de columnas,  $n_j$  el número de mediciones de la columna  $j$ -ésima, y  $\underline{x_{\cdot j}}$  la media de las mediciones de la columna  $j$ -ésima. El punto se coloca frente a la  $j$  para indicar que la media se ha obtenido sumando respecto al índice  $i$ .

Para probar que  $H_0$  es verdadera se utiliza la razón  $F$ , que está definida como:

$$F = V_m/V_c$$

donde,

$$V_m = \frac{\sum_{j=1}^c n_j (\bar{x}_{\cdot j} - \bar{x})^2}{c-1}$$

y,

$$V_c = \frac{\sum_{j=1}^c \sum_{i=1}^{n_j} (x_{ij} - \bar{x}_{\cdot j})^2}{\sum_{j=1}^c (n_j - 1)}$$

De lo anterior se espera que  $H_0$  sea cierta cuando  $F$  tenga un valor muy próximo a 1 y que  $H_0$  no sea cierta, y por lo tanto las medias de la población difieran entre sí considerablemente, cuando  $F$  tenga un valor bastante mayor que 1.

El *nivel p* en el análisis de varianza representa la probabilidad de error que involucra el aceptar a los resultados observados como válidos. Por ejemplo, un nivel  $p$  de 0.05 indica que existe una probabilidad del 5% de que no exista relación entre las variables que se están evaluando. Comúnmente un valor de  $p \leq 0.05$  es considerado como significativo, aunque algunas veces se considera un valor de  $p \leq 0.01$  como estadísticamente significativo y aquellos valores de  $p \leq 0.001$  altamente significativos.

## GLOSARIO

**Biomaterial.** Cualquier sustancia o combinación de sustancias, diferentes a los medicamentos, de origen sintético o natural, que puede ser utilizada por cualquier periodo de tiempo.

**Catálisis.** Acción de un catalizador sobre la velocidad de una reacción, en donde, al finalizar la reacción, el agente catalizador aparece inalterado.

**Colágena.** Sustancia proteica fibrosa de los huesos, tendones y otros tejidos conjuntivos.

**Degradación.** Cambio sustancial en la estructura química, en las propiedades físicas, o en la apariencia de un material.

**Hidrofobia.** Propiedad de algunos materiales a repeler el agua.

**Hidrofilia.** Propiedad de algunos materiales a absorber agua con facilidad.

**Hidrólisis.** Descomposición o alteración de una sustancia química por acción del agua.

**Monómero.** Agrupación de átomos de peso molecular bajo, que por combinación consigo o con otros similares forman un polímero.

**Poietilentereftalato (PET).** Poliéster termoplástico extremadamente dura, resistente al desgaste, estable dimensionalmente, y resistente a varios químicos.

**Polimerización.** Reacción química en la que se enlazan las moléculas de un monómero para formar cadenas de moléculas largas en las que el peso molecular de éstas es un múltiplo del peso molecular de las sustancia original.

**Polímero.** Compuesto orgánico, natural o sintético de alto peso molecular con una estructura que puede ser representada por unidades repetitivas llamadas meros.

**Polimetil metacrilato (PMMA).** Polímero termoplástico obtenido a partir del metil metacrilato. Se presenta como un sólido transparente con propiedades ópticas excepcionales. Ha sido utilizado ampliamente como biomaterial en las últimas décadas, aunque su toxicidad es relativamente alta.

**Polivinil alcohol (PVA).** Material termoplástico compuesto de polímeros del grupo hipotético vinil alcohol. Usualmente es un sólido incoloro, insoluble en la mayoría de los solventes orgánicos y aceites, pero soluble en agua.

**Prótesis.** Intervención quirúrgica que tiene por objeto la implantación de una pieza o aparato artificial para suplir a otro ausente o deficiente, y realizar la misma función.

**Solución tampón.** Sustancia que contiene sustancias ácidas o alcalinas y que tienden a mantener ciertas propiedades constantes como el pH y potencial de oxidación.

## REFERENCIAS

- **Abrahams, R.A., Ronel, S.H.**, "Biocompatible implants for the sustained zero-order release of narcotic antagonists", *Journal of Biomedical Materials Research*, núm. 9, 1975, pp. 355-366.
- **Barbosa, Mário**, "Biomaterials Degradation". *European Materials Research Society Monographs*, Vol. 1, North-Holland, The Netherlands, 1991.
- **Belk, J.**, "Electron Microscopy and Microanalysis of Crystalline Materials", *Applied Science Publishers LTD*, London, UK, 1979.
- **Chiroff, R. T., White, E. W., Weber, J. N., Roy, D. M.**, "Tissue ingrowth of replamineform implants", *Journal of Biomedical Materials Research*. núm. 6, 1975, pp. 29-45.
- **Drobnik, J., Spacek, P., Wivhterle, O.**, "Diffusion of antitumor drugs through membrans from hydrophilic methacrylate gels", *Journal of Biomedical Materials Research*, núm. 8, 1974, pp. 45-51.
- **Gilding, D. K., Reed, A. M., Fortuin, M. S., Annis, D.**, "Polyglycolic acid/ polilactic acid copolymers", *Biomedical Materials Research Symposium*, núm. 2, 1978, pp. 150-151.
- **Heller, J.**, "Use of polymers in controlled release of active agents" en "Controlled Drug Delivery, Fundamentals and Applications", J. R. Robinson, V. H. L. Lee, ed. *Dekker*, USA, 1987, pp. 180-210.
- **Hench, L., Ethridge, E.**, "Biomaterials". *Academic Press*, USA, 1982.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- **Laing, R.G.**, “Clinical Experience with Prosthetic Materials: Historical Perspectives, Current Problems, and Future Directions”, Corrosion and Degradation of Implant Materials, ASTM STP 684, (Eds. B.C. Syrett and A. Acharya), American Society for Testing and Materials, 1979, pp. 199-211.
- **Marcel Dekker Inc.**, “Polymeric Biomaterials”, USA, 1994.
- **Miller, R. A., Brady, J. M., Cutright, D. E.**, “Degradation rates of oral resorbable implants (polylactates and polyglycolates): Rate modification with changes in PLA/PGA copolymers ratios”, Journal of Biomedical Materials Research, núm. 11, 1977, pp. 711-719.
- **Morton, M., Wu, S.**, “Organolithium polymerization of acetone”, ACS Symposium Ser., núm 286, 1985. pp 175-182.
- **Pitt, C. G., Marks, T. A., Schindler, A.**, “Biodegradable delivery systems based on aliphatic polyesters: applications to contraceptives and narcotic antagonists” en “Controlled Release of Bioactive Materials”, R. W. Baker, ed. Academic Press, USA, 1980, pp. 19-43.
- **Pitt, C. G., Chasalow, F. I., Hibionada, Y. M., Klimas, D. M., Schindler, A.**, “Aliphatic polyesters. The degradation of poly(lactone) in vivo”, Journal of Applied Polymer Science, núm. 26, 1981, pp 3779-3787.
- **Pitt, C. G., Schindler, A.**, “Biodegradation of polymers in controlled drug delivery”, Vol. 1, CRC Press, Boca Raton, 1983, pp 53-80.
- **Pitt, C. G., Hendren, R. W., Schindler, A.**, “The enzymatic surface erosion of aliphatic polyesters”, Journal of Control Release Systems, núm. 1, 1984, pp. 3-14.

- **Pitt, C. G.**, “Poly- $\epsilon$ -caprolactone and its copolymers”, en “Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems”, M. Chasin y R. Langer, ed. Dekker, USA, 1990, pp. 71-120.
- **Ratner, B.** “Biomaterials Science”, Academic Press, UK, 1996.
- **Reed, A. M., Gilding, D. K., Wilson, J.**, “Polyethylene oxide polyethylene terephthalate copolymers”, Biomedical Materials Research Symposium, núm.1, 1977, p. 124.
- **Sibilia, John**, “A Guide to Materials Characterization and Chemical Analysis”, VCH Publishers, New York, USA, 1988.
- **Swift, J.**, “Electron Microscopes”, Barnes and Noble, UK, 1970.
- **Veld, P., Dijkstra, P. J., Feijen, J.**, “In-vitro Degradation of Polyesteramides Containing Poly- $\epsilon$ -caprolactone Blocks”, Clinical Materials, Vol. 13, pp. 143-147, Elsevier Science Publishers Ltd, England, 1993.
- **Williams, D.**, “Biocompatibility of clinical implants”, CRC Press, USA, 1981.
- **Yoshitaka**, “Calcium hydroxyapatite ceramic used as a delivery system for antibiotics”, The journal of bone and joint surgery, pp 600-604. Vol. 74-B, núm. 4, July 1992.