



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**POSGRADO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES
CENTRO DE FÍSICA APLICADA Y TECNOLOGÍA AVANZADA**

**“SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVOS POLÍMEROS TIPO
POLIURETANO, USANDO POLISACÁRIDOS NATURALES COMO
PRECURSORES PARA ESTUDIAR SUS POSIBLES BIOAPLICACIONES”**

**TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES**

**PRESENTA:
JOSÉ ALBERTO ELIZALDE MATA**

**TUTOR PRINCIPAL
DRA. MIRIAM ROCÍO ESTÉVEZ GONZÁLEZ
CENTRO DE FÍSICA APLICADA Y TECNOLOGÍA AVANZADA**

**MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR
DR. ÁNGEL RAMÓN HERNÁNDEZ MARTÍNEZ
CENTRO DE FÍSICA APLICADA Y TECNOLOGÍA AVANZADA**

**DR. JOSÉ ANTONIO CERVANTES CHÁVEZ
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
QUERÉTARO**

JURIQUILLA, QUERÉTARO, SEPTIEMBRE DE 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



RESUMEN

En este trabajo se describe la síntesis de nuevos poliuretanos (PUs) utilizando inulina, policaprolactona-diol (PCL-diol) y 1,6-hexametildiisocianato (HMDI) como precursores, su caracterización y su aplicación en las áreas de materiales para dispositivos de liberación de fármacos y como marcadores de biopsia biodegradables. Se obtuvieron tres formulaciones diferentes (PU-InP11, PU-InP12 y PU-InP21); su conformación química se determinó mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), espectroscopía dispersiva Raman y espectroscopía de resonancia magnética nuclear (^1H NMR y ^{13}C NMR). Se comprobó que es posible obtener nuevos materiales vía formación de enlaces uretano con inulina y PCL-diol, además, se evaluó su absorción de agua, comportamiento de hinchamiento y degradación hidrolítica. Para su posible uso para construir vehículos de administración de fármacos, se estudió el comportamiento de sorción/liberación, usando Doxorrubicina como fármaco de prueba, y se aplicaron diferentes modelos teóricos para ajustar los datos y develar el mecanismo de liberación de cada material. Adicionalmente, para proponer otra aplicación, se evaluó la viabilidad de uno de los PUs (PU-InP11) para formar un marcador de biopsia para glándula mamaria; se preparó un compuesto para construir el prototipo, utilizando como matriz el PU y como refuerzo nanopartículas de magnetita, luego se midieron sus propiedades radiopacas respecto al tejido adiposo y al hueso en un modelo de prueba, obteniendo resultados positivos de radiopacidad y, a pesar de que pueden ser mejorados, es claro que estos materiales tienen potencial aplicación. Este trabajo es un punto de partida para un desarrollo tecnológico de mayor impacto en futuras investigaciones en el área de diseño de nuevos dispositivos para liberación de fármacos y marcadores de biopsia biodegradables para el tratamiento de enfermedades como el cáncer.



ABSTRACT

This work describes the synthesis of new polyurethanes (PUs), using inulin, polycaprolactone-diol (PCL-diol) and 1,6-hexamethyldiisocyanate (HMDI) as precursors, their characterization and their application in the areas of materials for drug delivery devices and for biodegradable biopsy marker clips. Three different formulations were obtained (PU-InP11, PU-InP12 and PU-InP21); their chemical conformation was determined by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), Raman dispersive spectroscopy and nuclear magnetic resonance spectroscopy (^1H NMR and ^{13}C NMR). It was found that it is possible to obtain new materials via urethane bonds formation between inulin and PCL-diol, in addition their water absorption, swelling behavior and hydrolytic degradation were evaluated. For their possible use in the construction of new drug delivery systems, their sorption/release behavior was studied, using Doxorubicin as a test drug, and different theoretical models were applied to fit the data and reveal the release mechanism of each PU. Additionally, in order to propose another application, one of the PUs (PU-InP11) was evaluated to form a marker clip for mammary gland biopsy; a composite was prepared to build the prototype, using PU as a matrix and magnetite nanoparticles as reinforcement, its radiopaque properties were measured respect to adipose tissue and bone, in a test model, obtaining positive radiopacity results and, although they can be improved, it is clear that this material has potential to be applied as biopsy marker clip. This work is a starting point for a technological development of greater impact in future research about design of new devices for drug delivery and biodegradable biopsy marker clips for the treatment of diseases such as cancer.



*Dedicado a mi familia, mis amigos y todas las personas
que han estado conmigo y apoyado mi desarrollo
personal y profesional.*



AGRADECIMIENTOS

- En primer lugar, a mi familia y amigos. A mi madre por su amor y cariño, así como sus consejos y apoyo incondicional en todos mis proyectos a lo largo de mi vida. A mis mejores amigos: Eduardo, Vivian, Mireny y especialmente a Betsy, quienes me acompañaron en los momentos más difíciles y también en los más felices durante mis estudios de maestría.
 - A mi asesora, la Dra. Miriam Rocío Estévez González, por su apoyo académico, personal y moral durante el desarrollo del proyecto de maestría.
 - A mi comité tutor, el Dr. Ángel Ramón Hernández Martínez y el Dr. José Antonio Cervantes Chávez, por sus consejos y guía para llevar a buen término el proyecto de maestría.
 - Al M. C. Gustavo Andrés Molina Labastida por su amistad y compañerismo, así como su apoyo profesional durante la elaboración de este trabajo.
 - Agradezco el apoyo técnico brindado por el M. en I. Gerardo Antonio Fonseca Hernández para realizar las pruebas mecánicas a los materiales. Así mismo, a la M. en I. Alicia Del Real López, por el soporte técnico en el laboratorio, y a Eloy Rodríguez de León por su ayuda con la caracterización por NMR.
 - Al Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA–UNAM) por permitir desarrollar el presente trabajo en sus instalaciones.
 - Al programa de Becas Nacionales CONACYT por la beca de estudios de maestría que me fue otorgada.
 - Al proyecto CONACYT – Fronteras de la Ciencia 845101, “DAMA-Descubrimiento Acelerado de Materiales Antibioincrustantes”, por el apoyo económico brindado para la realización de este trabajo.
 - Al proyecto PAPIIT IN209619 titulado “Síntesis y caracterización de nuevos biopolímeros tipo poliuretano amigables con el medio ambiente con potenciales bioaplicaciones”, por el financiamiento para llevar a cabo este trabajo.
 - Al Programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado (PAEP), otorgado por la Coordinación General de Estudios de Posgrado (CGEP) de la UNAM, por el apoyo económico.
-



ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vii
INTRODUCCIÓN	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
JUSTIFICACIÓN	5
HIPÓTESIS	6
OBJETIVOS	7
Objetivo general	7
Objetivos específicos	7
CAPÍTULO I ANTECEDENTES.....	8
I.I PUs diseñados con quitosano y quitina	11
I.II PUs diseñados con almidón.....	12
I.III PUs diseñados con celulosa	12
I.IV Acarreadores de fármacos basados en inulina	13
CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO	17
II.I Biomateriales.....	18
II.II Materiales biodegradables	18
II.III Materiales biocompatibles.....	21
II.IV Polímeros como biomateriales	22
II.V Poliuretanos (PUs).....	24
II.V.I PUs para aplicaciones médicas.....	25
II.V.II Síntesis de PUs	30
II.VI Polisacáridos para la síntesis de PUs.....	34
II.VI.I La inulina y sus propiedades	36



CAPÍTULO III DESARROLLO EXPERIMENTAL	44
III.I Materiales.....	45
III.II Descripción del procedimiento de síntesis	46
i) Preparación del prepolímero (primer paso)	47
ii) Formación del PU-urea entrecruzado (segundo paso).....	48
III.III Caracterización de los materiales obtenidos	48
III.III.I Caracterización estructural.....	48
III.III.II Caracterización térmica	49
III.III.III Caracterización mecánica.....	49
III.III.IV Pruebas de hinchamiento	50
III.III.V Evaluación de degradación hidrolítica	50
III.IV Ensayos para evaluar posibles aplicaciones	51
III.IV.I Sistema de administración de fármacos de Doxorrubicina.....	51
III.IV.II Biomarcador de biopsia biodegradable	55
CAPÍTULO IV TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN	58
IV.I Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR).....	59
IV.II Espectroscopía Raman	60
IV.III Resonancia magnética nuclear (NMR)	61
IV.IV Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis).....	62
IV.V Análisis termogravimétrico (TGA).....	65
IV.VI Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	65
IV.VII Espectroscopia por Dispersión de Energía de Rayos X (EDS)	67
IV.VIII Difracción de Rayos X (XRD).....	69



CAPÍTULO V RESULTADOS	72
V.I Caracterización estructural.....	73
V.II Análisis térmico	81
V.III Caracterización mecánica.....	83
V.IV Ensayo de hinchamiento	85
V.V Degradación hidrolítica	87
V.VI Evaluaciones para sus posibles aplicaciones en el tratamiento del cáncer de mama	88
V.VI.I Ensayo de sorción/liberación de fármaco (DOXO)	89
V.VI.II Evaluación del PU-InP11 para su uso como marcador de biopsia.....	90
CAPÍTULO VI DISCUSIÓN DE RESULTADOS	96
CAPÍTULO VII CONCLUSIONES Y TRABAJO A FUTURO	105
VII.I Conclusiones	106
VII.II Trabajo a futuro.....	108
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	109



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura molecular de la policaprolactona-diol (PCL-diol).....	23
Figura 2. Proceso de síntesis en dos pasos de un PU.	31
Figura 3. Estructura molecular del 1,6-hexametilendiisocianato.	33
Figura 4. Mecanismo de reacción del isocianato en ausencia de catalizador.....	33
Figura 5. a) Mecanismo de reacción del isocianato con aminas terciarias como catalizador y b) mecanismo de reacción del isocianato con sales metálicas como catalizador.....	34
Figura 6. Estructura molecular de la celulosa.	35
Figura 7. Estructura molecular de la inulina.	39
Figura 8. Arreglo experimental para la síntesis de los PUs.....	47
Figura 9. Muestra requerida para el ensayo de tensión de acuerdo con la norma ASTM-D638-03.	49
Figura 10. Ejemplo aleatorio de un espectro obtenido mediante la técnica de FTIR.....	60
Figura 11. Proceso de las transiciones electrónicas en los niveles de energía de una sustancia X. ..	63
Figura 12. Espectro UV-vis derivado de las transiciones electrónicas.....	64
Figura 13. Representación de una recta de calibración construida mediante UV-Vis.....	64
Figura 14. Diagrama de un microscopio electrónico de barrido.	66
Figura 15. Ilustración de la interacción del haz de electrones con la muestra.	67
Figura 16. Diagrama de la producción de rayos X característicos de un elemento.....	68
Figura 17. Esquema de la difracción de un rayo X por los planos de un cristal.	70



- Figura 18.** Espectros FTIR de los precursores poliol (inulina y PCL-diol) y (b) de los materiales sintetizados, con sus bandas de absorción características. Obtenidos con un espectrómetro Vector 33 (Bruker Biospin Corporation, Billerica, MA, EE. UU.). Nomenclatura: ν = stretching, δ = bending, y ω = wagging..... 73
- Figura 19.** Espectros FTIR de los materiales sintetizados, con sus bandas de absorción características. Obtenidos con un espectrómetro Vector 33 (Bruker Biospin Corporation, Billerica, MA, EE. UU.)..... 76
- Figura 20.** Espectros Raman de los PUs con sus bandas de absorción características. El análisis se realizó con un equipo Senterra (Bruker Biospin Corporation, Billerica, MA, EE. UU.) equipado con un láser de $\lambda = 685$ nm y un FT-Raman (Nicolet 910) con $\lambda=1064$ nm en el láser, equipado con un microscopio Olympus. 79
- Figura 21.** Espectros de (a) ^1H y (b) ^{13}C en (DMSO- d_6) a 500 y 125 MHz, respectivamente. (c) Representación esquemática de la estructura del PU-InP11. Los datos se obtuvieron con un equipo Bruker Avance III HD 500 MHz (Bruker Biospin Corporation, Billerica, MA, EE. UU.). ... 81
- Figura 22.** (a) Análisis termogravimétrico (TGA) de los precursores (INU y PCL-diol) y los PUs. TGA y su derivada (DTG) de (b) PU-InP12, (c) PU-InP11 y (d) PU-InP21. Se utilizó un sistema TGA/DSC Modelo 2 Stare (Mettler-Toledo Intl. Inc., Columbus, OH, EE. UU.) de 20 a 700 °C con una velocidad de exploración de 10°C min⁻¹ bajo una atmósfera de nitrógeno a una velocidad de flujo de 40 N mlmin⁻¹. 82
- Figura 23.** Comportamiento mecánico de los PUs: (a) propiedades mecánicas hasta la máxima resistencia a la tracción y (b) propiedades mecánicas en la región elástica. Datos adquiridos con una Universal Testing Machine (Uni-axial, STM-20, SANTAM), en condiciones normales de presión y temperatura a una velocidad de 10 mm min⁻¹. 85
- Figura 24.** Propiedades de hinchamiento de los PUs: (a) perfil de hinchamiento contra el tiempo, (b) índice de hinchamiento máximo de cada material, (c) relación de hinchamiento a diferentes temperaturas y (d) relación de hinchamiento a diferentes pH. 86



- Figura 25.** Tasa de degradación de los PUs bajo condiciones específicas de PH y temperatura (7.4 a 37°C). 87
- Figura 26.** Aplicación de PU-INU como sistema de administración de fármacos de doxorubicina (DOXO). (a) Espectros DOXO UV–Vis a 2 mg·ml⁻¹. (b) Curva de calibración de DOXO con un ajuste lineal de $R^2 > 0,99$, (c) capacidad de absorción (q , mg·g⁻¹) de los PUs sintetizados y (d) fármaco liberado en relación con la concentración de carga de fármaco de cada material. 89
- Figura 27.** Micrografía SEM de las nanopartículas de magnetita (Fe₃O₄ NPs), tomada en un microscopio de emisión de cátodo frío Hitachi SU8230 a 250 000X. 91
- Figura 28.** Patrón de difracción de rayos X de las Fe₃O₄ NPs obtenido en un difractor RIGAKU Ultima-IV (Rigaku Americas Corp., Woodlands, TX, E. U. A.), bajo las siguientes condiciones: rango de 2θ de 5° a 80°, pasos de 0,022 θ y ~ 0,7s/paso, con radiación de CuK_α ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$). 92
- Figura 29.** Mapeo elemental de las nanopartículas de óxido de hierro Fe₃O₄ en el PU–InP11. (a) Distribución de superposición de elementos (Fe + O + C) en el poliuretano, (b) espectro de EDS, (c) imagen de microscopía electrónica de barrido (SEM) y (d – f) mapeo elemental de Fe (rojo), O (verde) y C (azul). Imágenes obtenidas con un detector de deriva de silicio Bruker XFlash 6/60 acoplado a un microscopio de emisión de cátodo frío Hitachi SU8230. 93
- Figura 30.** Imágenes de validación radiopaca del compuesto con el PU–InP11. (a) Imagen de rayos X del prototipo, (b) histograma en escala de grises del marcador prototipo, (c) imagen de rayos X del prototipo implantado en el modelo de glándula mamaria y (d) histograma del marcador prototipo dentro del tejido modelo. 95



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diisocianatos más utilizados para la síntesis de PUs con aplicaciones médicas.	32
Tabla 2. Plantas con mayor contenido de Inulina (Gupta et al., 2019; Singh et al., 2019).....	37
Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas de la inulina (Gupta et al., 2019).....	38
Tabla 4. Relaciones molares entre poliol:isocianato, y la cantidad (en gramos) de precursor usado para sintetizar el poliuretano basado en inulina (PU–INU).....	46
Tabla 5. Interpretación de los mecanismos de liberación por difusión de películas poliméricas (Ritger & Peppas, 1987).	55
Tabla 6. Asignación de bandas de los espectros IR de la inulina y la PCL-diol.....	74
Tabla 7. Asignación de las bandas de absorción de los materiales sintetizados.	76
Tabla 8. Modos vibracionales más importantes de la inulina y la PCL-diol en RAMAN.....	78
Tabla 9. Temperaturas relacionadas con el proceso de degradación, en sus diferentes etapas, de cada material.....	83
Tabla 10. Valores de las propiedades mecánicas de los PUs, obtenidos del ensayo de tensión.	84
Tabla 11. Resultados de las pruebas de degradación hidrolítica a condiciones fisiológicas. La tasa de degradación (D_r) se calculó usando una ecuación diferencial exponencial de decaimiento de primer orden.....	88
Tabla 12. Correlación de coeficientes y exponentes de liberación para los PUs, obtenidos por diferentes modelos matemáticos.....	90
Tabla 13. Datos de escala de grises del análisis radiopaco hecho a las imágenes obtenidas por rayos-X del prototipo de marcador de biopsia implantado en el modelo de glándula mamaria.	94



INTRODUCCIÓN

En la investigación y desarrollo de nuevos biomateriales para diferentes bioaplicaciones como la medicina, la remoción de contaminantes de aguas residuales y otras, es importante destacar que los polímeros son de los materiales más utilizados debido a la versatilidad que presentan para ser diseñados con características y propiedades adecuadas para aplicaciones específicas. Éstos pueden tener diferente origen; pueden ser sintéticos o naturales. Los primeros se obtienen mediante distintos procesos de síntesis en laboratorio, mientras que los segundos, tal y como su nombre lo indica, son aquellos que se pueden extraer directamente de la naturaleza. Diferentes polímeros naturales y sintéticos han sido estudiados en el área de la biomedicina y la farmacología, debido a sus excelentes propiedades de biocompatibilidad, inmunogenicidad y biodegradabilidad, las cuales pueden ser potenciadas cuando se combinan (Hsu et al., 2014; Ulery et al., 2011).

Una de las rutas para obtener nuevos biomateriales que combinen las propiedades de dos o más polímeros distintos es la síntesis vía formación de poliuretanos (PUs), los cuales son una clase de polímeros sintetizados a través de una reacción de poliadición entre polioles (ricos en hidroxilos (-OH)) y poliisocianatos (moléculas con dos o más enlaces isocianato (-N=C=O)) que al unirse forman enlaces uretano. Se sabe que los PUs poseen propiedades notables tales como: permeabilidad a la humedad, conductividad térmica, baja densidad, alta relación resistencia/peso, buenas características de biocompatibilidad, buenas propiedades mecánicas, buena estabilidad química y flexibilidad (Nohra et al., 2013; Szycher, 1999). Lo anterior los vuelve excelentes candidatos para el diseño y la construcción de nuevos biomateriales para diferentes aplicaciones como: dispositivos cardiovasculares (Boffito et al., 2016), andamios para ingeniería de tejidos (Santerre et al., 2005), portadores de fármacos (Cherng et al., 2013) y dispositivos para cierre de heridas (Kapukaya & Ciloglu, 2020). Estas propiedades están relacionadas con el tipo y la naturaleza de los precursores, así como la ruta de síntesis empleada (Brannigan & Dove, 2017; Chattopadhyay & Raju, 2007; Tersac, 2007).

La versatilidad que ofrece la síntesis de nuevos materiales vía formación de enlaces uretano, permite combinar las propiedades de polímeros sintéticos ampliamente estudiados, como es el caso de la policaprolactona-diol que ha sido aprobada por la Administración de Medicamentos y Alimentos de Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) para diferentes bioaplicaciones,



Introducción

con otros polímeros de origen natural como los polisacáridos, que son una fuente de grupos hidroxilo y exhiben una amplia gama de diversidad estructural que va desde estructuras lineales hasta estructuras altamente ramificadas, además, poseen características interesantes como su biocompatibilidad y bioactividad derivadas de su estructura química, ya que es semejante a las macromoléculas bien reconocidas por el cuerpo humano. Aunado a esto, al ser recursos naturales con alta disponibilidad y rentabilidad, a pesar de sus costos de purificación, los polisacáridos representan una gama de oportunidades amplia para desarrollar nuevos biomateriales viables para diferentes bioaplicaciones (Abdou et al., 2008; Blanco-Fernandez et al., 2011; Gerschenson et al., 2017). Estos biopolímeros se han utilizado para sintetizar PUs tanto lineales como entrecruzados (Solanki et al., 2018).

En este proyecto, se buscó desarrollar nuevos PUs usando polisacáridos como precursores naturales. Para ello se propuso utilizar la inulina, un polisacárido soluble en agua perteneciente a un grupo de carbohidratos no digeribles llamados fructanos que ha alcanzado el estado *GRAS* (acrónimo de la frase “Generalmente Reconocido como Seguro”) en E. U. A. y está ampliamente disponible en aproximadamente 36,000 especies de plantas, entre las cuales las raíces de achicoria se consideran la fuente más rica (Lara-Fiallos et al., 2017; Quitral et al., 2018; Usman et al., 2021). Se propuso aprovechar la estructura química de la inulina para sintetizar un PU entrecruzado en una síntesis en dos pasos, usando policaprolactona-diol (PCL-diol) como precursor para la formación de un prepolímero con terminaciones en enlaces -NCO, el cual se injerta entre las cadenas de la inulina. El objetivo final del proyecto fue obtener PUs potencialmente sensibles a cambios de pH y temperatura, para evaluar su posible uso en la liberación controlada de un fármaco y explorar su funcionamiento en otras aplicaciones.

El presente manuscrito se estructura de la forma siguiente: se inicia con la descripción del planteamiento del problema, la justificación de la investigación, la hipótesis y los objetivos; posteriormente, en el capítulo uno se presentan los antecedentes de la investigación más relevantes; en el capítulo dos se presentan los conceptos y características de biomaterial, materiales biodegradables y biocompatibles, poliuretanos y sus aplicaciones médicas, y polisacáridos para uso en la síntesis de poliuretanos; en el capítulo tres se detalla la metodología de síntesis y los ensayos aplicados a los materiales obtenidos; las técnicas de caracterización empleadas se describen en el capítulo cuatro; en el capítulo cinco se muestran los resultados



Introducción

obtenidos de las caracterizaciones y los ensayos realizados; en el capítulo seis se hace la correspondiente discusión de resultados; y finalmente, en el capítulo siete se exponen las conclusiones del proyecto y el trabajo a futuro.



PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La necesidad de encontrar nuevos materiales capaces de sustituir o mejorar a los polímeros sintéticos convencionales, ampliamente usados para aplicaciones en diferentes campos como la biomedicina, nos ha llevado a encontrar en los recursos naturales una opción viable, ya que éstos pueden ser sustentables y se encuentran ampliamente disponibles y accesibles en la naturaleza, siendo un ejemplo claro los polisacáridos. Dichos materiales, son una opción prometedora para desarrollar nuevos materiales con buenas propiedades de biocompatibilidad y biodegradabilidad, sin embargo, por sí mismos siguen siendo motivo de estudio ya que presentan dificultades al trabajar con ellos, por lo tanto, surge la necesidad de encontrar rutas que permitan utilizarlos para obtener sistemas funcionales para aplicaciones específicas sin desaprovechar sus características.



JUSTIFICACIÓN

La síntesis vía formación de poliuretano (PU) es una alternativa viable para obtener nuevos materiales compuestos funcionales usando polisacáridos como precursores, ya que permite aprovechar sus propiedades de biocompatibilidad, inmunogenicidad y biodegradabilidad, características que poseen gracias a que su estructura química es semejante a las macromoléculas reconocidas por el cuerpo humano. Lo anterior permitirá obtener materiales con diferentes aplicaciones como el desarrollo de sistemas de administración de fármacos. Además, el uso de polisacáridos en este tipo de investigaciones también se justifica debido a la alta versatilidad, disponibilidad y rentabilidad que poseen en comparación con otros materiales sintéticos.



HIPÓTESIS

El uso de la inulina para la síntesis de nuevos polímeros tipo poliuretano permite la obtención de nuevos materiales poliméricos con propiedades de biocompatibilidad, degradabilidad, pH responsivos y termo-responsivos, con diversas aplicaciones en el área de biomateriales.



OBJETIVOS

Objetivo general

Desarrollar nuevos polímeros, tipo poliuretano potencialmente sensibles a cambios de pH y temperatura, a partir de polímeros naturales y sintéticos, para el estudio de sus posibles aplicaciones.

Objetivos específicos

- Establecer un protocolo con la metodología a seguir para la síntesis y el procesamiento de los materiales a desarrollar, definiendo como precursores un polisacárido, un polímero sintético y un isocianato con potencial uso en la obtención de poliuretanos biodegradables, biocompatibles y potencialmente capaces de responder a estímulos de pH y temperatura.
- Analizar las propiedades físicas y químicas de los materiales por diferentes técnicas de caracterización como: FTIR, Raman, NMR, pruebas mecánicas y ensayos de hinchamiento y de biodegradabilidad.
- Evaluar la funcionalidad de los materiales para su uso en la liberación controlada de fármacos, usando Doxorrubicina como prueba, y proponer otra posible aplicación.



CAPÍTULO I ANTECEDENTES



Capítulo I. Antecedentes

Durante años, los polímeros han ido tomando protagonismo en el desarrollo de nuevos biomateriales para dispositivos en aplicaciones biomédicas. Por ejemplo, en 1937 el polimetacrilato de metilo (PMMA) se convirtió en el primer polímero en ser empleado en prótesis en odontología. Posteriormente, tres años después (1940), también fue utilizado para tratar defectos del cráneo, y en 1949 se empezó a usar en la manufactura de lentes intraoculares (Uscategui et al., 2018). Otro ejemplo son los elastómeros de silicona usados para reparar el conducto biliar en 1940 o los geles de silicona desarrollados en 1960 para obtener implantes de glándula mamaria, incluso el tereftalato de polietileno (PET) se identificó para uso clínico en prótesis vasculares sintéticas (Sangamesh Kumbar et al., 2014).

Durante el diseño y desarrollo de nuevos biomateriales la inspiración de la naturaleza siempre ha sido una herramienta prometedora, en especial en las áreas tecnológicas de vanguardia como lo son la ingeniería de tejidos y la biomedicina. En este sentido, los PUs son una plataforma que ofrece flexibilidad para el diseño de materiales capaces de adaptarse a los requisitos demandados por sus aplicaciones finales. En consecuencia, la elección de sus componentes básicos (polioles, diisocianatos y extensores de cadena) es muy importante para obtener construcciones biomiméticas, que sean capaces de cumplir las funciones que se requieren en la aplicación para la cual se estén diseñando. De acuerdo a la literatura, los PUs son potencialmente útiles para complementar o sustituir polímeros degradables alternativos aprobados por la FDA, como es el caso de los que pertenecen a la familia del poliéster, en la sustitución de tejidos u órganos dañados, así como en el campo emergente de la nanomedicina, donde pueden presentar una eficacia superior para encapsulación de fármacos (Ulery et al., 2011).

El uso de polímeros biodegradables obtenidos a partir de fuentes naturales renovables está recibiendo cada vez más atención debido a que son una buena alternativa a los plásticos tradicionales a base de petróleo. En este sentido, De Paz y colaboradores describieron la síntesis de diferentes monómeros de diol para su uso en la preparación de nuevos polímeros a base de azúcar potencialmente biodegradables y en especial, se reporta la síntesis y caracterización de un poliuretano y una poliurea por reacción de poliadición entre los dioles con 1,6-hexametileno diisocianato (De Paz et al., 2008). Actualmente, de los biopolímeros que ha tomado gran interés para el



Capítulo I. Antecedentes

desarrollo de estos materiales son los polisacáridos. De acuerdo con la literatura, uno de los factores más atractivos para usar estos materiales es la reproducibilidad de los recursos naturales como plantas y animales. Por ejemplo, los polisacáridos como el almidón, celulosa, hemicelulosa, hialurónico y alginato se obtienen de origen vegetal, mientras que la quitina y condroitina son de animales y desechos de vida marina. Además, no solo asegura un desarrollo sustentable sino que puede garantizar el uso de materias primas naturales optimizadas y caracterizadas debido a que se cuenta con técnicas de purificación, modificación y caracterización de carbohidratos (Solanki et al., 2018). Las características estructurales de los polisacáridos permiten la modificación, derivatización e incorporación en matrices poliméricas, e incluso se pueden convertir en hidrogeles mediante reticulación, formando así una red tridimensional que ha sido aprovechada por grupos de investigación como el de Van Nieuwenhove para crear sistemas de encapsulación y liberación de fármacos (Van Nieuwenhove et al., 2017). Al combinarse con otros polímeros, contribuyen significativamente al desarrollo de sistemas inteligentes de administración de medicamentos debido a su adaptabilidad para el cambio conformacional y la capacidad de unirse con otros materiales sensibles que desencadenan la liberación del fármaco en función de estímulos externos como la temperatura, el pH o el campo magnético, lo cual ha sido reportado por diferentes grupos de investigación (Cui et al., 2017; Zhao et al., 2017).

En la búsqueda de diseñar y desarrollar nuevos sistemas que permitan combinar, aprovechar y potenciar las propiedades de materiales sintéticos y naturales, la formación de poliuretanos es una alternativa viable que nos abre la posibilidad de obtener nuevos biomateriales altamente funcionales. Existen dos enfoques principales mediante los cuales se ha reportado que los polisacáridos se incorporan en la red de un PU: i) como compuestos/relleno en la red de PU y ii) enlazados covalentemente con el isocianato para formar una red entrecruzada. Existen diferentes trabajos reportados en la literatura con ambos enfoques, sin embargo, a continuación, se mencionan algunos de los más importantes que han sido tomados como base para el desarrollo del proyecto de investigación descrito en esta tesis.



I.I PUs diseñados con quitosano y quitina

Desde años atrás, se ha utilizado la quitina para formar mezclas con PU que sirven como materiales de uso biomédico (Matsui et al., 2012). En este sentido, Chen y sus colaboradores unieron la quitina covalentemente con un prepolímero de PU con terminaciones en isocianato obteniendo nuevos copolímeros, los cuales mostraron una transición de sol a gel que depende de la temperatura. De acuerdo con los resultados presentados, la quitina fue la causa de las características térmicamente reversibles del material. Además, la inclusión de quitina dentro de la matriz ayudó a la biodegradabilidad y las características antibacterianas que respaldan su potencial uso en aplicaciones farmacéuticas (S. H. Chen et al., 2012). En otro estudio, se sintetizó una variedad de elastómeros de PU con diferentes proporciones de masa de quitina en el prepolímero terminado en isocianato, con lo cual se mostró que la reacción del grupo uretano lo volvió hidrófobo en cierta medida, característica que, con el aumento en el contenido de quitina, aumentó (K. M. Zia et al., 2008). Estas películas de PU hidrófobas son útiles para suturas no absorbibles. Zia y colaboradores, informaron que PUs formados a base de quitosano podría diseñarse a nivel molecular a través de la reacción del isocianato con el grupo amina del quitosano con un fuerte enlace de hidrógeno intermolecular (K. M. Zia et al., 2008). El quitosano también se ha incrustado con PU mediante injerto (Mahanta et al., 2015), copolimerización (Zhu et al., 2004) y unión covalente con derivados del quitosano (Mahanta et al., 2015). Los estudios de Mahanta y colaboradores, donde desarrollaron un nuevo biomaterial injertando quitosano con poliuretano terminado en diisocianato, mostraron mediante estudios de solubilidad, comportamiento de hinchamiento y medición del ángulo de contacto, la modificación química hidrófoba en las moléculas, teniendo en cuenta que un grado de sustitución más alto conduce a la reticulación de las moléculas del polisacárido mediante puentes de enlaces uretano, lo que resulta en la insolubilidad y el hinchamiento controlado en el copolímero de injerto final.

También, en los últimos años se ha estudiado el uso de nanopartículas de quitosano como un nuevo portador de fármacos para la liberación controlada de fármacos contra el cáncer, introduciendo en ellas fármacos como el Temozolomida (TMZ); éstas son incorporadas en nanofibras de PU (Irani et al., 2017). De acuerdo con la investigación hecha por el grupo de Irani, la libera-



Capítulo I. Antecedentes

ción sostenida de TMZ de estas nanopartículas en un lapso de 30 días, mostró una cinética de orden cero, considerándose candidatas para tratar glioblastoma.

Además de lo anteriormente mencionado, el uso del quitosano y sus derivados en membranas de PU, han mostrado aumentar la actividad antibacteriana y la citocompatibilidad en comparación con los PUs sin el uso de estos polisacáridos, lo cual los vuelve candidatos también en aplicaciones de ingeniería de tejidos (Yuvarani et al., 2015).

I.II PUs diseñados con almidón

Otro biopolímero interesante en el diseño de nuevos PUs entrecruzados con polisacáridos en su estructura es el almidón, pues al ser la principal reserva de energía de las plantas se encuentra en las hojas de las mismas, así como en sus frutos, flores, semillas, tallos y raíces (Buléon et al., 1998). Además de ser un polisacárido altamente disponible, es un material que gracias a sus características ha mostrado ser efectivo para desarrollar microesferas de PU utilizando almidón y PCL-diol como polioliol, donde los perfiles de liberación del fármaco fueron presentados en función de la concentración de almidón, lo cual mostró que ocurre una reducción en la tasa de liberación del fármaco en un 24% cuando se utiliza almidón combinado con PCL-diol de un peso molecular de 2000 g/mol, algo que no se observó al usar una de peso molecular diferente (Emami et al., 2008).

I.III PUs diseñados con celulosa

La celulosa es un componente importante de la pared celular rígida de las plantas que se encuentra en forma de microfibrillas con una dimensión de alrededor de 2 a 20 nm de diámetro y una longitud de 100 nm a 40 micras. Estructuralmente, la celulosa es un polímero lineal de unidades de β - (1, 4)-D-glucopiranososa (Brown, 1999). Debido a propiedades como quiralidad, biodegradabilidad y capacidad de modificación química en virtud del alto número de grupos hidroxilo presentes en su estructura, la celulosa y sus derivados son útiles para una gran variedad de aplicaciones que van desde recubrimientos entéricos, aplicaciones agrícolas, cosméticas, membranas semipermeables en aplicaciones farmacéuticas e hidrogeles para aplicaciones de administración de medicamentos (Grishkewich et al., 2017; Picheth et al., 2017; Sultan et al., 2017).



Capítulo I. Antecedentes

Hablando de su uso para formar PUs, Aranguren reportó la introducción de nanocelulosa en la estructura de un PU con memoria como relleno, obteniendo propiedades mecánicas mejoradas debido al efecto de refuerzo (Aranguren et al., 2013). Además, entre 2012 y 2017, se exploró el uso de ésteres de celulosa (Han et al., 2012) y los nanocristales de celulosa (Grishkewich et al., 2017) para aplicaciones en el campo de los sistemas de liberación controlada de fármacos, con procesos de preparación bien establecidos, que ofrecen biocompatibilidad y técnicas de procesamiento viables. La incorporación de formas modificadas de nanocristales de celulosa en PUs, de acuerdo a varios autores, ha mostrado una mejora en la resistencia mecánica, biodegradabilidad y biocompatibilidad en los biomateriales (Gao et al., 2012; H. Liu et al., 2013; Seyedin et al., 2014; F. Zia et al., 2015).

Ahora bien, además de usar la celulosa como refuerzo en matrices de PU, ésta también puede modificarse químicamente para obtener PUs reticulados, los cuales son polímeros inteligentes funcionales en la administración de fármacos sensibles al pH (Solanki & Thakore, 2015), y además, también funcionan para preparar andamios nano-fibrosos mediante electrohilado para aplicaciones previstas en infecciones de heridas por quemaduras, crónicas y diabéticas (Unnithan et al., 2014). Incluso, las micro/nano fibras compuestas de PU y acetato de celulosa con núcleo y cubierta han mostrado ser potencialmente efectivas en la administración intravaginal de fármacos (Hua et al., 2016).

I.IV Acarreadores de fármacos basados en inulina

En el desarrollo de nuevos acarreadores de fármacos, se han utilizado diferentes polímeros naturales o sintéticos biocompatibles, biodegradables, no tóxicos y no inmunogénicos para recubrir los portadores cargados con agentes terapéuticos. Uno de los polímeros más utilizados para el recubrimiento de nanoportadores metálicos, por ejemplo, ha sido el polietilenglicol (PEG), sin embargo, la inulina, un polisacárido natural, también ha tenido un auge en este tipo de aplicaciones (Gupta et al., 2019).

El objetivo principal de un sistema de transporte de fármacos es administrar la concentración máxima de fármaco en el órgano, tejido o células infectados sin afectar las células



Capítulo I. Antecedentes

o tejidos sanos. El problema más importante en la administración de fármacos hidrófobos es su baja solubilidad en los medios fisiológicos, lo cual provoca que éstos se absorban en cantidades muy bajas (baja biodisponibilidad), por tanto, la mayoría de los fármacos se excretan del organismo. Estos problemas se pueden solucionar al mezclarse físicamente con sustancias hidrófilas, mediante el método de dispersión sólida, es decir, los fármacos hidrófobos se dispersan con vehículos hidrófilos para mejorar su solubilidad acuosa. En varios estudios, la inulina ha demostrado ser efectiva para desarrollar la dispersión sólida de fármacos hidrófobos (Van Drooge et al., 2004). En este sentido, la inulina se usa como agente de recubrimiento o como un sistema de transporte de medicamentos que previene la liberación del medicamento en el tracto gastrointestinal superior, reduciendo así varios efectos secundarios como la irritación del estómago y el intestino delgado, además de maximizar la concentración de medicamentos que se administran directamente al colon (Castelli et al., 2008). En otro estudio, la disolución de otro fármaco hidrófobo, el Irbesartán (utilizado para el tratamiento de la hipertensión) aumentó del 10% al 90% cuando se unió físicamente con inulina (Fares et al., 2011; Gupta et al., 2019).

Gracias a las propiedades de la inulina que le permiten no degradarse en las partes superiores del sistema digestivo es una opción viable de biomaterial para diseñar nuevos sistemas de transporte de fármacos para enfermedades específicas como infecciones y cáncer de colon, principalmente (Gupta et al., 2019). En este sentido, para el transporte selectivo de Doxorubicina (DOXO), se ha estudiado el sistema de nanopartículas de Au-PEG recubiertas con inulina y cargadas con DOXO, en dos líneas celulares de cáncer diferentes: HeLa (líneas celulares de cáncer de cuello uterino humano) y A549 (líneas celulares de cáncer de pulmón humano). En este estudio se encontró que este sistema es capaz de administrar una cantidad superior de DOXO que otros sistemas reportados anteriormente sin el uso de inulina (Li Volsi et al., 2016).

Otro sistema que se ha probado como acarreador de fármacos son los conjugados lípido-polisacárido, donde la inulina se utiliza para desarrollar nuevos sistemas de administración de micelas de tamaño nanométrico para la administración de fármacos hidrófobos. La inulina se conjugó con éxito con vitamina E usando la química de carbodiimida, formando un enlace éster entre el grupo carboxilo de la vitamina E y los grupos hidroxilo de la inulina. Este bioconjugado



Capítulo I. Antecedentes

forma nanomicelas autoensambladas de tamaño comprendido entre 24 y 60 nm después de mantenerlas en agua, capaces de liberar moléculas insolubles en agua como la curcumina y el celecoxib (Mandracchia et al., 2014, 2016; Tripodo et al., 2015). Además, se demostró que el enlace éster entre la inulina y la vitamina se degrada enzimáticamente liberando la vitamina, algo que aumenta el comportamiento antioxidante en entornos de alto estrés oxidativo (Gupta et al., 2019; Mandracchia et al., 2014).

En otros estudios, se reportó la formación de conjugados fármaco-polisacárido, donde la inulina se une directamente con los agentes terapéuticos funcionales para mejorar la terapia del cáncer, especialmente, con la DOXO, ya que es un medicamento ampliamente utilizado contra varios tipos de cáncer. Se desarrollaron conjugados de DOXO con inulina para tratar las células de cáncer de colon, por ejemplo. Esta unión es posible mediante la reacción del grupo hidroxilo de la inulina que se convierte en grupos carboxilo y, por tanto, se puede unir covalentemente al grupo amina de la DOXO. En estos estudios, se encontró que el conjugado inulina-DOXO es hasta 76% más citotóxico para las células cancerígenas (Gupta et al., 2019; Schoener et al., 2013). En otro estudio, la unión se realizó a través de citraconilamida espaciadora sensible al pH, para producir un efecto citotóxico dirigido hacia las células cancerosas (Mauro et al., 2015). Es bien sabido que el pH extracelular del entorno de los tejidos tumorales es ligeramente ácido en comparación con el tejido normal o sano, por tanto, tener un sistema de administración sensible al pH es altamente benéfico en la administración selectiva de fármacos a los tejidos tumorales, proporcionando la ventaja de liberar más fármaco en las células tumorales en lugar de liberarlo en la sangre. Además, estos conjugados también mostraron ser selectivos hacia las células cancerosas, ya que los estudios develaron que la viabilidad de las células cancerosas disminuye en gran medida después del tratamiento con conjugado inulina-DOXO en comparación con el tratamiento únicamente con DOXO libre, mientras que, en el caso de células sanas, la DOXO libre presentó mayor toxicidad que el conjugado (Kato et al., 2013; Yoneda et al., 2015).

Por otro lado, el uso de nanopartículas poliméricas de forma esférica permite encapsular una gran cantidad de fármacos (hidrófobos e hidrófilos) y son capaces de transportarlos fácilmente a las células/tejidos infecciosos selectivos a través de objetivos pasivos. En estos



Capítulo I. Antecedentes

sistemas de suministro activo dirigido, se unen varios ligandos/moléculas diana (anticuerpos, vitaminas, azúcares, etc.) en la superficie más externa de las nanopartículas poliméricas (Gupta et al., 2019). Merli y sus colaboradores, prepararon nanopartículas de quitosano-carboximetil-inulina utilizando un método de gelificación inotrópica para encapsular la Mitoxantrona (MTX) (agente antineoplásico) (Merli et al., 2016). Las nanopartículas cargadas con MTX se incubaron con la línea celular neoplásica MDA-MB-231 (cáncer de mama humano) y líneas celulares no neoplásicas NIH3T3 (fibroblastos humanos) para evaluar la citotoxicidad; se encontró que el material propuesto mejora la mortalidad de MDAMB-231 en comparación con el uso de MTX libre. Además, este sistema de administración mostró un efecto de toxicidad sólo en la línea de células cancerosas *in vitro* con el aumento de la supervivencia de las células no neoplásicas NIH3T3.

Otro de los enfoques en los que se ha utilizado la inulina para desarrollar sistemas de transporte y liberación de fármacos es el uso de hidrogeles. Estos materiales, son una estructura de red de polímero hidrófilo que puede absorber y retener una gran cantidad de agua. En el campo farmacéutico, se suele utilizar para atrapar diferentes fármacos antineoplásicos y liberarlos en sitios específicos conforme el polímero se va degradando (Pitarresi et al., 2008).

En el presente trabajo de investigación, se planteó estudiar la mezcla de inulina y PCL-diol para el diseño y desarrollo de nuevos PUs con potenciales aplicaciones en el ámbito médico, tomando en cuenta los conocimientos obtenidos en trabajos previos desarrollados en el grupo de trabajo, así como los trabajos previamente reportados para el uso de polisacáridos en el desarrollo de nuevos PUs biocompatibles y biodegradables.



CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO



II.I Biomateriales

La necesidad de tener dispositivos capaces de interactuar con el sistema biológico para curar, reparar o reemplazar algún tejido, órgano o función del cuerpo, ha llevado a los investigadores del mundo a diseñar y construir nuevos materiales, capaces de cumplir con los requerimientos necesarios para este fin. Para que un material sea considerado como “biomaterial”, debe cumplir con ciertas especificaciones de biodegradabilidad e interactuar con células y tejidos sin generar problemas de rechazo, o de citotoxicidad (Garrido, 2004). Debido a esto, los materiales destinados para bioaplicaciones deben ser capaces de funcionar a nivel molecular y ser metabolizados por mecanismos fisiológicos (enzimas y pH) (Amato & Ezzell, 2014).

Los biomateriales se pueden agrupar en cuatro grupos principales: i) polímeros, ii) metales, iii) cerámicas y iv) los materiales compuestos. Sin embargo, también se suelen clasificar según su origen, naturales y sintéticos; los primeros son obtenidos a través de procesos de síntesis en los laboratorios, mientras que los segundos, tal y como lo dice su nombre, son aquellos que se obtienen o extraen directamente de la naturaleza (Soria et al. , 2009; Thomas et al., 2015). Los biomateriales de origen natural son similares, a veces idénticos, a las moléculas que el sistema biológico puede reconocer y procesar a través de ciclos metabólicos sin presentar ningún problema. Otra característica importante es que pueden enviar señales bioquímicas que promueven la integración con el tejido y su regeneración. Sin embargo, la gran desventaja de trabajar con biomateriales de origen natural es que pueden desnaturalizarse o descomponerse fácilmente a temperaturas relativamente bajas, en comparación con los sintéticos, o sufrir cierta degradación al ser expuestos a condiciones ambientales y de radiación distintas a las de su entorno natural, lo cual dificulta su procesamiento y esterilización (Amato & Ezzell, 2014; Soria et al., 2009).

II.II Materiales biodegradables

Durante el desarrollo de nuevos biomateriales con fines médicos, los ensayos de degradación son muy importantes, ya que la capacidad funcional que éstos tendrán para determinada aplicación que requiera su uso dentro del cuerpo depende directamente del lapso que pueden



Capítulo II. Marco Teórico

permanecer ahí y de su capacidad de degradarse sin producir productos de degradación tóxicos (Park & Lakes, 2007).

El término “biodegradación”, se entiende como el proceso de descomposición que sufre un material por acción de la naturaleza; sin embargo, en el caso de los biomateriales con fines médicos, la biodegradación se estudia a partir de los procesos biológicos que ocurren dentro del cuerpo, los cuales, eventualmente, causan una degradación gradual del material (Tamariz & Rios-Ramrez, 2013). Además de los procesos biológicos, los procesos químicos y las interacciones físicas, pueden impulsar la degradación de un material al estar en contacto con un entorno biológico. La tasa de degradación de un biomaterial dentro de un organismo está relacionada tanto con las características del material como con la parte del cuerpo donde éste sea implantado. En el caso de la degradación química, ésta será influenciada por la composición, estructura molecular, polidispersidad, cristalinidad, área expuesta de la superficie y las características hidrofílicas o hidrofóbicas del material (Bouhadir et al., 2001; Tamariz & Rios-Ramrez, 2013).

La degradación de un material puede ser superficial o en masa. En el caso de la degradación masiva, un factor importante es la absorción de agua que tenga el material, por ejemplo; para los polímeros hidrofílicos la tasa de degradación es más rápida, ya que la conversión de polímero en materiales solubles en agua se acelera provocando el colapso de todo el material, obteniendo finalmente una degradación en todo su volumen. Por otro lado, la degradación superficial aparece en materiales hidrofóbicos o con estructuras muy sólidas, lo cual hace que este tipo de degradación sea más lenta y, en general, los materiales que lo presentan permiten un mejor control de las tasas de degradación (C. C. Chu, 2002; Tamariz & Rios-Ramrez, 2013).

A partir de lo anterior, podemos definir a la biodegradación en un entorno biológico como una descomposición gradual de un material mediado por una actividad biológica específica e influenciada adicionalmente por las propiedades químicas del material y las interacciones físicas y mecánicas que tenga con su entorno. Estas interacciones, provocan cambios en las propiedades fisicoquímicas de los fluidos biológicos, lo cual activa un factor muy importante en la biodegradación, que es la interacción con el sistema inmune (Azevedo & Reis, 2005; Bouhadir et al., 2001; Tamariz & Rios-Ramrez, 2013). En general, después de la implantación, el biomaterial absorbe



Capítulo II. Marco Teórico

agua y se hincha, haciendo que la degradación progrese desde su exterior hacia su interior (Phua et al., 1987; Santerre et al., 2005). Existen básicamente tres tipos de mecanismos de degradación, el oxidativo, el hidrolítico y el enzimático, los cuales se describen a continuación:

- La degradación hidrolítica puede definirse como la escisión de enlaces químicos; por ejemplo, en un material polimérico, el ataque de agua forma oligómeros y finalmente monómeros. Este tipo de hidrólisis podría prescindir de compuestos biológicos específicos como las proteasas, aunque, de hecho, muchos procesos de biodegradación enzimática son por reacciones de hidrólisis. La hidrólisis inicia cuando el agua entra en contacto con el enlace lábil al agua del material y termina una vez que se llevan a cabo las reacciones de hidrólisis; estas reacciones pueden ser catalizadas por ácidos, bases o sales (Azevedo & Reis, 2005). Por lo tanto, los materiales hidrofílicos, como los hidrogeles, tienen una alta tasa de biodegradación (Slaughter et al., 2009).
- El mecanismo de oxidación sucede cuando los materiales se exponen a los fluidos y tejidos del cuerpo, lo cual activa el sistema inmune; entonces, durante la respuesta inflamatoria a materiales extraños, las células inflamatorias, particularmente los leucocitos y los macrófagos, pueden llegar a producir especies reactivas de oxígeno como superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), óxido nítrico (NO) y ácido hipocloroso (HOCl). Esto genera un efecto oxidativo que puede causar la degradación del material. Por ejemplo, si tenemos un material que contenga poliésteres alifáticos, el superóxido podría acelerar su degradación mediante la escisión de enlaces éster a través del ataque nucleofílico del O_2^- (Azevedo & Reis, 2005; C. C. Chu, 2002).
- En el mecanismo de degradación enzimática, las enzimas actúan como catalizadores biológicos (Park & Lakes, 2007). Enzimas como las hidrolasas, que incluyen proteasas, esterases, glicosidasas y fosfatasas, entre otras, pueden catalizar reacciones de hidrólisis. Por ejemplo, se ha demostrado que el grado de biodegradación de los poliuretanos, en presencia de la enzima colesterol esterasa, son aproximadamente 10 veces más altos que en presencia de solución tampón únicamente (Santerre et al., 2005). La degradación enzimática superficial sucede cuando las enzimas son incapaces de penetrar el material debido a sus



Capítulo II. Marco Teórico

propiedades químicas y físicas. La interacción entre las enzimas y los materiales implican típicamente cuatro pasos: i) difusión de la enzima desde la solución a granel a la superficie sólida; ii) la adsorción de la enzima en el sustrato, lo que resulta en la formación del complejo sustrato-enzima; iii) la catálisis de la reacción de hidrólisis; y finalmente iv) la difusión de los productos de degradación solubles del sustrato sólido a la solución (Azevedo & Reis, 2005; Santerre et al., 2005).

Al realizar ensayos de biodegradación *in vitro*, debemos considerar que las tasas de degradación *in vivo* de un material podrían ser más rápidas que *in vitro*; esto debido a los diferentes efectos causados por las actividades celulares y enzimáticas que ocurren en el cuerpo (Park & Lakes, 2007; Phua et al., 1987). Por lo tanto, las pruebas de degradación *in vitro* en medios de envejecimiento simples son realizados para predecir el rendimiento de los biomateriales en la situación clínica, teniendo en cuenta que la complejidad de los fluidos corporales puede producir resultados diferentes cuando se estudian los mismos materiales (Park & Lakes, 2007). Sin embargo, los estudios de los proceso de biodegradación en el laboratorio siguen siendo fundamentales, no solo para predecir y modular la duración de un biomaterial dentro del cuerpo, sino también para evaluar su biocompatibilidad, la liberación de drogas y la invasión celular; por ello es necesario tener un profundo conocimiento del material a estudiar para entender los mecanismos químicos, físicos y biológicos que los hacen apropiados para la aplicación que se busque darle (Phua et al., 1987).

En el caso de los ensayos de biodegradación en biomateriales poliméricos para fines médicos, las normas aplicables son las siguientes: ISO 10993-12, ISO 10993-13, ISO 10993-9, ISO 10993-17 e ISO 13781. En ellas se da una descripción detallada del proceso, indicando cómo interpretar los resultados y cómo reportarlos.

II.III Materiales biocompatibles

Un aspecto sumamente importante al evaluar el desempeño de un biomaterial es su "biocompatibilidad", lo cual se suele medir "*in situ*" mediante la interacción entre el biomaterial y células biológicas para una tarea biomédica específica (Menzies & Jones, 2010). En general, se le



Capítulo II. Marco Teórico

llama materiales biocompatibles, principalmente a todos aquellos materiales que son capaces de interactuar con los tejidos u órganos, de manera que permitan su funcionalidad total o parcial sin generar efectos adversos para el individuo (Axinte et al., 2019). En este sentido, si un nuevo biomaterial al ser evaluado retrasa o afecta al proceso para el que está destinado a ayudar, se considerará incompatible (P. K. Chu et al., 2002). Por ejemplo, en el caso de la ingeniería de tejidos, si un sustrato no promueve el crecimiento de una monocapa suave de células en su superficie, entonces este no es biocompatible para esta aplicación específica, porque su "resultado deseado" es permitir el crecimiento de un tejido en su superficie (Menzies & Jones, 2010). La biocompatibilidad de los materiales se puede clasificar en dos, la superficial y la estructural: i) la compatibilidad superficial se refiere principalmente a su grado de adaptación a los tejidos hospedadores, en cuanto a características biológicas, químicas y superficiales; ii) mientras que la compatibilidad estructural se refiere a la aceptación del comportamiento mecánico, como la rigidez, el módulo elástico y la resistencia, las cuales son primordiales para una verdadera integración entre el implante y la interfaz del tejido (Axinte et al., 2019).

II.IV Polímeros como biomateriales

En los últimos años, algunos de los biomateriales que han tomado gran interés, para áreas como la biomedicina, son los biopolímeros debido a sus propiedades únicas e interesantes de biocompatibilidad y biodegradabilidad. Aunque existen muchos biopolímeros sintéticos biodegradables, solo un pequeño grupo de ellos es utilizado actualmente en esta área, debido a que solo se han publicado estudios detallados de pruebas *in vivo*, investigaciones de tasa de degradación y propiedades físico-mecánicas para un grupo limitado. Algunos de los más utilizados son los poliésteres hidrofóbicos como la PCL-diol, el poliácido glicólico (PGA), el poliácido láctico (PLA) y algunos poliaminoácidos. También son utilizados polímeros hidrofílicos biodegradables como el polivinil alcohol (PVA), el polioxido de etileno (POE) y los poliuretanos (PU) (Amato & Ezzell, 2014; Ulery et al., 2011).

Hablando específicamente de la PCL-diol (ver figura 1), esta se ha utilizado ampliamente en el campo de la ingeniería de tejidos debido a su disponibilidad, precio relativamente económico y capacidad de modificación en su estructura molecular. Además, sus propiedades químicas y

Capítulo II. Marco Teórico

biológicas, estado fisicoquímico, degradabilidad y resistencia mecánica se pueden ajustar, por lo que puede ser utilizado para aplicaciones en las que se requiera resistencia a duras condiciones mecánicas, físicas y químicas. Por otro lado, debido a que el tiempo de degradación de la PCL-diol es bastante largo, se utiliza principalmente para implantes en tejidos duros del cuerpo donde la curación también requiere un lapso prolongado y en los tejidos del cuerpo que soportan carga. Lo interesante de este material es su adaptabilidad, que la permite no limitarse a aplicaciones en ingeniería de tejidos, pues se puede disminuir su peso molecular y su tiempo de degradación, lo cual da lugar al diseño y construcción de copolímeros altamente funcionales para aplicaciones en áreas como la liberación controlada de fármacos, entre otras (Emami et al., 2008; Malikmammadov et al., 2018).

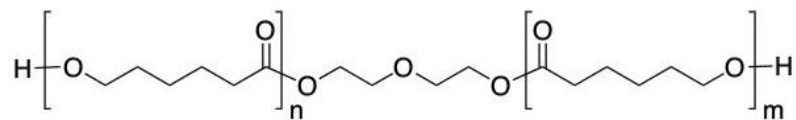


Figura 1. Estructura molecular de la policaprolactona diol (PCL-diol).

En el caso de los polímeros de origen natural, éstos han despertado interés en la investigación y el desarrollo de nuevos biomateriales ya que presentan mejores propiedades de biocompatibilidad y biodegradabilidad que los sintéticos, principalmente para aplicaciones donde no estén sometidos a esfuerzos de carga, por ejemplo, prótesis vasculares, catéteres, prótesis faciales, piel, cartílago y en la liberación controlada de fármacos (Asefnejad et al., 2011; Rošic et al., 2012; Sangamesh Kumbar et al., 2014).

La ventaja que poseen los biopolímeros sintéticos a los naturales es que son más uniformes y predecibles en cuanto a propiedades mecánicas y químicas debido a que en los polímeros naturales es complicado, y en ocasiones imposible, controlarse variables como el peso molecular, lo cual afecta a la previsibilidad en sus propiedades, además de que en general presentan estructuras químicas complejas, sin embargo, al combinarse o ser modificados, éstos pueden ser utilizados como base para diseñar nuevos materiales para cumplir propósitos específicos, aprovechando sus propiedades únicas (Amato & Ezzell, 2014; Sangamesh Kumbar et al., 2014).



Capítulo II. Marco Teórico

En resumen, un polímero ideal para aplicaciones en medicina debe exhibir las siguientes propiedades: no inducir inflamación ni producir reacciones tóxicas o alergias en el cuerpo del paciente; tener una buena procesabilidad para diseñar el dispositivo final; soportar el proceso de esterilización sin que se modifiquen sus propiedades; deben ser biocompatibles; durables, funcionales y fiables para cada aplicación específica (Sangamesh Kumbar et al., 2014).

II.V Poliuretanos (PUs)

Los PUs son una clase de polímeros que se obtienen a través de la reacción de polimerización de crecimiento escalonado entre un di/poli-isocianato, que contienen grupos funcionales isocianato (-NCO), y un oligómero terminado en hidroxilo (di/poli-ol) que tiene al menos dos átomos de hidrógeno reactivos; además, se suelen usar extensores de cadena (dioles o diaminas) para terminar de unir y extender las cadenas del material final (Chattopadhyay & Raju, 2007). Los PUs se conocen como copolímeros de bloques segmentados, debido a que su estructura molecular está conformada por segmentos denominados “duros o rígidos”, conformados por la molécula del di/poli-isocianato y los extensores de cadena, y “suaves o blandos”, conformados por las cadenas del di/poli-ol (Mahanta et al., 2015). Los PUs son de naturaleza termoplástica y termoes estable, lo cual los provee de propiedades térmicas, mecánicas y químicas muy interesantes para la industria y la biomedicina. Dichas propiedades pueden ser diseñadas y modificadas desde la síntesis, ya que se pueden controlar las variables del proceso para obtener productos afines a las aplicaciones específicas en las que se les requiera. Entre estas variables, está la cantidad relativa de los reactivos ocupados, el nivel de funcionalidad del poli-ol, la relación isomérica del isocianato, y método de mezclado para los reactivos, la temperatura, el solvente, entre otras (Pooladian & Alavi Nikje, 2018; Uscategui et al., 2018). Los segmentos duros y blandos, mencionados anteriormente, se encuentran unidos por medio de enlaces uretano ($R-NH-COO-R'$), donde el segmento duro es el que propicia los entrecruzamientos físicos en la matriz del segmento blando. A continuación, se hará una breve descripción del tipo de PU que se puede obtener, dependiendo del tipo de precursores que se utilicen:



Capítulo II. Marco Teórico

- Al usar un diisocianato y un polioliol bifuncional se obtiene un PU termoplástico, mientras que al usar reticulantes, con más de dos grupos funcionales, producen un PU termoestables con reticulación tridimensional (Ilavský et al., 2001).
- Los PU obtenidos a partir de la reacción entre polioles e isocianatos bifuncionales son de naturaleza lineal, provocando que tengan malas propiedades mecánicas, esto es una baja resistencia a los esfuerzos mecánicos (Uscategui et al., 2018).
- La introducción de extensores o reticuladores de cadena dentro de la red de un PU mejorará las propiedades físicas del material, debido a que se obtiene una mejor definición en la micro fase entre los segmentos “duros” (compuestos de $-NH-COO-$ y el extensor de cadena o reticulador) y los segmentos blandos (la parte de polioliol). Los dominios “duros” son los responsables de dar resistencia mecánica, mientras la partes “blandas” proporcionan flexibilidad (Caracciolo et al., 2009).
- La relación entre segmentos duros y blandos dentro de la estructura del PU influye directamente en las propiedades finales. De acuerdo con la literatura, un PU con un contenido de segmento duro entre 40 y 65% será un elastómero duro, mientras que si su contenido se encuentra entre 15 y 40% será un elastómero bastante blando y gomoso (Cherng et al., 2013).

II.V.I PUs para aplicaciones médicas

Los PUs, como familia de polímeros, han ganado gran interés en la industria de la biomedicina, gracias a sus potenciales aplicaciones derivadas de la versatilidad de cualidades que pueden obtener al ser diseñados y sintetizados, sobre todo se destacan sus propiedades fisicoquímicas, mecánicas, su biodegradabilidad y biocompatibilidad (Basterretxea et al., 2016; Uscategui et al., 2018).

Las primeras aplicaciones que tuvieron los PUs en el campo biomédico fueron en aplicaciones cardiovasculares desde la década de los ochenta; desde bolsas de sangre, catéteres vascula-



Capítulo II. Marco Teórico

res y corazones artificiales hasta pequeños injertos de acceso vascular y en cirugías de *bypass* (Qizhi Chen et al., 2013). Aunque estos materiales presentaron ventajas con el tiempo se identificaron inconvenientes, principalmente en cuanto a la variabilidad de las propiedades mecánicas. Por esta razón, en la actualidad se busca desarrollar nuevos PUs, y mejorar los existentes, a través de modificaciones químicas que provean de una buena bioestabilidad y propiedades adecuadas para cada aplicación específica con poca o nula variabilidad (Uscategui et al., 2018). Las investigaciones recientes con PUs para fines médicos se han enfocado en encontrar un balance entre biodegradabilidad y estabilidad para lograr materiales versátiles capaces de ser usados en diversas aplicaciones, para lo cual se requiere hacer un arduo estudio de las propiedades mecánicas y de biocompatibilidad (Qizhi Chen et al., 2013). Estas propiedades, se pueden modificar a través de la variación de la composición de sus unidades monoméricas y, como se mencionó anteriormente, por el tamaño de los bloques de los diferentes monómeros dentro de sus cadenas (Kiran et al., 2012; St. John, 2014). Los PUs han logrado jugar un papel importante en el diseño y desarrollo de nuevos dispositivos biomédicos e implantes, ya que se pueden utilizar tanto para usos internos (catéteres o implantes) como para aplicaciones de uso externo (*v. gr.*, sistemas de liberación controlada de fármacos) (Uscategui et al., 2017). La biodegradabilidad de un PU, generalmente se debe a que se tienen fracciones, dentro de las cadenas principales del polímero, fáciles de transformar e hidrolizar. Estudios han encontrado una correlación entre flexibilidad y biodegradabilidad; siendo que cuanto más flexible sea un PU, será más susceptible a la biodegradación (Uscategui et al., 2018; Van Minnen et al., 2006).

Cuando se desarrollan nuevos biomateriales se requiere de técnicas de procesamiento adecuadas, dependiendo de las aplicaciones específicas. Las técnicas de procesamiento para PUs, corresponden a las usualmente empleadas para el procesamiento de polímeros de forma, por ejemplo; el moldeo de materiales fundidos, el moldeo a partir de soluciones, la fabricación de láminas, fibras, entre otros. Existen distintas técnicas como la extrusión, que permite la incorporación de materiales al producto final con el fin de modificar alguna propiedad específica, o métodos de manufactura de dispositivos para aplicaciones biomédicas como el espumado de PUs y



Capítulo II. Marco Teórico

métodos para la fabricación de fibras por medio de electrohilado (*Electrospinning*) (Uscategui et al., 2018; Zuber et al., 2014).

En párrafos anteriores se ha indicado que las propiedades mecánicas, fisicoquímicas, térmicas, morfológicas y biológicas de un PU dependen directamente del tipo de reactivos empleados durante la síntesis, provocando que las longitudes de las cadenas sean responsables de las características del material, y además se ha descrito como los PUs están formados por segmentos duros, compuestos por cadenas alifáticas o aromáticas, y segmentos blandos, compuestos por poliéteres o poliésteres lineales o alifáticos o policarbonatos (Braun et al., 2016). Por lo anterior, es de suma importancia realizar una caracterización específica y rigurosa de los materiales sintetizados para poder determinar la funcionalidad que tendrán para funcionar como dispositivo biomédico. A continuación, se mencionan las principales caracterizaciones que se realizan a un PU con potencial para su uso como biomaterial, describiendo el tipo de información que se obtiene de cada una:

- Un ensayo mecánico es fundamental para determinar la aplicación de determinado biomaterial, ya que permite obtener los parámetros de carga que son requeridos para un tejido de interés (Temenoff, 2008). Las propiedades físicas y mecánicas dependen estrechamente de la estructura atómica y molecular de los precursores usados; la naturaleza de los enlaces y las subunidades de la estructura proporcionan propiedades mecánicas únicas de tensión/deformación, corte/torsión, flexión y viscoelásticas. El ensayo más utilizado para evaluar estas propiedades es el de tensión-deformación, ya que se puede determinar la fuerza tensil, el módulo de Young y la elongación a la rotura (Uscategui et al., 2018).
- La evaluación de las propiedades térmicas de PUs es de suma importancia, ya que estas dependen de los dominios de los segmentos blandos y duros. Esto se debe a que se pueden formar dominios cristalinos y amorfos, los cuales definen no solo la rigidez sino también la estabilidad térmica del material. Además, la temperatura de transición vítrea estará relacionada con la morfología del material (Braun et al., 2016; Uscategui et al., 2018). En este sentido, estructuras morfológicas amorfas afectan directamente la tenacidad y la fle-



Capítulo II. Marco Teórico

xibilidad de un PU. Por esta razón la determinación de la temperatura de transición vítrea permite reproducir la tenacidad de un dispositivo médico a temperatura ambiente. Para evaluar estas propiedades se suele usar un Análisis de Termogravimetría (TGA, por sus siglas en inglés), para identificar la estabilidad térmica del material, y otro de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC, por sus siglas en inglés), para identificar la temperatura de transición vítrea, principalmente (Uscategui et al., 2018).

- El análisis de la composición química de la estructura del material y de su superficie son importantes, ya que caracterizaciones por técnicas espectroscópicas como la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés), la espectroscopia Raman y la espectroscopia por resonancia magnética nuclear (NMR, por sus siglas en inglés), permiten no solo comprobar que se está formando el material con la composición deseada, sino también ayudan a predecir la biocompatibilidad y el comportamiento de los sistemas que se están diseñando (Phua et al., 1987; Solanki & Thakore, 2015; Trovati et al., 2010).
- Evaluar el ángulo de contacto y la humectabilidad de un material proporciona información acerca de la hidrofobicidad/hidrofilicidad, lo cual es un indicador indirecto de la movilidad molecular de la superficie, lo cual se relaciona con la adsorción de proteínas en la superficie y la biocompatibilidad. Además, los ensayos de hinchamiento y de absorción y liberación de moléculas bajo diferentes condiciones de temperatura y pH, ayudan a identificar la capacidad de los materiales a responder a ciertos estímulos, dándonos información relevante sobre su funcionalidad para diseñar dispositivos inteligentes para la liberación controlada de fármacos, por ejemplo (S. H. Liu et al., 2019).

De acuerdo con la FDA todos los dispositivos médicos se agrupan de acuerdo con el nivel de control necesario para garantizar su seguridad y efectividad. De esta forma se tienen tres grandes grupos denominados dispositivos Clase I, dispositivos Clase II y los dispositivos Clase III (Khan et al., 2014). En la Clase I se encuentran los dispositivos médicos que están relacionados con equipos e instrumentos quirúrgicos; en la Clase II están los dispositivos que se usan de forma



Capítulo II. Marco Teórico

temporal y que no superan los treinta días dentro del organismo; y en la Clase III se agrupan aquellos que cumplirán una función permanente dentro del organismo. Los PUs, al ser materiales tan versátiles, pueden ser diseñados para aplicaciones dentro de los tres grupos mencionados (Uscategui et al., 2018). Para fines de este trabajo, se describen a continuación las características que requiere un PU para ser utilizado en aplicaciones enfocadas en la Clase II, es decir en aplicaciones temporales dentro del organismo.

- Dispositivos para cierre de heridas: las heridas quirúrgicas pueden cerrarse por diversos medios o materiales quirúrgicos implantables, incluyendo suturas, adhesivos, cintas y grapas. Los materiales utilizados para este fin deben inhibir la fibroplasia en la cicatrización de heridas, y promover el crecimiento celular, fundamentalmente. Sin embargo, también se requiere tener materiales con la capacidad de regular la tensión en la herida a través de la elasticidad, para mejorar el proceso de cicatrización sin presentar señales de infección de la herida ni anomalías debidas al material implantado (Ebnesajjad, 2012; Vogels et al., 2017).
- Sistemas de liberación de fármacos: En este caso, encontramos sistemas como; parches transdérmicos, microesferas, cápsulas, bombas, aerosoles, implantes oculares y anticonceptivos. En este tipo de aplicaciones se requiere desarrollar sistemas que tengan pocos o nulos efectos secundarios para los humanos, con buenas propiedades de estabilidad química, de resistencia a la abrasión y de propiedades mecánicas (Cherng et al., 2013). En este sentido, los PUs enfocados a aplicaciones en este ámbito, deben cumplir con ciertas capacidades importantes en la entrega o liberación de fármacos, entre ellas se encuentran la capacidad de hincharse, la hidrofiliidad/hidrofobicidad, la difusión del agente activo, la degradación, y la temperatura de transición vítrea. Por ejemplo, si un material tiene una elevada temperatura de transición vítrea, será indicativo de una menor movilidad de las cadenas de los polímeros, disminuyendo así el porcentaje de liberación, debido a la baja difusión del fármaco a través de las cadenas del polímero. Por otro lado, propiedades como la hidrofiliidad y la naturaleza degradable del PU incrementaran la liberación del



Capítulo II. Marco Teórico

fármaco debido a la rápida difusión del fármaco gracias a la hidratación y la pérdida del peso molecular (Sangamesh Kumbar et al., 2014).

- Andamios en ingeniería de tejidos: en este caso los PUs biodegradables con buenas propiedades de biocompatibilidad y propiedades mecánicas favorables permiten desarrollar andamios para diferentes aplicaciones en la ingeniería de tejidos, ya que son capaces de cumplir con los objetivos de restaurar, intercambiar, preservar o incrementar la función de un tejido o de un órgano. Los PUs son útiles para aplicaciones de soporte ya que sus propiedades pueden ser modificadas hasta encontrar la adecuada, variando la relación entre segmentos suaves y duros, dependiendo del tipo de andamio que se desee desarrollar (Sangamesh Kumbar et al., 2014; Uscategui et al., 2018).

Como se ha visto en esta sección, de acuerdo con la estructura química de los materiales a utilizar en el proceso de síntesis se puede predecir el tipo de propiedades mecánicas, fisicoquímicas y morfológicas de los PUs y del mismo modo, habrá un impacto en las propiedades biológicas relacionadas directamente con las propiedades mecánicas; por ello es fundamental la adecuada selección de los monómeros para la síntesis de un PU para cada aplicación biomédica específica. Además, el utilizar aditivos, extensores de cadena, mezclas con otros polímeros o biopolímeros proporciona mejoras en las propiedades de biocompatibilidad y genera un valor agregado a los dispositivos.

II.V.II Síntesis de PUs

El método de síntesis de PUs se puede identificar por medio de las etapas necesarias para realizar la síntesis, una o más etapas. Es así como, el método más empleado se basa en la formación del enlace uretano a través de un proceso de dos pasos; el primer paso es una reacción que implica unión de los segmentos blandos, macrodioles (poliéter, poliéster, policarbonato, o polisiloxano), con el diisocianato, formando así un prepolímero; la segunda reacción, o segundo paso, involucra el acoplamiento del prepolímero con una cadena de bajo peso molecular, como un extensor de cadena (un diol o una diamina) o un entrecruzante (un polioliol). Por lo tanto, se dice que la reacción clásica de los PUs corresponde a la reacción entre un compuesto hidroxilado y un

Capítulo II. Marco Teórico

compuesto di, tri o poliisocianato para generar enlaces uretano (Tersac, 2007; Uscategui et al., 2018). En la figura 2, se presenta el proceso general de la síntesis en dos pasos de un PU.

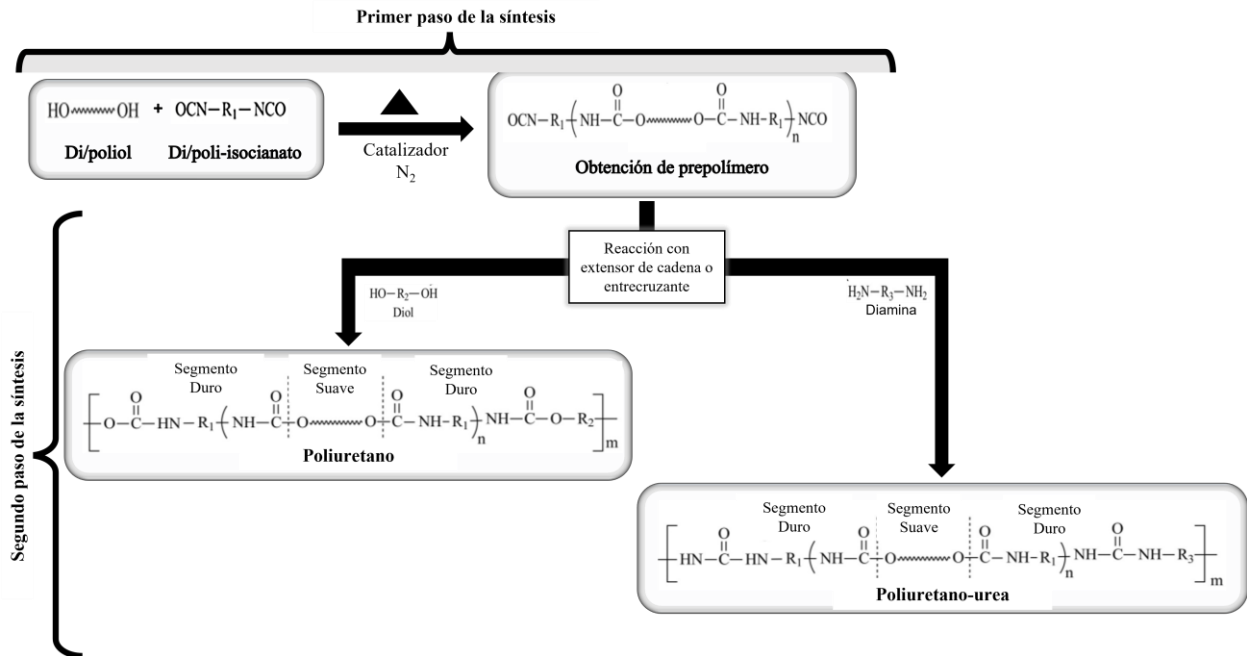


Figura 2. Proceso de síntesis en dos pasos de un PU.

Los di/poliisocianatos empleados en la síntesis de los PUs se pueden clasificar como alifáticos y aromáticos. La selección del tipo de diisocianato dependerá del tipo de PU que se desea obtener. Por ejemplo, los diisocianatos aromáticos, dada la elevada reactividad que presentan, son muy utilizados para diseñar PUs, sin embargo, se emplean por lo general en el diseño de biomateriales para aplicaciones permanentes dentro el organismo, donde no se presenten productos de degradación, ya que existen investigaciones donde se indica que los diisocianatos aromáticos pueden producir diaminas carcinogénicas y mutagénicas después de un proceso de degradación (Basterretxea et al., 2016; Han et al., 2012). Por ello, en la actualidad los diisocianatos que han ganado interés en el diseño de nuevos PUs para aplicaciones en el campo biomédico son los alifáticos, ya que se evitarían los posibles efectos tóxicos a largo plazo generados por los aromáticos (Cherng et al., 2013). En la tabla 1 se muestra una lista de los diisocianatos más empleados en aplicaciones biomédicas, gracias a que se ha demostrado a partir de evaluaciones biológicas que pueden ser aptos en el diseño de biomateriales sin presentar efectos adversos.



Capítulo II. Marco Teórico

Tabla 1. Diisocianatos más utilizados para la síntesis de PUs con aplicaciones médicas.

Diisocianato	Aplicaciones probadas	Referencia
diisocianato de tolueno	Liberación controlada de fármacos	(Shoib et al., 2017)
4,4'-diisocianato de dicitlohexilmetano	Materiales para uso en medicina regenerativa	(Kucinska-Lipka et al., 2015)
1,6-hexametilendiisocianato	Injertos vasculares, administración de fármacos para la terapia de cáncer de mama, materiales biocompatibles y hemocompatibles, materiales no tóxicos que presentan adhesión celular y proliferación, PUs para aplicaciones en ingeniería de tejidos como andamios y compuestos con nanotubos de oro.	(Basterretxea et al., 2016; Bergmeister et al., 2015; Fernández-D'Arlas et al., 2015; Ganji et al., 2014; Mahanta et al., 2015)
diisocianato de isoforona, Diisocianato de L-lisina, entre otros	Materiales biocompatibles y hemocompatibles	(Basterretxea et al., 2016)
4,4'-diisocianato de dicitlohexametileno	Materiales no tóxicos que presentan adhesión celular y proliferación	(Fernández-D'Arlas et al., 2015)

En la tabla 1 podemos notar que uno de los isocianatos más utilizado para el desarrollo de PUs con aplicaciones médicas es el 1,6-hexametilendiisocianato, esto debido a su estructura alifática lineal (ver figura 3) que, en comparación con isocianatos aromáticos, ha permitido desarrollar novedosos PUs altamente biocompatibles. Lo anterior ha sido verificado por diferentes grupos de investigación mediante diversas evaluaciones biológicas, entre ellas, se encuentran: evaluaciones *in vitro* por medio del ensayo MTT con células MCF-7 (adenocarcinoma de mama), L929 (fibroblasto de ratón) y BT474 (carcinoma de mama); ensayos *in vitro* colorimétricos XTT con células endoteliales de la vena umbilical por 12 y 14 horas; evaluaciones *in vitro* por medio de adhesión de plaquetas, adsorción de proteínas y proliferación celular; ensayos *in vivo* a largo plazo (12 meses) en un modelo murino y ensayos *in vivo* sobre ratones albinos suizos (Basterretxea et al., 2016; Fernández-D'Arlas et al., 2015; Ganji et al., 2014; Mahanta et al., 2015; Matsui et al., 2012; Uscategui et al., 2018).

Capítulo II. Marco Teórico

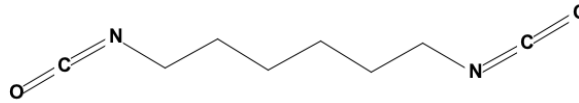


Figura 3. Estructura molecular del 1,6-hexametilendiisocianato.

- **Mecanismo de reacción del isocianato**

Como se ha mencionado anteriormente, en este trabajo se trabajará con la síntesis de PUs vía reacción de isocianatos con compuestos de hidrógeno activo. Esta reacción puede llevarse a cabo mediante dos vías distintas; i) reacciones sin catalizador y ii) reacciones con catalizador (W. Wang & Wang, 2012).

- a) **Reacción en ausencia de catalizador:** en este caso, el compuesto con hidrógeno activo actúa catalíticamente en la reacción; el carbono electrofílico del isocianato (-NCO) es atacado por el centro nucleofílico de la molécula (-OH, -NH), agregándose así un hidrógeno al grupo -NCO. En consecuencia, este grupo aumenta su reactividad debido a la presencia de grupos capaces de sustraer electrones. Cabe destacar que, los isocianatos aromáticos son más reactivos que los isocianatos alifáticos, ya que el impedimento estérico en los grupos -NCO reduce la reactividad (ver figura 4) (Akindoyo et al., 2016).

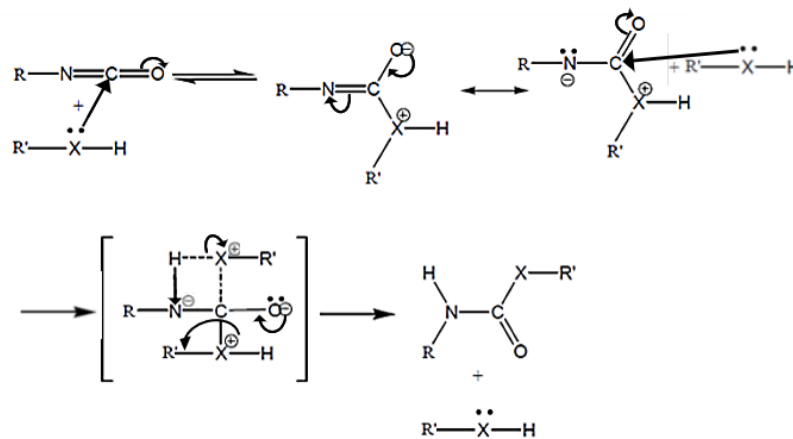


Figura 4. Mecanismo de reacción del isocianato en ausencia de catalizador.

Capítulo II. Marco Teórico

- b) Reacción con catalizador: los isocianatos, por su naturaleza, son extremadamente susceptibles a reacciones de catálisis. Todas las diferentes reacciones de isocianato pueden ser influenciadas por acción de catalizadores. Algunos de los más utilizados para la síntesis de PUs son las aminas terciarias y los compuestos de sales metálicas, como las de estaño (Akindoyo et al., 2016; Kizuka & Inoue, 2015). Los mecanismos de reacción son similares en algunos aspectos a la reacción no catalizada, con la diferencia de que ahora la reactividad del isocianato es activada por la influencia del catalizador. En la figura 5, se aprecian gráficamente los mecanismos con aminas terciarias y con compuestos de sales metálicas, respectivamente.

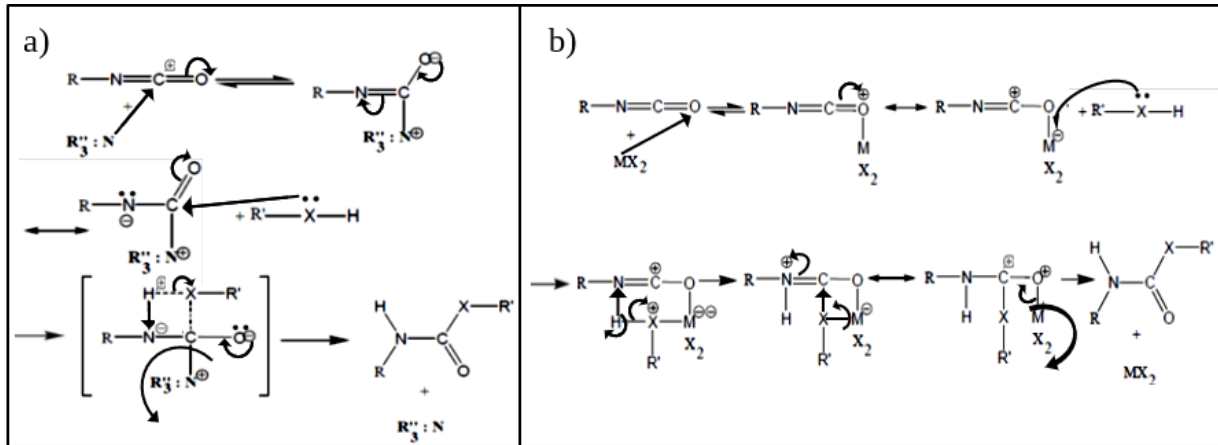


Figura 5. a) Mecanismo de reacción del isocianato con aminas terciarias como catalizador y b) mecanismo de reacción del isocianato con sales metálicas como catalizador.

II.VI Polisacáridos para la síntesis de PUs

Los polisacáridos son glicanos que se originan principalmente de forma natural a partir de organismos vegetales, animales y microbianos. Los glicanos, poseen usualmente enlaces o-glucosídicos entre monosacáridos, por ejemplo, la celulosa es un glicano conformado de D-glucosa unidas por el enlace β -1,4-glucosídico (ver figura 6). Estos materiales desempeñan un papel sumamente importante en el almacenamiento y el soporte estructural en los organismos vivos, especialmente en los vegetales (Jangid et al., 2020; Xiao & Grinstaff, 2017). Debido a su origen natural, a partir de recursos renovables, la posibilidad de hacerles modificaciones químicas

Capítulo II. Marco Teórico

y al parecido que tienen con las biomoléculas del cuerpo humano, los polisacáridos son altamente biocompatibles y biodegradables, características que los vuelven candidatos prometedores para aplicaciones en diversos campos, incluidas las ciencias biomédicas, y además son materiales relativamente económicos y de fácil acceso. Dentro de las aplicaciones en el campo de la medicina se destacan la nano-bioimagen, la síntesis verde de nanopartículas, la modificación de la superficie de nanopartículas y el diseño de sistemas de administración de fármacos (Gupta et al., 2019; Jangid et al., 2020; Xie et al., 2020).

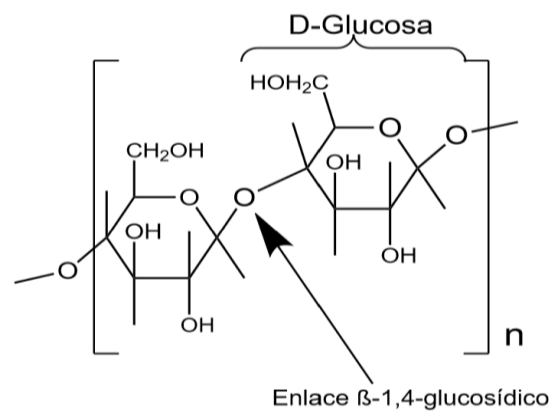


Figura 6. Estructura molecular de la celulosa.

Los polisacáridos pueden aportar propiedades diferentes y únicas a un biomaterial. En el caso del diseño de PUs, estos pueden usarse como reticulantes en la red del PU debido a la presencia de múltiples grupos hidroxilo capaces de reaccionar con grupos isocianato. Esta red reticulada se puede utilizar para la carga de fármaco dentro de la matriz. Además, abre la posibilidad de utilizar macromoléculas como las ciclodextrinas en el esqueleto estructural de los poliuretanos para aumentar la capacidad de encapsular partículas de fármaco en la red del PU, lo cual resulta en una mayor carga útil de fármacos (Solanki et al., 2018). Otro aporte importante de los polisacáridos, es que las cantidades molares incorporadas pueden estar relacionadas con la degradación de la matriz, lo que ayuda a poder controlar los perfiles de liberación (Lalwani & Desai, 2010).

Los reticulantes más utilizados en la síntesis de PU, distintos de los carbohidratos, son el trimetilolpropano (Akindoyo et al., 2016), los silsesquioxanos oligoméricos poliédricos (Raftopoulos et al., 2019; Yahyaei et al., 2016), policarbodiimidas y poliamidas (Nasar et al.,



Capítulo II. Marco Teórico

2003; Posthumus et al., 2007). Todos estos han mostrado un efecto diferente sobre las propiedades finales de los poliuretanos sintetizados, sin embargo, el uso de carbohidratos en la síntesis de PUs puede tener una importancia primordial, específicamente debido a la resistencia mecánica, biodegradabilidad y biocompatibilidad conferida por ellos a los PU. Debido a los múltiples grupos hidroxilo, se puede generar la red tridimensional de enlaces covalentes, que ayuda a la resistencia estructural de las PU resultantes. Esto afecta directamente las propiedades finales de los PU como la resistencia a la tracción, estabilidad dimensional, módulo de elasticidad y dureza. Por ejemplo, se informó que las propiedades mecánicas de los PU a base de aceite de ricino reticulados con almidón son superiores a otros reticulantes de base petroquímica (Solanki et al., 2018; Solanki & Thakore, 2015).

Además de los enlaces covalentes, los grupos hidroxilo activos de los carbohidratos también pueden formar enlaces de hidrógeno con las cadenas macromoleculares del PU. El enlace de hidrógeno puede tener una influencia considerable en las propiedades reológicas, como la viscosidad del PU (Solanki et al., 2018). Además, se ha informado que los enlaces de hidrógeno son responsables de una mayor dispersión, refuerzo y adhesión interfacial entre las cadenas de la matriz de un PU. Esto se debe a que, gracias a los enlaces de hidrógeno, puede haber una mayor interacción entre la matriz de polímero hidrófobo y los carbohidratos hidrófilos. Las interacciones de enlace de hidrógeno de los carbohidratos con la matriz de un PU también influyen en las propiedades térmicas. Por ejemplo, la reducción en la temperatura de transición vítrea en un PU con almidón se debe a una mayor cantidad de almidón que interactúa con la matriz del PU debido a que los fuertes enlaces de hidrógeno entre el almidón y la matriz del PU afectan la movilidad de la cadena (Barikani & Mohammadi, 2007; Solanki et al., 2018).

II.VI.I La inulina y sus propiedades

Uno de los polisacáridos que ha despertado interés entre la comunidad científica es la inulina, un oligosacárido tipo fructano, que ha mostrado, además de funcionar como un prebiótico, tener varios efectos terapéuticos inherentes como: reducción de riesgos de desarrollo de tumores, ayuda en la absorción de iones de calcio, propiedades antiinflamatorias, antioxidantes,



Capítulo II. Marco Teórico

entre otras. Por lo anterior, este polisacárido ha tenido auge en diferentes aplicaciones farmacéuticas como portador de fármacos, como agente estabilizador, crioprotector y como una alternativa a las grasas y azúcares (Gupta et al., 2019). Además, la inulina ha sido clasificada como un material “Generalmente Reconocido como Seguro” en E. U. A. por la FDA debido a sus diferentes propiedades sobresalientes que incluyen biodegradabilidad, renovabilidad y no toxicidad, y que su degradación produce ácidos grasos de cadena corta (AGCC), que pueden mejorar la salud humana, en comparación con las de muchos otros polisacáridos (Usman et al., 2021). La inulina se puede encontrar en más de 36000 especies vegetales en el mundo; en la tabla 2, se resumen las especies de plantas con mayor contenido de inulina.

Tabla 2. Plantas con mayor contenido de Inulina (Gupta et al., 2019; Singh et al., 2019).

Nombre Común	Nombre científico	Parte de la planta	Contenido de Inulina (%)
Achicoria	<i>Cichorium intybus</i>	Raíz	20-60
Dalia	<i>Dahlia sp.</i>	Tubérculos de raíz	10-20
Alcachofa de Jerusalén	<i>Helianthus tuberosus</i>	Raíz	8-19
Diente de León	<i>Taraxacum officinale</i>	Hojas	12-15
Agave	<i>Agave americana</i>	Lóbulos	7-10
Alcachofa	<i>Cynara cardunculus</i>	Hojas y corazón	3-10
Cebolla	<i>Allium cepa L</i>	Tubérculo	2-6

Las propiedades fisicoquímicas de la inulina, tales como color, olor, sabor, estabilidad, estado físico, solubilidad, viscosidad, etc., dependen de numerosos factores como sus fuentes (naturales o sintetizadas), composiciones químicas, grupos funcionales, longitud de cadena, DP_n, etc. (Gupta et al., 2019). La tabla 3 presenta un resumen de las propiedades fisicoquímicas más importantes de la inulina.



Tabla 3. *Propiedades fisicoquímicas de la inulina* (Gupta et al., 2019).

Propiedad fisicoquímica	Inulina estándar
Estado	Polvo sólido
Estructura química	DP _n (2 ≤ n ≤ 60)
Naturaleza	Cristalino o amorfo
Color	Amarillo pálido a blanco
Olor	Inodoro
Sabor	Dulce
pH	Ligeramente ácido-neutro
Solubilidad en agua a 298.15 K	12 gL ⁻¹
Estabilidad	Estable a temperatura ambiente
Estabilidad térmica	Estabilidad térmica alta (~300-350°C)
Viscosidad en agua (5%) a 10° C (mPa · s)	1.6

Para conocer más a fondo las características que hacen a la inulina especial e interesante, a continuación, se describen algunas de sus propiedades fisicoquímicas más importante:

- Composición química y estructura: la inulina se compone de (2→1) unidades de β-d-fructofuranosil, generalmente con un grupo terminal (1→2) α-D-glucopiranososa. Debido al enlace beta en su estructura, la inulina no es digerida ni hidrolizada por la saliva humana y otras enzimas digestivas intestinales y pancreáticas (Gupta et al., 2019; Singh et al., 2019). Por lo tanto, la inulina únicamente es fermentada/metabolizada selectivamente en el intestino por las bacterias del colon; ayuda a superar problemas digestivos aumenta la absorción de minerales e iones de los alimentos y apoya la salud del sistema inmunológico. La forma hidrolizada de la inulina se conoce como oligofructosa (OF) (n=2–10) y su

Capítulo II. Marco Teórico

forma metabolizada es CO_2 y metano (CH_4) (Qianfeng Chen et al., 2020; Gupta et al., 2019).

- Longitud de cadena y peso molecular: la inulina, extraída de fuentes naturales, llega a tener una longitud de cadena corta ($\text{DP}_n=5-60$) y un peso molecular bajo, a diferencia del sintetizado, el cual alcanza un DP_n entre 10^5 y 10^7 , obtenido a partir de varios procesos enzimáticos utilizando especies bacterianas y fúngicas como *Bacilli*, *Pseudomonas*, *Aspergillus sydowi* y *Streptococci* (Gupta et al., 2019; Jangid et al., 2020). En la figura 7 se presenta la estructura molecular de la inulina.

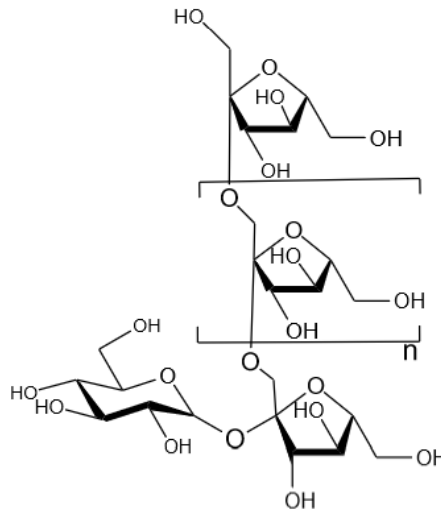


Figura 7. Estructura molecular de la inulina.

- Solubilidad: la inulina es de naturaleza hidrofílica, por lo que se solubiliza en agua a una concentración de 12 gL^{-1} . Después de la hidratación, puede formar dispersiones coloidales viscosas o geles. Cabe destacar que la solubilidad de la inulina natural va a depender de tres parámetros esenciales; peso molecular, DP_n y temperatura. La inulina de cadena corta es más soluble en agua a temperatura ambiente; conforme la cadena se hace más grande, esta solubilidad disminuye. Por otro lado, este polisacárido es escasamente soluble, e incluso insoluble en alcoholes como el metanol, el etanol, y el isopropanol (entre otros), por lo tanto,



Capítulo II. Marco Teórico

estos se utilizan como agentes precipitantes. En compuestos como el dimetilsulfóxido y la dimetilformamida, los fructanos son muy solubles, por ello son bastante utilizados como disolventes al trabajar con este biopolímero (Gupta et al., 2019; Usman et al., 2021).

La característica única de la inulina de no ser digerida por las enzimas presentes en el tracto gastrointestinal superior, la vuelve atractiva para el desarrollo de nuevos dispositivos para la administración de fármacos sensibles al pH en el tracto gastrointestinal inferior como en los casos de amebiasis, enfermedad inflamatoria intestinal, cáncer colorrectal, colitis, etc. (Singh et al., 2019). Además, por sí misma, la inulina ha mostrado varios beneficios terapéuticos potenciales; reduce el riesgo de diferentes tipos de cáncer, ayuda a eliminar el estreñimiento, mejora la absorción de calcio, mejora el comportamiento *anti-biofilm* de algunas moléculas antimicrobianas y tiene actividades antioxidantes (Castor, 2011; Gupta et al., 2019; Jangid et al., 2020; Singh et al., 2019; Usman et al., 2021). A continuación, se describirán más a fondo los beneficios que ofrece la inulina *per se* para el humano, así como el potencial uso que se le puede dar en aplicaciones prácticas:

- Reducción del riesgo de tumor mamario: se ha comprobado que las fibras no solubles de este polisacárido, y de algunas solubles, tienen potentes propiedades anticancerígenas e inhibidoras del crecimiento tumoral. Además, ayudan a prevenir las fases de iniciación y promoción de la carcinogénesis. También, la FDA, ha recomendado que el aumento de la fibra dietética en la dieta diaria favorece la disminución del riesgo de padecer cáncer (Gupta et al., 2019). A partir de lo anterior, se ha probado la influencia de la fibra dietética sobre la carcinogénesis mamaria (mama) en la rata hembra. En ensayos reportados por Taper y Roberfroid, se observó que al alimentar ratas hembra con oligosacárido al 15%, estas mostraron un menor número total de tumores mamaros en comparación con el grupo que tomó una dieta basal solamente. Además, se observó como el desarrollo del tumor se inhibió significativamente utilizando los carbohidratos no digeribles (como suplemento) en la dieta diaria (Commane et al.,



Capítulo II. Marco Teórico

2005; Gupta et al., 2019; Taper & Roberfroid, 1999). Esto motiva aún más la búsqueda de usar este material, no solo como suplemento alimenticio, sino también como base para desarrollar nuevos dispositivos funcionales para el tratamiento de este tipo de cáncer.

- **Influencia en el cáncer colorrectal:** en este caso, la fibra dietética interfiere en las vías de desarrollo de las células tumorales responsables del crecimiento y metástasis del cáncer colorrectal. Hijová y colaboradores observaron el efecto de la inulina en este tipo de cáncer, encontrando que al tratar ratas con cáncer de colon inducido por 1,2-dimetilhidrazina (DMH) con un consumo controlado de inulina, el efecto de esta sobre el cáncer de colon provocado fue favorable ya que descubrieron que los ácidos grasos de cadena corta, como butirato, propionato y acetato que se producen como subproducto fermentado de la inulina, aumentan la absorción de agua, sodio y electrolitos en el intestino, pero específicamente, la inulina es capaz de aumentar significativamente dos componentes de los ácidos grasos de cadena corta, el ácido butírico y propiónico, los cuales ayudan a contrarrestar al cáncer colorrectal (Hijová et al., 2013), abriendo la posibilidad de desarrollar nuevos vehículos, como nanoportadores utilizando la inulina para dirigir la administración de agentes terapéuticos específicos al colón (fármacos/genes) protegidos de la degradación en la atmósfera severa del estómago (enzimas de bajo pH como pepsina, lipasa, etc.) (Gupta et al., 2019).
- **Reduce el estreñimiento:** diversos estudios en humanos han probado que la fermentación de carbohidratos promueve la motilidad colónica. Entre estos estudios, Elly Den Hond y sus colaboradores evaluaron el efecto de la inulina encontrando que el consumo de 1.5 a 2 g de inulina al día aumentan la frecuencia de evacuación de heces (Den Hond et al., 2000), incluso se ha encontrado que con tan solo consumir 0.74 g por día como suplemento alimenticio es significativamente de ayuda para tratar el estreñimiento (Micka et al., 2017; Moore et al., 2003).



Capítulo II. Marco Teórico

- Mitiga la inflamación: otra propiedad intrínseca de la inulina es que ayuda a mitigar la inflamación del intestino. Este efecto se ha probado tanto en animales como en humanos con inflamación provocada por diversas enfermedades, incluso en crónicas como la Colitis Ulcerativa y la enfermedad de Crohn (Hoentjen et al., 2005; Lindsay et al., 2006; Yang et al., 2001).
- Mejora en la absorción de calcio: en un estudio, realizado en niñas, se encontró que la mezcla de inulina y oligofruktanos mejora la absorción de calcio (Ca) a través del colon y todo el intestino (Griffin I.J. et al., 2002). Esto sucede ya que durante la fermentación de la inulina de cadena larga en el colon, por la microflora colónica, se rompe en ácidos grasos de cadena corta y ácido láctico, lo cual disminuye el pH y aumenta la solubilidad de los iones de Ca en el colon y, por lo tanto, aumenta la absorción transcelular de Ca y la mineralización ósea (Cashman, 2006).
- Protección contra el estrés oxidativo: el efecto antioxidante de la inulina fue determinado a partir de los ensayos hechos *in-vitro* de actividad de eliminación de radicales por DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), de actividad de barrido ABTS [ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)] y de FRAP (poder antioxidante reductor férrico) en comparación con la vitamina C y mediante ensayos *in vivo* con gallinas ponedoras. Los hallazgos obtenidos sugieren que la inulina es capaz de aumentar la actividad antioxidante (aunque significativamente menos que la vitamina C) (Shang et al., 2018). Además, la inulina también es útil para el tratamiento de otras enfermedades, por ejemplo, puede usarse como un agente antidiabético que ayuda a reducir el nivel de azúcar en sangre (Gupta et al., 2019).
- Uso como agente de diagnóstico: gracias a que la inulina no se hidroliza/metaboliza y solo se distribuye sobre el volumen extracelular y pasa fácilmente desde el aclaramiento renal y no es absorbido repetidamente por los túbulos renales (Mensink et al., 2015) ni por el aclaramiento por infusión, es posible aprovechar estas ventajas para utilizar la inulina como agente de



Capítulo II. Marco Teórico

diagnóstico para medir la función renal mediante la evaluación de la tasa de filtración glomerular: en este caso la inulina es administrada vía intravenosa y sirve como patrón de referencia (Nishida et al., 2012).

- Como excipiente estabilizador: generalmente, los azúcares se utilizan como agentes estabilizadores de proteínas, ya que brindan protección contra la temperatura, la humedad y el secado (Hinrichs et al., 2001). Por su parte, la inulina también se puede utilizar como estabilizador de proteínas ya que proporciona estabilidad durante los procesos de secado por atomización (Haj-Ahmad et al., 2013) y liofilización (Hinrichs et al., 2001), gracias a que muestra menor higroscopicidad y velocidad de cristalización, grupos reductores y alta temperatura de transición vítrea (Gupta et al., 2019; Tonnis et al., 2015).
- Uso como crioprotector: los crioprotectores (compuestos anticongelantes) son sustancias empleadas para proteger diferentes moléculas y compuestos del daño durante el proceso de liofilización. Durante la liofilización de cualquier formulación, se añaden diferentes azúcares que funcionan como crioprotectores, entre ellas el manitol, la sacarosa y la trehalosa. Durante la liofilización de la hemaglutinina (el componente principal de la vacuna de la subunidad de la influenza), se descubrió que la inulina también era adecuada para su uso como crioprotector (Amorij et al., 2007; Gupta et al., 2019).



CAPÍTULO III DESARROLLO EXPERIMENTAL



Capítulo III. Desarrollo Experimental

La metodología propuesta para el desarrollo del proyecto se basa en la idea de injertar cadenas de PU en la estructura de un polisacárido, para obtener así un PU entrecruzado. Para ello se propuso usar un método de síntesis en dos pasos. En el primer paso, se obtuvo un prepolímero con terminaciones en enlaces -NCO capaces de generar en el segundo paso entrecruzamientos entre las moléculas al reaccionar con los -OH disponibles.

En primera instancia se seleccionaron los materiales a utilizar como precursores para la síntesis de los nuevos PUs, tal como se planteó en los objetivos. Se propuso usar como polioliol un polímero sintético y uno de origen natural: como polímero sintético se seleccionó la PCL-diol, en base a sus propiedades físicas, químicas y de biocompatibilidad, y a la versatilidad en sus aplicaciones biomédicas (lo cual se describe en los capítulos previos); por otro lado, como polímero de origen natural se eligió un polisacárido, la inulina, debido a que es un biopolímero con propiedades interesantes y relevantes para el diseño de sistemas de liberación de fármacos y otras aplicaciones (en el Capítulo II se hace una descripción a detalle de sus características físicas, químicas y sus propiedades benéficas para el ser humano). En cuanto al isocianato, se decidió utilizar el 1,6-hexametilendiisocianato, debido a que, como se describió en la sección II.V.II del Capítulo II, al ser un isocianato alifático y no aromático es más adecuado para formar PUs biocompatibles. Finalmente, se propuso emplear la 1,4-butanodiamina, una diamina de cadena corta, como extensor de cadena, ya que es ampliamente utilizada en el desarrollo de biomateriales para aplicaciones médicas.

A continuación, se detalla la metodología empleada para el desarrollo del trabajo, así como las caracterizaciones y las pruebas a realizadas a los materiales obtenidos.

III.I Materiales

En este trabajo se empleó para la síntesis de los PUs, estaño (II) 2-etilhexanoato como catalizador, 1,6-hexametilendiisocianato (HMDI, >98%) como isocianato, 1,4-butanodiamina (99%) como extensor de cadena, como precursores de grupos -OH la inulina (INU, $n=36$, $M_n \sim 5000$ Da) proveniente de la raíz de Achicoria, y la policaprolactona-diol (PCL-diol,



Capítulo III. Desarrollo Experimental

Mn=2000 Da) y doxorubicina (DOXO, para HPLC: 98–100%) como fármaco de prueba; estos reactivos de la marca Sigma Aldrich Co. México. Como disolvente se usó 2-propanol (anhídrido: 99.5%), adquirido en J.T. Baker (CDMX, México), y 1,2-Dicloroetano (Cl₂ET, grado reactivo), adquirido en Macron Chemicals. Para la síntesis de nanopartículas de magnetita, se empleó cloruro férrico hexahidrato (FeCl₃·6H₂O, 97%), cloruro ferroso (FeCl₂, 98%), hidróxido de amonio (NH₄OH, ~ 29%), citrato de sodio tribásico dihidratado (Na₃C₆H₅O₇·2H₂O, ~ 98%) y etanol (EtOH, > 99,5%). Las sales de hierro fueron suministradas por Sigma Aldrich y el resto de los reactivos por J.T Baker (CDMX, México).

III.II Descripción del procedimiento de síntesis

Como se mencionó anteriormente, el método de síntesis se desarrolló en dos pasos; en el primero (formación del prepolímero) se mezcló la PCL-diol y la INU con un exceso de isocianato para obtener un prepolímero con terminaciones en enlaces -NCO; posteriormente (en el segundo paso) se adicionó el extensor de cadena (en este caso, se utilizó una diamina) para obtener un poliuretano-urea entrecruzado. Se obtuvieron un total de tres materiales (PUs de PCL-diol entrecruzados con INU), siguiendo las relaciones molares mostradas en la tabla 4. Estas relaciones se propusieron ajustando los valores para que la relación entre grupos -OH y -NCO se mantenga constante (1:3.4). La cantidad de extensor de cadena (1,4-butanodiamina) empleado para la síntesis de cada material se determinó siguiendo la relación 1:1 [-NCO_(libres): -NH₂], respecto a los grupos -NCO teóricamente libres. Es importante mencionar que para el cálculo de la relación de grupos -OH con -NCO, se consideró que solo un grupo -OH reacciona por cada anillo de fructosa presente en la estructura de la INU.

Tabla 4. Relaciones molares entre poliol:isocianato, y la cantidad (en gramos) de precursor usado para sintetizar cada poliuretano basado en inulina (PU-INU).

Muestra	[OH:NCO]	Por mol de OH [INU:PCL-diol]	HMDI (mg)	INU (mg)	PCL-diol (mg)
PU-InP12	1:3.4	1:2	183.969	457.88	437.67
PU-InP11		1:1		915.57	218.83
PU-InP21		2:1		686.81	328.26

Capítulo III. Desarrollo Experimental

A continuación, se describe detalladamente el proceso de síntesis en dos pasos con las condiciones empleadas para la obtención de los materiales desarrollados en este proyecto.

i) Preparación del prepolímero (primer paso)

En primera instancia, la PCL-diol se disolvió en Cl_2ET (20 ml por cada gramo de PCL-diol) manteniendo una agitación constante a temperatura ambiente; luego, se agregó la INU (sin detener la agitación) y una vez disuelta se creó una atmósfera inerte con N_2 . Posteriormente, la solución se calentó hasta 75°C , se agregó el HMDI y el catalizador (relación molar 1:6.8 [cat.:HMDI]) para iniciar la reacción de polimerización. Esta reacción se llevó a cabo durante cuatro horas bajo agitación constante y vigorosa en atmósfera inerte, manteniendo la temperatura a 75°C ($\pm 2^\circ\text{C}$). Una vez finalizado el tiempo de reacción, la agitación se detuvo y la solución se dejó enfriar para continuar con el siguiente paso. La figura 8 muestra el arreglo experimental utilizado.

Arreglo experimental

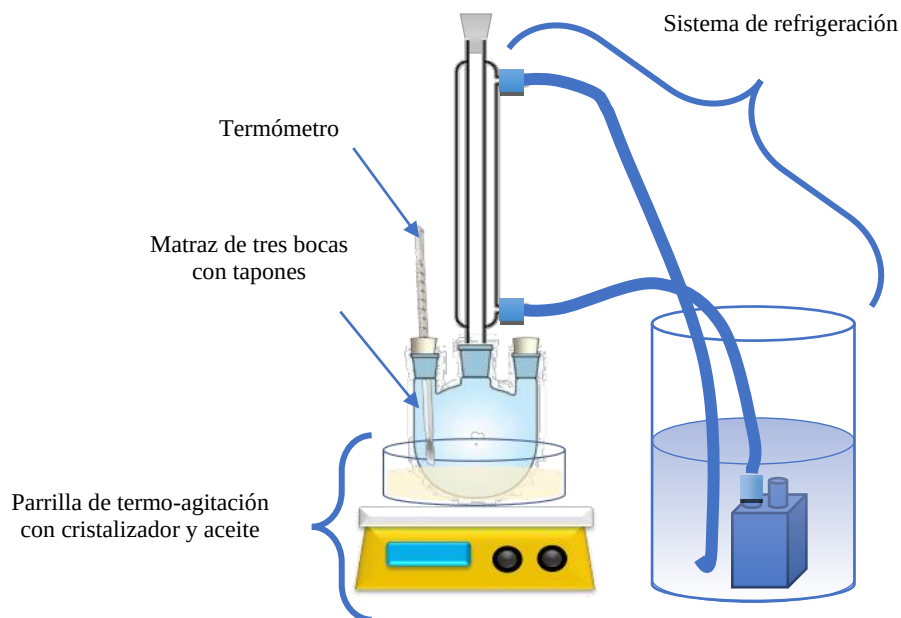


Figura 8. Arreglo experimental para la síntesis de los PUs.



Capítulo III. Desarrollo Experimental

ii) Formación del PU-urea entrecruzado (segundo paso)

En el segundo paso, las cadenas de prepolímero se cerraron agregando el extensor de cadena (1,4-butanodiamina) a la solución del prepolímero. Del mismo modo, se creó una atmósfera inerte con N_2 y se elevó la temperatura hasta $75^\circ C$ ($\pm 2^\circ C$) para continuar con la reacción del prepolímero (con terminación en grupos $-NCO$) con los grupos $-NH_2$ disponibles del extensor de cadena y los grupos $-OH$ restantes, manteniendo una agitación vigorosa. La reacción se llevó a cabo en un lapso de dos horas. Finalmente, la solución se enfrió a temperatura ambiente y para precipitar el polímero se adicionó a la solución isopropanol previamente enfriado a $4^\circ C$, esto para acelerar la precipitación (la cantidad de isopropanol utilizado fue 50% respecto al volumen de solución de polímero). Una vez precipitado el polímero, se aplicaron tres lavados con el mismo solvente para eliminar el exceso de Cl_2ET presente en el material final. Los lavados se realizaron usando una centrífuga de marca EPPENDORF modelo 5702 a 2500 rpm, en ciclos de 15 minutos.

Los materiales obtenidos se depositaron en diferentes moldes para formar películas con las características requeridas para cada prueba que se describe más adelante. Las diferentes películas se secaron a $40^\circ C$, aisladas de las corrientes de aire, en una cámara de temperatura controlada. Cada una se identificó de acuerdo con los nombres indicados en la tabla 4.

III.III Caracterización de los materiales obtenidos

III.III.I Caracterización estructural

La caracterización estructural de los materiales obtenidos se realizó mediante tres técnicas diferentes: espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia dispersiva Raman (para identificar las bandas características de los precursores y de los polímeros sintetizados) y espectroscopia de resonancia magnética nuclear (1H RMN y ^{13}C RMN) para determinar la disposición molecular de la INU en el nuevo material y verificar la formación de enlaces uretano. La caracterización FTIR de los poliuretanos se realizó utilizando un espectrómetro Vector 33 (Bruker Biospin Corporation, Billerica, MA, EE. UU.) en modo de reflectancia total atenuada (ATR) de 400 a 4000 cm^{-1} y la espectroscopia RAMAN se realizó con un equipo Senterra

Capítulo III. Desarrollo Experimental

(Bruker Biospin Corporation, Billerica, MA, EE. UU.) equipado con un láser de $\lambda = 685 \text{ nm}$ y un FT-Raman (Nicolet 910) con $\lambda=1064 \text{ nm}$ en el láser, equipado con un microscopio Olympus. Para ambas espectroscopias, no se requiere ninguna preparación adicional de las muestras. En el caso de ^1H RMN y ^{13}C RMN, el análisis se llevó a cabo en un equipo Bruker Avance III HD 500 MHz (Bruker Biospin Corporation, Billerica, MA, EE. UU.), utilizando dimetilsulfóxido deuterado (DMSO- d_6) como disolvente para el polímero y tetrametilsilano como estándar interno a 25°C . Los datos de desplazamiento químico se informan como parte por millón (ppm) escala δ .

III.III.II Caracterización térmica

Para evaluar las propiedades térmicas de los materiales, se realizó un análisis termogravimétrico (TGA) de los materiales obtenidos y de los precursores (PCL-diol e INU). Esto para determinar su estabilidad térmica y su comportamiento frente a las variaciones de temperatura, utilizando un sistema TGA/DSC Modelo 2 Stare (Mettler-Toledo Intl. Inc., Columbus, OH, EE. UU.). Para la prueba de TGA, se usaron muestras de 5-10 mg, calentadas de 20 a 700°C con una velocidad de exploración de $10^\circ\text{C min}^{-1}$ bajo una atmósfera de nitrógeno a una velocidad de flujo de 40 N ml min^{-1} (mililitros por minuto en condiciones normales de temperatura y presión).

III.III.III Caracterización mecánica

Se prepararon películas, bajo la norma ASTM-D638-03, con cada material para hacer pruebas de esfuerzo mecánico en un ensayo de tensión usando una *Universal Testing Machine* (Uni-axial, STM-20, SANTAM). Cada prueba se realizó a temperatura ambiente a una velocidad de prueba de 10 mm min^{-1} . En la figura 9 se muestra un ejemplo de las películas empleadas en el ensayo.

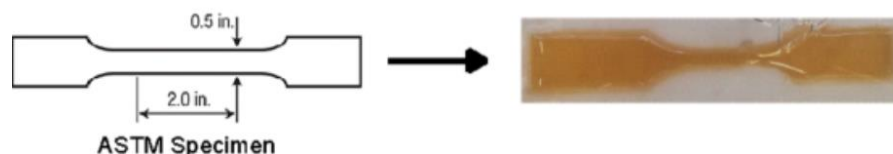


Figura 9. Muestra requerida para el ensayo de tensión de acuerdo con la norma ASTM-D638-03.



Capítulo III. Desarrollo Experimental

III.III.IV Pruebas de hinchamiento

Las pruebas de hinchamiento se realizaron midiendo, en primera instancia, el tiempo de hinchamiento máximo y, posteriormente, variando las condiciones de temperatura y pH. Las mediciones de la relación de hinchamiento (S_r , %) de cada material se evaluaron usando un análisis gravimétrico a través de la Ecuación (1):

$$S_r(\%) = [(m_f - m_0) / m_0] \times 100 \quad (\text{Ec. 1})$$

donde m_0 es la masa inicial del poliuretano cuando está seco y m_f es la masa del poliuretano cuando está hinchado. El ensayo se llevó a cabo de la siguiente manera: se empaparon fracciones de película de 0.5 cm^2 , pesadas y estandarizadas previamente, en agua desionizada a temperatura ambiente, haciendo mediciones cada 20 minutos hasta alcanzar la relación de hinchamiento de equilibrio (ES_r) (para cada medición, las muestras se retiraron del líquido y se secó el exceso de agua presente en la superficie del material). El balance de masa se hizo con una balanza analítica marca OHAUS, modelo Pioneer® Analytical PX224/E, de una resolución de 0.0001 g. Se evaluó el efecto de la temperatura y el pH sobre las propiedades de hinchamiento para cada polímero sintetizado, bajo las siguientes condiciones: (i) para el hinchamiento dependiente de la temperatura, las películas secas se sumergieron en agua desionizada con una temperatura inicial de 5°C , aplicando incrementos graduales de 5°C hasta alcanzar los 40°C , haciendo el balance de masa antes de cada incremento, y (ii) para el hinchamiento dependiente del pH, las películas secas se expusieron en soluciones tampón de pH separadas (valores de pH de 4.0, 7.0 y 10.0) a temperatura ambiente. En ambos casos, la relación de hinchamiento se midió gravimétricamente hasta que el poliuretano alcanzó la ES_r , usando nuevamente la Ecuación (1) para el cálculo.

III.III.V Evaluación de degradación hidrolítica

Esta prueba se realizó en base a la norma ISO 10993-13. El ensayo se llevó a cabo durante 40 días, con periodos de medición de 24 horas. La evaluación de la degradación se realizó en una inmersión estática de las muestras simulando condiciones fisiológicas de pH y de temperatu-



Capítulo III. Desarrollo Experimental

ra utilizando una incubadora personalizada controlada por un PDI TC4S Temperature Controller (Autonics Corporation LTD, Busan, Corea).

Se tomaron muestras secas de cada material de aproximadamente 0.5 cm^2 , se cortaron, se midió su masa inicial y se esterilizaron utilizando una lámpara UV (265 nm). Una vez esterilizadas, se colocaron en recipientes de vidrio transparentes de 10 ml, también esterilizados. A cada recipiente se le agregó la solución fisiológica buffer (PBS), preparada de acuerdo con lo indicado en la norma ISO 13781 (pH fisiológico, 7.4 ± 2), en una relación masa/volumen (PU/PBS) de 1g/ml. La solución PBS se compone de una mezcla de una fracción en volumen del 18.2% de una solución A (KH_2PO_4 al 1/15 M) y una fracción en volumen del 81.8% de una solución B (Na_2HPO_4 al 1/15 M). Una vez inmersos los materiales en la solución, los contenedores se cerraron y se colocaron dentro de la incubadora a una temperatura de 37°C . Después de cada periodo, la muestra se retiró del PBS, se secó al vacío y se midió su masa para determinar la variación existente respecto a la masa inicial. El balance de masa se realizó de acuerdo con el protocolo mencionado en la norma, en una balanza analítica marca OHAUS, modelo Pioneer® Analytical PX224/E, con una resolución de 0.0001 g. Para determinar la tasa de degradación (D_r) en determinados lapsos, se utilizó una ecuación diferencial exponencial de decaimiento de primer orden (Ec. 2). Cabe mencionar que las pruebas se realizaron por triplicado bajo estrictos cuidados de higiene para evitar contaminar las muestras después de su esterilización.

$$D_r = m_t/m_0 = e^{-k \cdot t} \quad (\text{Ec. 2})$$

donde m_0 y m_t son el peso inicial y el peso en el tiempo determinado t , y k una constante de velocidad cinética.

III.IV Ensayos para evaluar posibles aplicaciones

III.IV.I Sistema de administración de fármacos de Doxorrubicina

Una posible aplicación para los PUs es su uso como sistema de administración de medicamentos. Por lo tanto, se propuso hacer una prueba de retención y liberación de drogas, usando Doxorrubicina (DOXO) como fármaco de prueba, ya que se busca enfocar estos materiales a



Capítulo III. Desarrollo Experimental

aplicaciones que tengan que ver con el tratamiento del cáncer de mama, y este fármaco es ampliamente utilizado para este fin (Bontempo et al., 2017; Gupta et al., 2019; Li Volsi et al., 2016; Mauro et al., 2015; Schoener et al., 2013).

En primer lugar, se preparó una solución saturada de DOXO (2 mg ml^{-1}) para construir una curva de calibración mediante espectroscopia de ultravioleta visible (UV-vis) midiendo una concentración conocida del fármaco dentro del rango lineal de la ley de Lambert-Beer (rango de concentración de 0.2 a $2.0 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) a 482 nm empleando un espectrofotómetro UV Vis 16,000 PC (VWR, Wayne, PA, EE. UU.). Las soluciones para la curva de calibración se prepararon a partir de disoluciones adicionales de la solución madre inicial de $2.0 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. En estos estudios se utilizó agua desionizada como blanco

Una vez construida la curva de calibración, los materiales se cargaron con la solución inicial de DOXO de $2.0 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, esperando el tiempo necesario para alcanzar la relación máxima de hinchamiento de cada material; una vez cargados los PUs, la DOXO no absorbida se calculó midiendo la absorbancia relativa de acuerdo con la curva de calibración anterior, haciendo los ajustes matemáticos pertinentes para mantener las mismas condiciones iniciales. La cantidad de DOXO cargada se calculó por la diferencia entre la concentración de la solución inicial y la DOXO no absorbida. El procedimiento descrito permite calcular la cantidad de fármaco cargado por unidad de masa de PU (q , $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) usando la ecuación (3):

$$q (\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}) = (C_0 - C_e) * V/M \quad (\text{Ec. 3})$$

donde C_0 y C_e son las concentraciones de DOXO inicial y de equilibrio ($\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$), respectivamente, V el volumen de la solución (ml) y M la masa utilizada de poliuretano (g).

Para la prueba de liberación del fármaco, las muestras de PU se colocaron en un vial de vidrio que contenía el mismo volumen de agua desionizada que se utilizó para la carga del fármaco y, después de intervalos de tiempo predeterminados (20 min), el poliuretano se separó de la solución y el porcentaje de DOXO liberado en relación con la DOXO cargada (D_r , %) se estima



Capítulo III. Desarrollo Experimental

comparando la medición de absorbancia en UV-Vis con la curva de calibración trazada, usando la Ecuación (4):

$$D_r(\%) = [(C_e - C_r)/C_e] \times 100, \quad (\text{Ec. 4})$$

donde C_e y C_r son la concentración ($\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$) de DOXO en equilibrio después de la carga de fármaco en el poliuretano y en un intervalo de tiempo de liberación, respectivamente.

Con el fin de poder determinar el mecanismo de liberación de fármaco que presenta cada uno de los materiales sintetizados, los datos obtenidos de los experimentos de liberación se ajustaron de acuerdo con los modelos cinéticos más relevantes reportados para describir los mecanismos de liberación de fármacos de diferentes biomateriales (Samaha et al., 2009). A continuación, se presenta cada modelo matemático y se describe su interpretación:

- **Cinética de Orden Cero:** este modelo describe la disolución del fármaco a partir de dispositivos farmacéuticos que no se desagregan en el proceso y donde la liberación del fármaco se da lentamente (Samaha et al., 2009; Varelas et al., 1995). En este caso, se asume que el área del dispositivo no cambia y no se obtienen condiciones de equilibrio. Este modelo se puede utilizar para describir la disolución del fármaco de varios dispositivos de liberación como algunos sistemas transdérmicos, así como comprimidos matriz con fármacos poco solubles, sistemas osmóticos, etc. Los materiales que siguen este perfil liberan la misma cantidad de fármaco por unidad de tiempo, siendo el método ideal de liberación para lograr una acción farmacológica prolongada. El modelo se puede representar de manera sencilla mediante la siguiente ecuación:

$$Q_t = Q_0 + (K_0 \cdot t) \quad (\text{Ec. 5})$$

donde Q_t es la cantidad de fármaco disuelto en el tiempo t , Q_0 es la cantidad inicial de fármaco en la solución (la mayoría de las veces, $Q_0=0$) y K_0 es la constante de liberación de orden cero.



Capítulo III. Desarrollo Experimental

- **Cinética de Primer Orden:** la aplicación de este modelo a los estudios de disolución de fármacos fue propuesta por primera vez por Gibaldi y Feldman en 1967 y más tarde por Wagner en 1969 (Mulye & Turco, 1995; Samaha et al., 2009). Este modelo también se ha utilizado para describir la absorción y/o eliminación de algunos fármacos, sin embargo, el concepto teórico del modelo es difícil de describir, pero generalmente se expresa mediante la Ecuación (6):

$$\log C = \log C_0 - (K_1/2.303)t \quad (\text{Ec. 6})$$

donde C es la cantidad de fármaco liberado en el tiempo t , C_0 es la cantidad inicial de fármaco en la solución y K_1 es la constante de liberación de primer orden. Los dispositivos farmacéuticos que siguen este perfil de disolución, como las que contienen fármacos hidrosolubles en matrices porosas, liberan el fármaco de forma proporcional a la cantidad de fármaco remanente en su interior, de tal forma, que la cantidad de fármaco liberada por unidad de tiempo disminuye.

- **Modelo de Higuchi:** Higuchi desarrolló varios modelos teóricos para estudiar la liberación de fármacos solubles en agua y poco solubles incorporados en matrices semisólidas y/o sólidas (Higuchi, 1961; Samaha et al., 2009). Este modelo, funciona para dispositivos de dosificación con un perfil de concentración, que puede existir después de la aplicación del sistema farmacéutico. Higuchi describe la liberación del fármaco como un proceso de difusión basado en la ley de Fick, dependiente de la raíz cuadrada del tiempo. En general, el modelo se puede resumir con la siguiente expresión (conocida como el modelo de Higuchi simplificado):

$$f_t = K_H t^{1/2} \quad (\text{Ec. 7})$$

donde K_H es la constante de disolución de Higuchi tratada a veces de manera diferente por diferentes autores y teorías. Esta relación puede usarse para describir la disolución del fármaco a partir de varios tipos de dispositivos de liberación, como en el caso de algunos sistemas transdérmicos.



Capítulo III. Desarrollo Experimental

- **Modelo de Korsmeyer-Peppas:** este modelo se utiliza generalmente para analizar la liberación de dispositivos poliméricos de dosificación, cuando el mecanismo de liberación no es bien conocido o cuando más de un tipo de fenómeno de liberación podría estar involucrado. Peppas empleó un modelo simple derivado del de Korsmeyer para describir la liberación del fármaco en una matriz polimérica, utilizó el valor n para caracterizar diferentes mecanismos de liberación (Ritger & Peppas, 1987; Samaha et al., 2009). Esto se resume en la Ecuación (8):

$$M_t = M_\infty \cdot a \cdot t^n \quad (\text{Ec. 8})$$

Donde M_∞ es la cantidad de fármaco inicial, M_t la cantidad de fármaco en un lapso t y “ a ” la constante. Los valores que Peppas (1985) asignó a “ n ” para caracterizar diferentes mecanismos de liberación se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 5. Interpretación de los mecanismos de liberación por difusión de películas poliméricas (Ritger & Peppas, 1987).

Exponente de liberación (n)	Mecanismo de transporte del fármaco	Tasa en función del tiempo
0.1- 0.5	Difusión de Fick	$t^{-0.5}$
0.5-1.0	Transporte anómalo	t^{n-1}
1.0	Transporte del caso II	Liberación de orden cero
Superior a 1.0	Super transporte del caso II	t^{n-1}

III.IV.II Biomarcador de biopsia biodegradable

Las propiedades únicas de resistencia y biocompatibilidad de los materiales compuestos (que utilizan una matriz polimérica) los ha llevado a ser utilizados en la medicina para desarrollar distintos dispositivos, como ya se ha mencionado en capítulos previos, y entre ellos se encuentran los biomarcadores. Estos sistemas, sirven para indicar el sitio donde se ubica una lesión en el cuerpo. En este caso, nos interesó específicamente su uso para el diagnóstico o tratamiento del cáncer de mama. En su mayoría, los biomarcadores están hechos de acero o titanio, pero en los



Capítulo III. Desarrollo Experimental

últimos años se han propuesto nuevos sistemas basados en polímeros biodegradables y nanopartículas metálicas. Un ejemplo de lo anterior es el trabajo de Hernández y colaboradores, donde mostraron que utilizar como biomarcador un sistema de ácido poliláctico y policaprolactona (PLA-PCL-diol) combinados con nanopartículas de magnetita, podría ser una opción viable como material alternativo para nuevos marcadores de biopsia biodegradables para lesiones de cáncer de mama (Hernandez-Martinez et al., 2018). Lo anterior abre la posibilidad explorar nuevas opciones en la búsqueda de mejorar las condiciones de vida de los pacientes, evitando así la doble intervención quirúrgica en el proceso de colocar el marcado y luego retirarlo.

En este trabajo, además de la evaluación de los nuevos PUs para su posible uso para desarrollar sistemas de liberación de fármacos, se planteó evaluar su viabilidad en esta línea de investigación adicional. Para este fin, se sintetizaron nanopartículas de óxido de hierro Fe_3O_4 (magnetita) por el método de coprecipitación de sales de hierro $FeCl_3$ y $FeCl_2$ (relación molar 1:1), con 25% de iones citrato (con respecto a los iones de hierro). La síntesis se llevó a cabo de acuerdo con la metodología reportada por Hernández y colaboradores. En general, la síntesis consistió en mezclar las soluciones acuosas de $FeCl_3$ y $FeCl_2$ con una solución de citrato de sodio, ajustando el pH en 9 con una solución 4M de NH_4OH . La solución se mantuvo en sonicación a $60^\circ C$ durante 2 h en atmósfera inerte mediante burbujeo constante de N_2 . Finalmente, se obtuvo un precipitado negro, el cual se recoge utilizando un imán de neodimio de ~ 12.100 gauss. El precipitado se sometió a un proceso de lavado de tres ciclos utilizando agua desionizada y EtOH, y finalmente se secó al vacío a temperatura ambiente.

Las nanopartículas de magnetita obtenidas se mezclaron con el PU-InP11 (PU con las propiedades más adecuadas para la aplicación), con el fin de formar un material compuesto radiopaco, donde el poliuretano funge como matriz y las partículas como refuerzo. El proceso de construcción constó de lo siguiente; se mezcló 1% de nanopartículas de óxido de hierro (m/m) con respecto a la masa de PU mediante agitación mecánica con bajo contenido de isopropanol, para formar una pasta. La pasta se colocó en un molde, el cual se aisló en un horno de secado al vacío ADP 200 C (Yamato Scientific Company LTD., Tokio, Japón) a $40^\circ C$ con atmósfera controlada para evaporar el solvente, durante 72 h. El compuesto se moldeó con una forma no bioló-



Capítulo III. Desarrollo Experimental

gica para así poder hacer la discriminación en las pruebas de radiopacidad (cuadrado con bordes redondeados).

Las nanopartículas empleadas se caracterizaron por difracción de rayos X (XRD) con el fin de comprobar la obtención de magnetita (Fe_3O_4). Para esto se colocó una muestra en una placa de aluminio y se analizó con un difractómetro RIGAKU Ultima-IV (Rigaku Americas Corp., Woodlands, TX, E. U. A.), bajo las siguientes condiciones: rango de 2θ de 5° a 80° , pasos de $0,022 \theta$ y $\sim 0,7$ s por paso, tubo de rayos X operado a 30 kV y 10 mA con radiación de CuK_α ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$). En cuanto a la caracterización del compuesto, primero se tomó una micrografía SEM de las nanopartículas de óxido de hierro obtenidas y luego se midió su distribución en la matriz del poliuretano mediante espectroscopia de dispersión de electrones (EDS) con un detector de deriva de silicio Bruker XFlash 6/60 acoplado a un microscopio de emisión de cátodo frío Hitachi SU8230. Las muestras se colocaron en porta-muestras metálicos de aluminio usando un revestimiento conductor de una sola capa de oro. Todas las imágenes se tomaron usando un detector de electrones secundarios a 30 keV a una distancia de trabajo de 15 mm. Posteriormente, se realizó la evaluación de las propiedades radiopacas del material compuesto mediante su implantación en un modelo de glándula mamaria, el cual consiste en tejido muscular y adiposo. Las imágenes se adquirieron utilizando un aparato de Rayos X de imágenes dentales RVG 5200 (Carestream Health Inc., Rochester, NY, EE. UU.) y, con el fin de sugerir su posible aplicación como biomarcador en la biopsia de mama estereotáctica, se creó un script MATLAB personalizado para observar su visibilidad en un análisis de 8 bits de escala de grises como escala radiopaca, donde el valor más bajo (negro = 0) se consideró como radiolúcido y el valor más alto (blanco = 255) se consideró radiopaco.



CAPÍTULO IV TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN



Capítulo IV. Técnicas de Caracterización

Para conocer las propiedades de los diferentes materiales sintetizados se emplearon distintas técnicas de caracterización. Para comprobar que los polímeros sintetizados realmente son poliuretanos, se utilizó FTIR, espectroscopía Raman y NMR; las propiedades de estabilidad térmica de los materiales se estudiaron mediante termogravimetría (TGA); por otro lado, para la evaluación de la liberación de fármaco, se empleó la técnica de espectroscopía de ultravioleta visible; para comprobar la formación de nanopartículas de magnetita se empleó la técnica de difracción de rayos X, útil para identificar la fase obtenida en los materiales, y para conocer su morfología, así como su distribución una vez incorporadas en la matriz polimérica, se usó microscopía electrónica de barrido junto a una espectroscopía de energía dispersiva de rayos-X. A continuación, se describen los principios básicos del funcionamiento de las técnicas antes mencionadas.

IV.I Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR, del inglés *Fourier Transform Infrared*) estudia la absorción o emisión de energía radiante originada por la interacción entre la radiación electromagnética y el material en estudio. Esta técnica se basa en la rotación y las vibraciones moleculares a distintas frecuencias (modos normales vibracionales). Es decir, una molécula es capaz de absorber la energía proveniente de fotones en el rango energético del IR en el caso de que exista una diferencia en el momento dipolar de la molécula mientras sucede un movimiento vibracional rotacional (Piqué & Vázquez, 2012). Los rangos de frecuencias del infrarrojo donde los enlaces químicos tienen movimientos vibracionales son entre 650 y 4000 cm^{-1} . Debido a la existencia de modos vibracionales, que inducen oscilaciones que pueden entrar en resonancia con un haz de IR, se produce un intercambio energético entre el haz y las moléculas constituyentes de la muestra, lo cual genera un comportamiento característico para cada tipo de enlace, cada entorno químico y una concentración de enlaces determinadas. Derivado de esto, se dice que un espectro de FTIR manifiesta bandas correspondientes a los diferentes movimientos de vibración de cada uno de los enlaces dentro de la molécula. Por ello, se considera que el espectro constituye la huella dactilar de algún compuesto determinado, lo cual vuelve a la espectroscopía IR una de las técnicas más utilizadas para la identificación de compuestos orgánicos

Capítulo IV. Técnicas de Caracterización

(Chirayil et al., 2017; Piqué & Vázquez, 2012). Los espectros que se obtienen en esta técnica son similares al ejemplo presentado en la figura 10.

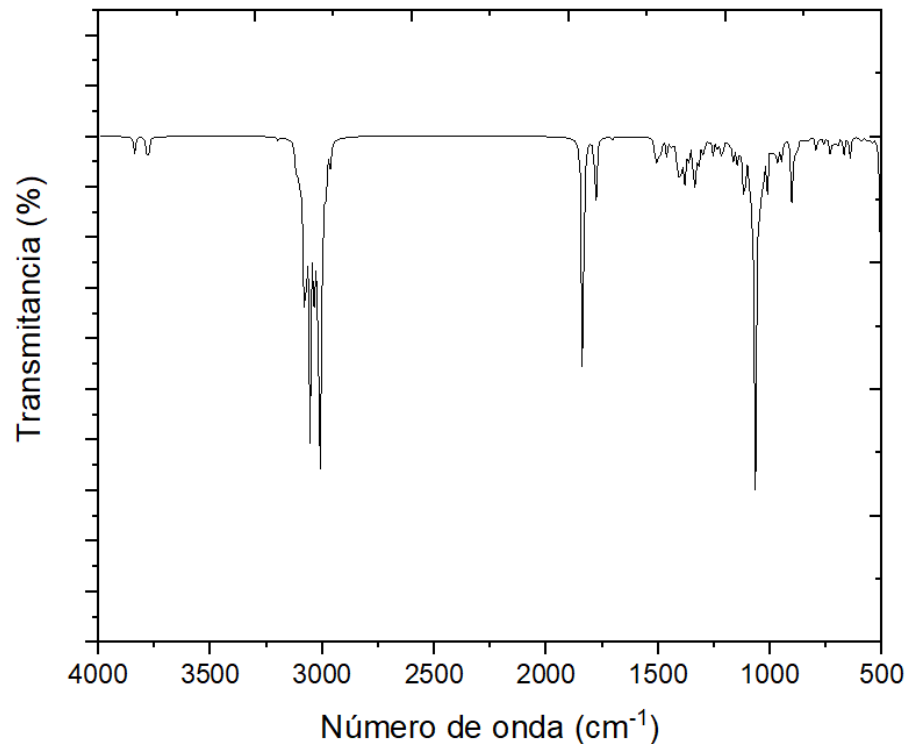


Figura 10. Ejemplo aleatorio de un espectro obtenido mediante la técnica de FTIR.

IV.II Espectroscopía Raman

La espectroscopia Raman es una técnica que permite observar modos vibratorios, rotacionales y de baja frecuencia en un sistema, ampliamente utilizada para la identificación y cuantificación de muestras. Es una técnica espectroscópica basada en la dispersión inelástica de luz monocromática, generalmente de una fuente láser. La dispersión inelástica significa que la frecuencia de los fotones en la luz monocromática cambia al interactuar con una muestra. Los fotones de la luz láser son absorbidos por la muestra y luego reemitidos. La frecuencia de fotones reemitidos se desplaza hacia arriba o hacia abajo en comparación con la frecuencia monocromática original, que se denomina efecto Raman. Este cambio proporciona información sobre transiciones vibratorias, rotacionales y otras transiciones de baja frecuencia en las moléculas. La espectroscopia Ra-



Capítulo IV. Técnicas de Caracterización

man se puede utilizar para estudiar muestras sólidas, líquidas y gaseosas (Chirayil et al., 2017; Larkin, 211 C.E.).

IV.III Resonancia magnética nuclear (NMR)

El fenómeno de resonancia magnética nuclear se basa en el hecho de que los núcleos de los átomos tienen propiedades magnéticas que pueden ser utilizadas para obtener información química de diferentes tipos de muestras. Se sabe que los núcleos con masa impar o número atómico impar tienen espín nuclear (similar al espín de los electrones), esto incluye al ^1H y al ^{13}C . Los espines nucleares son suficientemente diferentes para que los experimentos de NMR sean sensibles para un solo isótopo en particular de un elemento específico. El comportamiento de la NMR de los núcleos de ^1H y el ^{13}C se ha explorado por los químicos orgánicos ya que permiten obtener información valiosa para deducir la estructura de compuestos orgánicos. Si una muestra es colocada en un campo magnético y es sometido a radiación de radiofrecuencia (energía), a cierto nivel, los núcleos en la muestra absorberán esta energía. La frecuencia necesaria de la radiación para que suceda la absorción de la energía depende de dos cosas: la primera está ligada con el tipo de núcleos y la segunda es que la frecuencia depende del entorno químico de los núcleos (Chirayil et al., 2017).

Un núcleo que posee un espín en presencia de un campo magnético externo puede alinearse con él (+) o contra él (-). Se sabe que muchos núcleos giran alrededor de un eje y debido a que los núcleos están cargados positivamente, este giro está asociado con una circulación de carga eléctrica. Las cargas circulantes dan lugar a campos magnéticos, por lo que los núcleos con giro también tienen un momento magnético, parecido al imán de la aguja de una brújula. Cuando se colocan en un campo magnético externo, los núcleos tienden a girar (como las agujas de una brújula en el campo terrestre) hacia una orientación preferida. Otras orientaciones menos favorecidas tienen mayor energía. Los núcleos obedecen las leyes cuánticas y para algunos núcleos, que se dice que tienen un número cuántico de espín de $1/2$, solo se pueden adoptar dos orientaciones. Pueden ocurrir transiciones entre los dos niveles de energía si se absorbe radiación de la frecuencia correcta. En RMN, la radiación electromagnética se utiliza para "cambiar" la alineación de los



Capítulo IV. Técnicas de Caracterización

espines nucleares del estado de espín alineado de baja energía al estado de espín opuesto de mayor energía. La energía requerida para esta transición depende de la fuerza del campo magnético aplicado, pero es pequeña y corresponde al rango de radiofrecuencia del espectro electromagnético (Günther, 2013).

Hoy en día, la RMN se ha convertido en una herramienta analítica poderosa y sofisticada, siendo el único método para la determinación de la estructura de resolución atómica de macromoléculas, además de cuantificar sus propiedades motrices, propiedades químicas de grupos funcionales, como los estados de ionización de grupos ionizables en los sitios activos de enzimas, y la detección directa de interacciones de enlaces de hidrógeno. Aunado a esto, también sirve para el diseño y detección de drogas; la RMN de estado sólido tiene el potencial de determinar las estructuras de resolución atómica de los dominios de proteínas de membrana en sus entornos de membrana nativa; permite el análisis de metabolitos; es una técnica madura para la identificación química y el análisis conformacional de productos químicos, ya sean sintéticos o naturales. Por lo tanto, la NMR es una herramienta poderosa en la investigación de la química y física de polímeros (Chirayil et al., 2017).

IV.IV Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis)

La espectroscopia UV-Vis se basa en el análisis cuantitativo de radiación electromagnética, en el rango de longitudes de onda del ultravioleta y visible (200-780 nm), que una muestra puede absorber o transmitir en función de la cantidad de sustancia presente. Esta técnica supone que cuando se irradia una muestra se genera una absorción parcial de esta radiación, lo cual produce una transición entre los niveles energéticos de los átomos de la sustancia analizada, pasando de un estado basal a un estado excitado, generando una diferencia de energía (ΔE), mientras que el resto de radiación es transmitida. Por tanto, analizando la radiación transmitida o la radiación absorbida podemos relacionar la cantidad de especie activa presente en la muestra. En la figura 11 se describe el proceso de las transiciones electrónicas en los niveles de energía de la sustancia (Harris, 2012).

Capítulo IV. Técnicas de Caracterización

Niveles energéticos de sustancia problema (X)

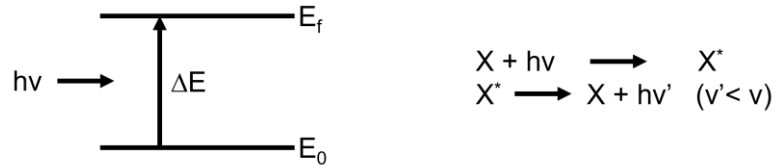


Figura 11. Proceso de las transiciones electrónicas en los niveles de energía de una sustancia X.

$$\Delta E = E_f - E_0 = h\nu \quad (\text{Ec. 9})$$

El ΔE es característico para cada sustancia (calculado por la ecuación 9), lo que nos proporciona un análisis cualitativo de un determinado analito en una muestra. Además, la cantidad de energía (E) absorbida o transmitida es proporcional a la concentración del analito (X), lo cual se usa para el análisis cuantitativo. Esta proporcionalidad viene dada por la ley de Lambert-Beer, la cual permite relacionar la fracción de radiación absorbida con la concentración del analito y el espesor del medio en cualquier proceso de absorción y en cualquier zona del espectro. Se basa en que cada unidad de longitud a través de la cual pasa la radiación absorbe la misma fracción de radiación, por tanto, si se tiene un haz de luz monocromática (I_0) que pasa a través de un material con espesor “ l ”, la disminución de la intensidad de luz transmitida (I) será proporcional al camino recorrido y a la concentración de la sustancia absorbente (C). Su fórmula es:

$$I = I_0 * e^{-\mathcal{E} * l * C} \quad (\text{Ec. 10})$$

El factor de proporcionalidad « \mathcal{E} », se denomina absorptividad molar, y está relacionado con la probabilidad que tiene la sustancia en análisis de absorber radiación. Tomando logaritmos y reorganizando la ecuación tenemos:

$$A = -\log(I/I_0) = \mathcal{E} * l * C \quad (\text{Ec. 11})$$

donde $-\log I/I_0$ se denomina absorbancia (A). Entonces, si tenemos una sustancia cualquiera (X) que absorbe en el rango ultravioleta-visible, debido a su configuración electrónica, no lo hará a una única energía, sino que podrá absorber en un rango de energías con distinta eficiencia en cada

Capítulo IV. Técnicas de Caracterización

una de ellas (Chirayil et al., 2017; Harris, 2012). Esto da lugar a un espectro característico de cada sustancia, que indica la intensidad de luz absorbida de cada longitud de onda o energía, como el mostrado en la figura 12.

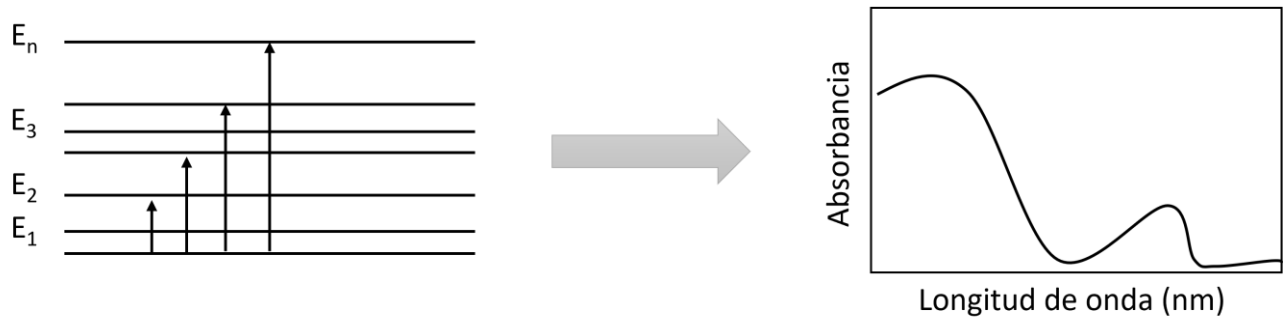


Figura 12. Espectro UV-vis derivado de las transiciones electrónicas.

Estos análisis requieren de equipos especiales, compuestos de una fuente de luz que emite luz policromática a través de un sistema óptico e irradian a la muestra. Para los análisis cuantitativos, se pueden construir curvas de calibración con estándares del analito a analizar y, a partir de la ecuación derivada de esta recta, determinar la concentración presente en las muestras problema (Harris, 2012). Para construir una curva de calibrado, se selecciona la longitud de onda máxima a la que absorbe la sustancia y, utilizando muestras patrón de concentración conocida, se obtienen los datos de absorbancia frente a concentración (A vs $[C]$), que debidamente representados dan lugar a una recta de calibrado, basada en la ecuación de Lambert-Beer, como se muestra en la figura 13.

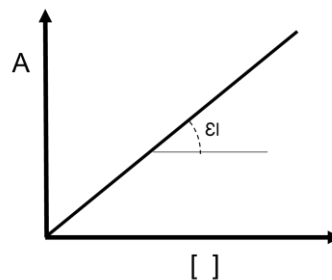


Figura 13. Representación de una recta de calibración construida mediante UV-Vis.



Capítulo IV. Técnicas de Caracterización

A partir de la recta construida, para una muestra de concentración desconocida tan solo hay que medir el valor de absorbancia a la longitud de onda del máximo y extrapolar el resultado en la curva de calibrado.

IV.V Análisis termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico (TGA), es una técnica en la cual la masa de un analito es monitoreada en función de la temperatura y/o el tiempo. La muestra es sometida a un programa de calentamiento específico en atmósfera controlada. El equipo de TGA consiste en una charola de muestras soportada sobre una balanza de precisión. La charola se encuentra dentro de un horno y se calienta o enfría durante el experimento, mientras la masa de la muestra es monitoreada por la balanza, la cual está conectada a un transductor de datos para registrar los resultados en el equipo de cómputo. El gas utilizado sirve para controlar el entorno de la muestra. Este gas puede ser inerte o reactivo, dependiendo del tipo de atmósfera deseada para el experimento. El análisis térmico permite conocer propiedades como la entalpía, la capacidad calorífica, la variación de la masa a diferentes temperaturas y el coeficiente de expansión. La química de estado sólido emplea esta técnica para estudiar las reacciones en estado sólido, las reacciones térmicas de degradación, las transiciones de fase y diagramas de fase. La curva obtenida de la medición de la pérdida de masa nos ofrece información sobre los cambios en la composición de la muestra, su estabilidad térmica y los parámetros cinéticos para las reacciones químicas de la misma (Chirayil et al., 2017; Govorčín Bajsić & Rek, 2001; Sarkar & Adhikari, 2001).

IV.VI Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

La Microscopía Electrónica de Barrido (SEM, del inglés *scanning electron microscopy*) se fundamenta en el proceso en el que los electrones emitidos por un cátodo de tungsteno (W) o de hexaboruro de Lantano (LaB_6) pasa a través de una columna, la cual se encuentra a alto vacío. El haz inicial es concentrado por una serie de lentes electromagnéticas, que reducen el diámetro del haz (hasta unos 10 nm). Al mismo tiempo, la intensidad de corriente se disminuye desde unos 10-14 A hasta unos 10⁻¹⁰ A (esta disminución en la intensidad implica una menor cantidad de

Capítulo IV. Técnicas de Caracterización

electrones primarios) y posteriormente el haz de electrones es desplazado sobre toda la superficie de la muestra a analizar (figura 14) (McMullan, 1995).

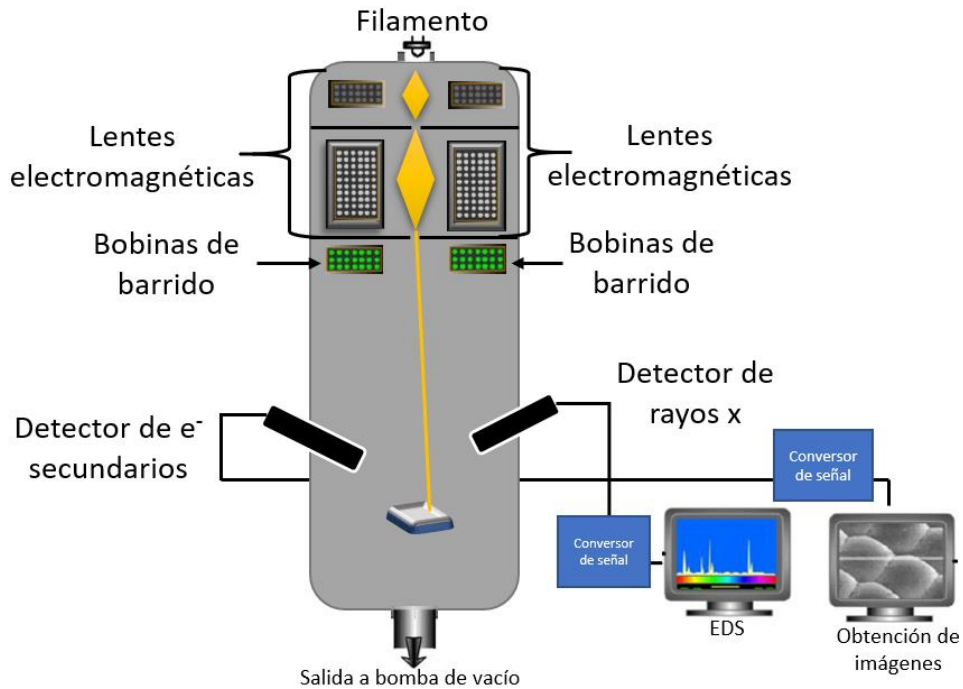


Figura 14. Diagrama de un microscopio electrónico de barrido.

La interacción entre el haz de electrones con la superficie de una muestra provoca la emisión de catodoluminiscencia, rayos x, y electrones secundarios, retrodispersados y Auger (ver figura 15) (Chirayil et al., 2017; McMullan, 1995). Los microscopios SEM están equipados con diferentes detectores para analizar estas emisiones, sin embargo, comúnmente, en microscopía electrónica de barrido, las más utilizadas son las siguientes:

- **Electrones secundarios:** se producen a partir de la emisión de los electrones de valencia de los átomos de la muestra, cuando son excitados por el haz. Como son de muy baja energía (< 50 eV) solo logran salir los más superficiales, proporcionando información acerca de la topografía de la superficie.

Capítulo IV. Técnicas de Caracterización

- **Electrones retrodispersados:** también llamados electrones reflejados, poseen mayor energía que los secundarios, por tanto, proporcionan información de regiones más profundas de la muestra y son sensibles a la composición de esta; a mayor peso molecular, mayor emisión de electrones retrodispersados, por ende, las áreas con elementos pesados aparecen brillantes en la imagen.
- **Rayos X:** durante la interacción de los electrones del haz con los átomos de la muestra, éstos son excitados y para volver al equilibrio, el átomo emite un fotón de rayos X. Esto se utiliza en la Espectroscopia por Dispersión de Energías de Rayos X, que por lo general va acoplada al SEM.

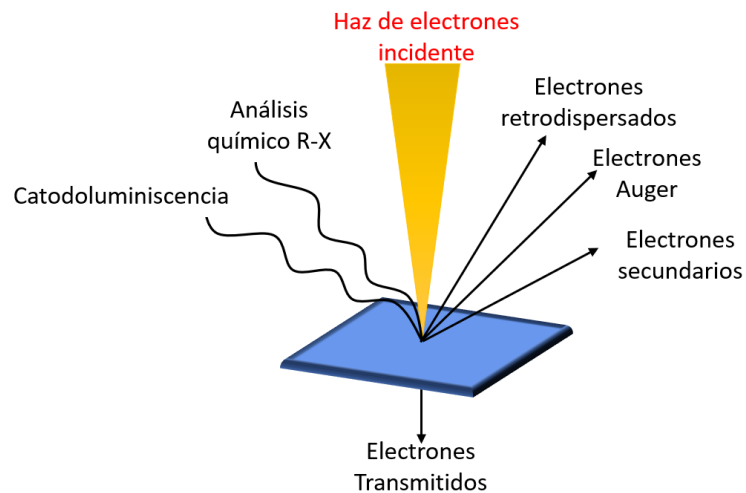


Figura 15. Ilustración de la interacción del haz de electrones con la muestra.

Los electrones secundarios y/o retrodispersados son detectados y traducidos por el convertidor de señal a imágenes, obteniendo así imágenes topográficas de la superficie de los materiales a analizar, las cuales se pueden observar a través del monitor de un computador y pueden ser exportadas y almacenadas.

IV.VII Espectroscopia por Dispersión de Energía de Rayos X (EDS)

El análisis por EDS (siglas en inglés para *energy dispersive spectroscopy*) se basa en la detección de las energías de los rayos-X característicos de cada elemento de la tabla periódica,

Capítulo IV. Técnicas de Caracterización

permitiendo obtener información de la composición elemental de una muestra. Para generar un fotón de rayos-X se expulsa un electrón de alguno de los orbitales internos del átomo, de este modo este hueco es ocupado por un electrón de un orbital más externo y, dependiendo del orbital al que pertenezca el electrón expulsado, será el tipo de rayo X que se emita (tipo “K”, “L” o “M”). Además, dentro de estos también existen subtipos. Entonces cuando un electrón expulsado del orbital K es ocupado por un electrón del orbital L, tendremos un rayo-X tipo K_{α} , pero si es ocupado por un electrón del orbital M, entonces tendremos un rayo X tipo K_{β} . Para esto es necesario considerar no sólo desde qué suborbital procede el electrón sino también qué suborbital es el que “rellena”, ya que excepto en el orbital K, el resto se dividen en subniveles (3 para el L, 5 para el M y 7 para el N). Por lo tanto, si un electrón expulsado del orbital K es ocupado por otro del orbital L_3 , tendríamos un rayo X tipo $K_{\alpha 1}$, si es del orbital L_2 sería del tipo $K_{\alpha 2}$, etc. (ver figura 16) (Garratt-Reed et al., 2006).

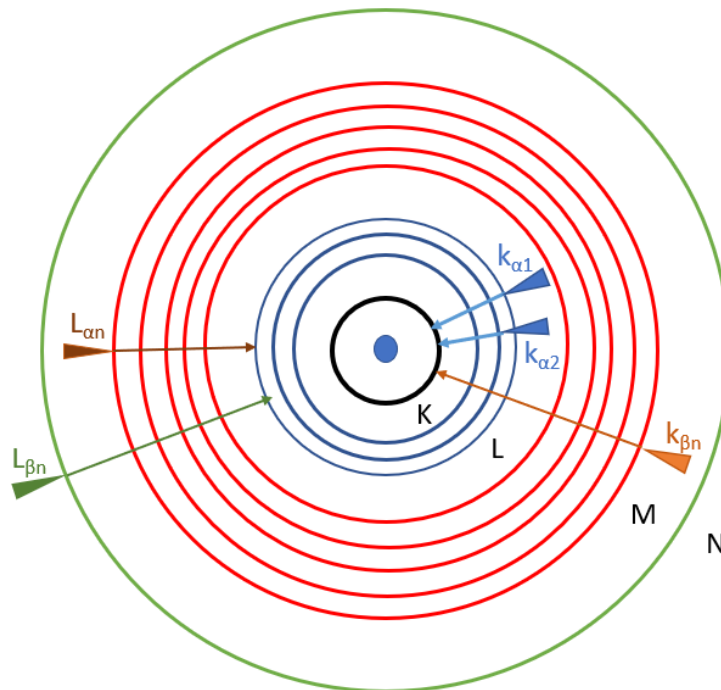


Figura 16. Diagrama de la producción de rayos X característicos de un elemento.

Existen dos tipos de análisis por EDS, el cualitativo y el semicuantitativo. El análisis cualitativo se basa en la discriminación de las energías de los rayos X captados por el detector,



Capítulo IV. Técnicas de Caracterización

sabiendo que cada energía es característica en cada elemento. A veces puede presentar problemas el solapamiento de picos en el espectro debido a la similitud de energías de orbitales de distintos elementos. No obstante, el software de los equipos suele disponer de algoritmos de deconvolución que resultan muy útiles para resolver este problema. En cuanto al análisis semicuantitativo (dado en porcentaje), es un asunto complejo, sobre todo si exigimos unos márgenes de error reducidos. En función de la naturaleza de la muestra a analizar, se debe tener en cuenta los elementos que la componen, y diseñar una calibración a medida para llegar a los resultados deseados (Chirayil et al., 2017; Garratt-Reed et al., 2006), sin embargo, en la mayoría de los casos se recurre a otras técnicas de análisis especiales para obtener mejores resultados cuantitativos.

IV.VIII Difracción de Rayos X (XRD)

La técnica de difracción de rayos X (XRD, del inglés *x-ray diffraction*) es ampliamente utilizada ya que permite verificar la existencia de fases cristalinas en los materiales estudiados. El espectro de difracción de un material se debe al arreglo atómico de la muestra, es decir cada compuesto presenta un patrón distinto y único. En los sólidos cristalinos los átomos se encuentran ordenados de una manera periódica dentro de una estructura básica conocida como “celda unitaria”, la que, al trasladarse, reproduce todo el cristal. Cuando un material se compone por cristales orientados en una sola dirección, se conocen como monocristalinos y los materiales que están conformados por cristales en diferentes orientaciones se llaman policristalinos, y en caso de que un material no cuenta con periodicidad en su estructura, se trata de un material amorfo (Chirayil et al., 2017).

La explicación básica de la técnica de XRD se basa en que un haz de rayos X incide en la superficie de un material cristalino a cierto ángulo θ ; una parte de este es dispersada por la capa de átomos de la superficie y la otra penetra en la segunda capa de átomos, donde otra parte de la fracción de los rayos es dispersada, mientras que el resto pasa a la tercera capa y el proceso sigue (Ryland, 1958; Trovati et al., 2010). La suma de las ondas dispersadas que provienen de una estructura cristalina produce ondas reforzadas en una dirección determinada por la Ley de Bragg, la que puede definirse de la siguiente forma (ver figura 17): para un rayo difractado por la superficie de un plano (hkl) de un cristal, la distancia del punto A a P (\overline{AP}) es igual a la distancia del punto

Capítulo IV. Técnicas de Caracterización

P al C (\overline{PC}); como los ángulos formados por lo puntos AOP y POC son iguales a θ , aplicando funciones trigonométricas podemos deducir que:

$$\overline{AP} = \overline{PC} = d \text{sen}(\theta) \tag{Ec. 12}$$

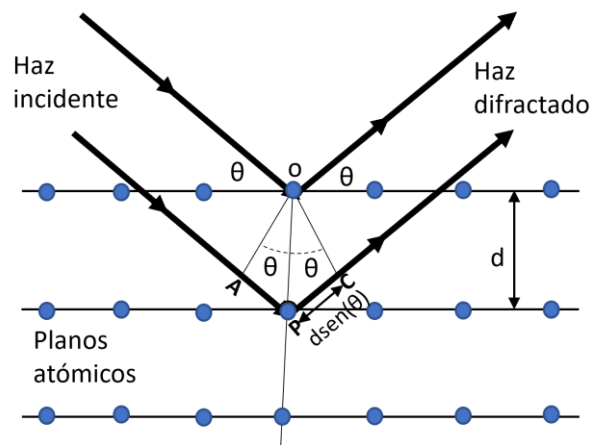


Figura 17. Esquema de la difracción de un rayo X por los planos de un cristal.

Por otro lado, para que exista el reforzamiento de las ondas, éstas deben estar en fase y para ello debe cumplirse con la Ley de Bragg, la que se enuncia como: “la diferencia de camino óptico recorrido entre rayos difractados por planos consecutivos debe ser igual a un múltiplo entero de longitud de onda (λ)”. En otras palabras, la distancia del punto A a P y de P a C debe ser igual a un múltiplo de la longitud de onda de los rayos-X (Ec. 13), así (Le Pevelen, 2010; Ryland, 1958):

$$\overline{AP} + \overline{PC} = n\lambda \tag{Ec. 13}$$

al combinarlas las ecuaciones 12 y 13 se obtiene la expresión de la ley de Bragg para esta geometría en particular (Ec. 14):

$$n\lambda = 2d \text{sen}(\theta) \tag{Ec. 14}$$



Capítulo IV. Técnicas de Caracterización

donde “ n ” es el orden de reflexión, “ d ” es la distancia entre los planos del cristal, “ λ ” es la longitud de onda del haz de rayos X y “ θ ” es el ángulo de difracción.

Tal ecuación permite conocer “ d ,” la distancia entre planos cristalinos, a partir de θ o λ . Mientras que θ se obtiene del experimento, el valor de λ es conocido, ya depende del material con que se genera los rayos X (generalmente Cobre con $\lambda=1.5415 \text{ \AA}$ para muestras en polvo o policristalinas y para monocristales se emplea Molibdeno con $\lambda= 0.7101 \text{ \AA}$) (Le Pevelen, 2010).

Esta técnica se considera no destructiva, capaz de determinar las propiedades estructurales, los parámetros de la red, la deformación, el tamaño de grano, la epitaxia, la composición de fase, la orientación preferida, la expansión térmica y mide el espesor de películas delgadas.



CAPÍTULO V RESULTADOS

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos de las diferentes caracterizaciones aplicadas a los materiales sintetizados en este proyecto (PU-InP11, PU-InP12 y PU-InP21: i) estructurales (FTIR, Raman, RMN), ii) térmicas (TGA), iii) mecánicas (ensayo de tensión), iv) de hinchamiento y v) degradación hidrolítica. Del mismo modo, se presentan los resultados correspondientes a los ensayos empleados para evaluar su posible aplicación como candidatos para el diseño de nuevos sistemas de liberación controlada de fármacos y como matriz para el desarrollo de nuevos compósitos para la construcción de marcadores de biopsia biodegradables.

V.I Caracterización estructural

Los resultados de la caracterización estructural mediante espectroscopía FTIR en modo ATR, se muestran a continuación. En la figura 18 se presentan los espectros de los precursores (INU y la PCL-diol) resaltando sus bandas de absorción características y la asignación completa de cada una de las bandas de cada espectro se presenta en la tabla 6.

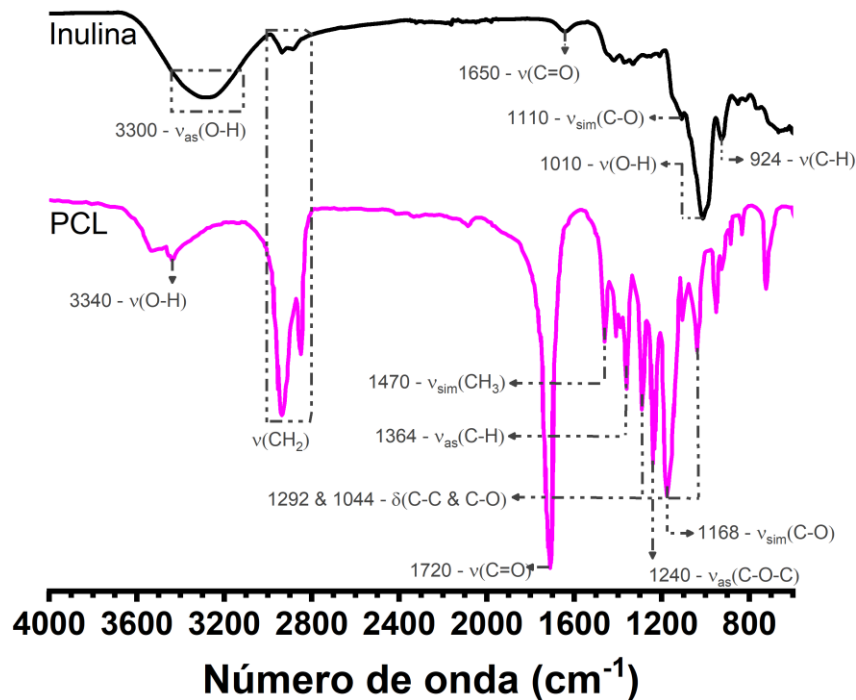


Figura 18. Espectros FTIR de los precursores poli(ol (inulina y PCL-diol) y (b) de los materiales sintetizados, con sus bandas de absorción características. Obtenidos con un espectrómetro Vector 33 (Bruker Biospin Corporation, Billerica, MA, EE. UU.). Nomenclatura: ν = stretching, δ = bending, y ω = wagging.



Capítulo V. Resultados

Tabla 6. Asignación de bandas de los espectros IR de la inulina y la PCL-diol.

Asignación de bandas de absorción	Número de onda (cm ⁻¹)	
	Inulina	PCL-diol
$\nu(\text{O-H})$ de la estructura del polisacárido	3640-3000	3535/3340
$\nu_{\text{as}}(\text{C-H})$ del enlace $-\text{CH}_2$	2934	2933
$\nu_{\text{s}}(\text{C-H})$ del enlace $-\text{CH}_2$	2858	2857
$\nu(\text{C=O})$ del del éster	NA	1720
$\nu(\text{C=O})$ de azúcares libres	1650	NA
$\nu_{\text{s}}(\text{C-H})$ del enlace $-\text{CH}_3$	NE	1470
$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$	1462	1410
$\nu_{\text{as}}(\text{C-H})$ del enlace $-\text{CH}_3$	NE	1364
$\nu(\text{C-C})$	1377	1390-1370
$\omega(\text{C-H})$ del $-\text{CH}_2$	1360	1360
$\delta_{\text{a}}(\text{C-H y -O-H})$ del anillo de fructosa	1330	NA
$\nu(\text{C-O y C-C})$ de la fase cristalina del poliéster	NA	1292 y 1044
$\nu(\text{C-O y C-C})$ de la fase amorfa del poliéster	NA	1157
$\nu_{\text{as}}(\text{C-O-C})$ del éster	NA	1240 y 950
$\nu_{\text{s}}(\text{C-O-C})$ del éster	NA	1168 y 926
$\nu(\text{C-O})$ de la estructura cíclica	1110	NA
$\nu(\text{C-O-H})$ del polisacárido	1010	NA
$\nu(\text{C-O-C})$ de la estructura cíclica del polisacárido	924	NA
$\nu(\text{C-O-C-O})$ del enlace fructosil-fructosa del polisacárido	850	NA
$\nu(\text{C-O-C})$ del polisacárido	816	NA
Vibración de deformación del enlace C-O	670	NA
$\nu(\text{C-O-H})$ de los extremos de la PCL-diol	NA	1106
Vibración de deformación del enlace C=O	NA	690-723

Nomenclatura: ν = stretching, δ = bending, ω = wagging, NA=No aplica.



Capítulo V. Resultados

Para la INU se identificaron principalmente las siguientes: el estiramiento asimétrico de los enlaces O–H con un máximo en número de onda de 3300 cm^{-1} , la vibración C–H simétrica y asimétrica del CH_2 a 2858 y a 2934 cm^{-1} , respectivamente, la banda del estiramiento del carbonilo (C=O) en 1650 cm^{-1} atribuida a la acetilación o a carbohidratos no cíclicos y la banda del enlace C–O correspondiente al estiramiento simétrico de la estructura cíclica del polisacárido en 1110 cm^{-1} . En cuanto a la PCL-diol, se resaltan las siguientes bandas características: en 3340 cm^{-1} el estiramiento asimétrico de los grupos finales OH, las bandas a 2857 y 2933 cm^{-1} fueron asignadas al estiramiento simétrico y asimétrico del CH_2 , a 1720 cm^{-1} el grupo carbonilo (C=O) y las vibraciones simétricas y asimétricas de flexión del C–H del CH_3 en 1470 y 1364 cm^{-1} , respectivamente.

En la figura 19 se presenta una vista general de las bandas de absorción más importantes que presentaron los materiales sintetizados basados en INU y PCL-diol. Principalmente, se identificó una banda atribuida al estiramiento asimétrico del enlace N–H asociado a una amida primaria en 3323 cm^{-1} , las bandas a 2858 y 2960 cm^{-1} atribuidas al estiramiento simétrico y asimétrico del enlace C–H, respectivamente, las vibraciones de estiramiento del carbonilo (C=O) a 1731 y 1620 cm^{-1} , atribuidas a la amida de los uretanos, así como la deformación del enlace N–H combinada con una vibración de estiramiento del C–N a 1570 y 1260 cm^{-1} respectivamente.

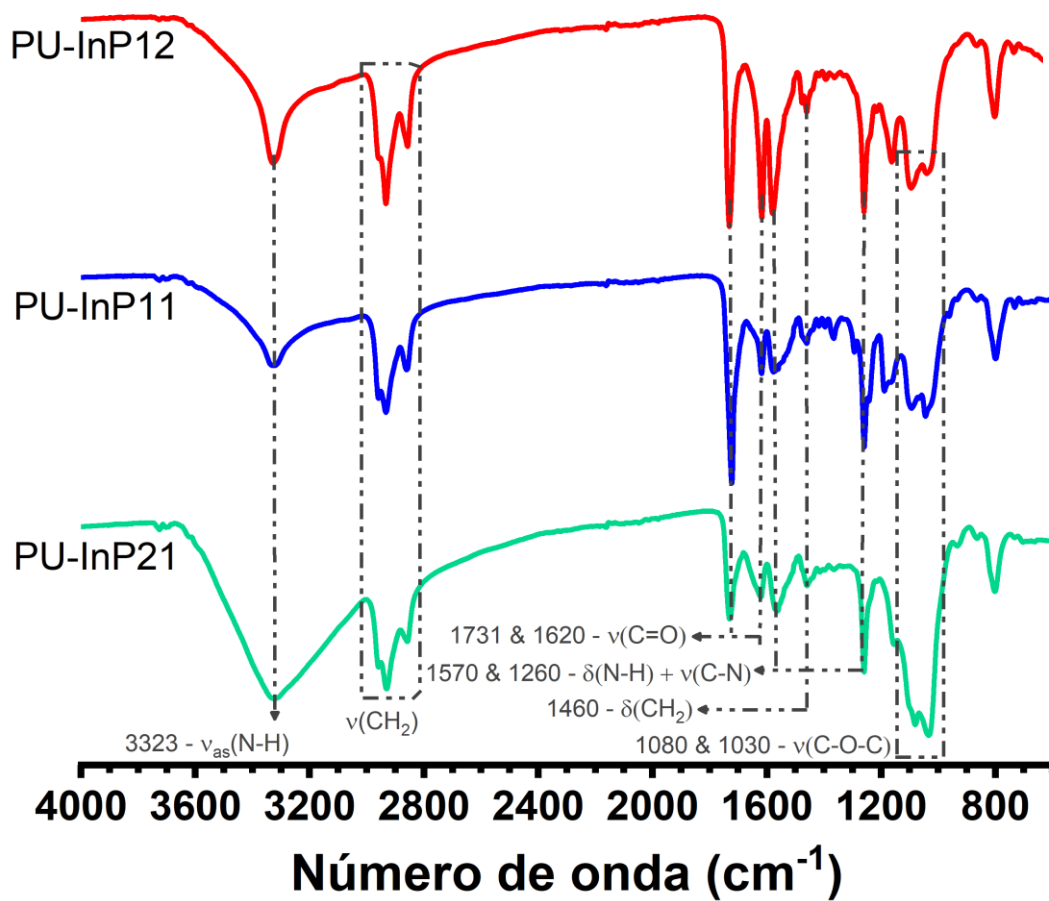


Figura 19. Espectros FTIR de los materiales sintetizados, con sus bandas de absorción características. Obtenidos con un espectrómetro Vector 33 (Bruker Biospin Corporation, Billerica, MA, EE. UU.).

La asignación del resto de las bandas de absorción a su correspondiente modo de vibración, para cada uno de los espectros IR mostrados en la figura anterior, se presenta en la tabla 7 indicando el número de onda al que aparece cada uno.



Capítulo V. Resultados

Tabla 7. Asignación de las bandas de absorción de los materiales sintetizados.

Asignación de bandas de absorción	Número de onda (cm ⁻¹)		
	PU-InP12	PU-InP11	PU-InP21
v(O-H) de la estructura del polisacárido	3650-3100	3650-3100	3650-3020
v(N-H) del enlace uretano	3323	3323	3323
v _{as} (C-H) del enlace -CH ₂	2960 y 2934	2960 y 2934	2960 y 2934
v _s (C-H) del enlace -CH ₂	2858	2858	2858
-N=C=O libres	NE	NE	NE
v(C=O) del enlace uretano y del éster	1732	1732	1732
v(C=O) del enlace uretano	1620	1620	1620
δ _a (-N-H) + v(-C-N) del enlace uretano	1570-1260	1570-1260	1570-1260
δ _s (CH ₂)	1500-1430	1500-1430	1500-1430
δ(C-H) del -CH ₂ de la estructura de la fructosa	1460	1460	1460
v(C-C)	1390-1370	1390-1370	1390-1370
ω(C-H) del -CH ₂	1360	1360	1360
v(C-O & C-C) de la fase cristalina del poliéster	1296	1293	1295
v _{as} (C-O-C) del éster	1240 y 957	1240 y 960	1240 y 968
v(C-O) del éster	NE	1190	NE
v _s (C-O-C) del éster	1163	1160	1158
v(C-O-C) de la estructura cíclica del polisacárido	1096 y 1035	1090 y 1045	1080 & 1030
v(C-O-H) de la estructura cíclica del polisacárido	922	930	930
v(C-O-C-O) del enlace fructosil-fructosa del polisacárido	870	870	870
v(C-O-C)	805	805	805
Vibración de deformación del enlace C-O	735	735	735

Nomenclatura: v = stretching, δ= bending, ω = wagging, NE=No encontrado.



Capítulo V. Resultados

Los resultados sugieren que se logró la síntesis de un poliuretano y que, además, no hay grupos isocianato libres presentes en las muestras, ya que la banda de adsorción correspondiente al enlace $N=C=O$ de la HMDI que debería aparecer alrededor de 2250 cm^{-1} no aparece en los espectros de las muestras.

Como análisis complementario para tener una comprensión cualitativa más profunda de los modos vibracionales y la estructura de los polímeros sintetizados, se empleó la espectroscopía Raman. En la tabla 8 se listan los modos vibracionales más relevantes, de acuerdo a lo reportado en la literatura, para la inulina (Beirão-da-Costa et al., 2013; Kumar et al., 2017; Short et al., 2014) y para la PCL-diol (Mi et al., 2014; Wesełucha-Birczyńska et al., 2015).

Tabla 8. Modos vibracionales más importantes de la inulina y la PCL-diol en RAMAN.

Asignación de bandas	Número de onda (cm^{-1})
Enlace glucosídico β - (1 \rightarrow 4) de la inulina	$\sim 817\text{ cm}^{-1}$
Estiramiento de los enlaces C–O–C de la inulina	$\sim 1059\text{ cm}^{-1}$
Estiramiento de los enlaces C-C de la inulina	$\sim 1270\text{ cm}^{-1}$
Flexión del -OH de un alcohol primario en la inulina	~ 1333 y 1453 cm^{-1}
$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$ de la zona amorfa/cristalina de la PCL-diol	$\sim 2920\text{ cm}^{-1}$
$\nu(\text{C}=\text{O})$ de la PCL-diol	$\sim 1736/1725\text{ cm}^{-1}$
Estiramiento C–O–C de la PCL-diol (zona amorfa/cristalina)	$\sim 1098/1065\text{ cm}^{-1}$
$\omega(\text{C-H})$ del -CH ₂ de la PCL-diol (zona amorfa/cristalina)	$\sim 1287/1306\text{ cm}^{-1}$
Estiramiento de C–COO- de la PCL-diol	$\sim 845/915\text{ cm}^{-1}$

La información de la tabla 8, fue de utilidad para hacer un análisis e identificar los modos vibracionales encontrados en los espectros de los materiales PU-InP12, PU-InP11 y PU-InP21. Dichos espectros se presentan en la figura 20.

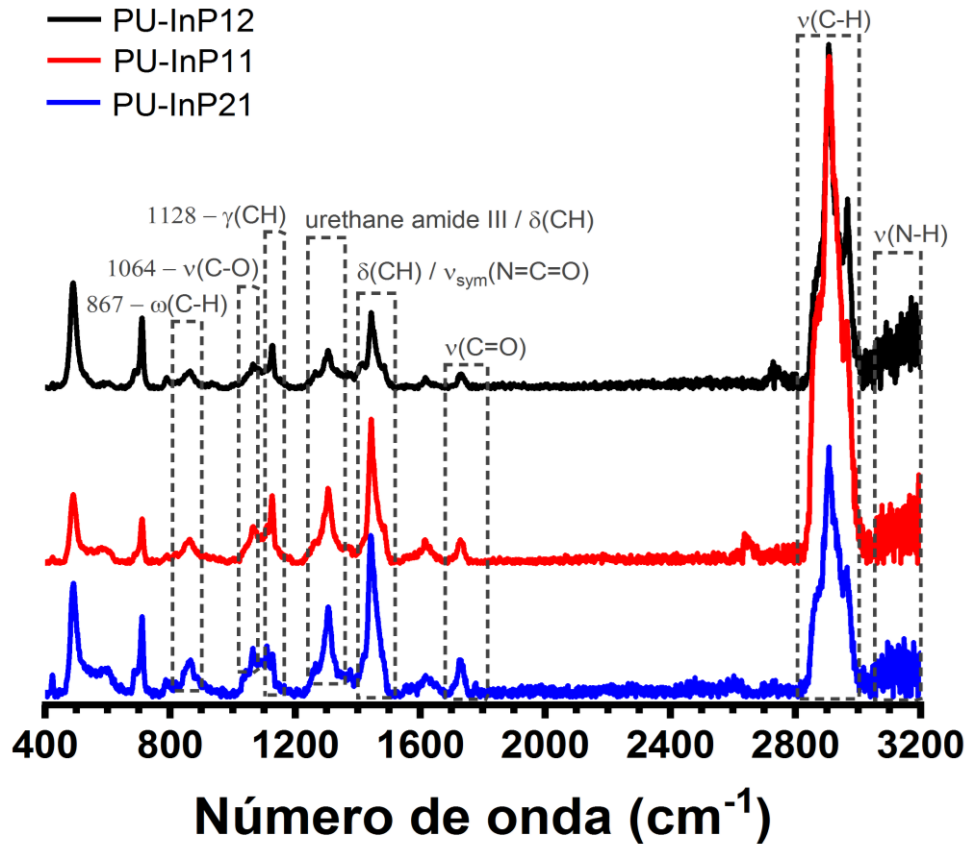


Figura 20. Espectros Raman de los PUs con sus bandas de absorción características. El análisis se realizó con un equipo Senterra (Bruker Biospin Corporation, Billerica, MA, EE. UU.) equipado con un láser de $\lambda = 685 \text{ nm}$ y un FT-Raman (Nicolet 910) con $\lambda=1064 \text{ nm}$ en el láser, equipado con un microscopio Olympus.

A partir del estudio general de la dispersión Raman, obtenido de las muestras, se identificaron las siguientes regiones; la primera entre $3000\sim 3200 \text{ cm}^{-1}$, atribuida a la vibración N–H; otra de $2800\sim 2910 \text{ cm}^{-1}$ asignada a la vibración simétrica y asimétrica del C–H; entre 1725 y 1730 cm^{-1} se encontró la vibración del C=O de los grupos éster y/o de la amida del enlace uretano; entre $1440 \sim 1445 \text{ cm}^{-1}$ se pueden atribuir a una vibración asimétrica del N=C=O y/o a una vibración de flexión C–H; también se asignó la señal en $1303\sim 1308 \text{ cm}^{-1}$ y entre $1125\text{--}1128 \text{ cm}^{-1}$ a una vibración C–H de estiramiento y/o flexión del enlace uretano; finalmente las señales entre $1062\text{--}1064$ y $817\text{--}867 \text{ cm}^{-1}$ corresponden a la vibración de torsión del C–H, la vibración de estiramiento de C–O/C–O–C/C–C y vibraciones de “wagging” del C–H de grupos éster y/o enlaces $\beta\text{-(1}\rightarrow\text{4)}$ glicosídicos, respectivamente. Algo importante que destacar, es que se puede inferir que



Capítulo V. Resultados

no hay presencia de isocianatos libres del HMDI, o que los hay en muy baja concentración, ya que no se presentó ninguna señal del estiramiento asimétrico alrededor de 2275 cm^{-1} , lo cual sería indicativo de la presencia de grupos isocianato libres, así que, lo más probable es que la región entre $1440 \sim 1445\text{ cm}^{-1}$ corresponde a una vibración de flexión del enlace C-H y no a la vibración del N=C=O.

Dado que la espectroscopía FTIR y Raman solo proporciona resultados cualitativos de los modos vibracionales de los nuevos materiales, en lugar de un mecanismo de reacción claro y cuantitativo, como se mencionó en la metodología, también se realizó un análisis por NMR de ^1H y ^{13}C para dilucidar la posible estructura molecular de los materiales (ver figura 21). Para esta caracterización, únicamente se evaluó el material PU-InP11, debido a que los materiales siguen la misma metodología y se esperan resultados similares para cada uno. Además, en primera instancia solo se quería comprobar la formación del enlace uretano, así que esta caracterización fue suficiente, sin embargo, en futuros proyectos se espera hacer un análisis más profundo de cada material.

A partir del espectro ^1H (ver figura 21a) se comprueba la presencia de la inulina y PCL-diol en la estructura del polímero, los picos en la región entre $\delta 4.82$ y $\delta 2.63$ ppm, corresponden a la estructura de la inulina y de la PCL-diol, los picos en $\delta 4.02$, 2.32 , 1.53 y 1.26 ppm a diferentes carbonos secundarios sp^3 de su estructura. Además, el hidrógeno del grupo amina y del uretano se pueden observar a $\delta 8.29$ ppm. El pico a $\delta 2.5$ ppm corresponde al disolvente (DMSO-d6). Como complemento, el espectro de ^{13}C (Figura 21b) exhibe picos en $\delta 172.8$ y $\delta 158.0$ ppm correspondientes a grupos carbonilo del éster de la PCL-diol y del enlace uretano del poliuretano, respectivamente; el pico de $\delta 63.5$ ppm se asignó a los carbonos secundarios enlazados al oxígeno sp^3 del grupo éster ($-\text{CO}-\text{O}-\text{CH}_2-$).

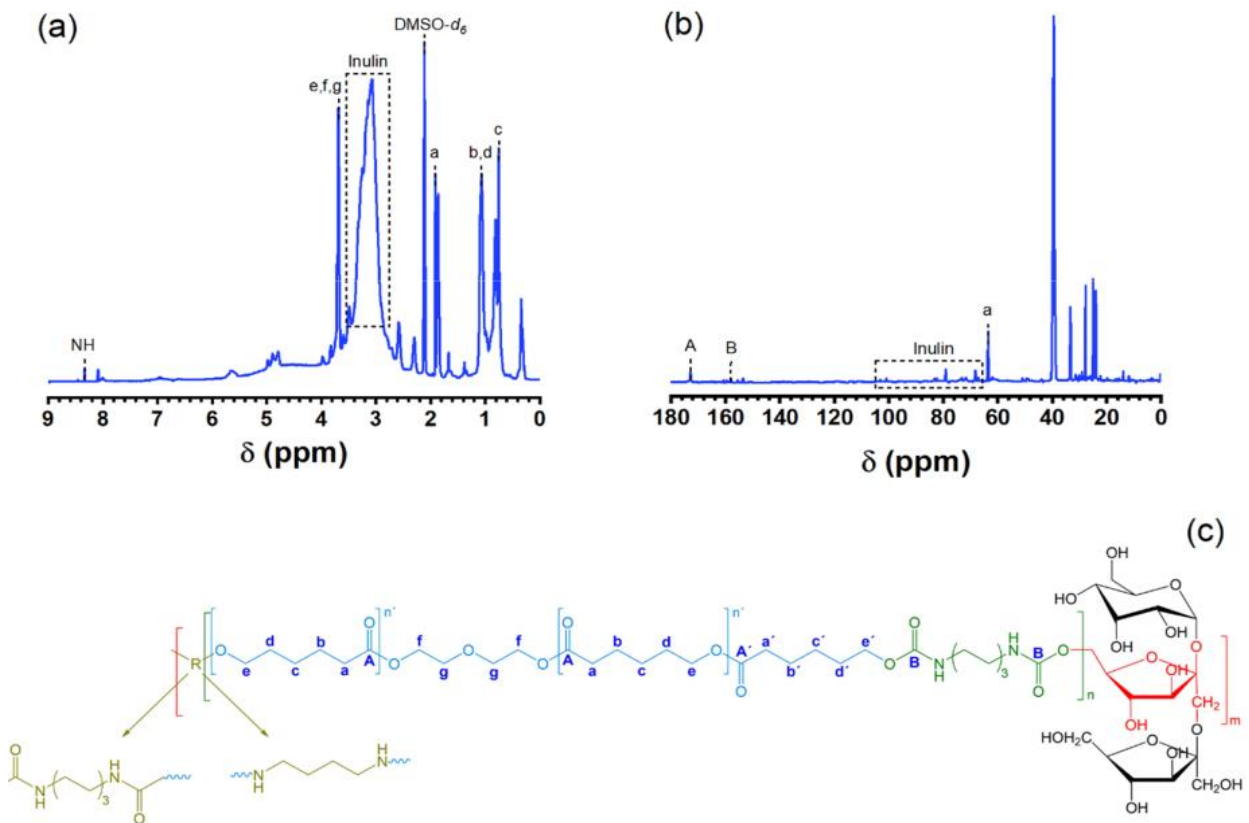


Figura 21. Espectros de (a) ^1H y (b) ^{13}C en ($\text{DMSO-}d_6$) a 500 y 125 MHz, respectivamente. (c) Representación esquemática de la estructura del PU-InP11. Los datos se obtuvieron con un equipo Bruker Avance III HD 500 MHz (Bruker Biospin Corporation, Billerica, MA, EE. UU.).

V.II Análisis térmico

El comportamiento térmico de los precursores (INU y PCL-diol) y de los poliuretanos (PUs) se presenta en la figura 22. Cabe mencionar que se tomó como base una pérdida de peso del 10% para determinar la estabilidad térmica inicial de los componentes.

La figura 22a muestra el análisis termogravimétrico de los precursores de polioli (INU y PCL-diol). En el termograma de la INU se observan tres transiciones térmicas características, la primera de 25 a 180 ° C, relacionada con el contenido de humedad de la muestra, el segundo en el rango de 180 a 240 ° C correspondiente a la descomposición inicial de los enlaces glicosídicos de la INU y la última transición de 240 a 900 ° C donde hay una pérdida de masa continua debido a

Capítulo V. Resultados

la descomposición y combustión de la INU (Afinjuomo et al., 2019; Santillán-Urquiza et al., 2015). De la PCL-diol se observa solo una degradación térmica en un solo paso correspondiente a la contracción del éster en un rango de temperatura de 280 a 410° C seguida de la descomposición y la combustión continuas de la muestra (Chan et al., 2017). Para cada uno de los PUs, los gráficos obtenidos se muestran de la figura 22b a la figura 22d y los resultados detallados de las temperaturas a las que suceden los diferentes procesos de degradación se presentan en la tabla 9.

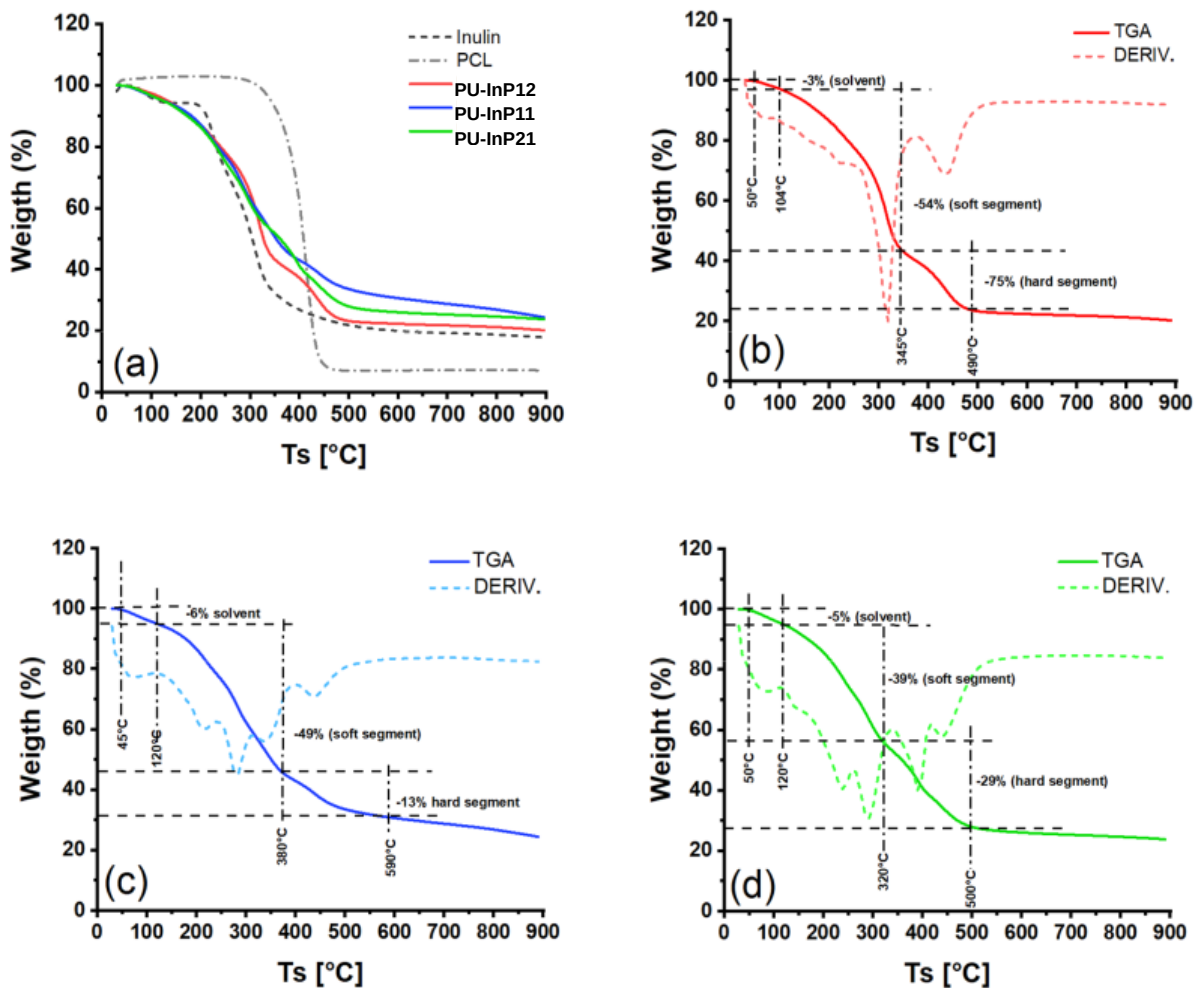


Figura 22. (a) Análisis termogravimétrico (TGA) de los precursores (INU y PCL-diol) y los PUs. TGA y su derivada (DTG) de (b) PU-InP12, (c) PU-InP11 y (d) PU-InP21. Se utilizó un sistema TGA/DSC Modelo 2 Stare (Mettler-Toledo Intl. Inc., Columbus, OH, EE. UU.) de 20 a 700 °C con una velocidad de exploración de 10°C min⁻¹ bajo una atmósfera de nitrógeno a una velocidad de flujo de 40 N mlmin⁻¹.



Tabla 9. Temperaturas relacionadas con el proceso de degradación, en sus diferentes etapas, de cada material.

Muestra	T _{max1} [°C]	T _{max-new} [°C]	T _{max2} [°C]	W _R [%]
PU-InP12	319.0	---	425.4	20.23
PU-InP11	276.9	328.2	425.8	24.52
PU-InP21	282.7	390.2	425.5	24.02

T_{max1} (tasa máxima de temperatura de degradación en el primer paso), *T_{max2}* (tasa máxima de temperatura de degradación en el segundo paso), *T_{max-new}* (tasa máxima de temperatura de degradación en el nuevo paso) y *W_R* (residuo a 850 ° C).

A partir de estos datos, se observa que la pérdida de solvente y agua libre por evaporación ocurrió a 80 y 150 ° C con una pérdida de peso de 3%, 6% y 5% para PU-InP12, PU-InP11 y PU-InP21, respectivamente. Entre 200 y 250 ° C se produce una aceleración de la pérdida de peso, que se atribuye al agua no libre, atrapada por enlaces débiles entre los grupos –OH de la inulina y los dominios polares de las moléculas de agua atrapadas. A temperaturas superiores a 250 ° C, se observó la degradación térmica de los materiales. Como se sabe, los PUs tienen al menos dos etapas de descomposición en su degradación térmica, donde la primera fracción de descomposición (generalmente superior a 250 ° C) en las cadenas de poliuretanos está relacionada con segmentos blandos, que implican la termólisis de enlaces uretano, mientras que en la segunda, la fracción de descomposición (generalmente por encima de 350 ° C) está relacionada con la descomposición de los componentes de macrodiol y por encima de 420 ° C una pérdida de peso gradual por la combustión continua del PU (Cao et al., 2016; H. Chen et al., 2012; Govorčín Bajsic & Rek, 2001; Lee & Yu, 2011; Sarkar & Adhikari, 2001).

V.III Caracterización mecánica

Se estudiaron las propiedades mecánicas como información complementaria. La integridad mecánica del material es necesaria para resistir la manipulación para las aplicaciones *in situ*, por lo tanto, se realizaron ensayos de tensión a los materiales para evaluar su rendimiento mecánico. Los resultados del análisis de los datos de deformación/tensión se puede observar en la tabla



Capítulo V. Resultados

10 y la figura 23. De las curvas de deformación/tensión, los valores del módulo elástico (módulo de Young) se calcularon mediante un ajuste lineal, donde la tensión es directamente proporcional a la deformación que tiene el comportamiento conocido del límite de proporcionalidad (figura 23b). Para determinar el límite de proporcionalidad de los poliuretanos se utilizó el método “secante”. Como se muestra en la tabla 10, a medida que aumenta el contenido de INU, se reduce el valor de resistencia a la tracción y aumenta el porcentaje de deformación. Para el resto de las propiedades (límite elástico, módulo de Young y ambos límites proporcionales) sus valores también se incrementan del PU-InP12 al PU-InP11, pero los valores disminuyen del PU-InP11 al PU-InP21. De acuerdo con las propiedades mecánicas de las muestras, estos PUs podrían ser utilizados para el diseño de sistemas para la administración de fármacos o, incluso, como marcadores de biopsia. Sin embargo, se eligió únicamente al PU-InP11 para ser probado como matriz en la formación del modelo de biomarcador propuesto en este trabajo, ya que tiene el módulo de elasticidad más alto entre todas las muestras, siendo adecuado para este tipo de aplicaciones de acuerdo a lo reportado (Hernandez-Martinez et al., 2018).

Tabla 10. Valores de las propiedades mecánicas de los PUs, obtenidos del ensayo de tensión.

Muestra	E ¹ (MPa)	YS ² (MPa)	TS ³ (MPa)	SA ⁴ (%)	SA-PL ⁵ (mm/mm)	S-PL ⁶ (MPa)
PU-InP12	20.88	0.24	0.97	18.26	0.16	0.03
PU-InP11	50.31	0.28	0.84	32.81	0.25	0.01
PU-InP21	3.18	0.13	0.74	96.30	0.04	0.07

¹Módulo de Young, ²Esfuerzo de fluencia, ³Resistencia a la tensión, ⁴Deformación, ⁵Límite de proporcionalidad de deformación, ⁶Límite de proporcionalidad del esfuerzo.

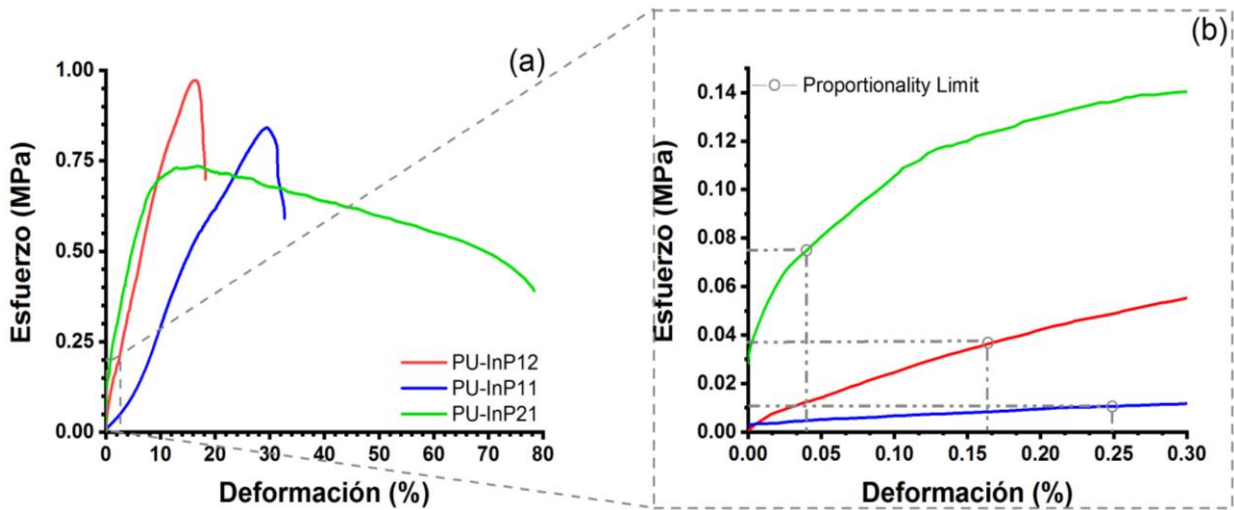


Figura 23. Comportamiento mecánico de los PUs: (a) propiedades mecánicas hasta la máxima resistencia a la tracción y (b) propiedades mecánicas en la región elástica. Datos adquiridos con una Universal Testing Machine (Uni-axial, STM-20, SANTAM), en condiciones normales de presión y temperatura a una velocidad de 10 mm min^{-1} .

V.IV Ensayo de hinchamiento

La figura 24 muestra las propiedades de hinchamiento de los PUs sintetizados. El comportamiento de hinchamiento en función del tiempo a temperatura ambiente (25°C) para las tres muestras se muestra en la figura 24a. Se observa que la ES_r se alcanza aproximadamente a las tres horas después de haber iniciado el ensayo. En la figura 24b, se hace una comparación de la ES_r de cada muestra, siendo la de mayor capacidad de hinchamiento la del PU-InP11, seguida del PU-InP12 y del PU-InP21 con un aumento de 1.38, 0.45 y 0.14 veces su propio peso, respectivamente.

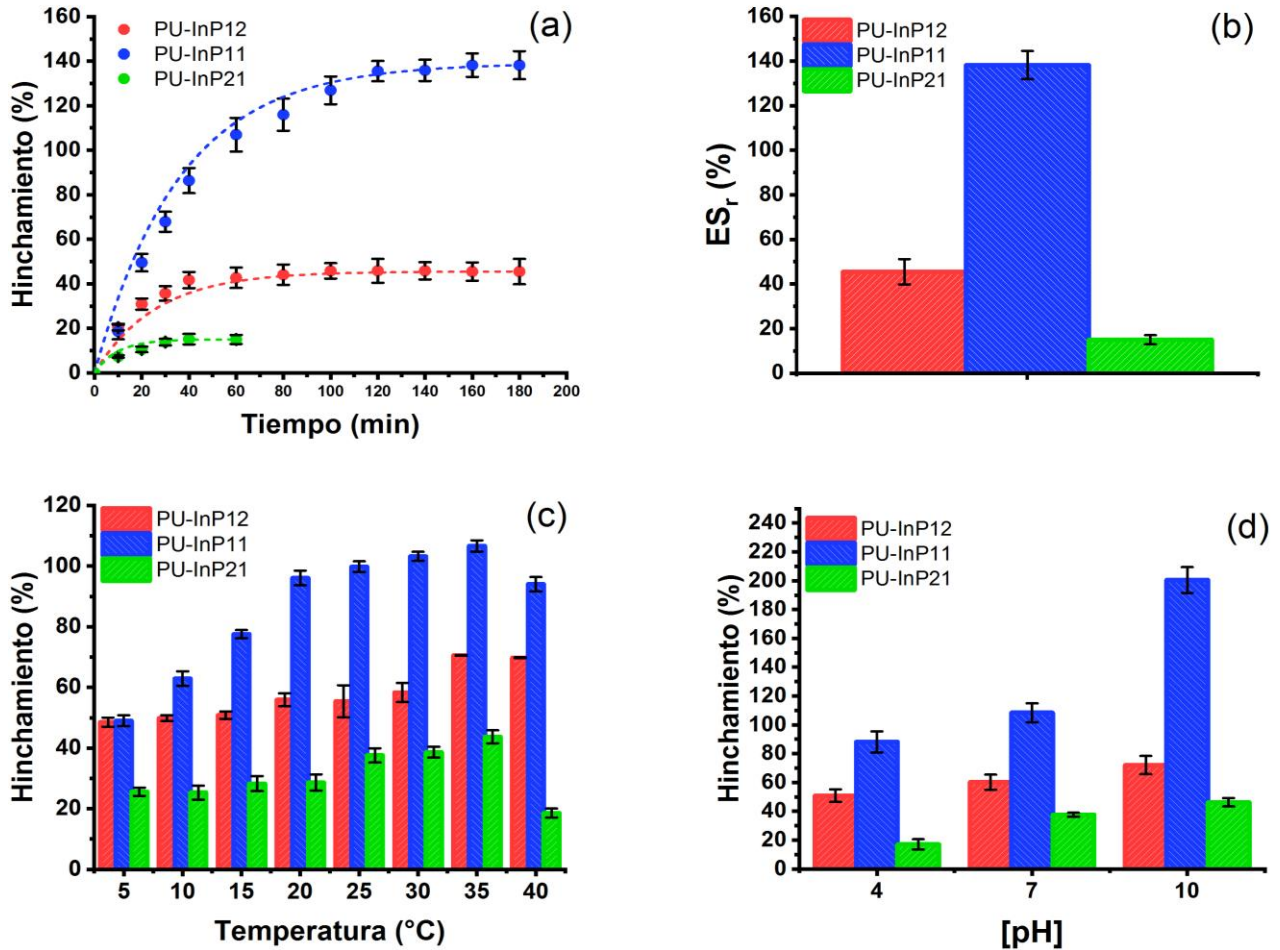


Figura 24. Propiedades de hinchamiento de los PUs: (a) perfil de hinchamiento contra el tiempo, (b) índice de hinchamiento máximo de cada material, (c) relación de hinchamiento a diferentes temperaturas y (d) relación de hinchamiento a diferentes pH.

El carácter hidrofóbico/hidrofílico de los PUs depende de su estructura química y especialmente de la naturaleza de las interacciones físicas y químicas entre los segmentos duros polares y los segmentos blandos del polioliol, donde predominan los enlaces de hidrógeno (Kojio et al., 2009; Król & Król, 2012; Zhang et al., 1996). Por lo tanto, era de esperarse que los PUs exhibieran propiedades hidrofílicas. En este sentido, el comportamiento de las muestras PU-InP12 y PU-InP11 se explica razonablemente por el aumento de los grupos polares de la estructura del polisacárido de la INU. Sin embargo, el comportamiento de hinchamiento de la última muestra (PU-InP21) presentó un carácter aparentemente más hidrofóbico, algo desconcertante ya que este PU



es el que tiene mayor porcentaje de INU respecto a la cantidad de PCL-diol; en el siguiente capítulo, se discutirá el porqué de su comportamiento. La figura 24c, por su parte, muestra el hinchamiento en función de la temperatura con relación al tiempo requerido para alcanzar el ES_r de cada muestra, y como puede verse, las muestras presentaron un comportamiento de hinchamiento clásico dominado por la solubilidad de los grupos polares, por lo tanto, se dilucida que para temperaturas más altas hay una tendencia a mayores porcentajes de hinchamiento, con un comportamiento interesante entre los 35 y 40° C, ya que la tendencia se invierte. Ahora bien, para diferentes condiciones de pH en equilibrio, las relaciones de hinchamiento son diferentes, como se observa en la figura 24d, ya que claramente existe una tendencia que indica que se tiene mayor hinchamiento a pH básico.

V.V Degradación hidrolítica

Los resultados del ensayo de degradación hidrolítica de los PUs bajo condiciones específicas de pH y temperatura (pH 7.4, 37°C) se muestran en la figura 25. Los datos se ajustaron usando el modelo presentado en la Ecuación (2).

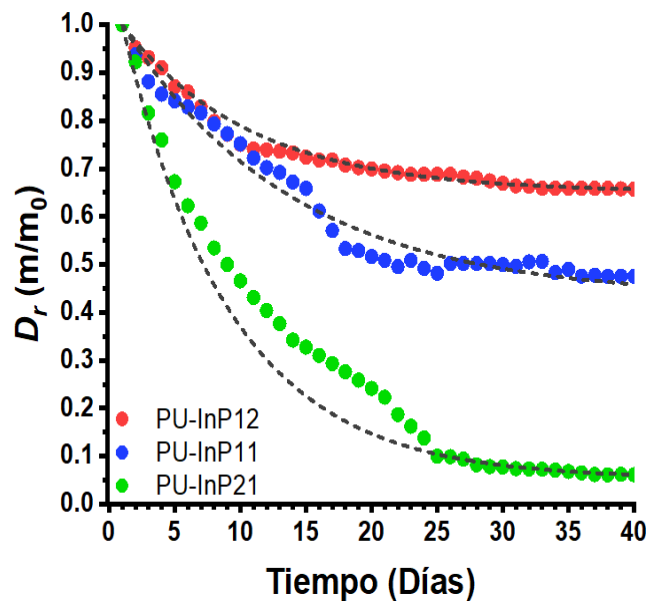


Figura 25. Tasa de degradación de los PUs bajo condiciones específicas de PH y temperatura (7.4 a 37°C).



Capítulo V. Resultados

En la tabla 11 se resume la tasa de degradación y la valoración del porcentaje de pérdida de peso final después de finalizar los períodos del ensayo, de cada una de las muestras. Los resultados indican que la muestra con una tasa de degradación más alta es el PU-InP21 y la de menor es el PU-InP12. Además, podemos observar cierta similitud en la tendencia de las curvas que describen en sus perfiles de degradación. Vemos como el modelo propuesto en la Ec. 2 para la determinación del D_r se ajustó a niveles aceptables con la curva, de acuerdo a los valores obtenidos de R^2 para cada muestra.

Tabla 11. Resultados de las pruebas de degradación hidrolítica a condiciones fisiológicas. La tasa de degradación (D_r) se calculó usando una ecuación diferencial exponencial de decaimiento de primer orden.

Muestra	D_r (24 h ⁻¹)	R^2	Masa perdida (%)
PU-InP12	0.1028	0.9795	34.43
PU-InP11	0.1077	0.9671	52.47
PU-InP21	0.1216	0.9411	93.85

Con estos resultados podemos sugerir que los materiales son biodegradables, sin embargo, se requiere hacer un análisis a detalle de los posibles subproductos y residuos para comprobar que realmente se han degradado los materiales y no solo sufrieron pérdida de integridad. La discusión a fondo de estos resultados se presenta en el siguiente capítulo.

V.VI Evaluaciones para sus posibles aplicaciones en el tratamiento del cáncer de mama

Como se mencionó anteriormente, se propone usar estos materiales en aplicaciones relacionadas con el tratamiento del cáncer de mama, enfocándonos principalmente en la liberación controlada de fármacos y el desarrollo de nuevos biomarcadores de biopsia biodegradables. A continuación, se presentan los primeros ensayos hechos a los PUs obtenidos en este proyecto, en relación con estas líneas de investigación.

V.VI.I Ensayo de sorción/liberación de fármaco (DOXO)

El análisis completo de los poliuretanos a base de inulina como sistema de administración de fármacos se puede observar en la figura 26. El espectro UV-Vis de la DOXO (ver figura 26a) muestran que la absorbancia máxima de la molécula se consideró a 482 nm. A partir de este valor, se construyó la curva de calibración (ver figura 26b) usando diferentes concentraciones del fármaco, tal como se describió en la metodología, obteniendo valores de correlación elevados ($R^2=0.9983$).

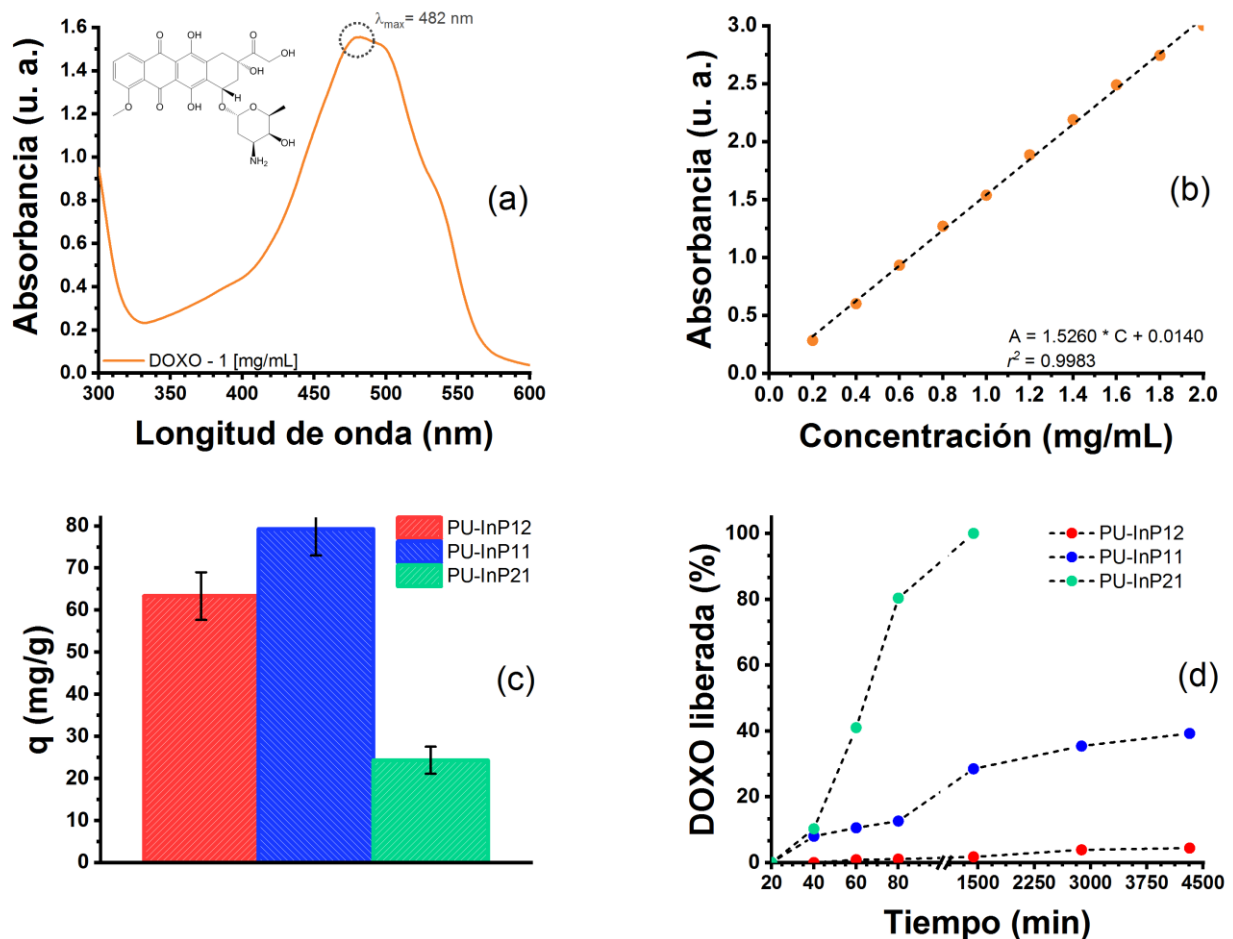


Figura 26. Aplicación de PU-INU como sistema de administración de fármacos de doxorubicina (DOXO). (a) Espectros DOXO UV-Vis a $2 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. (b) Curva de calibración de DOXO con un ajuste lineal de $R^2 > 0,99$, (c) capacidad de absorción ($q, \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) de los PUs sintetizados y (d) fármaco liberado en relación con la concentración de carga de fármaco de cada material.



Capítulo V. Resultados

Los resultados muestran que la carga de DOXO en la matriz de los PUs está correlacionada con la capacidad de hinchamiento (ver figura 26c), ya que el PU-InP11 es la muestra que tiene la mayor capacidad de sorción del fármaco ($79,25 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$), seguida del PU-InP12 ($63,74 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) y del PU-InP21 ($24,27 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$). En cuanto a la capacidad de liberación de la DOXO (ver figura 26d) se observa que el PU-InP21 es la muestra con la liberación más rápida, con un intervalo de cinco horas para administrar todo el fármaco cargado, en comparación con el tiempo requerido para que las muestras PU-InP12 y el PU-InP11, las cuales liberen el 4.39% y 39.22%, respectivamente en tiempos más largos. Para describir los fenómenos fisicoquímicos de cómo se da la tasa de administración del fármaco, se usaron, como se mencionó anteriormente, cuatro modelos teóricos diferentes ampliamente usados para este fin. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla 12. Estos resultados se discuten en el siguiente capítulo.

Tabla 12. Correlación de coeficientes y exponentes de liberación para los PUs, obtenidos por diferentes modelos matemáticos.

Modelo	Parámetro	Muestras		
		PU-InP12	PU-InP11	PU-InP21
Orden cero $Q_t = Q_0 + (K_0 \cdot t)$	R^2	0.9198	0.8388	0.3524
	K_0	0.0009	0.0081	0.0499
Primer orden $\log C = \log C_0 - (K_1/2.303)$	R^2	0.2741	0.7812	-0.0136
	K_1	0.0003	1.0491	0.0003
Higuchi $f_t = K_H t^{1/2}$	R^2	0.9206	0.9353	0.4542
	K_H	0.0665	0.5705	2.3797
Korsmeyer-Peppas $M_t = M_\infty \cdot a \cdot t^n$	R^2	0.4476	0.9846	0.2067
	a	0.0088	1.1073	5.2722
	n	0.7600	0.3192	0.4371

V.VI.II Evaluación del PU-InP11 para su uso como marcador de biopsia

Las nanopartículas sintetizadas para la construcción del modelo de marcador se observan en la micrografía mostrada en la figura 27. En esta se observa que las nanopartículas están aglo-

Capítulo V. Resultados

meradas y difícilmente se puede determinar un tipo de morfología en específico. Además, se aprecia que el tamaño de las nanopartículas aparentemente está dentro de las dimensiones óptimas para su uso en este tipo de aplicación (menor a 40 nm) (Hernandez-Martinez et al., 2018; Yu et al., 2012), sin embargo, es necesario hacer otro tipo de caracterización, como la dispersión dinámica de luz (DLS), para obtener una medición promedio de los tamaños obtenidos, ya que la toxicidad de estas depende directamente de su tamaño (Yu et al., 2012). Para fines de este trabajo y sus alcances no fue necesario hacer esta caracterización ya que únicamente se evaluó la dispersión de las nanopartículas en la matriz polimérica y su radiopacidad; en cuanto se avance en proyectos futuros será necesario hacer ésta y otras caracterizaciones para garantizar la seguridad del dispositivo.

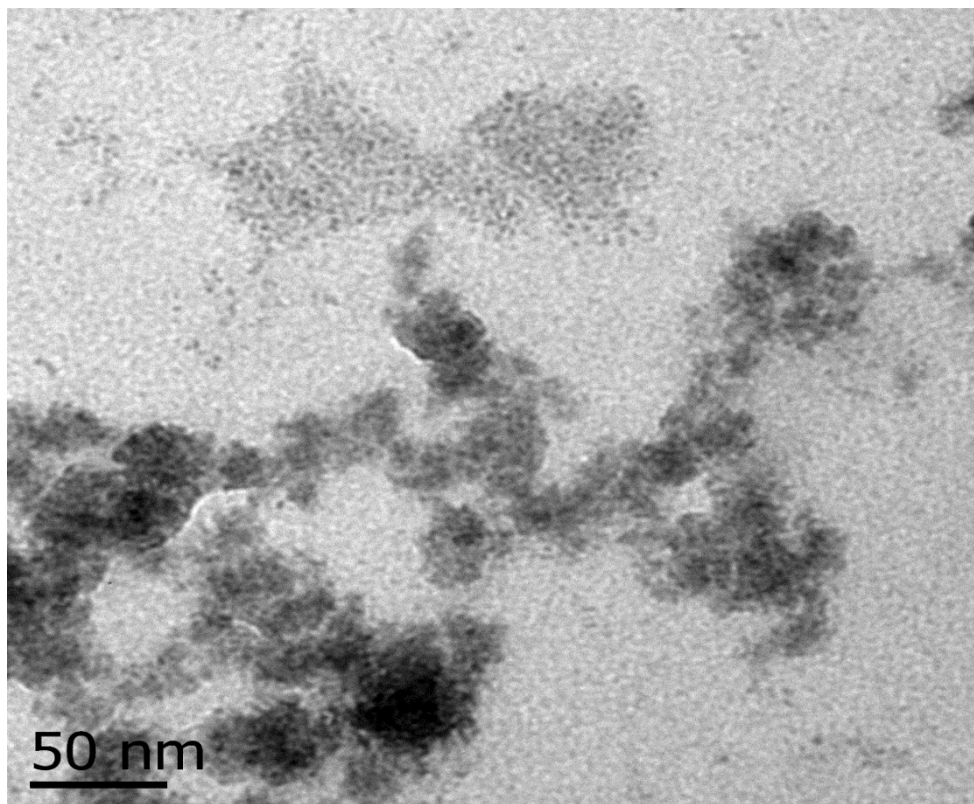


Figura 27. Micrografía SEM de las nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4 NPs), tomada en un microscopio de emisión de cátodo frío Hitachi SU8230 a 250 000X.

En la figura 28, se presenta el patrón de difracción de rayos X de las nanopartículas sintetizadas. Se observa que los diferentes picos de difracción en 2θ , corresponden a los planos

Capítulo V. Resultados

(111), (220), (311), (222), (400), (422), (511), (440) y (622), correspondientes a la fase cúbica de la Fe_3O_4 , de acuerdo con el JCPDF#19-0629. Estos resultados sirven para comprobar que realmente se logró formar nanopartículas de Fe_3O_4 , siguiendo la metodología reportada en la literatura por Hernández y colaboradores (Hernández-Martínez et al., 2018).

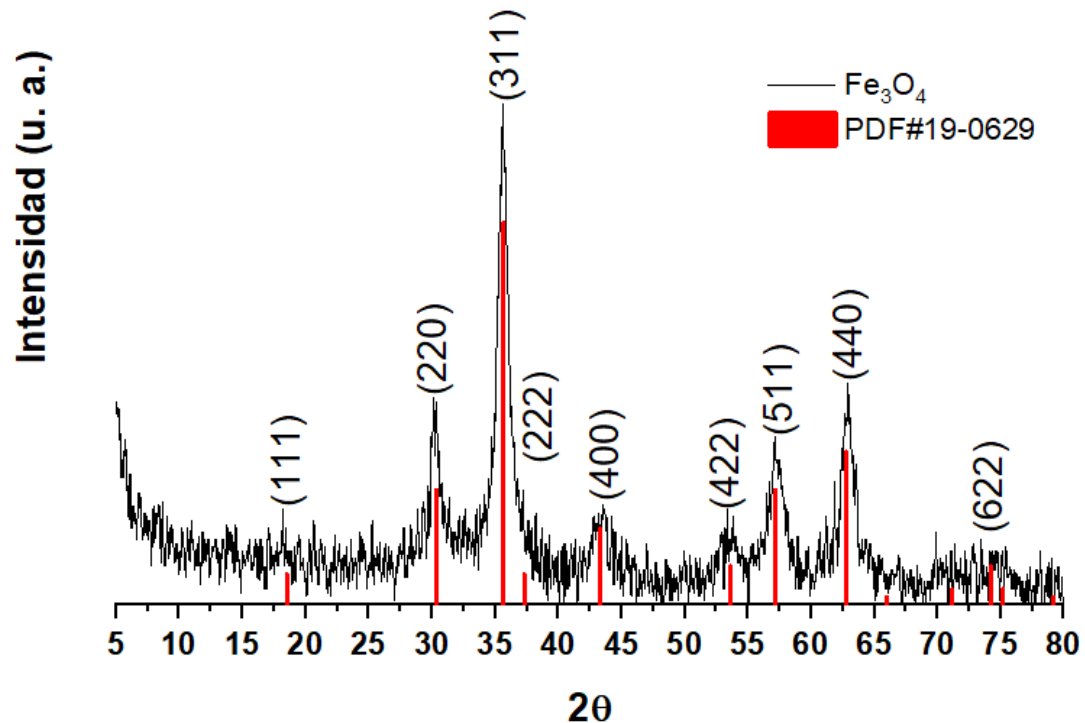


Figura 28. Patrón de difracción de rayos X de las Fe_3O_4 NPs obtenido en un difractor RIGAKU Ultima-IV (Rigaku Americas Corp., Woodlands, TX, E. U. A.), bajo las siguientes condiciones: rango de 2θ de 5° a 80° , pasos de $0,022^\circ$ y $\sim 0,7\text{s/paso}$, con radiación de CuK_α ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$).

Por otro lado, el prototipo de marcador se analizó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) y se hizo un mapeo elemental utilizando espectroscopia de dispersión de energía (EDS), lo cual nos permitió observar la distribución de las nanopartículas de magnetita dispersas en la matriz del PU-InP11. La figura 29a muestra la distribución elemental completa y la figura 28b muestra su correspondiente espectro de EDS, el cual confirma la existencia de señales de hierro (Fe), oxígeno (O) y carbono (C) en el prototipo de marcador de poliuretano. El resto de las señales apreciables en el EDS corresponden al aluminio del porta-muestras, el silicio del soporte de la placa de silicio y el oro de una capa depositada durante la preparación de la muestra. La

Capítulo V. Resultados

figura 29c muestra la imagen SEM de la morfología de la superficie del marcador del PU y la figura 29d-f muestra el mapeo EDS individual de las distribuciones de elementos de Fe (rojo), O (verde) y C (azul), respectivamente, de lo cuales se puede inferir que las nanopartículas de magnetita están bien distribuidas en la matriz del PU-InP11.

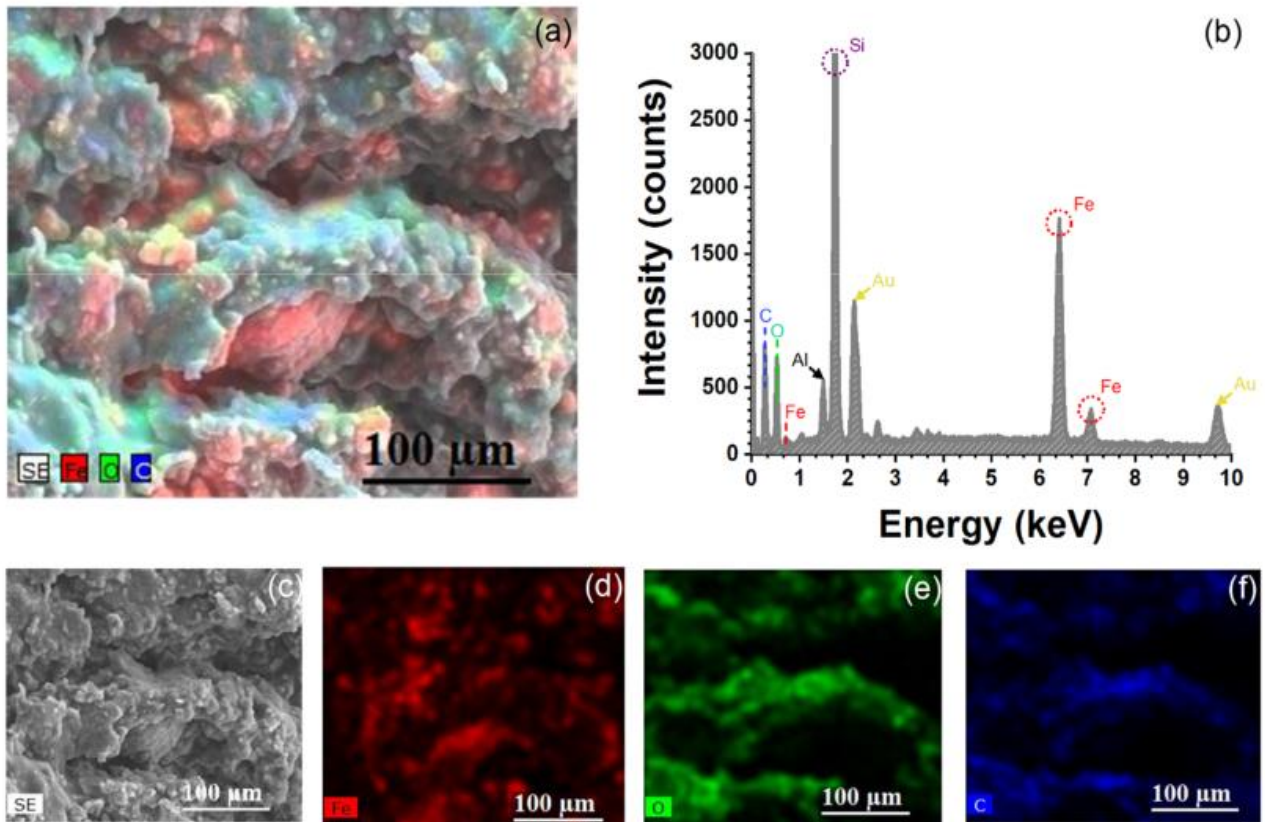


Figura 29. Mapeo elemental de las nanopartículas de óxido de hierro Fe_3O_4 en el PU-InP11. (a) Distribución de superposición de elementos (Fe + O + C) en el poliuretano, (b) espectro de EDS, (c) imagen de microscopía electrónica de barrido (SEM) y (d – f) mapeo elemental de Fe (rojo), O (verde) y C (azul). Imágenes obtenidas con un detector de deriva de silicio Bruker XFlash 6/60 acoplado a un microscopio de emisión de cátodo frío Hitachi SU8230.

En cuanto a la verificación de propiedades radiopacas del prototipo, se presentan en la figura 30 y los valores estadísticos su análisis en escala de grises se muestran en la tabla 13. En la figura 30a, es notable que el prototipo muestra una distribución regular de las nanopartículas como lo indicó el análisis por EDS. Además, su histograma y los datos de la escala de grises obtenidos (ver figura 30b) permitieron determinar que se puede distinguir mediante imágenes de ra-



Capítulo V. Resultados

Yos X, una característica esencial para el uso potencial del material en imágenes para patologías mamarias en general. Luego, se realizó una prueba en un tejido modelo, donde los resultados aparentemente muestran que no existe una distinción obvia entre el material, el tejido y el fondo, sin embargo, es posible ubicar el prototipo en la figura 30c. Además, al analizarlo en escala de grises (ver figura 30d), el dispositivo no se pudo identificar fácilmente a partir de su histograma, ya que el tejido y el fondo se superponen, sin embargo, al analizar los datos (ver tabla 13), se observa que el valor promedio del compuesto es ligeramente más alto que el del tejido, por tanto, es posible la identificación del marcador (encerrado en un círculo en la figura 30c) en este modelo.

Tabla 13. Datos de escala de grises del análisis radiopaco hecho a las imágenes obtenidas por rayos-X del prototipo de marcador de biopsia implantado en el modelo de glándula mamaria.

	Mínimo (bit)	Máximo (bit)	Promedio (bit)	Radiopacidad relativa respecto al fondo (%)
Fondo Figura 30a	0	19	10	0
Compósito Figura 30a	42	250	146	93.20
Fondo Figura 30c	0	123	62	0
Compósito Figura 30c	31	249	140	55.72
Tejido suave Figura 30c	11	195	103	39.81

Capítulo V. Resultados

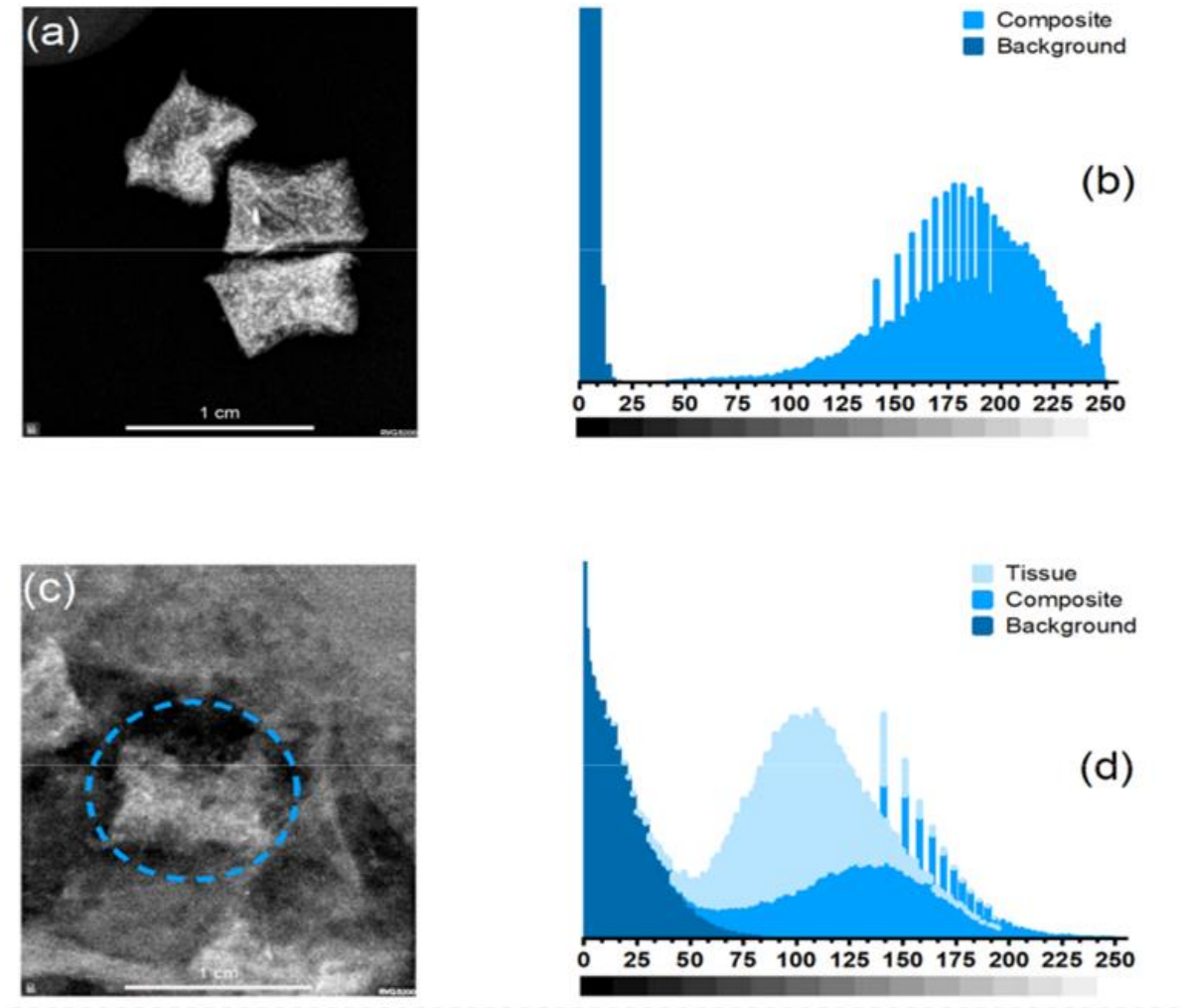


Figura 30. Imágenes de validación radiopaca del compósito con el PU-InP11. (a) Imagen de rayos X del prototipo, (b) histograma en escala de grises del marcador prototipo, (c) imagen de rayos X del prototipo implantado en el modelo de glándula mamaria y (d) histograma del marcador prototipo dentro del tejido modelo.



CAPÍTULO VI DISCUSIÓN DE RESULTADOS



Capítulo VI. Discusión de Resultados

Los resultados obtenidos a partir de las diferentes caracterizaciones espectroscópicas afirman que la síntesis de nuevos PUs a base de INU y PCL-diol se llevó a cabo con éxito. En primer lugar, los resultados del análisis por espectroscopía FTIR (ver figuras 18 y 19 y tablas 6 y 7) mostraron que hay una coincidencia entre todos los enlaces y grupos de los precursores de polioli; principalmente, las vibraciones -OH , CH_2 , C=O , C-C , C-O y C-O-C , tienen ligeras diferencias en el número de onda, dado que la INU es un polisacárido cíclico y el PCL-diol un poliéster alifático con una estructura lineal, por ejemplo, la vibración C-O-C se presenta a 1240 y 922 cm^{-1} para la PCL-diol y la INU, respectivamente. Se identificaron las bandas correspondientes al estiramiento asimétrico del enlace N-H asociado a una amida primaria en 3323 cm^{-1} , las bandas a 2960 y 2858 cm^{-1} atribuidas al estiramiento asimétrico y simétrico del enlace C-H , y las vibraciones de estiramiento del carbonilo (C=O) a 1732 y 1620 cm^{-1} , se atribuyeron a la amida de los uretanos, así como la deformación del enlace N-H combinada con una vibración de estiramiento del C-N a 1570 y 1260 cm^{-1} , respectivamente. Además, se presenta un cambio en el ancho de la banda correspondiente a las vibraciones del -OH , lo cual se puede considerar como un indicativo de que estos grupos reaccionaron con los grupos -N=C=O de la HMDI. Aunado a esto, los cambios en las vibraciones típicas de los precursores en los espectros de los PUs pueden atribuirse a los cambios estructurales que sufren los precursores de polioles debido a la formación de nuevos enlaces, reticulaciones o nuevas interacciones intermoleculares.

Como se mencionó anteriormente, la caracterización Raman sirve como complemento a los modos vibracionales observados y discutidos en el FTIR, con la diferencia de que el segundo permite darnos una idea de los cambios ambientales y, a través del uso del primero, es más claro cómo cambia la columna vertebral de los PUs a medida que cambia el contenido de INU (se reduce el contenido de PCL-diol). Se observa (ver figura 20), principalmente, que la región de estiramiento del enlace N-H se reduce, el segundo pico de estiramiento del enlace C-H ubicado en 2966 cm^{-1} es menos obvio y se desplaza a 2961 cm^{-1} ; también hay un aumento de intensidad en la vibración del C=O ubicada a 1730 cm^{-1} , a 1445 cm^{-1} se presenta un desplazamiento del enlace C-H que se extiende desde el alcohol primario de la inulina (1453 cm^{-1}) y también de la misma vibración presentada en PCL-diol (1440 cm^{-1}) cuya intensidad se incrementa ya que tiene más



Capítulo VI. Discusión de Resultados

terminaciones hidroxilo en comparación y se puede relacionar con el incremento presentado a 1304 cm^{-1} relacionado con las vibraciones del uretano. La vibración a 1128 cm^{-1} también se reduce a partir de la vibración de torsión de los grupos éster presentes en la PCL-diol, el pico en 1064 cm^{-1} de la inulina se desplaza a 1065 cm^{-1} ; este incremento sucede debido al aumento del contenido de grupos aldehído de las cadenas de fructosa de la inulina; finalmente la vibración de 863 cm^{-1} se desplaza de la banda de β - ($1\rightarrow 4$) de la inulina y la banda de 863 cm^{-1} a partir del carbono α del grupo éster de la PCL-diol con un incremento en él, relacionado con el enlace glicosídico descrito.

En cuanto a la caracterización por NMR, se comprobó que la PCL-diol y la INU reaccionaron con el diisocianato, formando así enlaces mediante el grupo uretano, sin embargo, no fue posible determinar la conformación estructural, por lo cual, se sugiere que la inulina y el PCL-diol están ordenadas aleatoriamente en la estructura del PU. Es importante resaltar que, dado que hay un exceso de grupos isocianato en la reacción, estos pueden reaccionar con la mayoría de los grupos hidroxilo presentes en la inulina como se propone en la figura 21c. Para solucionar el problema de no tener control en la estructura de los PUs, se propone hacer cambios en el método de síntesis; formar en primera instancia el pre-polímero únicamente con la PCL-diol y el HMDI (primer paso), y posteriormente, injertar estas cadenas de pre-polímero en la estructura del polisacárido durante el segundo paso, esperando que la INU sirva como agente entrecruzante, formando una red tridimensional de PU con posibles mejoras en sus propiedades. Lo anterior quedará como una propuesta para trabajos futuros.

Por otro lado, a pesar de que los resultados de las espectroscopias realizadas sugieren que no hay aparición de grupos isocianato libres del HMDI, algo que es de gran importancia para las aplicaciones médicas ya que de estar presente esta fracción química en ciertas concentraciones, implicaría una alta toxicidad (Barksby et al., 2015), es necesario hacer en trabajos a futuro algunos ensayos mediante otras técnicas, como la valoración química, para verificar la presencia y la cantidad de estos grupos en los materiales desarrollados, así como someterlos a pruebas de biocompatibilidad para descartar su toxicidad. En este trabajo no se alcanzó a realizar estos ensayos,



Capítulo VI. Discusión de Resultados

sin embargo, como se ha mencionado anteriormente, es imprescindible llevarlos a cabo para verificar la seguridad de este tipo de biomateriales.

Los resultados de la caracterización térmica de los materiales muestran que, para las aplicaciones deseadas, los PUs son térmicamente estables alrededor de los 37° C como se muestra en la figura 22. Además, el análisis termogravimétrico se utilizó como técnica complementaria para verificar la reacción entre los precursores de polioliol y el isocianato desde un punto de vista de propiedades físicas. En los termogramas, se observó que a medida que aumenta el contenido de INU en los PUs, se incrementa el contenido de humedad, pero también se observó una ligera diferencia entre el PU-InP11 y el PU-InP21 (6% contra 5% en peso), dando una idea de que hay más -OH disponibles para la formación de puentes de hidrógeno dentro de las muestras. También se observó que para mayor contenido de INU hay un cambio en el número de transiciones térmicas, de tres a cuatro. Como se ha mencionado, el primer paso está relacionado con el contenido de humedad, el siguiente del primer proceso de descomposición del poliuretano (segmento blando), un intermedio que aparece a partir de la inulina no reaccionada o unida a hidrógeno y el último del segundo paso de descomposición del poliuretano (segmento duro). Específicamente, para el PU-InP12 la transición de descomposición del primer paso de la estructura de poliuretano fue a 319° C, la descomposición del segundo paso fue 425.4° C con WR de 20.23%, datos consistentes con lo reportado en otros trabajos relacionados (H. Chen et al., 2012; Jin et al., 2002; Lewicki et al., 2010; Trovati et al., 2010; Zhang et al., 1996). Se determinó que una inclusión de 33% en moles de inulina no genera cambios significativos en el comportamiento de un poliuretano. Luego, para los PUs PU-InP11 y PU-InP21, su primer paso de descomposición fue a 276.9 y a 282.7° C, respectivamente, mientras que su segundo paso de descomposición fue a 425.8 y 425.5° C, respectivamente, es decir, esa menor estabilidad térmica la presentó en su segmento suave, mientras que se preservó la estabilidad de los segmentos duros. Se esperaban estos hallazgos porque se sabe que el enlace de hidrógeno entre el uretano juega un papel importante en la estabilidad térmica de los PUs segmentados, y al introducir cadenas de inulina en la sección blanda del poliuretano, se esperaba una descomposición térmica a temperaturas cercanas a la degradación de las cadenas de fructosa e inulina (Senich & MacKnight, 1980; Slade & Jenkins,



Capítulo VI. Discusión de Resultados

2007; Trovati et al., 2010; T. L. Wang & Hsieh, 1997). Para el PU-InP11 y el PU-InP21, el paso de degradación intermedia se presentó a 328.2 y 390.2° C, respectivamente, lo que está relacionado con la descomposición térmica de las cadenas de inulina-fructano no enlazadas o enlazadas con hidrógeno.

Con el fin de complementar el análisis del efecto de precursores de polioliol sobre las propiedades físicas finales de los PUs se realizó un ensayo mecánico de tensión. En este sentido, se puede comparar el rendimiento mecánico de los PUs frente a la piel humana (módulo elástico de 129 KPa) (Diridollou et al., 2000). Las propiedades mecánicas de los PUs, mostradas en la tabla 10, muestran que fueron superiores a las de la piel humana cuando se presenta cáncer de mama (3 KPa en la resistencia máxima a la tracción y 45 KPa en el módulo elástico) (Lopez et al., 2011; Schedin & Keely, 2011), por lo tanto, esto es indicativo que los materiales podrían resistir aplicaciones dentro del cuerpo, sin embargo, en futuros trabajos se propone realizar un ensayo complementario de compresión para verificar estos resultados, ya que de acuerdo a lo reportado (Hernández-Martínez et al., 2018), este ensayo es más recomendable para evaluar materiales con aplicaciones dentro del cuerpo. Al observar los datos en la tabla 10, se nota cómo la resistencia a la tracción y el alargamiento aumentan con el contenido de INU. Los resultados sugieren que a medida que aumenta el contenido de INU, ésta actúa como un alto agente de enlace de hidrógeno, cambiando el comportamiento mecánico del material. La reticulación debida a la inulina no ligada no solo afecta el comportamiento mecánico, sino que las propiedades de hinchamiento también se modifican con un mayor grado de reticulación porque aumenta la hidrofobicidad de los materiales de poliuretano (Butruk et al., 2011; Dolmaire et al., 2006; Król & Król, 2012). Para las muestras con contenido relativamente bajo de inulina (PU-InP12 y PU-InP11) se observó que ambos tienen propiedades mecánicas y térmicas similares en comparación con un poliuretano hidrófilo sintetizado con PCL-diol o incluso como poliuretano a base de diisocianato con grupos éter como el poli (oxietilen) glicol (Kojio et al., 2009), esto debido a la presencia de cadenas de INU. Además, estos materiales pueden absorber agua mediante enlaces de hidrógeno, ya que la molécula tiene sitios de enlace disponibles (Dolmaire et al., 2006; Kim et al., 2001; Król & Król, 2012; Makal et al., 2007). El PU-InP11 presentó un balance en las propiedades mecánicas y tér-



Capítulo VI. Discusión de Resultados

micas, lo cual refleja una estructura equilibrada, que permite también tener una mayor capacidad de hinchamiento entre todas las muestras.

En cuanto al comportamiento de hinchamiento que presentaron las muestras PU-InP12 y PU-InP11 (figura 24a), este puede explicarse por el aumento de los grupos polares de la estructura del polisacárido de la INU. Sin embargo, cabe resaltar que cuando la concentración de inulina en la reacción es cercana al 66% (muestra PU-InP21, figura 24b), se obtiene un poliuretano aparentemente hidrofóbico, sin embargo, otra explicación es que al tener más azúcares reductoras e INU libre, que no contribuye fuertemente en la estructura 3D del PU, se aumente la interacción con el agua (solubilización) volviendo la estructura inestable, algo que se discute más adelante en el análisis de los resultados de la prueba de degradación hidrolítica. Por otro lado, a partir de los ensayos de hinchamiento a diferentes condiciones, se identificó que los materiales presentan un máxima alrededor de los 35° C y posteriormente a 40° C sufren una disminución en su capacidad de hincharse, un comportamiento derivado de una transición de fase traducida en un cambio repentino en su estado de solvatación. Dicho comportamiento sugiere que los materiales presentan una temperatura de solución crítica superior (UCST), es decir disminuye su solubilidad a bajas temperaturas, pero sufren una transición de fase de volumen, presentando también una temperatura de solución crítica inferior (LCST), es decir, al aumentar la temperatura hasta cierto punto su solubilidad decrece nuevamente. Este resultado es importante debido a que se puede aprovechar esta característica para el diseño de dispositivos de administración controlada de fármacos, debido a que ocurre en el intervalo en el que se encuentra la temperatura humana (37-40° C). Además, el comportamiento dependiente del pH también es interesante, ya que se mostró que, en pH ácido, para todas las muestras, el grado de hinchamiento es el más bajo, debido a que en ambientes ácidos la INU sufre cambios en su estructura, aumentando la concentración de azúcar reductora libre, lo cual produce que la capacidad de hinchamiento disminuya (Kim et al., 2001); en cambio, en ambientes neutros y alcalinos, el grado de hinchamiento de los PUs aumentó debido a que mejoran las interacciones intermoleculares. De acuerdo a la literatura, la estructura de la INU es estable en pH neutro y alcalino, ya que la concentración de azúcares reductores disminuye por debajo del 3%, lo cual favorece la capacidad de absorber agua (Glibowski & Bukowska, 2011). Por lo



Capítulo VI. Discusión de Resultados

tanto, este comportamiento, nos da indicios de que este tipo de materiales se pueden aprovechar para la liberación controlada de fármacos, ya que los materiales aparentan ser sensibles a estímulos, sin embargo, para asegurar que se trata de materiales inteligentes es necesario demostrar que los cambios en sus propiedades suceden ante un cambio pequeño o modesto en las condiciones ambientales, es decir, identificar la temperatura a la que sucede la transición de fase de volumen. Esto se comprobará en futuros ensayos haciendo un análisis minucioso en los intervalos de temperatura y pH de interés (25-40°C y de pH 6 a pH 7) mediante ensayos de hinchamiento y de sorción/liberación de fármacos.

Con respecto a la evaluación de degradación hidrolítica, se observa que a medida que aumenta el contenido de inulina, aumenta la pérdida de peso, debido a que la estructura del poliuretano está más expuesta a la hidrólisis ya que tiene más grupos hidroxilo presentes de la estructura de la INU. Esto se observa en la tabla 11, que resume el análisis de 40 días en las condiciones especificadas (pH 7.4 y 37 ° C), donde la muestra con mayor porcentaje de pérdida de peso es el PU-InP21 (93.85% de su peso total), siendo el material con la tasa de degradación constante más alta ($D_t=0.1216$). Este resultado sugiere que el PU-InP21 no es un material hidrófobo, lo que sucede es que derivado de la alta cantidad de inulina libre y el aumento de azúcares reductoras presentes en su estructura, estas se solubilizan, volviendo el material inestable, ergo se provoca una pérdida de integridad acelerada acompañada de la de degradación hidrolítica. Estos resultados deben tomarse con reserva, ya que a pesar de que existe una aparente degradación, se requiere más análisis para corroborar que realmente los materiales se están degradando en compuestos más simples a estas velocidades, y no solo se trate de una pérdida de integridad en la estructura sin llegar a degradarse. Para ello, se requiere no solo hacer el balance de masa, sino analizar los compuestos presentes en la solución de prueba (lixiviables) y los restos separados de la muestra para identificar los productos de la degradación. Esto se hará en trabajos futuros.

En el caso del ensayo de sorción/liberación de fármaco, teniendo en cuenta la estructura de la DOXO, existe la posibilidad de que se forme un enlace intermolecular con los poliuretanos evaluados, por lo que el mecanismo de liberación podría depender de la escisión de los grupos hidroxilo y uretano para liberar las moléculas de DOXO y, en segundo lugar, la difusión de las



Capítulo VI. Discusión de Resultados

moléculas de DOXO desde la matriz del polímero al medio circundante. El uso de los modelos matemáticos propuestos en la metodología ayuda a predecir la liberación de estos sistemas; los resultados obtenidos se mostraron en el capítulo V en la tabla 12. En particular, se observa que no todas las muestras se ajustan a los modelos que se propusieron, especialmente la muestra PU-InP21, la cual tiene en todos los casos valores de correlación $R^2 < 0.5$, lo cual indica que se requiere de otra teoría como el modelo de Hopfenberg para dispositivos de erosión de superficies heterogéneas. Para el resto de las muestras se observa que más de uno de los modelos propuestos están bien ajustados (valores de correlación de $R^2 > 0.9$), lo que indica que la administración del fármaco de estos sistemas sucede a través de un proceso complejo. Para la muestra PU-InP12, tanto la cinética de orden cero como el modelo de Higuchi tienen valores de correlación adecuados y cerrados ($R^2 > 0.9$), esto es indicativo de que hay dos procesos simultáneos o complementarios involucrados, el primero es un transporte de caso II, en otras palabras, la concentración del fármaco excede la solubilidad del fármaco en el poliuretano, lo que indica que la concentración del fármaco es constante en la superficie interna y la liberación se reemplaza por la disolución parcial de los cristales del fármaco, y el segundo proceso es la difusión de Fickian que sigue o complementa el transporte del fármaco. Este tipo de liberación es ideal para una acción farmacológica a largo plazo. Por último, para la muestra PU-InP11 el modelo con mayor valor de correlación ($R^2 > 0.98$) fue el modelo de Korsmeyer-Peppas, el cual dio un valor de $n=0.3192$, que de acuerdo con la tabla 5, es indicativo de que el transporte del fármaco es meramente por difusión de Fickian (Ritger & Peppas, 1987), esto se confirma ya que el modelo de Higuchi también está bien ajustado ($R^2 > 0.93$). Aparte del modelo de liberación de fármaco propuesto, existe una diferencia notable en la liberación de fármaco de la muestra PU-InP21 que puede deberse a la densidad de reticulación de la inulina de la muestra; por ejemplo, varios trabajos han descrito cómo la estructura cristalina alta y el comportamiento hidrofóbico de la PCL-diol hace que su degradación sea más lenta en comparación con otros poliésteres alifáticos (Kweon et al., 2003). Debido a esto, siempre se recomienda realizar la copolimerización con monómeros con mayor nivel hidrófilo o hacer estructuras reticuladas (Escobar Ivirico et al., 2006), por lo tanto, la densidad de reticulación de la INU juega un papel importante ya que la reticulación disminuye la cristalización de PCL-diol y permite la hidrólisis en secciones amorfas mejorando la degradación. También se sabe



Capítulo VI. Discusión de Resultados

que la hidrólisis en secciones amorfas facilita la liberación de fármacos a partir de polímeros basados en PCL-diol (Hua et al., 2016; Krishna & Jayabalan, 2009; Kweon et al., 2003; Ward & Georgiou, 2011). Por lo tanto, la densidad de reticulación y la cantidad de INU libre en la estructura de los PUs provoca un efecto combinado que hace que todo el fármaco se libere en menos tiempo en muestras con mayor cantidad de INU, jugando un papel importante en la marcada diferencia en la cinética de liberación y la cantidad total de fármaco liberado.

Finalmente, en las pruebas de radiopacidad, como se mencionó, se seleccionó el PU-InP11 ya que tiene la menor deformación mecánica y el módulo elástico más alto, con una degradación a medio plazo en las condiciones simuladas. Los resultados mostraron que el material puede ser funcional para el diseño de nuevos biomarcadores de biopsia. El prototipo puede moldearse en diferentes geometrías, como un cilindro, por ejemplo, y probarse en una muestra animal para verificar su radiopacidad, durabilidad y degradabilidad a lo largo del tiempo. Así mismo, puede ser diseñado, variando el contenido de inulina, para degradarse a diferentes tiempos y dado que las nanopartículas se distribuyen bien en la matriz polimérica, la radiopacidad no se perdería drásticamente, incluso podrían diseñarse sistemas capaces de liberar un fármaco quimioterapéutico, en caso de ser necesario, a la par que cumplen la función como marcadores de biopsia. En este sentido, para aumentar las propiedades de radiopacidad del compósito, el contenido de nanopartículas de óxido de hierro puede aumentarse, ya que la concentración utilizada en este trabajo está dentro del rango de lo recomendado como no tóxico (Yu et al., 2012), sin embargo, aún es necesario realizar más ensayos para validar que los subproductos liberados tras la degradación no son tóxicos en ensayos *in vitro* e *in vivo* como la identificación de su localización lisosomal.



CAPÍTULO VII CONCLUSIONES Y TRABAJO A FUTURO



VII.I Conclusiones

- Los resultados de FTIR, Raman y NMR mostraron que se logró sintetizar un novedoso poliuretano basado en inulina/policaprolactona-diol y hexametildiisocianato.
- La caracterización mediante el ensayo de tensión y el TGA muestran que el contenido de inulina modifica las propiedades mecánicas y térmicas de los materiales. Esto derivado del nivel de entrecruzamiento entre las cadenas de la inulina. Los tres PUs sintetizados presentaron una estabilidad térmica adecuada para las aplicaciones que se proponen en el presente trabajo, y en cuanto a sus propiedades mecánicas, el material con mejor desempeño fue el PU-InP11.
- A partir de las pruebas de hinchamiento a diferentes condiciones de temperatura y pH, se encontró que estas se rigen principalmente por la cantidad de inulina presente en la estructura del poliuretano. Se destaca el comportamiento entre 35 a 40° C, donde la tendencia cambia de aumentar el hinchamiento con la temperatura a disminuir, algo sumamente importante, ya que estas temperaturas están en el rango de la temperatura corporal, ergo, esta característica se podría aprovechar para la administración de fármacos de manera controlada, por lo cual se requiere hacer estudios entre este intervalo para encontrar la temperatura exacta donde se presenta este cambio. Además, los materiales aumentan su capacidad de hinchamiento en pHs básicos y la disminuyen en pHs ácidos, lo cual también es interesante para el diseño de sistemas de liberación sensibles a estímulos. De lo anterior, se concluye que este tipo de PUs tiene características que potencialmente los vuelven polímeros inteligentes, sin embargo, son necesarios más estudios para corroborarlo, ya que se debe demostrar fidedignamente que su comportamiento es distinto a lo esperado en un material sin esta particularidad, es decir, que los cambios en sus propiedades sucedan ante un cambio pequeño o modesto en las condiciones ambientales.
- De las pruebas de degradación hidrolítica se concluye que todas las muestras presentan un cambio en su integridad y en su masa a través del tiempo en condiciones fisiológicas si-



Capítulo VII. Conclusiones y Trabajo a Futuro

muladas de temperatura y pH. Siendo el PU-InP21 el material con una tasa de degradación más alta y el PU-InP12 el de la tasa más baja; el PU-InP11 presentó un comportamiento intermedio. Sin embargo, es necesario hacer más estudios tanto a las soluciones como a los materiales y a las pequeñas trazas de estos para corroborar que se esté llevando una correcta degradación y no sea únicamente una pérdida de integridad del material. Estos estudios también servirán para conocer los productos de degradación que se obtienen.

- A medida que aumenta el contenido de inulina (disminución de PCL-diol) en los PUs, el mecanismo de liberación del fármaco se modifica por completo, pasando de la disolución del fármaco dentro del polímero, a la difusión hasta la última erosión; además, también cambia la cantidad de fármaco que se libera en el tiempo. Ergo, esto nos sugiere que es posible diseñar este tipo de PUs según la cantidad, el tiempo y el tipo de fármaco a administrar; según la zona o el tipo de cáncer que se presente. Esto permitirá elevar la eficacia de los tratamientos y así mejorar el bienestar de los pacientes.
- Las pruebas de radiopacidad mostraron que el compuesto de PU-InP11 con nanopartículas de magnetita tiene aplicaciones potenciales para ser utilizado como biomarcador de biopsia, ya que también es biodegradable. Sin embargo, es necesario realizar más pruebas y modificaciones en las relaciones entre PU y nanopartículas para establecer que es seguro y eficaz para ser utilizado como biomarcador de biopsia de la glándula mamaria.
- Los hallazgos científicos mostrados en este trabajo son un punto de partida para un desarrollo tecnológico de mayor impacto en futuros trabajos.



VII.II Trabajo a futuro

- Continuar con la síntesis de nuevos PUs, utilizando el método en dos pasos, cambiando el orden de reacción de los precursores; en el primer paso, formar cadenas de prepolímero de PCL-diol con HMDI y posteriormente, injertarlas a diferentes relaciones en la estructura de la inulina, en el segundo paso. Esto con el objetivo de obtener materiales con estructuras entrecruzadas en 3D mejor controladas, lo cual impactará en su reproducibilidad y sus propiedades.
- Evaluar diferentes relaciones molares entre los precursores para la síntesis de los PUs, y comparar sus propiedades con un PU sintetizado únicamente con inulina. Además, se debe evaluar si se requiere o no el uso de un extensor de cadena en este tipo de materiales.
- Con la intención de mejorar la biocompatibilidad de los materiales, se propone desarrollar un protocolo de síntesis libre del uso de catalizadores. Además, es necesario hacer un ensayo que permita la identificación certera de la presencia o no presencia de grupos -NCO libres en los materiales, ya que estos grupos pueden afectar la biocompatibilidad y podrían no ser detectados en FTIR y Raman; la titulación química es una opción viable y ampliamente usada para este fin.
- Hacer pruebas de compresión mecánica para complementar los resultados de tensión, ya que, en aplicaciones en el área de diseño de biomarcadores, esta prueba es la más adecuada.
- Continuar con las pruebas de biodegradabilidad para complementar los resultados, de acuerdo con la norma ISO 10993-13, y así garantizar que los materiales realmente son biodegradables.
- Realizar pruebas de biocompatibilidad de los PUs y de los compósitos que se pretendan desarrollar.
- Continuar con el estudio de las posibles aplicaciones que estos materiales pueden tener a futuro, empezando con las planteados en este trabajo y continuar con la búsqueda de nuevas áreas de oportunidad donde puedan tener potenciales usos.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdou, E. S., Nagy, K. S. A., & Elsabee, M. Z. (2008). Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. *Bioresource Technology*, 99(5), 1359–1367.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.051>
- Afinjuomo, F., Barclay, T. G., Song, Y., Parikh, A., Petrovsky, N., & Garg, S. (2019). Synthesis and characterization of a novel inulin hydrogel crosslinked with pyromellitic dianhydride. *Reactive and Functional Polymers*, 134, 104–111.
<https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2018.10.014>
- Akindoyo, J. O., Beg, M. D. H., Ghazali, S., Islam, M. R., Jeyaratnam, N., & Yuvaraj, A. R. (2016). Polyurethane types, synthesis and applications—a review. In *RSC Advances* (Vol. 6, Issue 115, pp. 114453–114482). Royal Society of Chemistry.
<https://doi.org/10.1039/c6ra14525f>
- Amato, S. F., & Ezzell, R. M. (2014). Regulatory Affairs for Biomaterials and Medical Devices. In *Regulatory Affairs for Biomaterials and Medical Devices*. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-16313-1>
- Amorij, J. P., Meulenaar, J., Hinrichs, W. L. J., Stegmann, T., Huckriede, A., Coenen, F., & Frijlink, H. W. (2007). Rational design of an influenza subunit vaccine powder with sugar glass technology: Preventing conformational changes of haemagglutinin during freezing and freeze-drying. *Vaccine*, 25(35), 6447–6457. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.06.054>
- Aranguren, M. I., Marcovich, N. E., Salgueiro, W., & Somoza, A. (2013). Effect of the nano-cellulose content on the properties of reinforced polyurethanes. A study using mechanical tests and positron annihilation spectroscopy. *Polymer Testing*, 32(1), 115–122.
<https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2012.08.014>
- Asefnejad, A., Khorasani, M. T., Behnamghader, A., Farsadzadeh, B., & Bonakdar, S. (2011). Manufacturing of biodegradable polyurethane scaffolds based on polycaprolactone using a phase separation method: physical properties and in vitro assay. *International Journal of Nanomedicine*, 6, 2375–2384. <https://doi.org/10.2147/ijn.s15586>
- Axinte, D., Guo, Y., Liao, Z., Shih, A. J., M'Saoubi, R., & Sugita, N. (2019). Machining of biocompatible materials — Recent advances. *CIRP Annals*, 68(2), 629–652.



Referencias Bibliográficas

- <https://doi.org/10.1016/j.cirp.2019.05.003>
- Azevedo, H. S., & Reis, R. L. (2005). *Understanding the Enzymatic Degradation of Biodegradable Polymers and Strategies to Control Their Degradation Rate*.
- Barikani, M., & Mohammadi, M. (2007). Synthesis and characterization of starch-modified polyurethane. *Carbohydrate Polymers*, 68(4), 773–780.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.08.017>
- Barksby, N., Dormish, J. F., & Haider, K. W. (2015). Polyurethane Synthesis. In *Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials* (pp. 2091–2103). Springer Berlin Heidelberg.
https://doi.org/10.1007/978-3-642-29648-2_374
- Basterretxea, A., Haga, Y., Sanchez-Sanchez, A., Isik, M., Irusta, L., Tanaka, M., Fukushima, K., & Sardon, H. (2016). Biocompatibility and hemocompatibility evaluation of polyether urethanes synthesized using DBU organocatalyst. *European Polymer Journal*, 84, 750–758.
<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2016.08.008>
- Beirão-da-Costa, S., Duarte, C., Bourbon, A. I., Pinheiro, A. C., Januário, M. I. N., Vicente, A. A., Beirão-da-Costa, M. L., & Delgadillo, I. (2013). Inulin potential for encapsulation and controlled delivery of Oregano essential oil. *Food Hydrocolloids*, 33(2), 199–206.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.03.009>
- Bergmeister, H., Seyidova, N., Schreiber, C., Strobl, M., Grasl, C., Walter, I., Messner, B., Baudis, S., Fröhlich, S., Marchetti-Deschmann, M., Griesser, M., Di Franco, M., Krssak, M., Liska, R., & Schima, H. (2015). Biodegradable, thermoplastic polyurethane grafts for small diameter vascular replacements. *Acta Biomaterialia*, 11(1), 104–113.
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.09.003>
- Blanco-Fernandez, B., Lopez-Viota, M., Concheiro, A., & Alvarez-Lorenzo, C. (2011). Synergistic performance of cyclodextrin-agar hydrogels for ciprofloxacin delivery and antimicrobial effect. *Carbohydrate Polymers*, 85(4), 765–774.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.03.042>
- Boffito, M., Sartori, S., Mattu, C., & Ciardelli, G. (2016). Polyurethanes for Cardiac Applications. In *Advances in Polyurethane Biomaterials* (pp. 387–416). Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100614-6.00013-5>
- Bontempo, A., Ugalde-Villanueva, B., Delgado-Gonzalez, E., Rodríguez, Á. L., & Aceves, C. (2017). Molecular iodine impairs chemoresistance mechanisms, enhances doxorubicin



Referencias Bibliográficas

- retention and induces downregulation of the CD44+/CD24+ and E-cadherin+/vimentin+ subpopulations in MCF-7 cells resistant to low doses of doxorubicin. *Oncology Reports*, 38(5), 2867–2876. <https://doi.org/10.3892/or.2017.5934>
- Bouhadir, K. H., Lee, K. Y., Alsberg, E., Damm, K. L., Anderson, K. W., & Mooney, D. J. (2001). Degradation of partially oxidized alginate and its potential application for tissue engineering. *Biotechnology Progress*, 17(5), 945–950. <https://doi.org/10.1021/bp010070p>
- Brannigan, R. P., & Dove, A. P. (2017). Synthesis, properties and biomedical applications of hydrolytically degradable materials based on aliphatic polyesters and polycarbonates. *Biomaterials Science*, 5(1), 9–21. <https://doi.org/10.1039/C6BM00584E>
- Braun, U., Lorenz, E., Weimann, C., Sturm, H., Karimov, I., Ettl, J., Meier, R., Wohlgemuth, W. A., Berger, H., & Wildgruber, M. (2016). Mechanic and surface properties of central-venous port catheters after removal: A comparison of polyurethane and silicon rubber materials. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 64, 281–291. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2016.08.002>
- Brown, R. M. (1999). Cellulose structure and biosynthesis. *Pure and Applied Chemistry*, 71(5), 767–775. <https://doi.org/10.1351/pac199971050767>
- Buléon, A., Colonna, P., Planchot, V., & Ball, S. (1998). Starch granules: Structure and biosynthesis. In *International Journal of Biological Macromolecules* (Vol. 23, Issue 2, pp. 85–112). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(98\)00040-3](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(98)00040-3)
- Butruk, B. A., Ziętek, P. A., & Ciach, T. (2011). Simple method of fabrication of hydrophobic coatings for polyurethanes. *Central European Journal of Chemistry*, 9(6), 1039–1045. <https://doi.org/10.2478/s11532-011-0094-7>
- Cao, Z., Zhou, Q., Jie, S., & Li, B. G. (2016). High cis-1,4 Hydroxyl-Terminated Polybutadiene-Based Polyurethanes with Extremely Low Glass Transition Temperature and Excellent Mechanical Properties. *Industrial and Engineering Chemistry Research*. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.5b04921>
- Caracciolo, P. C., Thomas, V., Vohra, Y. K., Buffa, F., & Abraham, G. A. (2009). Electrospinning of novel biodegradable poly(ester urethane)s and poly(ester urethane urea)s for soft tissue-engineering applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 20(10), 2129–2137. <https://doi.org/10.1007/s10856-009-3768-3>
- Cashman, K. D. (2006). A Prebiotic Substance Persistently Enhances Intestinal Calcium



Referencias Bibliográficas

- Absorption and Increases Bone Mineralization in Young Adolescents. *Nutrition Reviews*, 64(4), 189–196. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2006.tb00201.x>
- Castelli, F., Sarpietro, M. G., Micieli, D., Ottimo, S., Pitarresi, G., Tripodo, G., Carlisi, B., & Giammona, G. (2008). Differential scanning calorimetry study on drug release from an inulin-based hydrogel and its interaction with a biomembrane model: pH and loading effect. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 35(1–2), 76–85. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2008.06.005>
- Castor, L. (2011). INULINA: Polisacárido con interesantes beneficios a la salud humana y con aplicación en la industria farmacéutica. *InFARMAte*, 27, 1–5. <https://aprenderly.com/doc/3155947/inulina--polisacárido-con-interesantes-beneficios-a-la-salud>
- Chan, B. Q. Y., Heng, S. J. W., Liow, S. S., Zhang, K., & Loh, X. J. (2017). Dual-responsive hybrid thermoplastic shape memory polyurethane. *Materials Chemistry Frontiers*, 1(4), 767–779. <https://doi.org/10.1039/c6qm00243a>
- Chattopadhyay, D. K., & Raju, K. V. S. N. (2007). Structural engineering of polyurethane coatings for high performance applications. *Progress in Polymer Science*, 32(3), 352–418. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.05.003>
- Chen, H., Lu, H., Zhou, Y., Zheng, M., Ke, C., & Zeng, D. (2012). Study on thermal properties of polyurethane nanocomposites based on organo-sepiolite. *Polymer Degradation and Stability*. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2011.12.025>
- Chen, Qianfeng, Huang, J., Gou, J., Ren, Q., & Yuan, L. (2020). Inulin as carriers for renal targeting delivery of ferulic acid. *International Journal of Biological Macromolecules*, 154, 654–660. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.054>
- Chen, Qizhi, Liang, S., & Thouas, G. A. (2013). Elastomeric biomaterials for tissue engineering. In *Progress in Polymer Science* (Vol. 38, Issues 3–4, pp. 584–671). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2012.05.003>
- Chen, S. H., Tsao, C. T., Chang, C. H., Wu, Y. M., Liu, Z. W., Lin, C. P., Wang, C. K., & Hsieh, K. H. (2012). Synthesis and characterization of thermal-responsive chitin-based polyurethane copolymer as a smart material. *Carbohydrate Polymers*, 88(4), 1483–1487. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.01.055>
- Cherng, J. Y., Hou, T. Y., Shih, M. F., Talsma, H., & Hennink, W. E. (2013). Polyurethane-based



Referencias Bibliográficas

- drug delivery systems. In *International Journal of Pharmaceutics* (Vol. 450, Issues 1–2, pp. 145–162). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.04.063>
- Chirayil, C. J., Abraham, J., Mishra, R. K., George, S. C., & Thomas, S. (2017). Instrumental Techniques for the Characterization of Nanoparticles. In *Thermal and Rheological Measurement Techniques for Nanomaterials Characterization* (Vol. 3, pp. 1–36). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46139-9.00001-3>
- Chu, C. C. (2002). Biodegradable polymeric biomaterials: An updated overview. In 2014. Amsterdam ; Boston : Elsevier Science (Ed.), *Biomaterials: Principles and Applications* (First edit, pp. 95–116). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b15482-37>
- Chu, P. K., Chen, J. Y., Wang, L. P., & Huang, N. (2002). Plasma-surface modification of biomaterials. In *Materials Science and Engineering: R: Reports* (Vol. 36, Issues 5–6, pp. 143–206). Elsevier Ltd. [https://doi.org/10.1016/S0927-796X\(02\)00004-9](https://doi.org/10.1016/S0927-796X(02)00004-9)
- Commene, D., Hughes, R., Shortt, C., & Rowland, I. (2005). The potential mechanisms involved in the anti-carcinogenic action of probiotics. In *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* (Vol. 591, Issues 1–2, pp. 276–289). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.02.027>
- Cui, X., Guan, X., Zhong, S., Chen, J., Zhu, H., Li, Z., Xu, F., Chen, P., & Wang, H. (2017). Multi-stimuli responsive smart chitosan-based microcapsules for targeted drug delivery and triggered drug release. *Ultrasonics Sonochemistry*, 38, 145–153. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.03.011>
- De Paz, M. V., Aznar Moreno, J. A., & Galbis, J. A. (2008). Versatile sugar derivatives for the synthesis of potential degradable hydrophilic-hydrophobic polyurethanes and polyureas. *Journal of Carbohydrate Chemistry*, 27(2), 120–140. <https://doi.org/10.1080/07328300802030878>
- Den Hond, E., Geypens, B., & Ghoo, Y. (2000). Effect of high performance chicory inulin on constipation. *Nutrition Research*, 20(5), 731–736. [https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(00\)00162-7](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(00)00162-7)
- Diridollou, S., Patat, F., Gens, F., Vaillant, L., Black, D., Lagarde, J. M., Gall, Y., & Berson, M. (2000). In vivo model of the mechanical properties of the human skin under suction. *Skin Research and Technology*, 6(4), 214–221. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0846.2000.006004214.x>



Referencias Bibliográficas

- Dolmaire, N., Méchin, F., Espuche, E., & Pascault, J. P. (2006). Modification of a hydrophilic linear polyurethane by crosslinking with a polydimethylsiloxane. Influence of the crosslink density and of the hydrophobic/hydrophilic balance on the water transport properties. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 44(1), 48–61. <https://doi.org/10.1002/polb.20675>
- Ebnesajjad, S. (2012). Handbook of Biopolymers and Biodegradable Plastics: Properties, Processing and Applications. In *Handbook of Biopolymers and Biodegradable Plastics: Properties, Processing and Applications*. <https://doi.org/10.1016/C2011-0-07342-8>
- Emami, S. H., Orang, F., Mahmoudi, M., & Rafienia, M. (2008). A study of starch addition on burst effect and diameter of polyurethane microspheres containing theophylline. *Polymers for Advanced Technologies*, 19(3), 167–170. <https://doi.org/10.1002/pat.987>
- Escobar Ivirico, J. L., Salmerón Sánchez, M., Sabater i Serra, R., Meseguer Dueñas, J. M., Gómez Ribelles, J. L., & Monleón Pradas, M. (2006). Structure and Properties of Poly(ϵ -caprolactone) Networks with Modulated Water Uptake. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 207(23), 2195–2205. <https://doi.org/10.1002/macp.200600399>
- Fares, M. M., Salem, M. S., & Khanfar, M. (2011). Inulin and poly(acrylic acid) grafted inulin for dissolution enhancement and preliminary controlled release of poorly water-soluble Irbesartan drug. *International Journal of Pharmaceutics*, 410(1–2), 206–211. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.03.029>
- Fernández-D'Arilas, B., Alonso-Varona, A., Palomares, T., Corcuera, M. A., & Eceiza, A. (2015). Studies on the morphology, properties and biocompatibility of aliphatic diisocyanate-polycarbonate polyurethanes. *Polymer Degradation and Stability*, 122, 153–160. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2015.10.023>
- Ganji, Y., Kasra, M., Salahshour Kordestani, S., & Bagheri Hariri, M. (2014). Synthesis and characterization of gold nanotube/nanowire–polyurethane composite based on castor oil and polyethylene glycol. *Materials Science and Engineering: C*, 42, 341–349. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.05.030>
- Gao, Z., Peng, J., Zhong, T., Sun, J., Wang, X., & Yue, C. (2012). Biocompatible elastomer of waterborne polyurethane based on castor oil and polyethylene glycol with cellulose nanocrystals. *Carbohydrate Polymers*, 87(3), 2068–2075. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.10.027>



Referencias Bibliográficas

- Garratt-Reed, A. J., Bell, D. C., & Nicholson, P. (2006). Energy-dispersive X-ray analysis in the electron microscope. Bios Scientific Publishers, Ltd., Oxford, U.K. 2003 ISBN 1859961096; paperback; 160 pages; \$38.50. *Scanning*, 25(3), 162–162.
<https://doi.org/10.1002/sca.4950250309>
- Garrido, L. (2004). *Ciencia y tecnología de materiales poliméricos*. Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros (CSIC).
- Gerschenson, L. N., Rojas, A. M., & Fissore, E. N. (2017). Carbohydrates. In *Nutraceutical and Functional Food Components: Effects of Innovative Processing Techniques* (pp. 39–101). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805257-0.00003-X>
- Glibowski, P., & Bukowska, A. (2011). The effect of pH, temperature and heating time on inulin chemical stability. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, 10(2), 189–196.
- Govorčin Bajsić, E., & Rek, V. (2001). Thermal stability of polyurethane elastomers before and after UV irradiation. *Journal of Applied Polymer Science*. [https://doi.org/10.1002/1097-4628\(20010131\)79:5<864::AID-APP110>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/1097-4628(20010131)79:5<864::AID-APP110>3.0.CO;2-D)
- Griffin I.J.*, Davila, P. M., & Abrams, S. A. (2002). Non-digestible oligosaccharides and calcium absorption in girls with adequate calcium intakes^[†]. *British Journal of Nutrition*, 87(6), 187–191. <https://doi.org/10.1079/bjnbjn/2002536>
- Grishkewich, N., Mohammed, N., Tang, J., & Tam, K. C. (2017). Recent advances in the application of cellulose nanocrystals. In *Current Opinion in Colloid and Interface Science* (Vol. 29, pp. 32–45). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2017.01.005>
- Günther, H. (2013). *NMR spectroscopy: Basic principles, concepts, and applications in chemistry* (3rd Editio). Wiley.
- Gupta, N., Jangid, A. K., Pooja, D., & Kulhari, H. (2019). Inulin: A novel and stretchy polysaccharide tool for biomedical and nutritional applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 132, 852–863. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.188>
- Haj-Ahmad, R. R., Elkordy, A. A., Chaw, C. S., & Moore, A. (2013). Compare and contrast the effects of surfactants (Pluronic ®F-127 and Cremophor®EL) and sugars (β-cyclodextrin and inulin) on properties of spray dried and crystallised lysozyme. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49(4), 519–534. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2013.05.004>
- Han, W., Tu, M., Zeng, R., Zhao, J., & Zhou, C. (2012). Preparation, characterization and cytocompatibility of polyurethane/ cellulose based liquid crystal composite membranes.



Referencias Bibliográficas

- Carbohydrate Polymers*, 90(3), 1353–1361. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.07.004>
- Harris, D. C. (2012). *ANÁLISIS QUÍMICO CUANTITATIVO / Daniel C. Harris*. (3a edición). Reverté.
- Hernandez-Martinez, A., Molina, G., Esparza, R., Luis Rodríguez, Á., Cruz-Soto, M., Rodríguez-de León, E., Rangel, D., & Estévez, M. (2018). Novel Biocompatible and Biodegradable PCL-PLA/ Iron Oxide NPs Marker Clip Composite for Breast Cancer Biopsy. *Polymers*, 10(12), 1307. <https://doi.org/10.3390/polym10121307>
- Higuchi, T. (1961). Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 50(10), 874–875. <https://doi.org/10.1002/jps.2600501018>
- Hijová, E., Szabadosova, V., Štofilová, J., & Hřčková, G. (2013). Chemopreventive and metabolic effects of inulin on colon cancer development. *Journal of Veterinary Science*, 14(4), 387–393. <https://doi.org/10.4142/jvs.2013.14.4.387>
- Hinrichs, W. L. J., Prinsen, M. G., & Frijlink, H. W. (2001). Inulin glasses for the stabilization of therapeutic proteins. *International Journal of Pharmaceutics*, 215(1–2), 163–174. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(00\)00677-3](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(00)00677-3)
- Hoentjen, F., Welling, G. W., Harmsen, H. J. M., Zhang, X., Snart, J., Tannock, G. W., Lien, K., Churchill, T. A., Lupicki, M., & Dieleman, L. A. (2005). Reduction of Colitis by Prebiotics in HLA-B27 Transgenic Rats Is Associated with Microflora Changes and Immunomodulation. *Inflammatory Bowel Diseases*, 11(11), 977–985. <https://doi.org/10.1097/01.MIB.0000183421.02316.d5>
- Hsu, S., Hung, K.-C., Lin, Y.-Y., Su, C.-H., Yeh, H.-Y., Jeng, U.-S., Lu, C.-Y., Dai, S. A., Fu, W.-E., & Lin, J.-C. (2014). Water-based synthesis and processing of novel biodegradable elastomers for medical applications. *J. Mater. Chem. B*, 2(31), 5083–5092. <https://doi.org/10.1039/C4TB00572D>
- Hua, D., Liu, Z., Wang, F., Gao, B., Chen, F., Zhang, Q., Xiong, R., Han, J., Samal, S. K., De Smedt, S. C., & Huang, C. (2016). pH responsive polyurethane (core) and cellulose acetate phthalate (shell) electrospun fibers for intravaginal drug delivery. *Carbohydrate Polymers*, 151, 1240–1244. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.06.066>
- Ilavský, M., Ulmer, H. W., Te Nijenhuis, K., & Mijs, W. J. (2001). Network formation in polyurethanes based on triisocyanate and diethanolamine derivatives. *European Polymer*



Referencias Bibliográficas

- Journal*, 37(5), 887–896. [https://doi.org/10.1016/S0014-3057\(00\)00217-2](https://doi.org/10.1016/S0014-3057(00)00217-2)
- Irani, M., Mir Mohamad Sadeghi, G., & Haririan, I. (2017). A novel biocompatible drug delivery system of chitosan/temozolomide nanoparticles loaded PCL-PU nanofibers for sustained delivery of temozolomide. *International Journal of Biological Macromolecules*, 97, 744–751. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.073>
- Jangid, A. K., Patel, K., Jain, P., Patel, S., Gupta, N., Pooja, D., & Kulhari, H. (2020). Inulin-pluronic-stearic acid based double folded nanomicelles for pH-responsive delivery of resveratrol. *Carbohydrate Polymers*, 247(June), 116730. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116730>
- Jin, J. F., Chen, Y. L., Wang, D. N., Hu, C. P., Zhu, S., Vanoverloop, L., & Randall, D. (2002). Structures and physical properties of rigid polyurethane foam prepared with rosin-based polyol. *Journal of Applied Polymer Science*, 84(3), 598–604. <https://doi.org/10.1002/app.10312>
- Kapukaya, R., & Ciloglu, O. (2020). Treatment of chronic wounds with polyurethane sponges impregnated with boric acid particles: A randomised controlled trial. *International Wound Journal*, 17(5), 1159–1165. <https://doi.org/10.1111/iwj.13463>
- Kato, Y., Ozawa, S., Miyamoto, C., Maehata, Y., Suzuki, A., Maeda, T., & Baba, Y. (2013). Acidic extracellular microenvironment and cancer. In *Cancer Cell International* (Vol. 13, Issue 1, pp. 1–8). BioMed Central. <https://doi.org/10.1186/1475-2867-13-89>
- Khan, W., Challa, V. G. S., Langer, R., & Domb, A. J. (2014). *Biodegradable Polymers for Focal Delivery Systems* (pp. 3–32). https://doi.org/10.1007/978-1-4614-9434-8_1
- Kim, Y., Faqih, M. N., & Wang, S. S. (2001). Factors affecting gel formation of inulin. *Carbohydrate Polymers*, 46(2), 135–145. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(00\)00296-4](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(00)00296-4)
- Kiran, S., James, N. R., Jayakrishnan, A., & Joseph, R. (2012). Polyurethane thermoplastic elastomers with inherent radiopacity for biomedical applications. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 100 A(12), 3472–3479. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.34295>
- Kizuka, K., & Inoue, S.-I. (2015). Synthesis and Properties of Polyurethane Elastomers Containing Sucrose as a Cross-Linker. *Open Journal of Organic Polymer Materials*, 05(04), 103–112. <https://doi.org/10.4236/ojopm.2015.54011>
- Kojio, K., Mitsui, Y., & Furukawa, M. (2009). Synthesis and properties of highly hydrophilic polyurethane based on diisocyanate with ether group. *Polymer*, 50(15), 3693–3697.



Referencias Bibliográficas

- <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2009.05.030>
- Krishna, L., & Jayabalan, M. (2009). Synthesis and characterization of biodegradable poly (ethylene glycol) and poly (caprolactone diol) end capped poly (propylene fumarate) cross linked amphiphilic hydrogel as tissue engineering scaffold material. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 20(SUPPL. 1). <https://doi.org/10.1007/s10856-008-3493-3>
- Król, P., & Król, B. (2012). Surface free energy of polyurethane coatings with improved hydrophobicity. *Colloid and Polymer Science*, 290(10), 879–893. <https://doi.org/10.1007/s00396-012-2598-x>
- Kucinska-Lipka, J., Gubanska, I., Janik, H., & Sienkiewicz, M. (2015). Fabrication of polyurethane and polyurethane based composite fibres by the electrospinning technique for soft tissue engineering of cardiovascular system. In *Materials Science and Engineering C* (Vol. 46, pp. 166–176). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.10.027>
- Kumar, A., Lee, Y., Kim, D., Rao, K. M., Kim, J., Park, S., Haider, A., Lee, D. H., & Han, S. S. (2017). Effect of crosslinking functionality on microstructure, mechanical properties, and in vitro cytocompatibility of cellulose nanocrystals reinforced poly (vinyl alcohol)/sodium alginate hybrid scaffolds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 95, 962–973. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.10.085>
- Kweon, H. Y., Yoo, M. K., Park, I. K., Kim, T. H., Lee, H. C., Lee, H. S., Oh, J. S., Akaike, T., & Cho, C. S. (2003). A novel degradable polycaprolactone networks for tissue engineering. *Biomaterials*, 24(5), 801–808. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00370-8](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00370-8)
- Lalwani, R., & Desai, S. (2010). Sorption behavior of biodegradable polyurethanes with carbohydrate crosslinkers. *Journal of Applied Polymer Science*, 115(3), 1296–1305. <https://doi.org/10.1002/app.30214>
- Lara-Fiallos, M., Lara-Gordillo, P., Julián-Ricardo, M. C., Pérez-Martínez, A., & Benítez-Cortés, I. (2017). Avances en la producción de inulina TT - Advances on the inulin production. *Tecnología Química*, 37(2), 352–366. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852017000200016&lang=pt%0Ahttp://scielo.sld.cu/pdf/rtq/v37n2/rtq16217.pdf
- Larkin, P. J. (211 C.E.). *Infrared and Raman Spectroscopy: Principles and Spectral Interpretation*. Elsevier. [moz-extension://a48baf7f-8087-43bf-8df6-01c27da2d46f/enhanced-](https://doi.org/10.1016/B978-0-444-51185-5)



Referencias Bibliográficas

- reader.html?openApp&pdf=http%3A%2F%2Fwww.chemistry.uoc.gr%2Fflapkin%2Finfrared_and_Raman_Spectroscopy__Principles_and_Spectral_Interpretation.pdf
- Le Pevelen, D. D. (2010). Small Molecule X-Ray Crystallography, Theory and Workflow. In *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry* (pp. 2559–2576). Elsevier Ltd.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374413-5.00359-6>
- Lee, H.-F., & Yu, H. H. (2011). Study of electroactive shape memory polyurethane–carbon nanotube hybrids. *Soft Matter*, 7(8), 3801. <https://doi.org/10.1039/c0sm01101k>
- Lewicki, J. P., Pielichowski, K., De La Croix, P. T., Janowski, B., Todd, D., & Liggat, J. J. (2010). Thermal degradation studies of polyurethane/POSS nanohybrid elastomers. *Polymer Degradation and Stability*, 95(6), 1099–1105.
<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2010.02.021>
- Li Volsi, A., Jimenez De Aberasturi, D., Henriksen-Lacey, M., Giammona, G., Licciardi, M., & Liz-Marzán, L. M. (2016). Inulin coated plasmonic gold nanoparticles as a tumor-selective tool for cancer therapy. *Journal of Materials Chemistry B*, 4(6), 1150–1155.
<https://doi.org/10.1039/c5tb01810b>
- Lindsay, J. O., Whelan, K., Stagg, A. J., Gobin, P., Al-Hassi, H. O., Rayment, N., Kamm, M. A., Knight, S. C., & Forbes, A. (2006). Clinical, microbiological, and immunological effects of fructo-oligosaccharide in patients with Crohn's disease. *Gut*, 55(3), 348–355.
<https://doi.org/10.1136/gut.2005.074971>
- Liu, H., Cui, S., Shang, S., Wang, D., & Song, J. (2013). Properties of rosin-based waterborne polyurethanes/cellulose nanocrystals composites. *Carbohydrate Polymers*, 96(2), 510–515.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.04.010>
- Liu, S. H., Shen, M. Y., Kuan, C. F., Kuan, H. C., Ke, C. Y., & Chiang, C. L. (2019). Improving thermal stability of polyurethane through the addition of hyperbranched polysiloxane. *Polymers*, 11(4), 1–16. <https://doi.org/10.3390/polym11040697>
- Lopez, J. I., Kang, I., You, W. K., McDonald, D. M., & Weaver, V. M. (2011). In situ force mapping of mammary gland transformation. *Integrative Biology*, 3(9), 910–921.
<https://doi.org/10.1039/c1ib00043h>
- Mahanta, A. K., Mittal, V., Singh, N., Dash, D., Malik, S., Kumar, M., & Maiti, P. (2015). Polyurethane-grafted chitosan as new biomaterials for controlled drug delivery. *Macromolecules*, 48(8), 2654–2666. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.5b00030>



Referencias Bibliográficas

- Makal, U., Uslu, N., & Wynne, K. J. (2007). Water makes it hydrophobic: Contraphilic wetting for polyurethanes with soft blocks having semifluorinated and 5,5-dimethylhydantoin side chains. *Langmuir*, *23*(1), 209–216. <https://doi.org/10.1021/la0615600>
- Malikmammadov, E., Tanir, T. E., Kiziltay, A., Hasirci, V., & Hasirci, N. (2018). PCL and PCL-based materials in biomedical applications. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, *29*(7–9), 863–893. <https://doi.org/10.1080/09205063.2017.1394711>
- Mandracchia, D., Tripodo, G., Latrofa, A., & Dorati, R. (2014). Amphiphilic inulin-d- α -tocopherol succinate (INVITE) bioconjugates for biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*, *103*(1), 46–54. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.11.056>
- Mandracchia, D., Tripodo, G., Trapani, A., Ruggieri, S., Annese, T., Chlapanidas, T., Trapani, G., & Ribatti, D. (2016). Inulin based micelles loaded with curcumin or celecoxib with effective anti-angiogenic activity. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, *93*, 141–146. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2016.08.027>
- Matsui, M., Ono, L., & Akcelrud, L. (2012). Chitin/polyurethane networks and blends: Evaluation of biological application. *Polymer Testing*, *31*(1), 191–196. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2011.09.006>
- Mauro, N., Campora, S., Scialabba, C., Adamo, G., Licciardi, M., Ghersi, G., & Giammona, G. (2015). Self-organized environment-sensitive inulin-doxorubicin conjugate with a selective cytotoxic effect towards cancer cells. *RSC Advances*, *5*(41), 32421–32430. <https://doi.org/10.1039/c5ra00287g>
- McMullan, D. (1995). Scanning electron microscopy 1928–1965. *Scanning*, *17*(3), 175–185. <https://doi.org/10.1002/sca.4950170309>
- Mensink, M. A., Frijlink, H. W., Van Der Voort Maarschalk, K., & Hinrichs, W. L. J. (2015). Inulin, a flexible oligosaccharide. II: Review of its pharmaceutical applications. *Carbohydrate Polymers*, *134*, 418–428. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.08.022>
- Menzies, K. L., & Jones, L. (2010). The Impact of Contact Angle on the Biocompatibility of Biomaterials. *Optometry and Vision Science*, *87*(6), 1. <https://doi.org/10.1097/OPX.0b013e3181da863e>
- Merli, D., Pivi, F., Profumo, A., Quadrelli, P., Milanese, C., Risi, G., & Visai, L. (2016). Carboxymethylinulin-Chitosan Nanoparticles for the Delivery of Antineoplastic Mitoxantrone. *ChemMedChem*, *11*(21), 2436–2444.



Referencias Bibliográficas

- <https://doi.org/10.1002/cmdc.201600385>
- Mi, H. Y., Jing, X., Peng, J., Salick, M. R., Peng, X. F., & Turng, L. S. (2014). Poly(ϵ -caprolactone) (PCL)/cellulose nano-crystal (CNC) nanocomposites and foams. *Cellulose*, 21(4), 2727–2741. <https://doi.org/10.1007/s10570-014-0327-y>
- Micka, A., Siepelmeyer, A., Holz, A., Theis, S., & Schön, C. (2017). Effect of consumption of chicory inulin on bowel function in healthy subjects with constipation: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 68(1), 82–89. <https://doi.org/10.1080/09637486.2016.1212819>
- Moore, N., Chao, C., Yang, L.-P., Storm, H., Oliva-Hemker, M., & Saavedra, J. M. (2003). Effects of fructo-oligosaccharide-supplemented infant cereal: a double-blind, randomized trial. *British Journal of Nutrition*, 90(3), 581–587. <https://doi.org/10.1079/bjn2003950>
- Mulye, N. V., & Turco, S. J. (1995). A simple model based on first order kinetics to explain release of highly water soluble drugs from porous dicalcium phosphate dihydrate matrices. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 21(8), 943–953. <https://doi.org/10.3109/03639049509026658>
- Nasar, A. S., Jikei, M., & Kakimoto, M. A. (2003). Synthesis and properties of polyurethane elastomers crosslinked with amine-terminated AB₂-type hyperbranched polyamides. *European Polymer Journal*, 39(6), 1201–1208. [https://doi.org/10.1016/S0014-3057\(02\)00370-1](https://doi.org/10.1016/S0014-3057(02)00370-1)
- Nishida, M., Uechi, M., Kono, S., Harada, K., & Fujiwara, M. (2012). Estimating glomerular filtration rate in healthy dogs using inulin without urine collection. *Research in Veterinary Science*, 93(1), 398–403. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.08.003>
- Nohra, B., Candy, L., Blanco, J.-F., Guerin, C., Raoul, Y., & Mouloungui, Z. (2013). From Petrochemical Polyurethanes to Biobased Polyhydroxyurethanes. *Macromolecules*, 46(10), 3771–3792. <https://doi.org/10.1021/ma400197c>
- Park & Lakes. (2007). *Biomaterials— An Introduction - Joon Park, R.* <https://www.springer.com/gp/book/9780387378794>
- Phua, S. K., Castillo, E., Anderson, J. M., & Hiltner, A. (1987). Biodegradation of a polyurethane in vitro. *Journal of Biomedical Materials Research*, 21(2), 231–246. <https://doi.org/10.1002/jbm.820210207>
- Picheth, G. F., Pirich, C. L., Sierakowski, M. R., Woehl, M. A., Sakakibara, C. N., de Souza, C. F.,



Referencias Bibliográficas

- Martin, A. A., da Silva, R., & de Freitas, R. A. (2017). Bacterial cellulose in biomedical applications: A review. In *International Journal of Biological Macromolecules* (Vol. 104, pp. 97–106). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.171>
- Piqué, T. M., & Vázquez, A. (2012). *USO DE ESPECTROSCOPIA INFRARROJA CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR) EN EL ESTUDIO DE LA HIDRATACIÓN DEL CEMENTO* (Vol. 3).
- Pitarresi, G., Tripodo, G., Calabrese, R., Craparo, E. F., Licciardi, M., & Giammona, G. (2008). Hydrogels for Potential Colon Drug Release by Thiol-ene Conjugate Addition of a New Inulin Derivative. *Macromolecular Bioscience*, 8(10), 891–902. <https://doi.org/10.1002/mabi.200800043>
- Pooladian, B., & Alavi Nikje, M. M. (2018). Preparation and Characterization of Novel Poly(Urethane-Imide) Nanocomposite Based on Graphene, Graphene Oxide and Reduced Graphene Oxide. *Polymer - Plastics Technology and Engineering*, 57(18), 1845–1857. <https://doi.org/10.1080/03602559.2018.1434669>
- Posthumus, W., Derksen, A. J., van den Goorbergh, J. A. M., & Hesselmanns, L. C. J. (2007). Crosslinking by polycarbodiimides. *Progress in Organic Coatings*, 58(2–3), 231–236. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2006.09.031>
- Quitral, V., Torres, M., Velásquez, M., & Bobadilla, M. (2018). Efecto de inulina en la saciedad en humanos. *Perspectivas En Nutrición Humana*, 20(1), 79–89. <https://doi.org/10.17533/udea.penh.v20n1a07>
- Raftopoulos, K. N., Pagacz, J., Ozimek, J., Koutsoumpis, S., Michałowski, S., Hebda, E., Pielichowski, J., & Pielichowski, K. (2019). Molecular dynamics in polyurethane foams chemically reinforced with POSS. *Polymer Bulletin*, 76(6), 2887–2898. <https://doi.org/10.1007/s00289-018-2528-2>
- Ritger, P. L., & Peppas, N. A. (1987). A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. *Journal of Controlled Release*, 5(1), 23–36. [https://doi.org/10.1016/0168-3659\(87\)90034-4](https://doi.org/10.1016/0168-3659(87)90034-4)
- Rošic, R., Pelipenko, J., Kocbek, P., Baumgartner, S., Bešter-Rogač, M., & Kristl, J. (2012). The role of rheology of polymer solutions in predicting nanofiber formation by electrospinning. *European Polymer Journal*, 48(8), 1374–1384.



Referencias Bibliográficas

- <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2012.05.001>
- Ryland, A. L. (1958). X-ray diffraction. *Journal of Chemical Education*, 35(2), 80–83.
<https://doi.org/10.1021/ed035p80>
- Samaha, D., Shehayeb, R., & Kyriacos, S. (2009). Modeling and comparison of dissolution profiles of diltiazem modified-release formulations. *Dissolution Technologies*, 16(2), 41–46.
<https://doi.org/10.14227/DT160209P41>
- Sangamesh Kumbar, Meng Deng, & Cato T Laurencin. (2014). *Natural and synthetic biomedical polymers*. <https://www.worldcat.org/title/natural-and-synthetic-biomedical-polymers/oclc/869281815>
- Santerre, J. P., Woodhouse, K., Laroche, G., & Labow, R. S. (2005). Understanding the biodegradation of polyurethanes: From classical implants to tissue engineering materials. *Biomaterials*, 26(35), 7457–7470. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.05.079>
- Santillán-Urquiza, E., Arteaga-Cardona, F., Hernandez-Herman, E., Pacheco-García, P. F., González-Rodríguez, R., Coffey, J. L., Mendoza-Alvarez, M. E., Vélez-Ruiz, J. F., & Méndez-Rojas, M. A. (2015). Inulin as a novel biocompatible coating: Evaluation of surface affinities toward CaHPO₄, α-Fe₂O₃, ZnO, CaHPO₄@ZnO and α-Fe₂O₃@ZnO nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 460, 339–348.
<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.08.057>
- Sarkar, S., & Adhikari, B. (2001). Thermal stability of lignin-hydroxy-terminated polybutadiene copolyurethanes. *Polymer Degradation and Stability*. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(01\)00084-2](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(01)00084-2)
- Schedin, P., & Keely, P. J. (2011). Mammary gland ECM remodeling, stiffness, and mechanosignaling in normal development and tumor progression. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3(1), 1–22. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a003228>
- Schoener, C. A., Carillo-Conde, B., Hutson, H. N., & Peppas, N. A. (2013). An inulin and doxorubicin conjugate for improving cancer therapy. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 23(2), 111–118. [https://doi.org/10.1016/S1773-2247\(13\)50018-9](https://doi.org/10.1016/S1773-2247(13)50018-9)
- Senich, G. A., & MacKnight, W. J. (1980). Fourier Transform Infrared Thermal Analysis of a Segmented Polyurethane. *Macromolecules*. <https://doi.org/10.1021/ma60073a021>
- Seyedin, M. Z., Razal, J. M., Innis, P. C., & Wallace, G. G. (2014). Strain-Responsive Polyurethane/PEDOT:PSS Elastomeric Composite Fibers with High Electrical Conductivity.



Referencias Bibliográficas

- Advanced Functional Materials*, 24(20), 2957–2966.
<https://doi.org/10.1002/adfm.201303905>
- Shang, H.-M., Zhou, H.-Z., Yang, J.-Y., Li, R., Song, H., & Wu, H.-X. (2018). In vitro and in vivo antioxidant activities of inulin. *PLOS ONE*, 13(2), e0192273.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192273>
- Shoib, M., Bahadur, A., Iqbal, S., Rahman, M. S. U., Ahmed, S., Shabir, G., & Javaid, M. A. (2017). Relationship of hard segment concentration in polyurethane-urea elastomers with mechanical, thermal and drug release properties. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 37, 88–96. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2016.12.003>
- Short, L., Thoms, A. V., Cao, B., Sinyukov, A. M., Joshi, A., Scully, R., Sanders, V., & Voronine, D. V. (2014). Facile residue analysis of recent and prehistoric cook stones using handheld Raman spectrometry. *Journal of Raman Spectroscopy*, 46(1), 126–132.
<https://doi.org/10.1002/jrs.4593>
- Singh, R. S., Singh, T., & Larroche, C. (2019). Biotechnological applications of inulin-rich feedstocks. *Bioresource Technology*, 273(October 2018), 641–653.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.11.031>
- Slade, P. E., & Jenkins, L. T. (2007). Thermal analysis of polyurethane elastomers. *Journal of Polymer Science Part C: Polymer Symposia*, 6(1), 27–32.
<https://doi.org/10.1002/polc.5070060105>
- Slaughter, B. V., Khurshid, S. S., Fisher, O. Z., Khademhosseini, A., & Peppas, N. A. (2009). Hydrogels in regenerative medicine. In *Advanced Materials* (Vol. 21, Issues 32–33, pp. 3307–3329). Adv Mater. <https://doi.org/10.1002/adma.200802106>
- Solanki, A., Das, M., & Thakore, S. (2018). A review on carbohydrate embedded polyurethanes: An emerging area in the scope of biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*, 181, 1003–1016. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.11.049>
- Solanki, A., & Thakore, S. (2015). Cellulose crosslinked pH-responsive polyurethanes for drug delivery: α -hydroxy acids as drug release modifiers. *International Journal of Biological Macromolecules*, 80, 683–691. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.07.003>
- Soria, J. M., Barcia-González, J., Andrades, J. A., Romero, J., Monleón Pradas, M., & García-Verdugo, J. M. (2009). Use of biomaterials in regenerative medicine, basic aspects and applications in the Nervous System. *Trauma*, 20(1), 15–22.



Referencias Bibliográficas

- St. John, K. R. (2014). The use of compliant layer prosthetic components in orthopedic joint repair and replacement: A review. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 102(6), 1332–1341. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33130>
- Sultan, S., Siqueira, G., Zimmermann, T., & Mathew, A. P. (2017). 3D printing of nano-cellulosic biomaterials for medical applications. In *Current Opinion in Biomedical Engineering* (Vol. 2, pp. 29–34). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cobme.2017.06.002>
- Szycher, M. (1999). Szycher's handbook of polyurethanes. *Choice Reviews Online*, 37(03), 37-1570-37–1570. <https://doi.org/10.5860/CHOICE.37-1570>
- Tamariz, E., & Rios-Ramrez, A. (2013). Biodegradation of Medical Purpose Polymeric Materials and Their Impact on Biocompatibility. In *Biodegradation - Life of Science*. InTech. <https://doi.org/10.5772/56220>
- Taper, H. S., & Roberfroid, M. (1999). Nutritional and Health Benefits of Inulin and Oligofructose Influence of Inulin and Oligofructose on Breast Cancer and Tumor Growth 1. In *J. Nutr* (Vol. 129).
- Temenoff, J. S. (2008). *Biomaterials : the intersection of biology and materials science* /. Pearson/Prentice Hall,.
- Tersac, G. (2007). Chemistry and technology of polyols for polyurethanes. Milhail Ionescu. Rapra Technology, Shrewsbury, UK. *Polymer International*, 56(6), 820–820. <https://doi.org/10.1002/pi.2159>
- Thomas, S., Grohens, Y., & Ninan, N. (2015). Nanotechnology Applications for Tissue Engineering. In *Nanotechnology Applications for Tissue Engineering*. <https://doi.org/10.1016/C2014-0-00006-8>
- Tonnis, W. F., Mensink, M. A., De Jager, A., Van Der Voort Maarschalk, K., Frijlink, H. W., & Hinrichs, W. L. J. (2015). Size and molecular flexibility of sugars determine the storage stability of freeze-dried proteins. *Molecular Pharmaceutics*, 12(3), 684–694. <https://doi.org/10.1021/mp500423z>
- Tripodo, G., Pasut, G., Trapani, A., Mero, A., Lasorsa, F. M., Chlapanidas, T., Trapani, G., & Mandracchia, D. (2015). Inulin- d - α -tocopherol succinate (INVITE) nanomicelles as a platform for effective intravenous administration of curcumin. *Biomacromolecules*, 16(2), 550–557. <https://doi.org/10.1021/bm501616e>
- Trovati, G., Sanches, E. A., Neto, S. C., Mascarenhas, Y. P., & Chierice, G. O. (2010).



Referencias Bibliográficas

- Characterization of polyurethane resins by FTIR, TGA, and XRD. *Journal of Applied Polymer Science*. <https://doi.org/10.1002/app.31096>
- Ulery, B. D., Nair, L. S., & Laurencin, C. T. (2011). Biomedical Applications of Biodegradable Polymers. *Journal of Polymer Science. Part B, Polymer Physics*, 49(12), 832–864. <https://doi.org/10.1002/polb.22259>
- Unnithan, A. R., Gnanasekaran, G., Sathishkumar, Y., Lee, Y. S., & Kim, C. S. (2014). Electrospun antibacterial polyurethane-cellulose acetate-zein composite mats for wound dressing. *Carbohydrate Polymers*, 102(1), 884–892. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.10.070>
- Uscategui, Y. L., Díaz, L. E., & Valero, M. F. (2017). ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA, DEGRADACIÓN HIDROLÍTICA Y MICROBIANA Y CITOTOXICIDAD IN VITRO DE POLIURETANOS SINTETIZADOS CON POLIOLES DERIVADOS DEL ACEITE DE HIGUERILLA. *Quim. Nova*, 40(2), 131–137. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20160172>
- Uscategui, Y. L., Díaz, L. E., & Valero, M. F. (2018). Biomedical applications of polyurethanes. In *Química Nova* (Vol. 41, Issue 4, pp. 434–445). Sociedade Brasileira de Química. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170191>
- Usman, M., Zhang, C., Patil, P. J., Mehmood, A., Li, X., Bilal, M., Haider, J., & Ahmad, S. (2021). Potential applications of hydrophobically modified inulin as an active ingredient in functional foods and drugs - A review. In *Carbohydrate Polymers* (Vol. 252). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117176>
- Van Drooge, D. J., Hinrichs, W. L. J., & Frijlink, H. W. (2004). Anomalous dissolution behaviour of tablets prepared from sugar glass-based solid dispersions. *Journal of Controlled Release*, 97(3), 441–452. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2004.03.018>
- Van Minnen, B., Stegenga, B., Van Leeuwen, M. B. M., Van Kooten, T. G., & Bos, R. R. M. (2006). A long-term in vitro biocompatibility study of a biodegradable polyurethane and its degradation products. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 76(2), 377–385. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.30531>
- Van Nieuwenhove, I., Salamon, A., Adam, S., Dubruel, P., Van Vlierberghe, S., & Peters, K. (2017). Gelatin- and starch-based hydrogels. Part B: In vitro mesenchymal stem cell behavior on the hydrogels. *Carbohydrate Polymers*, 161, 295–305. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.01.010>



Referencias Bibliográficas

- Varelas, C. G., Dixon, D. G., & Steiner, C. A. (1995). Zero-order release from biphasic polymer hydrogels. *Journal of Controlled Release*, 34(3), 185–192. [https://doi.org/10.1016/0168-3659\(94\)00085-9](https://doi.org/10.1016/0168-3659(94)00085-9)
- Vogels, R. R. M., Lambertz, A., Schuster, P., Jockenhoevel, S., Bouvy, N. D., Disselhorst-Klug, C., Neumann, U. P., Klinge, U., & Klink, C. D. (2017). Biocompatibility and biomechanical analysis of elastic TPU threads as new suture material. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 105(1), 99–106. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33531>
- Wang, T. L., & Hsieh, T. H. (1997). Effect of polyol structure and molecular weight on the thermal stability of segmented poly(urethaneureas). *Polymer Degradation and Stability*. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(96\)00130-9](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(96)00130-9)
- Wang, W., & Wang, C. (2012). Polyurethane for biomedical applications: A review of recent developments. In *The Design and Manufacture of Medical Devices* (pp. 115–151). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9781908818188.115>
- Ward, M. A., & Georgiou, T. K. (2011). Thermoresponsive Polymers for Biomedical Applications. *Polymers*, 3(3), 1215–1242. <https://doi.org/10.3390/polym3031215>
- Weselucha-Birczyńska, A., Wietek, M., Sołtysiak, E., Galiński, P., Płachta, Piekara, K., & Błazewicz, M. (2015). Raman spectroscopy and the material study of nanocomposite membranes from poly(ϵ -caprolactone) with biocompatibility testing in osteoblast-like cells. *Analyst*, 140(7), 2311–2320. <https://doi.org/10.1039/c4an02284j>
- Xiao, R., & Grinstaff, M. W. (2017). Chemical synthesis of polysaccharides and polysaccharide mimetics. In *Progress in Polymer Science*. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2017.07.009>
- Xie, L., Shen, M., Hong, Y., Ye, H., Huang, L., & Xie, J. (2020). Chemical modifications of polysaccharides and their anti-tumor activities. *Carbohydrate Polymers*, 229(October 2019), 115436. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115436>
- Yahyaeei, H., Mohseni, M., Ghanbari, H., & Messori, M. (2016). Synthesis and characterization of polyhedral oligomeric titanized silsesquioxane: A new biocompatible cage like molecule for biomedical application. *Materials Science and Engineering C*, 61, 293–300. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.12.048>
- Yang, S.-K., Loftus, E. V., & Sandborn, W. J. (2001). Epidemiology of Inflammatory Bowel



Referencias Bibliográficas

- Disease in Asia. *Inflammatory Bowel Diseases*, 7(3), 260–270.
<https://doi.org/10.1097/00054725-200108000-00013>
- Yoneda, T., Hiasa, M., Nagata, Y., Okui, T., & White, F. (2015). Contribution of acidic extracellular microenvironment of cancer-colonized bone to bone pain. In *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes* (Vol. 1848, Issue 10, pp. 2677–2684). Elsevier B.V.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2015.02.004>
- Yu, M., Huang, S., Yu, K. J., & Clyne, A. M. (2012). Dextran and polymer polyethylene glycol (PEG) coating reduce both 5 and 30 nm iron oxide nanoparticle cytotoxicity in 2D and 3D cell culture. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(5), 5554–5570.
<https://doi.org/10.3390/ijms13055554>
- Yuvarani, I., Senthilkumar, S., Venkatesan, J., Kim, S. K., Al-Kheraif, A. A., Anil, S., & Sudha, P. N. (2015). Chitosan modified alginate-polyurethane scaffold for skeletal muscle tissue engineering. *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*, 5(8), 665–672.
<https://doi.org/10.1166/jbt.2015.1358>
- Zhang, Y., Shang, S., Zhang, X., Wang, D., & Hourston, D. J. (1996). Influence of the composition of rosin-based rigid polyurethane foams on their thermal stability. *Journal of Applied Polymer Science*. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4628\(19960214\)59:7<1167::aid-app14>3.3.co;2-a](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4628(19960214)59:7<1167::aid-app14>3.3.co;2-a)
- Zhao, J., Zheng, K., Nan, J., Tang, C., Chen, Y., & Hu, Y. (2017). Synthesis and characterization of lignosulfonate-graft-poly (acrylic acid)/hydroxyethyl cellulose semi-interpenetrating hydrogels. *Reactive and Functional Polymers*, 115, 28–35.
<https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2017.03.019>
- Zhu, Y., Gao, C., He, T., & Shen, J. (2004). Endothelium regeneration on luminal surface of polyurethane vascular scaffold modified with diamine and covalently grafted with gelatin. *Biomaterials*, 25(3), 423–430. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00549-0](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00549-0)
- Zia, F., Zia, K. M., Zuber, M., Kamal, S., & Aslam, N. (2015). Starch based polyurethanes: A critical review updating recent literature. In *Carbohydrate Polymers* (Vol. 134, pp. 784–798). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.08.034>
- Zia, K. M., Barikani, M., Zuber, M., Bhatti, I. A., & Sheikh, M. A. (2008). Molecular engineering of chitin based polyurethane elastomers. *Carbohydrate Polymers*, 74(2), 149–158.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.03.013>



Referencias Bibliográficas

Zuber, M., Zia, K. M., Iqbal, M. A., Cheema, Z. T., Ishaq, M., & Jamil, T. (2014). Synthesis and characterization of polyurethane based on aliphatic diisocyanate and stiff chain extenders. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 32(1), 184–190. <https://doi.org/10.1007/s11814-014-0196-y>

