



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C.

Posgrado en Materiales Poliméricos

DISEÑO Y EVALUACIÓN DE POLIURETANOS BIODEGRADABLES
PARA APLICACIONES DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE
FÁRMACOS ANTIDIABÉTICOS

Tesis que presenta

M. F. Marcos Bonilla Hernández

En opción al título de
DOCTOR EN CIENCIAS
(MATERIALES POLIMÉRICOS)

Mérida, Yucatán, México. Octubre, 2020

*CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A. C.
POSGRADO EN CIENCIAS MATERIALES POLIMÉRICOS*



RECONOCIMIENTO

Por medio de la presente, hago constar que el trabajo de tesis de Marcos Bonilla Hernández titulado “Diseño y evaluación de poliuretanos biodegradables para aplicaciones de liberación controlada de fármacos antidiabéticos”, fue realizado en la Unidad de Materiales, línea de investigación en Materiales para Medicina Regenerativa, del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., bajo la dirección del Dr. Juan Valerio Cauich Rodríguez, y pertenece al Programa de Posgrado en Materiales Poliméricos de este Centro.

Atentamente



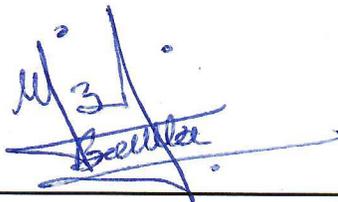
Dra. Cecilia Hernández Zepeda
Directora de Docencia

Mérida, Yucatán, México, a 20 de octubre de 2020.

Mérida, Yucatán, México, a 20 de octubre de 2020

DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en la sección de Materiales y Métodos Experimentales, los Resultados y Discusión de este documento proviene de las actividades experimentales realizadas durante el periodo que se me asignó para desarrollar el trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y que a razón de lo anterior y en contraprestación de los servicios educativos o de apoyo que me fueron brindados, dicha información, en los términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y de la Ley de la Propiedad Industrial, le pertenece patrimonialmente a dicho Centro de Investigación. Por otra parte, en virtud de lo ya manifestado, reconozco que de igual manera los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que deriven o pudieran derivar de lo correspondiente a dicha información, le pertenecen patrimonialmente al Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C., y en el mismo tenor reconozco que si derivaren de este trabajo productos intelectuales o desarrollos tecnológicos, en lo especial, estos se registrarán en todo caso por lo dispuesto por la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad industrial, en el tenor de lo expuesto en la presente Declaración.



Marcos Bonilla Hernández

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca para estudios de Posgrado otorgada # **402793**

Al CONACyT y al proyecto Fronteras de la Ciencia #1360 por la beca otorgada # 28672.

Al Proyecto Atención a Problemas Nacionales # 248378 y Fronteras de la Ciencia #1360 de los cuales fue financiado dicho trabajo.

Al Dr. Juan Valerio Cauich Rodríguez, director de tesis y responsable del Laboratorio de Química Macromolecular, cuya dirección permitió culminar el presente trabajo.

A la Dra. Patricia Quintana, Daniel Aguilar Treviño y William Cauich del Laboratorio Nacional de Nano y Biomateriales (LANBIO); Cinvestav-IPN, Unidad Mérida (proyecto FOMIX-Yucatán, 2008-108160 y CONACyT LAB-2009-01 No. 123) por el apoyo para realizar el análisis de RMN y XPS

Al Dr. Francis Avilés Cetina por el apoyo y asesoría para el uso de las instalaciones del Raman (proyecto CONACyT #268595).

A la Química Industrial Rossana Faride Vargas por su trabajo en el desarrollo de las técnicas y el uso de equipos de Termogravimetría, Análisis dinámico-mecánico, Infrarrojo con Transformada de Fourier. Espectroscopía UV-Vis, Ángulo de contacto y EDX-SEM. Su trabajo invaluable y guía en el Laboratorio de Química Macromolecular es más que una inspiración, es un ejemplo de que el trabajo con dedicación permite alcanzar todas las metas propuestas, siempre con excelencia.

A todos los integrantes del Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C. que participaron en actividades administrativas y de investigación, sin su apoyo la presentación del presente trabajo sería solo un ensueño.

A mis compañeros de laboratorio, cuya presencia siempre alimento mi espíritu de servicio y mis ganas por aprender siempre un poco más.

Al comité revisor de tesis, Dr. Fernando Hernández Sánchez, Dra. Rocio Borges Argáez, Dra. Lerma H. Chan Chan, Dr. Efrén Hernández Baltazar, cuyos comentarios me permitieron mejorar la calidad de este trabajo y entender el alcance de la investigación, gracias.

DEDICATORIAS

Amanda: Tod@s tenemos una luz que nos permite ver en la oscuridad, gracias por ser esa luz. A ti dedico el esfuerzo que significaron más 5 años en esta aventura que fue la vida.

† Victoria: hija, donde estés, que seas siempre libre y feliz, nos encontraremos nuevamente para abrazarnos.

Mamá: siempre recordaré tus enseñanzas y que *“todo en la vida se puede”*. También te amo.

Hermanos: Se que lo que ahora he logrado también es por ustedes y para ustedes, por mis sobrin@s y lo lejos que todos podemos ir en diferentes direcciones, siempre unidos.

Papá: También este logro es para ti.

A mis seres queridos que ya no están, su recuerdo y presencia me permitieron recobrar el camino cuando ya lo sentía extraviado, siempre los llevo conmigo como un hermoso recuerdo (Abuelas Victoria, Roma y abuelo Mere, Tío Marcos).

Dedico este trabajo a manera de agradecimiento al Dr. Juan Valerio Cauich Rodríguez, quien en estos meses días estuvo apoyándome pacientemente para la entrega de este trabajo, no tengo manera de agradecer su infinito apoyo.

Al Dr. Saúl Merino, a quién agradezco haber sembrado la semilla de la Tecnología Farmacéutica en mí, cuyo resultado me ha conducido a este momento en mi vida.

Al Dr. Efrén Hernández Baltazar, a quien le agradezco el haberme tendido la mano para solventar un gran reto y recuperar el camino correcto, infinito agradecimiento y reconocimiento.

CONTENIDO

LISTA DE TABLAS	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
GLOSARIO	xi
RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xiv
INTRODUCCIÓN	1
HIPÓTESIS	4
OBJETIVO GENERAL	5
OBJETIVOS PARTICULARES	5
CAPÍTULO 1	6
1 ANTECEDENTES	6
1.1 La diabetes	6
1.1.1 Definición de la diabetes	6
1.2 Costo económico de la diabetes	7
1.3 Diabetes no diagnosticada	9
1.4 Incidencia	10
1.5 Etiología de la diabetes	10
1.5.1 Disfunción de células beta pancreáticas:	11
1.6 Criterios de diagnóstico	12
1.7 Clasificación o tipos de diabetes	13
1.7.1 Diabetes tipo 1	13
1.7.2 Diabetes Tipo 2	14
1.7.3 Diabetes gestacional	15
1.7.4 Diabetes secundaria a pancreatitis, patologías endocrinas, desórdenes endócrinos e inducida por medicamentos	15

1.7.5	Diabetes tipo 3 o neurodiabetes	16
1.8	Tratamiento de la diabetes	17
1.8.1	Metformina	19
1.9	Administración de medicamentos	21
1.9.1	Liberación controlada de fármacos.....	21
1.10	Biomateriales.....	27
1.10.1	Clasificación de los biomateriales.....	28
1.11	Polímeros biodegradables en los Sistemas de Liberación de Fármacos	30
1.12	Conjugados polímero-ingrediente farmacéuticamente activo (IFA) (Fármaco). 31	
1.13	Materiales conjugados polímero-fármaco.	33
1.13.1	Conjugados polialquenilo-fármaco.	37
1.14	Poliuretanos	37
1.14.1	Síntesis de Poliuretanos.....	38
1.14.2	Isocianatos.....	40
1.14.3	Segmento Flexible (SF).....	41
1.14.4	Segmento Rígido (SR)	43
1.14.5	Extensores de cadena.....	44
1.15	Poliuretanos empleados en la liberación controlada de fármacos.....	47
CAPÍTULO 2.....		49
2 CONJUGADOS POLÍMERO-FÁRMACO A BASE DE PLURÓNICO, HMDI Y METFORMINA (SPU-PLU-MET)		49
2.1	Materiales.....	49
2.2	Síntesis en etapas.....	49
2.3	Determinación de propiedades de SPU-PLU-Met.....	51
2.3.1	Caracterización espectroscópica.....	51
2.3.2	Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR).....	51

2.3.3	Espectroscopía RAMAN.....	51
2.3.4	Resonancia Magnética Nuclear 1H RMN y 13C RMN	51
2.3.5	Espectroscopía de fotoelectrones emitidos por Rayos X (XPS).....	52
2.4	Caracterización Térmica.....	52
2.4.1	Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).....	52
2.4.2	Análisis Termogravimétrico (TGA).....	53
2.4.3	Análisis Dinámico Mecánico (DMA).....	53
2.5	Caracterización Estructural.....	53
2.5.1	Difracción de Rayos X (DRX)	53
2.5.2	Microscopía electrónica de barrido de electrones (MEB).....	53
2.6	Estudios de Degradación.....	54
2.7	Evaluación de la Citotoxicidad <i>in-vitro</i>	54
2.7.1	Cultivo celular.....	54
2.7.2	Evaluación de la citotoxicidad	55
2.8	Liberación (cesión) de metformina <i>in-vitro</i> de SPU-PLU-MET	56
2.9	Resultados y Discusión	57
2.9.1	Análisis Espectroscópico FTIR/Raman/RMN.....	57
2.9.2	Resonancia Magnética Nuclear de protón (¹ H) y carbono (¹³ C).....	59
2.9.3	Composición elemental superficial por XPS y EDX	62
2.9.4	Propiedades Térmicas (DSC, TGA, DMA).....	64
2.9.5	Propiedades Mecánicas Mediante (DMA)	68
2.9.6	Análisis de Difracción por Rayos X (DRX).....	69
2.9.7	Estudios de degradación.....	70
2.10	59.6±4.04	71
2.10.1	Evaluación de la citotoxicidad <i>in-vitro</i>	71
2.10.2	Liberación (cesión) de metformina <i>in-vitro</i> de SPU-PLU-Met.....	73

CAPÍTULO 3.....	76
3 CONJUGADOS POLÍMERO-FÁRMACO A BASE DE POLI-CAPROLACTONA, HMDI Y METFORMINA (SPU-PCL-MET)	76
3.1 Materiales.....	76
3.2 Síntesis en etapas.....	76
3.3 Determinación de propiedades de SPU-PCL-Met.....	79
3.3.1 Caracterización espectroscópica.....	79
3.3.2 Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR).....	79
3.3.3 Espectroscopía RAMAN.....	79
3.3.4 Resonancia Magnética Nuclear (¹ H) y (¹³ C) RMN	79
3.3.5 Espectroscopía de fotoelectrones emitidos por Rayos X (XPS).....	79
3.4 Caracterización Térmica.....	80
3.4.1 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).....	80
3.4.2 Análisis Termogravimétrico (TGA).....	80
3.4.3 Análisis Dinámico Mecánico (DMA).....	81
3.5 Caracterización estructural	81
3.5.1 Difracción de Rayos X (DRX)	81
3.5.2 Microscopía electrónica de barrido (MEB).....	81
3.6 Estudios de degradación	81
3.7 Evaluación de la citotoxicidad in-vitro	82
3.7.1 Cultivo celular.....	82
3.7.2 Evaluación de la citotoxicidad	82
3.8 Liberación (cesión) de metformina in-vitro de SPU-PCL-Met.....	83
3.9 Resultados y discusión	84
3.9.1 Análisis espectroscópico FTIR/Raman	84
3.9.2 Resonancia Magnética Nuclear de protón (¹ H) y carbono (¹³ C).....	86

3.9.3	Composición elemental superficial por XPS y EDX	89
3.9.4	Propiedades térmicas (DSC, TGA, DMA).....	91
3.9.5	Propiedades Mecánicas Mediante (DMA)	94
3.9.6	Determinación Estructural	96
3.9.7	Estudios de degradación	96
3.9.8	Evaluación de la citotoxicidad in-vitro	97
3.9.9	Liberación (cesión) de metformina in-vitro de SPU-PCL-Met.....	98
4	CONCLUSIONES	101
5	PERSPECTIVAS.....	102
6	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	103

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1 Principales causas de defunción en el año 2017 en México.....	6
Tabla 1.2 Tratamientos de la diabetes no insulino dependiente por grupo farmacológico [53].	18
Tabla 1.3. Polímeros usados como biomateriales.....	29
Tabla 1.4 Clasificación de los materiales poliméricos en función de su mecanismo de transporte y liberación de principios activos.....	31
Tabla 1.5 Conjugados polímero-fármaco en ensayo clínico [100]	34
Tabla 1.6 Propiedades de Policaprolactona diol	42
Tabla 1.7 Tipos de isocianatos empleados en la síntesis de poliuretanos [116].....	44
Tabla 1.8 Ejemplos de extensores de cadena[119].....	45
Tabla 1.9 Nombres comunes y estructuras químicas de algunos extensores de cadena empleados en la síntesis de poliuretanos[112].	46
Tabla 1.10 Aplicaciones de poliuretanos en el transporte y liberación de moléculas bioactivas[122][125].....	48
Tabla 2.1 Nomenclatura de los poliuretanos obtenidos con Pluronic F127®.....	50
Tabla 2.2 Masa inicial de polímero empleado para la evaluación de la degradación en condiciones aceleradas	54
Tabla 2.3 Cantidad de metformina por muestra evaluada en la prueba de cesión.	56
Tabla 2.4. Composición elemental en % SPU-PLU-Met.....	64
Tabla 2.5. Propiedades térmicas de SPU-PLU-MET.....	66
Tabla 2.6 Dependencia del módulo de almacenamiento con la temperatura	69
Tabla 2.7 Porcentaje de pérdida de masa posterior a la degradación hidrolítica de SPU- PLU-Met	71
Tabla 2.8. Porcentaje de liberación de metformina en PBS pH 6.8 (Volumen 100 mL)....	73
Tabla 2.9. Coeficiente de correlación y constantes cinéticas para los datos ajustados a un modelo cinético durante la liberación de metformina a partir de materiales poliméricos	75
Tabla 3.1 Nomenclatura de los poliuretanos obtenidos.....	78
Tabla 3.2 Masa inicial de polímero empleado para la evaluación de la degradación en condiciones aceleradas.	82

Tabla 3.3 Cantidad de metformina por muestra evaluada en la prueba de cesión de los materiales SPU-PCL-Met.....	84
Tabla 3.4 Composición porcentual de los elementos atómicos que integran los materiales sintetizados para la serie SPU-PCL- Met.....	91
Tabla 3.5. Propiedades térmicas de SPU-PCL-Met	92
Tabla 3.6 Dependencia del módulo de almacenamiento con la temperatura	95
Tabla 3.7 Porcentaje de pérdida de masa después de la degradación hidrolítica de SPU-PCL-Met	97
Tabla 3.8. Porcentaje de liberación de metformina en PBS pH 6.8 (Volumen 100 mL) ..	100
Tabla 3.9. Coeficiente de correlación y constantes cinéticas para los datos ajustados a un modelo cinético durante la liberación de metformina a partir de materiales poliméricos	100

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 Factores de riesgo genéticos y ambientales que producen inflamación, autoinmunidad y estrés metabólico. Estos estados afectan las células beta o su función produciendo niveles de insulina insuficientes para satisfacer los requisitos de las células, provocando hiperglucemia. Este modelo implica la destrucción o mal funcionamiento de las células beta del páncreas como el principal mecanismo para la aparición de diabetes [4].....	8
Figura 1.2 Factores que influyen en la disfunción de las células beta del páncreas [33]..	11
Figura 1.3 Estructura química de N,N-dimetilbiguanida (metformina)	19
Figura 1.4 Las fuerzas que dirigen el desarrollo de los sistemas de liberación controlada u optimizada. La necesidad clínica es clave para desarrollar nuevas tecnologías. La investigación direccionada por la curiosidad ayuda a sembrar nuevas ideas, materiales y perspectivas [70].	22
Figura 1.6 Diferentes dispositivos usados para reemplazar o mejorar la función de tejidos u órganos [76].....	27
Figura 1.7 Modelo de Helmut Ringsdorf del conjugado polímero-fármaco y sus elementos constituyentes.....	32
Figura 1.8 Estructura química de Polietilenglicol (PEG) lineal.....	35
Figura 1.9 Síntesis de poliuretanos a partir de un diol y un diisocianato	38
Figura 1.10 Síntesis de poliuretanos con polioles de diferente estructura y peso molecular modifican la rigidez/flexibilidad de los polímeros sintetizados[109]	39
Figura 1.11 El segmento rígido de un poliuretano es formado por las interacciones entre las cadenas cercanas [109].....	40
Figura 1.12 Estructura de la PCL.....	42
Figura 1.13 Estructura química de la molécula de Pluronic F-127®.....	42
Figura 1.14. Reacciones del isocianato con agua (a) y con la amina formada (b) [118]. ..	47
Figura 2.1. Mecanismo para la formación de poli(uretano-urea) preparados con Pluronic F127® y metformina (Met).....	50
Figura 2.2. Reducción de resazurina a resofurina, con el correspondiente cambio de color	56
Figura 2.3. Espectros de FTIR (a) y (b), Raman (c) y (d) de los polímeros sintetizados con Pluronic F127®.....	58

Figura 2.4 Espectro de RMN para la serie SPUPLUMet con varias proporciones de segmento rígido. (a) ^1H (protón), (b) ^{13}C .	61
Figura 2.5 Espectros de C1s, O1s y N1s, correspondientes a las muestras analizadas de SPU-PLU-Met.	63
Figura 2.6. Termogramas DSC de los materiales sintetizados SPUPLUMET con 20%, 30%, 40%, 50% y HMDI-Met 100% de SR. (a) primera corrida, (b), segunda corrida.	65
Figura 2.7. Termogramas del Análisis Termogravimétrico de SPUPLUMET con 20%, 30%, 40%, 50% y 100% de SR. (a) porcentaje de masa, (b) primera derivada.	68
Figura 2.8 Termogramas de SPU-PLU-Met con 20%, 30%, 40%, 50 % y 100 % de SR. (a) módulo de almacenamiento, (b) $\text{Tan } \delta$.	68
Figura 2.9 Difractogramas de SPU-PLU-Met con 20%, 30%, 40%, 50% y 100% de SR. Se incluyen los DRX de Pluronic F127® y metformina.	70
Figura 2.10 Citotoxicidad de SPU-PLU-Met evaluada con el método indirecto (extractos) a los días 1, 4 y 7. Determinación evaluada con resazurina (RZ) * diferencia significativa entre las muestras evaluadas y el control (DMEM).	72
Figura 2.11 Liberación de metformina en medio búfer de fosfatos (USP) de SPU-PLU-Met 20%, 30%, 40% y 50% (datos ajustados a diferentes modelos de cinética de liberación).	74
Figura 3.1 Mecanismo de reacción en la síntesis de la serie SPU-PCL-Met.	78
Figura 3.2 Espectros vibracionales de SPU-PCL-Met, (a) y (b) FTIR, (c) y (d) RAMAN ...	86
Figura 3.3 Espectro de RMN de SPUPCLMET con diferentes contenidos de segmento rígido. ^1H (a), ^{13}C (b) y (c).	88
Figura 3.4 Espectros XPS de SPU-PCL-Met para carbono, oxígeno y nitrógeno.	90
Figura 3.5 Termograma de DSC de SPUPCLMet	92
Figura 3.6 Termogramas de la serie SPU-PCL-Met que muestran las temperaturas de descomposición. a) Curva DTGA b) % de pérdida de masa (TGA).	93
Figura 3.7 Termograma de DMA de SPU-PCL-Met	95
Figura 3.8 Patrones de difracción de SPUPCLMet	96
Figura 3.9 Citotoxicidad de SPU PCL MET evaluada a 1, 4 y 7 días. * diferencia significativa entre las muestras evaluadas y el control (DMEM)	98

Figura 3.10. Liberación de metformina en medio búfer de fosfatos (USP) de SPU-PCL-Met 20%, 30%, 40% y 50% (datos ajustados a diferentes modelos de cinética de liberación)..... 99

GLOSARIO

ATR	Reflectancia Total Atenuada
DMA	Análisis Dinámico Mecánico por sus siglas en inglés
DMEM	Medio Eagle modificado por Dulbecco por sus siglas en inglés
DMF	Dimetil Formamida
DRX	Difracción de rayos X
DSC	Calorimetría diferencial de barrido por sus siglas en inglés
ERO	Especies Reactivas de Oxígeno
FID	Federación Internacional de Diabetes
FTIR	Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier
GLUT	Transportador de glucosa por sus siglas en inglés
HbA1c	Hemoglobina glicosilada
HLA/AHL	Antígeno Humano de Leucocitos
HMDI	4,4'-metilen bis (ciclohexildiisocianato)
HTA	Hipertensión arterial
LDL	Lipoproteína de baja densidad por sus siglas en inglés
MEB	Microscopía electrónica de barrido de electrones
mmol	Milimol (1×10^{-3} mol)
Oct-Sn	Octoato de estaño o Estaño II etil-hexanoato
PBS	Solución Buffer de fosfato salino
PCL	Poli(ϵ -caprolactona)
PET	Poli (tereftalato de etileno)
PM	Peso molecular
PMMA	Poli (metacrilato de metilo)
POE	Polióxido de etileno
POP	Polióxido de propileno
PU's	Poliuretanos
PUUs	Poliuretano-urea
PVC	Poli (cloruro de vinilo)
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
rpm	revoluciones por minuto
RZ	Resazurina
SLF	Sistema de liberación de fármacos
SPU	Poliuretanos segmentados por sus siglas en inglés
SR	Segmento rígido

Tg	Temperatura de transición vítrea
TGA	Análisis termogravimétrico
THF	Tetrahidrofurano
Tm	Temperatura de fusión
Xc	Cristalinidad relativa
XPS	Espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X

RESUMEN

Los sistemas de liberación controlada de fármacos utilizan técnicas innovadoras para tratar enfermedades crónicas (como la diabetes). Al utilizar las mejores características de los fármacos disponibles, y mejorando propiedades fisicoquímicas y farmacéuticas, los sistemas de liberación controlada proveen nuevas formas de alcanzar el sitio de acción con mayor eficacia y seguridad al mismo tiempo que disminuyen los problemas relacionados con la medicación. Los conjugados polímero-fármaco son materiales con un gran potencial para ser usados en el campo de la liberación controlada de fármacos ya que poseen un amplio abanico de posibilidades de modificación y pueden ser activados por múltiples mecanismos y factores. En esta tesis se presentan un conjugado poliuretano-urea con metformina (Met) sintetizado mediante el método del prepolímero donde el segmento rígido está compuesto de HMDI-Met y el segmento flexible compuesto de PCL o Pluronic F127. La dosificación del fármaco antidiabético se realizó variando el contenido de segmentos rígidos a base de HMDI-Met (20%, 30%, 40% y 50%) y la biodegradación se estudió a través de segmentos flexibles a base de PCL diol o Pluronic F127. Los resultados obtenidos muestran la inclusión de metformina en la cadena polimérica del poliuretano con formación de enlaces urea en los dos sistemas ensayados (PCL y Pluronic F127) los cuales fueron confirmados por RMN, XPS y DRX. Al aumentar la proporción de segmento rígido se encontró una disminución de la cristalinidad de los materiales, inherente al segmento flexible (PCL y POE, POP) la cual disminuyó hasta obtener materiales amorfos (SR=50%). Por otro lado, los materiales sintetizados tuvieron poco efecto en el crecimiento de células mesenquimales de pulpa dental, siendo incluso menor este efecto en el caso de los materiales sintetizados con PCL como segmento flexible. La citotoxicidad fue menor en los materiales sintetizados con PCL como el segmento flexible. En la liberación se alcanzaron concentraciones cercanas a 45 $\mu\text{g/mL}$ desde los primero 5 minutos, con liberación sostenida por hasta 7 días. Los conjugados PCL-metformina y Pluronic-metformina mostraron características adecuadas para ser utilizadas como sistemas de liberación de fármacos, donde los perfiles de liberación y las propiedades mecánicas pueden ser moduladas para cumplir los requisitos que los pacientes pudieran necesitar.

ABSTRACT

The controlled drug delivery systems (DDS) use novel techniques for the treatment of long-term medical conditions (such as diabetes). By using the drugs best characteristic, DDS can improve their physicochemical and pharmaceutical properties, and thus provide new paths to reach the action site, securely and efficiently, while minimizing drug-related problems. For their wide range of modification and activation via multiple mechanisms, polymer-drug conjugates have the potential to be successfully used in DDS. This thesis is aimed to evaluate the potential use of polyurethane-urea based polymer-drug conjugates as DDS. The objectives were to investigate the inclusion of metformin at different concentrations, its interactions with biological systems, as well as its performance in *in vitro* models. The drug-polymer conjugated polymers were synthesized by using the pre-polymerization method where HMDI and metformin were used as the rigid segment with either PCL or Pluronic F127 as the soft segment. The amount of loaded metformin was varied as the content of rigid segments (RS) changed between 20%, 30%, 40% and 50%. The results showed the inclusion of metformin in polyurethane polymeric main chain with urea bonds formation in both systems confirmed by NMR, XPS and XRD. By increasing the proportion of rigid segments, a reduction in PCL or Pluronic F127 crystallinity was found until the polymer become amorphous (RS=50%). On the other hand, all synthesized materials had minimal effect on dental pulp mesenchymal stem cell growth compared with the positive control. Cytotoxicity was lower in materials synthesized with PCL as the soft segment. 45 ug/mL of metformin was released within the first 5 min. with a controlled release measured for up to 7 days. The PCL-Metformin and Pluronic-Metformin conjugates showed adequate characteristics to be used as DDS, where the release profile and physicochemical properties could be tuned to the patients' specific requirements.

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus es una afección grave y de largo desarrollo que ocurre cuando los niveles de glucosa en la sangre están por encima de concentraciones saludables. Esta enfermedad ha ido tomando importancia en todo el mundo debido al rápido aumento de incidencia en toda la población [1] y a los efectos en la salud que ha tenido. México es uno de los países con mayor ocurrencia de esta enfermedad comparado con el resto de los países del mundo, debido al crecimiento acelerado en el número de casos diagnosticados desde 1995, donde ocupaba el noveno lugar en el mundo. Con este crecimiento se espera que para el año 2030 México tenga casi 12 millones de pacientes diagnosticados con diabetes [2]. Esta enfermedad ya no está asociada con el nivel socio-económico [1] o cultural, y actualmente, las autoridades sanitarias consideran que cuenta con las características de una pandemia debido a la distribución mundial. Es importante mencionar que la diabetes forma parte del grupo de Enfermedades No Transmisibles (ENT) entre las cuales se encuentran enfermedades como la hipertensión arterial (HTA), la obesidad y el cáncer, las cuales comparten varios factores de riesgo [3].

En el mundo actualmente son casi 500 millones de habitantes que viven con algún tipo de diabetes [4], distribuidos principalmente entre los países de ingresos bajos y medios, con casi el 80% de los enfermos diagnosticados [5]. Esta enfermedad también está relacionada con el rápido crecimiento de las ciudades, a las dietas poco saludables y al estilo de vida, donde cada vez un mayor número de empleos implican mayor sedentarismo y estrés laboral, dando como resultado una elevada cantidad de personas con sobrepeso u obesidad, diabetes, hipertensión y dislipidemia, todo ocurriendo al mismo tiempo [6]. Debido a las características de cronicidad de la diabetes, los costos y las complicaciones relacionadas a la enfermedad aumentan con el tiempo, alcanzando incluso hasta el 12% del total del gasto en salud [7]. Se calcula que para el año 2045, 693 millones de habitantes tendrán algún tipo de diabetes [8].

Por otro lado, la efectividad de las terapias farmacológicas son afectadas negativamente por la falta de adherencia al tratamiento, a la obstinación al cambio de hábitos alimenticios o la presencia de eventos adversos relacionados con los fármacos empleados [9]. La mayoría de tratamientos médicos utilizan fármacos de bajo peso molecular a veces con baja solubilidad y/o ventana terapéutica estrecha [10]. Estas características limitan su

aplicación y orientan la búsqueda hacia nuevos blancos terapéuticos o la síntesis de nuevas moléculas con mejores propiedades fisicoquímicas y menos efectos secundarios no deseados o reacciones adversas a los medicamentos.

Por otro lado, materiales nuevos con características fisicoquímicas y farmacológicas más adecuadas para ser usados como vehículos de transporte y liberación al mismo tiempo que actúan como agentes terapéuticos son una propuesta que ha tenido mucho interés tanto por la comunidad científica como por la industria farmacéutica. El objetivo principal de un sistema de entrega y liberación de fármacos es optimizar la precisión en la cantidad de fármaco que llega al sitio correcto, en el momento adecuado y durante el tiempo necesario para ejercer su efecto terapéutico, dentro de un marco de seguridad y eficacia.

El desarrollo de nuevos materiales poliméricos biodegradables es un área en constante crecimiento e innovación ya sea por su utilidad en los sistemas de liberación de fármacos, aplicaciones en ingeniería de tejidos o sensores biomédicos [11]. Desde los años 40's, el uso de materiales poliméricos como el poli(metilmetacrilato) (PMMA), poli(etilentereftalato) (PET) y poli(cloruro de vinilo) (PVC), estaban limitados a las técnicas y reactivos empleados para la síntesis de estos materiales, pero en la actualidad, un mayor número de materiales se han sumado con nuevas aplicaciones, desde huesos artificiales, válvulas de corazón, implantes de cadera, lentes artificiales, implantes vasculares o piel. Estos materiales aún tienen áreas de oportunidad para mejorar y optimizar sus propiedades fisicoquímicas y el desempeño *in vivo*.

Entre estos nuevos materiales se destacan los poliuretanos (PUs), los cuales constituyen una alternativa atractiva gracias a su biocompatibilidad y gran capacidad de modificación estructural (optimización), lo cual permite obtener características específicas y propiedades terapéuticas.

Con base en lo anterior, en este trabajo se propuso la síntesis de un nuevo tipo de PU biodegradable que incorpore un principio farmacéuticamente activo: metformina en su estructura principal, cumpliendo la función como extensor de cadena. Este fármaco es el más utilizado para el tratamiento de la diabetes tipo 2 (No Insulino-dependiente) [12], y se espera que el conjugado polímero-fármaco posea características de biocompatibilidad adecuadas para aplicaciones de bioingeniería. La biodegradación de este polímero permitirá liberar el principio activo para que efectúe su efecto terapéutico en el organismo.

Adicionalmente, al tratarse de nuevos polímeros se determinaron sus propiedades fisicoquímicas, citotóxicas y se evaluó el perfil de liberación.

Esta tesis se encuentra estructurada con la presente **Introducción, Hipótesis, Objetivos y tres capítulos**. El **CAPÍTULO 1** contiene los **Antecedentes** sobre la diabetes, su definición y el tratamiento farmacológico. Plantea los beneficios y desventajas de los materiales usados actualmente para la conjugación con fármacos, los requerimientos y el potencial de los poliuretanos para su uso en sistemas de transporte y liberación de fármacos, así como las diferentes aproximaciones para el mejoramiento de éstos. El **CAPÍTULO 1** también, comprende una descripción de los componentes empleados en la síntesis de poliuretanos, siendo la **poli ϵ -caprolactona diol** y **Pluronic F-127 ®** los elementos formadores del segmento flexible, y la metformina y el **HMDI** los que forman el segmento rígido (**SR**). Esta combinación de segmentos, flexibles y rígidos es un elemento que caracteriza a los poliuretanos. El **CAPÍTULO 2** comprende la **metodología** empleada en la síntesis y caracterización fisicoquímica de poli(uretano-ureas) (**PUUS**) a base de Pluronic F-127 y metformina, las degradaciones llevadas a cabo y la evaluación biológica. En el **CAPÍTULO 2** presenta la síntesis y los hallazgos obtenidos en relación con la serie de PUUS sintetizados con Pluronic F127®, se discute el efecto del contenido del segmento rígido, el impacto en las propiedades fisicoquímicas y superficiales ante diferentes agentes degradantes, para finalmente determinar el desempeño biológico de cada PUUS. El **CAPÍTULO 3** presenta la síntesis y los hallazgos obtenidos en relación con la serie de PUUS sintetizados con PCL, se discute el efecto del contenido del segmento rígido, el impacto en las propiedades fisicoquímicas y superficiales ante diferentes agentes degradantes, para finalmente determinar el desempeño biológico de cada PUUS. Al final se presentan las **CONCLUSIONES** alcanzadas y las sugerencias para **trabajos futuros**.

HIPÓTESIS

El compuesto 1,1-dimetilbiguanida (metformina) puede incorporarse a un poli (uretano-urea) segmentado a través de su reacción con HMDI y Poli ϵ -caprolactona diol/Pluronic F-127® presentando propiedades fisicoquímicas adecuadas, una degradación controlada y biocompatibilidad para su uso en aplicaciones biomédicas, ingeniería de tejidos y transporte de fármacos.

OBJETIVO GENERAL

Obtener poli(uretano ureas) segmentados (**PUUS**) biodegradables con 1,1-di-metil-biguanida (metformina) como extensor de cadena para su uso potencial en la síntesis de conjugados polímero-fármaco antidiabéticos para aplicaciones biomédicas, así como discutir su posible uso en ingeniería de tejidos.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Sintetizar poli(uretano ureas) segmentados biodegradables a partir de copolímeros de óxido de etileno-óxido de propileno (**Pluronic F127**), 4,4-metilen-bis-ciclohexil diisocianato (**HMDI**) y 1,1-di-metil-biguanida (metformina) como extensor de cadena, variando el porcentaje de segmento rígido (**SR**) en 20 %, 30 %, 40 % y 50%.
- 2) Sintetizar poli(uretano ureas) segmentados biodegradables a partir de poli ϵ -caprolactona diol (**PCL diol**), 4,4-metilen-bis-ciclohexil diisocianato (**HMDI**) y 1,1-di-metil-biguanida (metformina) como extensor de cadena, variando el porcentaje de segmento rígido (**SR**) en 20 %, 30 %, 40 % y 50 %.
- 3) Caracterizar fisicoquímicamente los polímeros obtenidos mediante técnicas espectroscópicas (IR, Raman, RMN, XPS, XRD), y térmicas (TGA, DMA, DSC).
- 4) Estudiar la degradación *in vitro* de los **PUUS** bajo condiciones controladas usando búfer de fosfato salino (**PBS**) y bajo condiciones aceleradas usando agentes hidrolíticos y oxidativos.
- 5) Evaluar la citotoxicidad de extractos de **PUUS** con cultivos celulares.
- 6) Estudiar la liberación de metformina *in vitro* de los **PUUS** en condiciones fisiológicas usando buffer de fosfato salino (**PBS**).

CAPÍTULO 1

ANTECEDENTES

1.1 La diabetes

1.1.1 Definición de la diabetes

La organización mundial de la Salud (OMS) define la diabetes como un síndrome metabólico que está caracterizado por presentar hiperglucemia crónica producida por cualquier condición que causa una acción deficiente de la insulina o su secreción. La prediabetes es un estado caracterizado por presentar anomalías metabólicas que incrementan el riesgo de desarrollar diabetes y sus complicaciones [13].

La diabetes es un padecimiento que ha formado parte de la historia de la humanidad desde hace más de 3500 años [14]. En México, en el año 1922 ya habían sido reportadas 368 muertes atribuibles a la diabetes [15], en 2017 esta cifra se elevó a 106'190 muertes [16], actualmente ocupa el segundo lugar en las principales causas de muerte en México (**Tabla 1.1**).

Tabla 1.1 Principales causas de defunción en el año 2017 en México.

Principales causas de defunción	Total (Habitantes)
Enfermedades del corazón	140,377
Diabetes mellitus	106,191
Tumores malignos	86,813
Enfermedades del Hígado	38,368
Enfermedad cerebrovascular	35,067
Accidentes	34 960
Agresiones (homicidios)	29 793
Enfermedades pulmonares obstructivas crónicas (EPOC)	22 886
Neumonía e influenza	21 563
Insuficiencia renal	13 091
Ciertas afecciones originadas en el periodo perinatal	12 877
Malformaciones congénitas, deformidades y anomalías cromosómicas	9 200
Desnutrición y otras deficiencias nutricionales	7 112
Lesiones autoinfligidas intencionalmente (suicidios)	6 469
Bronquitis crónica, enfisema y asma	4 954
Enfermedad por virus de la inmunodeficiencia humana	4 676

Enfermedades infecciosas intestinales	3 605
Anemias	3 408
Sepsis	2 744
Úlceras gástrica y duodenal	2 692
Mal definidas	9 750
Las demás causas	100 252
Total Nacional México	693 848

Si comparamos las personas sanas con las que tienen diabetes, tener esta enfermedad incrementa casi al doble el riesgo de mortalidad, esto incluye a personas que viven en países desarrollados [17]. La Federación Internacional de Diabetes (FID) ha estimado que en 2017 por lo menos 5 millones de muertes entre individuos de 20 a 99 años se debió a la diabetes, representando casi el 10% de las causas de muerte en este grupo [7] de Enfermedades No Transmisibles (ENT). Obtener datos precisos sobre la prevalencia de la diabetes ha sido un gran reto para los gobiernos de los países en donde esta enfermedad se ha distribuido hasta dimensiones exageradas, incrementando su prevalencia de 4.3% en 1980 a 9.0% en hombres y de 5.0% a 7.9% en mujeres en el 2017 [18], un incremento del número de adultos con diabetes de 108 millones en 1980 a 422 millones en 2017. Para el 2017 se esperaba un número de personas con diabetes de 451 millones y por lo menos 21.3 millones de nacimientos afectados por algún tipo de hiperglucemia durante el embarazo [18].

1.2 Costo económico de la diabetes

A nivel mundial, se estima que el gasto de los gobiernos en esta enfermedad es de alrededor de \$1.31 trillones de dólares (\$1'310'000'000'000'000.00), casi el 2% del producto interno bruto (PIB) mundial de 2015 [19]. Por otro lado, en el año 2014, se estimó que el número individuos con diabetes en China, India y Estados Unidos de Norteamérica sería de 189.4 millones, aproximadamente el 45% de la población mundial con esta enfermedad. Esto nos da una idea del gran reto que tienen los gobiernos para establecer programas de prevención y educación sobre la diabetes y sus consecuencias y para México, entender que la situación requiere de la participación de todos los sectores para encontrar una solución definitiva a esta pandemia.

Para complicar el escenario de la diabetes, cada vez más niños y adolescentes son diagnosticados con diabetes [20]. Tener diabetes desde la juventud eleva 2.1 veces el riesgo de desarrollar complicaciones médicas a edades tempranas como hipertensión arterial (HTA), hipercolesterolemia, obesidad, retinopatía, nefropatía, neuropatía y enfermedades del corazón, lo cual conlleva una reducción de la esperanza de vida de por lo menos 15 años [21]. Con anterioridad se consideraba que los factores predominantes para la aparición de la diabetes eran sólo genéticos y ambientales y su interacción, los cuales conducían a estados inflamatorios, autoinmunidad y estrés metabólico.

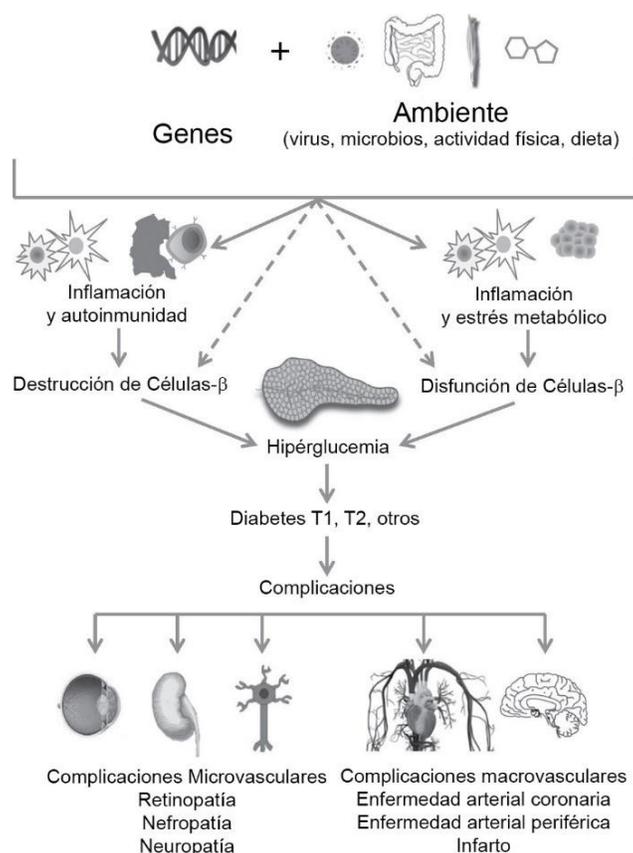


Figura 1.1 Factores de riesgo genéticos y ambientales que producen inflamación, autoinmunidad y estrés metabólico. Estos estados afectan las células beta o su función produciendo niveles de insulina insuficientes para satisfacer los requisitos de las células, provocando hiperglucemia. Este modelo implica la destrucción o mal funcionamiento de las células beta del páncreas como el principal mecanismo para la aparición de diabetes [4].

A pesar del peso genético en cada tipo de diabetes, el incremento de la prevalencia de esta enfermedad superó la variabilidad genética, lo cual indica que los factores ambientales son de mayor relevancia en el desarrollo de la diabetes [22]. Según *David J. P. Baker* y

colaboradores, [23], [24], estos factores ambientales tienen un mayor efecto en el desarrollo de la diabetes si se presentan en las etapas tempranas de la vida y en personas con bajo peso al nacer y/o durante su infancia, ya que serán más propensas a desarrollar enfermedades cardiovasculares, intolerancia a la glucosa, disfunción de células beta pancreáticas y diabetes. Esto puede explicarse de la siguiente manera: cuando las células beta pancreáticas se están desarrollando y no tienen las condiciones nutricionales adecuadas, son más susceptibles y se produce un desarrollo deficiente, lo que conlleva a un fallo temprano en su función de secreción de insulina. Por otro lado, el sobrepeso y la obesidad desde la infancia incrementan la demanda periférica de insulina, la cual puede generar un mayor estrés en las células beta y volverlas más vulnerables a un ataque autoinmune, lo cual puede conducir al desarrollo de diabetes tipo 1 [23].

El panorama sobre la diabetes es incluso peor cuando se relacionan las condiciones económicas y sociales con la aparición de esta enfermedad. Las enfermedades no pueden tratarse como si fueran diferentes entidades que están separadas del contexto social. Este contexto social hace hincapié en los indicadores económicos, sociales, ambientales y de estilo de vida, donde podemos remarcar la incertidumbre alimentaria, la cual se caracteriza por carecer de alimentos con suficiente calidad¹ (nota al pie), estos están poco disponibles, o una gran oferta de alimentos baratos con una altísima cantidad de calorías, pero deficientes en calidad nutricional [25]. A esto debemos sumar la insolvencia de países como México, en políticas certeras y rigurosas que aseguren el control de la glucemia, con población con altos niveles de obesidad y con una alta incidencia en diabetes.

1.3 Diabetes no diagnosticada

Debido a que en las etapas tempranas de la diabetes no se presentan síntomas, muchos individuos cursan varios años con diabetes antes de ser diagnosticados y, por lo tanto, sin recibir tratamiento adecuado que evite el deterioro de sus funciones orgánicas. Esta

¹ La calidad de los alimentos está representada por la suma de las propiedades sensoriales y de salud. A pesar de la disponibilidad limitada, un alimento de calidad puede ser considerado como el que aporta elementos nutritivos, aminoácidos esenciales, vitaminas, ácidos grasos y oligoelementos cuyo consumo no genera detrimento del estado de salud. Los alimentos altos en carbohidratos simples y de fácil absorción, así como grasas hidrogenadas y bajo contenido de aminoácidos esenciales favorecen la aparición de afecciones como obesidad, hipertensión o síndrome metabólico.

situación se agrava en personas adultas y con bajos niveles de educación cuya función orgánica ya está deteriorada por la edad. Debido a lo anterior, en México se estima que 50% de los casos de diabetes permanecen sin diagnóstico certero [26].

1.4 Incidencia

La incidencia es una medida de la proporción de nuevos casos que ocurre en una población definida en un periodo de tiempo, por lo general un año, y nos permite identificar cómo se comporta la enfermedad con el tiempo. La incidencia estimada actual de la diabetes es de alrededor de 7 nuevos casos por cada 1000 adultos al año [20].

1.5 Etiología de la diabetes

La diabetes mellitus es un grupo de enfermedades (de ahí que se considere un síndrome) cuya principal característica es una deficiencia en la producción de insulina o en su actividad, lo cual resulta en niveles elevados de glucosa en sangre. Los diferentes tipos de diabetes se pueden considerar como el resultado final de un amplio espectro etiológico, desde la respuesta autoinmune contra las células beta pancreáticas o las intoxicaciones por xenobióticos en la diabetes tipo 1, lo cual ocasiona la deficiencia de insulina, a la diabetes tipo 2 donde cambios en el metabolismo ocasionan resistencia a la insulina en tejidos diana [27]. A pesar de las diferencias, se ha observado una convergencia clínica para la diabetes 1 y 2: la pérdida de la masa de células beta. Esta disminución de células beta es un componente crítico en la patogénesis de esta enfermedad, y se ha asociado a múltiples factores genéticos de riesgo, genes inmunológicos para la diabetes tipo 1 y genes metabólicos para la diabetes tipo 2. Si bien, los factores ambientales juegan un papel importante, la genética participa con más de 60 señales de riesgo identificadas para la diabetes tipo 1 y más de 400 para la diabetes tipo 2 [28], [29]. De estos locus (sitios génicos) la mayoría se han relacionado con daño al tejido pancreático (islotos de Langerhans), función inmune alterada por modificaciones en el locus HLA y resistencia a la insulina en adipocitos y músculo esquelético, por mencionar algunos. Por otro lado, a pesar de existir un gran número de factores genéticos de riesgo, para que estos ejerzan su efecto negativo deben ser activados por factores externos o epigenéticos, como en el caso de la deficiencia de ácido fólico, investigada por *Hung-Chih y colaboradores* en 2013 [30] la cual favorece el estrés oxidativo. Por último podemos mencionar que a pesar de los esfuerzos realizados

por muchos investigadores, la relación patofisiológica que vincula la etiología de la diabetes tipo 1 y la tipo 2, no se ha entendido completamente [30].

1.5.1 Disfunción de células beta pancreáticas:

Las células beta pancreáticas juegan un papel central en el desarrollo de la diabetes. Estas células están en estado de cambio dinámico, un equilibrio entre apoptosis y regeneración celular. Este equilibrio puede ser alterado por múltiples factores y progresar a una falla en la secreción de insulina con la subsecuente elevación de los niveles de glucosa en la sangre. Desde el inicio de la aparición de niveles elevados de glucosa en sangre, debido a situaciones tan comunes como una dieta rica en carbohidratos simples, las células beta del páncreas empiezan a mostrar un funcionamiento deficiente, lo que contribuye a la hiperglucemia. En la

Figura 1.2, se pueden mencionar 8 factores que influyen en la progresión de la disfunción celular: (i) Toxicidad debido a altas concentraciones plasmáticas de glucosa; (ii) resistencia periférica a altas concentraciones de insulina; (iii) deterioro celular debido al envejecimiento; (iv) producción de hexosaminas debido al exceso de glucosa en las vías metabólicas; (v) factores pro inflamatorios como el TNF-alfa; (vi) pérdida de la estimulación de la secreción de insulina (efecto de incretina); (vii) predisposición genética a la diabetes y (viii) aparición de un efecto de lipotoxicidad debido a un incremento de metabolitos (acil CoA, diacilglicerol, ceramidas). Esto se debe principalmente a que estas células entran en un estado sostenido de sobreproducción de insulina para alcanzar nuevamente las concentraciones de glucosa plasmática normales [32].

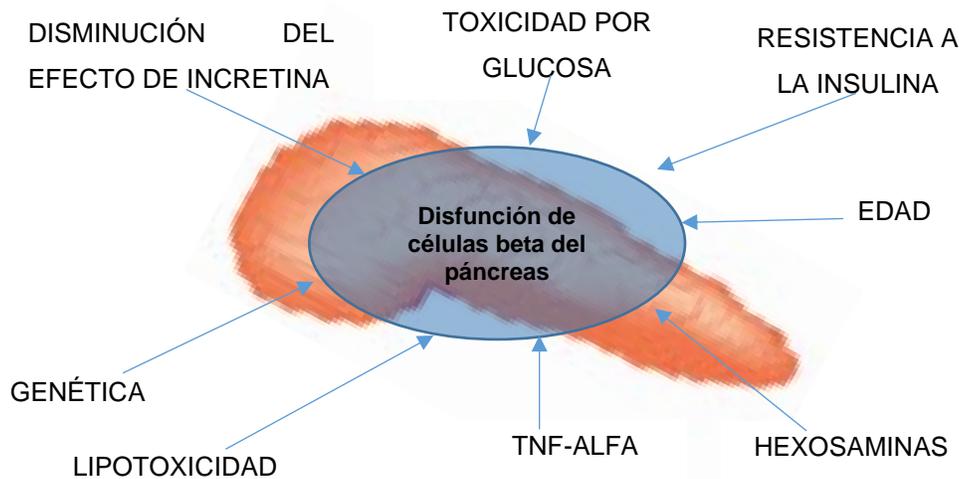


Figura 1.2 Factores que influyen en la disfunción de las células beta del páncreas [33]

1.6 Criterios de diagnóstico

Los criterios de diagnóstico para la diabetes mellitus han cambiado durante las últimas décadas a la par que han mejorado las técnicas de laboratorio clínico, así como la capacidad de entender la patofisiología y sus complicaciones. Se puede identificar claramente la relación entre una concentración plasmática de glucosa elevada crónica y sus complicaciones, sin embargo, poner un límite numérico que permita el diagnóstico certero de la diabetes mellitus es aún un tema de debate entre los expertos. La OMS propuso en 1965 [31] la primera guía para el diagnóstico de la diabetes y desde ese momento se identificaron 2 grupos, personas con glucosa alta y personas con glucosa baja. Un tercer grupo que no estaba en los dos iniciales fue considerado como un estado intermedio y se consideró que tenían tolerancia a la glucosa elevada, un estado alterado del metabolismo de la glucosa [35] caracterizado por hiperglucemia (concentraciones elevadas de glucosa plasmática) por encima de lo normal sin llegar a estar en los niveles en los que se no hay duda de diagnosticar diabetes. La importancia de este estado intermedio radica en que entre el 5% y el 10% de las personas con prediabetes pueden desarrollar diabetes mellitus si no reciben intervención sanitaria oportuna [36], [37]. El término prediabetes, se puede definir como una fase característica que representa una condición que reúne todas los factores de riesgo y que puede ser considerado como un punto de no-retorno, donde los órganos y sistemas compensatorios del organismo luchan

por mantener la homeostasis celular, funcionando en condiciones extremas en términos de metabolismo de carbohidratos y con un alto riesgo de desarrollar complicaciones cardiovasculares y vasculares[38], [39]. En las pruebas diagnósticas se hace uso de la cuantificación de hemoglobina glicosilada (HbA1c) la cual es una forma de hemoglobina (Hb) que se encuentra unida a molécula de glucosa, galactosa o fructosa a través del grupo N-terminal de la cadena β de hemoglobina (HbA0) [40] y representa en promedio el comportamiento de la concentración plasmática de glucosa de un periodo de 3 meses [40].

A continuación, se mencionan los criterios de diagnóstico de diabetes mellitus. En sujetos que son asintomáticos se recomienda repetir las pruebas de diagnóstico en otra ocasión más (prueba confirmatoria).

- Glucosa plasmática en ayunas ≥ 7.0 mmol/L (126.11 mg/dL)
- Glucosa plasmática ≥ 11.1 mmol/L (200 mg/dL) en una prueba de tolerancia a la glucosa de 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua
- Hemoglobina glicosilada HbA1c $\geq 6.5\%$ (48 mmol/mol)
- Glucosa plasmática ≥ 11.1 mmol/L (200 mg/dL) en cualquier momento del día de forma aleatoria

En el caso de la prediabetes, los criterios establecidos por la Asociación Americana de Diabetes son los siguientes:

- Glucosa plasmática en ayunas de 5.6 – 6.9 mmol/L (100.9-124.3 mg/dL)
- Glucosa plasmática de 7.8 -11.0 mmol/L (140.5-198.2 mg/dL) en una prueba de tolerancia a la glucosa de 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua
- Hemoglobina glicosilada HbA1c 5.7% (39 mmol/mol)

1.7 Clasificación o tipos de diabetes

La diabetes se ha clasificado en las siguientes categorías [13], [22], [41]:

- Diabetes tipo 1 (Insulino dependiente)
- Diabetes tipo 2 (No insulino dependiente)
- Diabetes gestacional
- Diabetes secundaria
- Diabetes tipo 3-cerebral

1.7.1 *Diabetes tipo 1*

La diabetes tipo 1 se caracteriza por la destrucción completa de las células beta del páncreas lo cual ocasiona una ausencia de insulina. La mayoría de los pacientes presentan síntomas de poliuria, polidipsia y polifagia, con la posibilidad de presentar cetoacidosis como primera manifestación. La diabetes tipo 1 se considera el resultado entre la interacción del ambiente y sujetos con una carga genética elevada de predisposición a la diabetes. Esta carga genética se asocia con la presencia del haplotipo del antígeno humano de leucocitos (Human Leukocyte Antigen, HLA) HLA-DR3-QD2 y el HLA-DR4-DQ8, solos o en combinación [42]. Este *locus* genético confiere un 50-60% del riesgo genético debido a que afecta la unión de las proteínas HLA con los péptidos antigénicos y la presentación de antígenos con las células T [43]. Aunado a los genes HLA, se han identificado otros 50 genes que contribuyen individualmente en menor medida.

También se han identificado anticuerpos contra antígenos en los islotes de Langerhans en el páncreas, como a la descarboxilasa de ácido glutámico-65, a insulina, antígeno asociado al insulinoma-2 y al transportador de Zinc-8 [44], [45]. Se considera que los sujetos con estos anticuerpos también tienen una gran predisposición a desarrollar otros desórdenes autoinmunes como la tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Grave, enfermedad de Addison, enfermedad celiaca, vitíligo, hepatitis autoinmune, miastenia gravis y anemia perniciosa. En relación con algunos otros factores ambientales que pudieran desencadenar la diabetes tipo 1 se han estudiado a la leche de vaca, algunos virus y microbiota intestinal sin llegar a identificar de manera concluyente la influencia de estos en la patogénesis de la diabetes mellitus tipo 1 [46].

1.7.2 *Diabetes Tipo 2*

En contraste con la diabetes tipo 1, la diabetes tipo 2 se caracteriza por una deficiencia relativa de insulina debido a un mal funcionamiento de las células beta del páncreas, y a la resistencia a la acción de la insulina en tejidos blanco (principalmente músculo estriado). También se considera como una diabetes no-insulina dependiente, sin embargo, representa entre el 90% y el 95% de todos los casos de diabetes registrados. A diferencia de pacientes con diabetes tipo 1, los pacientes con diabetes tipo 2 al inicio del tratamiento antidiabético son bien controlados con antidiabéticos orales, sin embargo, con el tiempo ocurre una disminución en la población de células beta ocasionando un empeoramiento gradual de la

enfermedad con el resultado del fracaso del tratamiento oral, requiriendo la administración de insulina exógena, sobre todo en pacientes jóvenes [47].

Aunque existen varias causas para la aparición de diabetes tipo 2, aún no se ha podido identificar la etiología específica, sin embargo, el entendimiento de esta enfermedad ha permitido identificar varios factores que contribuyen a su desarrollo. Durante los primeros años de investigación se reconoció la disfunción de las células beta-pancreáticas para secretar insulina y la resistencia a la insulina como el dúo que ocasionaba la diabetes, a estos se le sumó la gluconeogénesis hepática aumentada, formando la triada causante de la diabetes. Recientemente, se ha formado un octeto de factores que incluyen los tres anteriores más: el metabolismo alterado en los adipocitos (lipólisis acelerada), incretina defectuosa, incremento en la secreción de glucagón, incremento en la reabsorción de glucosa renal y la disfunción de la neurotransmisión con desregulación central del apetito.

1.7.3 *Diabetes gestacional*

La diabetes gestacional es definida como cualquier grado de intolerancia a la glucosa que es detectada por primera vez durante el embarazo, se mantenga o solo haya ocurrido durante este periodo. Para el diagnóstico de la diabetes gestacional se utilizan varias estrategias:

A. Estrategia de un paso:

- a. Administración de 75 g de glucosa por vía oral en ayuno de 8 horas, y cuantificación de la glucosa plasmática a la hora y dos horas, entre las semanas 24 y 28 de gestación. Cuando se cumpla alguno de los siguientes valores se puede dar el diagnóstico de diabetes gestacional:
 - i. Glucosa plasmática en ayunas ≥ 5.1 mmol/L (92 mg/dL)
 - ii. Glucosa plasmática 1 hora ≥ 10.0 mmol/L (180 mg/dL)
 - iii. Glucosa plasmática 2 hora ≥ 8.5 mmol/L (153 mg/dL)

B. Estrategia de dos pasos

- a. Administración de 50 g de glucosa (sin ayuno), y cuantificación de la glucosa plasmática cada 60 minutos por 3 horas, entre las semanas 24 y 28 de gestación. Si la paciente tiene concentraciones plasmáticas de glucosa por encima de 7.2 mmol/L (130 mg/dL), 7.5 mmol/L (135 mg/dL) o 7.8 mmol/L (140 mg/dL) entonces se deberá realizar la segunda etapa
- b. Administración de 100 g de glucosa en ayuno de 8 horas. La prueba es positiva a diabetes si se obtienen dos de los siguientes resultados:

- i. Glucosa plasmática en ayuno: 5.3 mmol/L (95 mg/dL)
- ii. Glucosa plasmática 1 hora ≥ 10.0 mmol/L (180 mg/dL)
- iii. Glucosa plasmática 2 horas ≥ 8.6 mmol/L (155 mg/dL)
- iv. Glucosa plasmática 3 horas ≥ 7.8 mmol/L (140 mg/dL)

1.7.4 *Diabetes secundaria a pancreatitis, patologías endocrinas, desórdenes endócrinos e inducida por medicamentos*

Este grupo heterogéneo incluye formas monogénicas de diabetes, enfermedades que afectan la secreción y la acción de la insulina, enfermedades que afectan al páncreas, diabetes asociada con desórdenes endócrinos, diabetes inducida por fármacos y químicos xenobióticos y diabetes subsecuente a trasplantes.

Los defectos monogénicos causantes de disfunción de células beta pancreáticas representa entre el 1%-2% de los casos de diabetes. Estos genes son nombrados MODY y se han identificado al menos 13 diferentes locus (sitios) génicos que se pueden heredar de manera autosómica dominante. Los tipos más comunes que se reportan incluyen los MODY 2, MODY 3 Y MODY 1 (en orden de importancia). Algunas otras formas tienen un efecto donde se deja de secretar insulina, la insulina carece de una forma activa o el receptor de insulina es deficiente.

1.7.5 *Diabetes tipo 3 o neurodiabetes*

La neurodegeneración se ha relacionado con varios factores, uno de ellos es el depósito excesivo de tejido amiloide, el cual es un agregado de proteínas cuya principal característica es la morfología fibrilar con diámetros entre 7 y 13 nm. Otros factores también incluyen el aumento en la activación de genes y rutas de señalización promotoras de la muerte celular, metabolismo energético alterado, disfunción mitocondrial, estrés oxidativo crónico y una hipoperfusión cerebral [41]. Sin embargo, estos factores guardan poca relación entre sí. Un análisis de la literatura realizada por *De la Monte y colaboradores* mostró que la deficiencia en la utilización de la glucosa y en el metabolismo de energía en el cerebro, se relacionan con estadios tempranos que preceden o acompañan a las etapas iniciales de la pérdida de la capacidad cognitiva [48]. Esto relaciona la cascada de señalización de la insulina con patogénesis de neurodegeneración, donde la resistencia a la insulina, la hiperinsulinemia, la diabetes tipo 2 y las enzimas degradantes de insulina se pueden correlacionar con lesiones del citoesqueleto y depósitos de tejido amiloide en el cerebro [49].

En el año 2013, Gudala y colaboradores [50], sugirieron que las personas con diabetes manifiestan una mayor susceptibilidad a la aparición de todo tipo de enfermedades mentales, incluida la enfermedad de Alzheimer. Por otro lado, estudios sobre la diabetes empezaron a demostrar cierta relación con el incremento de casos de Alzheimer, lo cual ha dejado de manifiesto una nueva clasificación de diabetes, cuyo mecanismo está relacionado con la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia cerebral [48], [50], [51]. Por otro lado, en el tejido cerebral ocurre una hiperfosforilación de proteínas y receptores, se incrementa la concentración de iones lactato e hidrógeno, se reduce el pH intracelular y extracelular, incrementan el número de especies reactivas de oxígeno (ERO) y nitrógeno (ERN), lo cual produce condiciones adversas para que las células neuronales realicen su respiración y las funciones sinápticas, lo cual desemboca en problemas de aprendizaje y memoria.

1.8 Tratamiento de la diabetes

Para la prevención y el tratamiento de la diabetes, los síntomas de hiperglucemia aguda, así como el tratamiento de la aparición de complicaciones retinopatía, nefropatía y neuropatía, debidas a la degeneración del funcionamiento microvascular y macrovascular (enfermedad coronaria, enfermedad cerebrovascular, enfermedad vascular periférica), se han establecido lineamientos para alcanzar los siguientes objetivos:

- Niveles de hemoglobina glicosilada (HbA1c) menor a 7.0% (53 mmol/mol)
- Presión sanguínea menor a 140 mmHg y menor a 90 mmHg
- Niveles de LDL (Lipoproteína de Baja Densidad) menor a 2.6 mmol/L (< mg/dL)

Estos objetivos se pueden alcanzar si se siguen esquemas de dieta sana y programas de ejercicio regular, pérdida de peso, evitando en todo momento el consumo de tabaco, el cual ha demostrado complicar todos los parámetros clínicos.

Para el tratamiento alopático, se ha dejado de manifiesto los fármacos que se utilizan según la NOM-015-SSA2-2010[52] para el control de la diabetes tipo 2: las sulfonilureas, biguanidas, insulinas o sus combinaciones. También se reconocen a los inhibidores de la alfa-glucosidasa, tiazolidinedionas, glinidas, incretinas e inhibidores de la dipeptidil peptidasa (DPP-4) o gliptinas. En la **Tabla 1.2** se mencionan los mecanismos de acción de estos fármacos.

Tabla 1.2 Tratamientos de la diabetes no insulino dependiente por grupo farmacológico [53].

Grupo Farmacológico	Fármacos	Mecanismo	Ventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> Sulfonilureas de 2da y 3ra generación 	<ul style="list-style-type: none"> Glibenclamida, gliclazida, glipizida Glimepirida 	Estimulación de la secreción de insulina en las células β -pancreáticas por bloqueo de canales de potasio. Disminuye el aclaramiento hepático de insulina	Experiencia de uso	<ul style="list-style-type: none"> Riesgo de hipoglucemia Ganancia de peso
<ul style="list-style-type: none"> Biguanidas 	<ul style="list-style-type: none"> Metformina 	Mixto: disminuye la producción hepática, aumenta la captación de insulina en células musculares, promueve la transcripción de GLUT4	Gran experiencia de uso, no aumento de peso	<ul style="list-style-type: none"> Intolerancia digestiva Precaución en insuficiencia renal. Altas dosis
<ul style="list-style-type: none"> Meglitinidas 	<ul style="list-style-type: none"> Repaglinida, Nateglidina 	Aumento de la secreción de insulina por célula β -pancreáticas	Control de la glucemia posprandial	<ul style="list-style-type: none"> Riesgo de hipoglucemia Ganancia de peso. Multidosis
<ul style="list-style-type: none"> Tiazolidindionas 	<ul style="list-style-type: none"> Pioglitazona rosiglitazona 	Aumento de la eficacia de la insulina	Sin riesgo de hipoglucemia	<ul style="list-style-type: none"> Edema y ganancia de peso Insuficiencia cardíaca. Riesgo de osteoporosis
<ul style="list-style-type: none"> Inhibidores de la alfa-glucosidasa 	<ul style="list-style-type: none"> Acarbosa, miglitol 	Disminuye la absorción de la glucosa en el intestino al inhibir la actividad de la enzima alfa-glucosidasa	Sin riesgo de hipoglucemia	<ul style="list-style-type: none"> Escasa eficacia Flatulencia y diarrea

Sin embargo, a través de varios estudios, se ha demostrado que la reducción de HbA1c no necesariamente se relaciona con resultados eficaces en el control de la diabetes [12], [54] ya que la disminución de HbA1c no necesariamente disminuía los riesgos de mortalidad cardiovascular, amputaciones o retinopatía. Sumado a lo anterior, hallazgos como el incremento en la aparición de acidosis láctica causado por fenformina o el incremento de riesgo cardiovascular por rosiglitazona, provocaron la salida del mercado de estos fármacos junto con vildagliptina y canaglifozina, debido a que no generaban beneficio adicional a los medicamentos que ya se comercializan.

1.8.1 Metformina

Metformina (N,N-dimetilbiguanida), cuya estructura se muestra en la **Figura 1.3**, es un fármaco de administración oral con actividad antihiper glucemiante ampliamente utilizada en el manejo de la diabetes mellitus no-insulino dependiente, o diabetes tipo 2 [55]

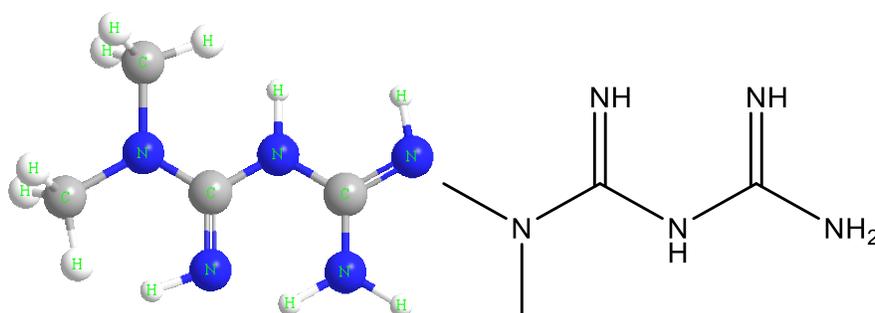


Figura 1.3 Estructura química de N,N-dimetilbiguanida (metformina)

Este fármaco reduce la concentración de glucosa en la sangre, principalmente por medio de mejorar la sensibilidad a la insulina en los tejidos hepáticos y periféricos sin afectar la secreción de esta hormona. Esto se debe a que inhibe la producción de glucosa hepática en un 9%-30% [56] lo cual se evaluó en hepatocitos aislados, donde las concentraciones terapéuticas de metformina mejoraron la inhibición de la gluconeogénesis mediada por insulina y redujeron la gluconeogénesis estimulada por glucagón [57]. En algunos estudios se ha encontrado una disminución significativa en el índice de masa corporal [58] que se ha relacionado con una reducción de la producción de glucosa hepática y la disminución de niveles de ácidos grasos mediante mecanismos genéticos, esto se comprobó al cultivar hepatocitos en presencia de metformina, donde *Fulgencio y colaboradores* [59] encontraron que existe una disminución en la expresión de genes para proteínas regulatorias de la oxidación de ácidos grasos y la gluconeogénesis, mientras que la expresión de genes que

codifican para proteínas involucradas en la glicólisis aumentaron [59]. También se han descubierto beneficios potenciales de la metformina en las concentraciones de lípidos en el suero sanguíneo y en la actividad fibrinolítica.

1.8.1.1 Efecto farmacológico.

Este fármaco incrementa la utilización de glucosa inducida por insulina en proporciones de hasta el 50% en sujetos con diabetes no insulino dependientes [60] o resistencia a la insulina [61]. Este efecto se ha atribuido principalmente al incremento del metabolismo no-oxidativo de la glucosa [62]. El metabolismo no-oxidativo de la glucosa incluye el almacenamiento en forma de glucógeno, la conversión a lactato y la incorporación a triglicéridos. También se ha observado que metformina facilita la translocación de los transportadores de glucosa (GLUT) desde sitios intracelulares hacia la membrana plasmática, aumentando el transporte de glucosa inducido por insulina hacia el interior de las células [63].

1.8.1.2 Efecto en el receptor de insulina y en los niveles de insulina

En pacientes con diabetes no-insulino dependiente delgados o con sobrepeso [64] se ha encontrado una reducción significativa en los niveles de insulina y proinsulina que se debe al efecto hipoglucémico de la metformina. Después de 12 meses de administración, *Rudnichi y colaboradores* (1994) observaron que la administración de metformina disminuye en un promedio de 36 pmol/L la concentración de insulina en plasma [65]. Este efecto se explica como un resultado secundario a la disminución de glucosa plasmática, la cual actúa como inductor de la secreción de insulina en las células beta del páncreas.

Actualmente se tienen múltiples opciones terapéuticas, sin embargo, se desarrollan fallas secundarias al tratamiento a mediano y largo plazo. La causa más frecuente es la falta de adherencia terapéutica [66] y ocurre principalmente, por que los pacientes con tratamiento farmacológico antidiabético usualmente cursan este padecimiento con complicaciones asociadas concomitantes, tales como hipertensión, dislipidemia, depresión, obesidad y neuralgia, situación que les precisa utilizar múltiples tratamientos a la vez (politerapia). Estas condiciones se suman a factores psicológicos, tolerabilidad al tratamiento, los costos económicos y presión social.

1.9 Administración de medicamentos.

Actualmente, los fármacos son administrados de manera sistémica. Esto significa que, para alcanzar su efecto terapéutico, el organismo entero deberá estar expuesto al fármaco de manera indiscriminada, incluso cuando el fármaco realiza su efecto en un tipo célula específica (tejido). En algunas situaciones específicas, se ha observado una acumulación del fármaco en células específicas, sin tener presencia sistémica, aunque no es la generalidad.

1.9.1 Liberación controlada de fármacos.

Uno de los problemas más comunes en los sistemas de administración de fármacos es la falta en el control de la cantidad, la velocidad o el sitio de liberación del principio activo, lo que ocasiona que sólo se alcancen concentraciones terapéuticas durante periodos de tiempo cortos, lo que condiciona su uso a varias tomas al día. Para solventar esta situación, se han desarrollado sistemas de liberación modificada que pueden activarse en función de varios parámetros como el pH, la cantidad de luz, la temperatura, los campos magnéticos o la fuerza iónica (presión osmótica) del medio [67]. Los sistemas de liberación de fármacos (SLF), están compuestos de materiales biocompatibles que son sensibles a variables fisiológicas especiales o a estímulos fisicoquímicos externos, lo cual permite liberar el principio activo en el lugar indicado y a la velocidad necesaria para tratar una enfermedad[68]. Dentro de estos materiales, los polímeros han demostrado tener propiedades fisicoquímicas útiles y se les han dado adjetivos como: “estímulo-activados”, “inteligentes”, o “sensibles al medio”. La capacidad de responder a cambios muy pequeños en el ambiente es la razón por la cual se les dan estos adjetivos [69]. En la **Figura 1.4** se enlistan algunas de las principales razones para el desarrollo de nuevos sistemas de transporte y liberación controlada de fármacos [70].

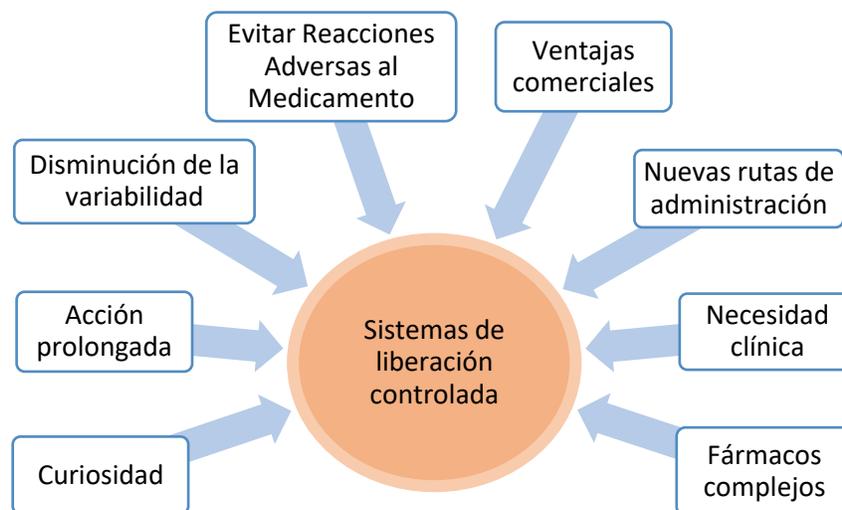


Figura 1.4 Las fuerzas que dirigen el desarrollo de los sistemas de liberación controlada u optimizada. La necesidad clínica es clave para desarrollar nuevas tecnologías. La investigación direccionada por la curiosidad ayuda a sembrar nuevas ideas, materiales y perspectivas [70].

Eventos adversos al medicamento

Tal vez, una de las principales razones que nos han inducido a estudiar nuevos materiales para la liberación controlada de fármacos es la presencia de eventos adversos al uso de los medicamentos, cada vez más comunes en el uso cotidiano de lo que antes era, tal vez por la gran cantidad de medicamentos que se comercializan a precios económicos o a la falta de investigación sobre el uso correcto de los medicamentos, lo cual se suma a un fenómeno creciente que es la automedicación. Esta situación hace relevante hacer una pausa sobre el que es el uso correcto de los medicamentos y el papel que el farmacéutico juega en el equipo de atención médica, un paso más hacia la medicina basada en evidencias. Por esta razón en este espacio hacemos una descripción de lo que es un evento adverso al medicamento

- Evento Adverso al Medicamento es cualquier respuesta a un fármaco que es nocivo e no intencional, y que ocurre a dosis usadas para la profilaxis, diagnóstico o tratamiento terapéutico, sin considerar el incumplimiento del propósito para el que fue administrado [71], [72]. La Sociedad Americana de Farmacéuticos Hospitalarios (ASHP) definen las Reacciones Adversas Significativas como cualquier respuesta, inesperada, no intencional, no deseada o excesiva de un fármaco que incluye lo siguiente [72]:
 - Requiere discontinuar el uso del fármaco
 - Requiere cambiar la terapia farmacológica

- Requiere modificar la dosis administrada
- Requiere admisión en el servicio hospitalario
- Prolonga la estadía en los servicios de atención médica
- Necesita tratamiento de soporte
- Complica significativamente el diagnóstico
- Afecta negativamente la prognosis o resulta en daño, incapacidad temporal o permanente o la muerte [73]

1.9.1.1 Elementos de la liberación controlada de fármacos

Los sistemas de liberación controlada de fármacos se han desarrollado con el fin de optimizar la terapia farmacológica al mejorar el control del tiempo de exposición del fármaco, promover el cruzamiento de barreras fisiológicas, prevenir la eliminación prematura y guiar el fármaco al sitio de acción deseado al mismo tiempo que se minimiza su presencia en otros sitios del organismo [74].

A. Modelo de liberación por difusión

La liberación del fármaco desde de una forma farmacéutica puede ser comparada al proceso de disolución/difusión entre una matriz que contiene el fármaco y el medio circundante. El estudio de este proceso fue propuesto en términos cuantitativos por Noyes y Withney en 1897. La ecuación que describe este proceso se muestra a continuación [74]:

$$\frac{dM}{dt} = \frac{DS}{h}(C_s - C)$$

O

$$\frac{dC}{dt} = \frac{DS}{Vh}(C_s - C)$$

Donde M es la masa del soluto disuelto en el tiempo t , dM/dt es la velocidad de disolución (masa/tiempo), D es el coeficiente de difusión del soluto en la solución, S es el área superficial del sólido expuesto al medio, h es el tamaño de la capa de difusión, C_s representa la solubilidad intrínseca del sólido y C es la concentración del soluto en la solución. La proporción dC/dt es la velocidad de disolución y V es el volumen de la solución. En esta ecuación se asume que una capa de difusión de tamaño h existe en la superficie del sólido que está en disolución. Esta capa de difusión representa una fase estacionaria de

disolvente en el cual las moléculas del soluto existen en un gradiente de concentración de C_s a C . Más allá de la fase estacionaria, a x distancia mayor que h , acontece el mezclado y la concentración del fármaco es C de forma uniforme. En la superficie del sólido, $x=0$, y representa un equilibrio entre el fármaco en la fase sólida y el fármaco en la capa de difusión (h). El gradiente, o cambio en la concentración en función de la distancia a través de la capa de difusión, es constante y está representada en términos de $(C_s-C)/h$ [74].

La liberación de un fármaco a partir de una forma de dosificación, con la subsecuente absorción es controlada por las propiedades fisicoquímicas del fármaco, del sistema de liberación, y la fisiología y características fisicoquímicas del sistema biológico. De esta manera podemos mencionar la solubilidad intrínseca del fármaco, el peso molecular, la forma cristalina, la capacidad de unión a proteínas y el pK_a como algunos de los factores fisicoquímicos que afectan el diseño de formas de dosificación que poseen características de liberación controlada o sostenida [74].

Modelo de liberación de Takeru Higuchi

Este modelo teórico se enfoca en describir la liberación de fármacos solubles en agua a partir de una matriz que lo contiene. Se infiere que el fármaco en cuestión está disperso de manera homogénea en una matriz erosionable. También se infiere que el fármaco se disuelve en la matriz y difunde al medio circundante desde la superficie de la forma de dosificación. De esta manera, conforme el fármaco es transferido al medio, la distancia de difusión aumenta debido a que el límite que se forma entre el fármaco y la matriz vacía retrocede hacia el interior de la tableta conforme el fármaco se eluye [74].

Existen varios factores fisicoquímicos y fisiológicos que controlan la disolución de un fármaco en el cuerpo: la composición, los patrones de mezclado (por ejemplo: hidrodinámica), y volumen de contenido en el tracto gastrointestinal [74].

1.9.1.1.1 Cinética de liberación de orden cero

En esta cinética la cantidad de fármaco liberado por unidad de tiempo es directamente proporcional y se representa por la ecuación lineal:

$$L_t = L_0 + k_0 \cdot t$$

Donde:

L_t = Liberación del fármaco en el tiempo t

L_0 = Cantidad inicial del fármaco presente en el material de prueba

t = tiempo

k_0 = constante cinética

1.9.1.1.2 *Cinética de primer orden*

Las formas farmacéuticas que siguen este perfil de liberación suelen ser matrices porosas que contienen principios activos hidrosolubles. Representa un mecanismo mixto o transporte anómalo debido al aumento de la barrera de difusión en función del tiempo. Se representa por la siguiente ecuación:

$$\ln(L_t) = -k_1 \cdot t + \ln(L_0)$$

Donde: k_1 = constante cinética de primer orden

1.9.1.1.3 *Modelo de Takeru Higuchi*

Este modelo describe la liberación de un principio activo como parte de un proceso de difusión a través de una matriz polimérica. Este proceso tiene su fundamento en la ley de Fick, que depende de la raíz cuadrada del tiempo. La ecuación de este modelo de liberación se presenta a continuación:

$$L_t = -k_H \cdot t^{1/2}$$

Donde k_H = constante de disolución de Higuchi

1.9.1.1.4 *Modelo de Korsmeyer-Peppas (ley de las potencias)*

Es un modelo útil cuando se desconoce el mecanismo de liberación o cuando la liberación ocurre mediante una mezcla de mecanismos. Se utiliza la ecuación:

$$L_t = k \cdot t^n \quad \text{ó} \quad \ln(L_t) = \ln(k) + n \cdot \ln(t)$$

Donde: n = exponente de difusión

k = constante de liberación dependiente de la geometría del dispositivo de liberación

Con este modelo se puede conocer si la liberación se da por medio de un mecanismo que sigue las leyes de Fick ($n=0.5$), donde el proceso de difusión es el principal mecanismo de liberación, o si el mecanismo de difusión es de tipo no-Fickiano (anómalo) cuya valor de $n > 0.5$. La presencia de valores de n cercanos a la unidad representan una velocidad constante en la liberación lo cual es reflejo de un proceso de hinchamiento y relajación de las cadenas poliméricas, comúnmente conocido como transporte tipo II. Cuando el valor de n se encuentra entre 0.5 y 1, el mecanismo de liberación se relaciona con la presencia de procesos de difusión y relajación de las cadenas poliméricas, conocido en como transporte anómalo.

1.9.1.2 *Profármacos*

Un profármaco se forma por la modificación química de un fármaco que al ser transformado por acción enzimática o hidrolítica se convierte en su forma activa. El objetivo de utilizar profármacos es el de aumentar las propiedades farmacocinéticas (absorción, distribución, biodisponibilidad) y reducir los efectos secundarios. En el sentido farmacéutico, un profármaco es por sí mismo una forma de liberación controlada. Los profármacos que son más lipofílicos que la sustancia de origen pueden incrementar su penetración a través de la membrana y con ello aumentar su absorción. Por otro lado, la modificación química también ayuda a mejorar la estabilidad al proteger de la hidrólisis o de la acción enzimática.

1.9.1.3 *Acarreadores macromoleculares solubles*

Se han utilizado varios polímeros hidrosolubles, naturales y sintéticos, como transportadores moleculares de fármacos. Estos transportadores incluyen anticuerpos, polímeros solubles como el poli(hidroxipropil metacrilato) (PHPM), poli(L-lisina), poli(ácido aspártico), poli(vinilpirrolidona), poli(*N*-vinil-2-pirrolidona-co-vinilamida) y poli(estireno co-ácido maléico/anhidro). La sustancia activa se puede unir a la cadena de polímero ya sea de forma directa o a través de un espaciador biodegradable. La conjugación fármaco-polímero asegura que la forma libre, y por lo tanto activa, no esté disponible para distribuirse en todos los sistemas del organismo (demás compartimentos), por lo que se pueden reducir los efectos no deseados al reducir la dosis necesaria. El espaciador permite superar los problemas asociados al resguardo que la cadena de polímero hace a la fracción activa.

1.10 Biomateriales

Los biomateriales se pueden definir como cualquier material que puede ser empleado para producir dispositivos para reemplazo de una parte o una función en el organismo, de manera segura, confiable, económica y fisiológicamente aceptable.

Algunas de las características que tienen que cumplir los materiales compatibles para su utilización en aplicaciones biomédicas incluyen la adhesión celular, densidad, biofuncionalidad (no trombogénico), bioinerte (no-tóxico, no-irritante, no-alérgico, no-carcinogénico), bioactivo, bioestable, biodegradable, entre otros (**Figura 1.5**) [75].

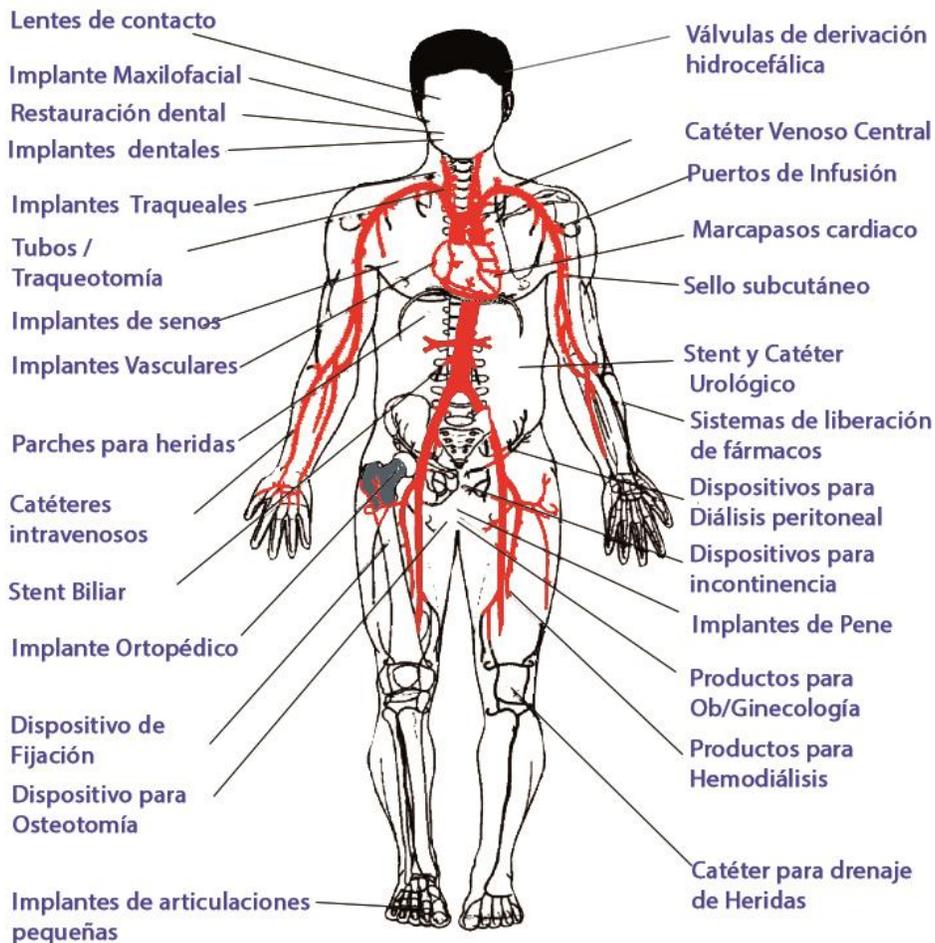


Figura 1.5 Diferentes dispositivos usados para reemplazar o mejorar la función de tejidos u órganos [76].

1.10.1 Clasificación de los biomateriales.

Existen diferentes clases de materiales usados para la fabricación de bio-implantes y bio-dispositivos que se pueden clasificar en:

1. Materiales metálicos
2. Polímeros
3. Cerámicos
4. Materiales compuestos
5. Materiales naturales

1.10.1.1 Materiales Metálicos.

Los materiales metálicos son los más empleados como dispositivos de fijación interna (tornillos y rótulas). El método de procesamiento y purificación del material metálico determina las propiedades como en el caso de la fuerza de tensión, el módulo de deformación, la resistencia a la fatiga, la resistencia a la deformación y a la corrosión. Los metales más empleados son el acero inoxidable, el titanio y aleaciones de cobalto con cromo, hierro, molibdeno o tungsteno. El acero inoxidable (316L) es una aleación que tiene un mínimo de 10.5% de cromo para evitar la oxidación. El término L denota un bajo nivel de contenido de carbono [77].

1.10.1.2 Materiales Poliméricos

Los polímeros son otra categoría de materiales que son usados como biomateriales. Estos materiales pueden ser de origen natural o sintético. Actualmente tienen muchas aplicaciones como se muestra en la **Tabla 1.3**

Tabla 1.3. Polímeros usados como biomateriales

Polímero	Aplicación
Poliétileno de ultra alto peso molecular	Reemplazo de la unión de rodilla, cadera, hombro
Silicona	Articulaciones de dedos
Ácido poli láctico y poliglicólico	Suturas
Silicona, acrílico, nylon	Tubos traqueales
Acetal, polietileno, poliuretano	Marcapasos
Poliéster, politetrafluoroetileno, PVC	Vasos sanguíneos
Nylon, PVC, siliconas	Segmentos gastrointestinales
Polidimetil siloxano, poliuretano, PC	Prótesis faciales
Polimetilmetacrilato	Cemento óseo.

Algunos polímeros que presentan capacidad de conducción eléctrica, son fácilmente sintetizables y propiedades mecánicas aceptables para aplicaciones biomédicas, se han empezado a utilizar como biosensores, sondas neuronales, dispositivos de liberación controlada de fármacos y bioactuadores [78]. La principal ventaja de estos polímeros como biomateriales radica en que son fáciles de producir y modificar su superficie para aplicaciones específicas, lo que facilita la inclusión de estos dispositivos en cuadros básicos de medicamentos o en el tratamiento médico [78].

1.10.1.3 *Materiales Cerámicos*

Estos son materiales inorgánicos no metálicos cuyas interacciones interatómicas se forman a elevadas temperaturas. También se conocen como biocerámicas ya que pueden ser bioinertes, biorreabsorbibles, bioactivas y/o porosas (para aplicaciones de tejidos en crecimiento).

1.10.1.4 *Materiales compuestos.*

Los materiales compuestos consisten en dos fases, una continua la cual se conoce como matriz y una fase discontinua llamada refuerzo. Existen diferentes materiales de refuerzo y matrices que forman una variedad elevada de materiales compuestos. Los principales factores que afectan la estructura del material compuesto incluyen:

- Forma, tamaño y distribución del refuerzo
- Propiedades y porcentaje en volumen del refuerzo
- Bioactividad del refuerzo
- Propiedades de la matriz como: peso molecular y tamaño de partícula
- Interacción interfacial refuerzo-matriz

1.10.1.5 *Materiales naturales o biológicos*

Los materiales de origen natural son polímeros sintetizados y recolectados de tejidos como el colágeno y el glucosaminoglucano. El colágeno es una proteína fibrosa que conecta los tejidos en el organismo, como la piel, hueso, tendones, músculos y cartílago. El glucosaminoglucano es un heteropolisacárido presente en la superficie de las células o en la matriz extracelular. Tiene características de ser no-tóxico y biodegradable [79].

1.11 Polímeros biodegradables en los Sistemas de Liberación de Fármacos

Desde hace varias décadas, se han realizado esfuerzos en desarrollar polímeros biodegradables que puedan satisfacer los requerimientos que las nuevas tecnologías biomédicas como la ingeniería de tejidos, medicina regenerativa, terapia génica, liberación controlada de fármacos y bionanotecnología, todas ellas requieren de materiales biodegradables que sirvan de andamios/plataformas para su fabricación [80]–[82]. Como ya vimos, un biomaterial está destinado a participar como una interface con los sistemas biológicos para evaluar, tratar, aumentar o reemplazar algún tejido, órgano o función en el organismo [75]. En el caso de los biomateriales biodegradables, la biocompatibilidad debe ser evaluada en un intervalo de tiempo razonable, donde las propiedades químicas, físicas, mecánicas y biológicas cambien al mismo tiempo que se producen diferentes productos de degradación que tendrán diferentes compatibilidades comparadas con el material inicial. Algunas de estas propiedades dependen de manera inherente con las características químicas del material, el peso molecular, la solubilidad, la forma y la estructura del implante, la hidrofiliidad/hidrofobicidad, lubricación, energía superficial, absorción de agua, mecanismo de degradación [80], [83]. Debido a la gran complejidad y diferentes aplicaciones para los biomateriales poliméricos en uso, no hay un sistema polimérico que se pueda considerar ideal, por lo tanto, se refuerza la necesidad de desarrollar nuevos materiales que amplíen el compendio de opciones que satisfagan las especificaciones y requerimientos de cada aplicación médica individual.

1.12 Conjugados polímero-ingrediente farmacéuticamente activo (IFA) (Fármaco)

Los conjugados polímero-fármaco son constructos de tamaño nanométrico (<500 nanómetros), multicomponentes que integran materiales biocompatibles y moléculas bioactivas. Tienen el potencial de mejorar la terapia farmacológica en una variedad de padecimientos que incluye desde el cáncer hasta aplicaciones de bioingeniería y liberación controlada de fármacos. En este campo podemos clasificar a los materiales poliméricos en función de su mecanismo de transporte y liberación de principios activos (**Tabla 1.4**). Las matrices poliméricas se caracterizan por contener el principio activo dentro de una estructura con espacios interparticulares, donde solo las interacciones superficiales de las partículas controlan la cinética de liberación. En el segundo caso, las moléculas de principio activo son unidas por un enlace covalente con la estructura química de la molécula polimérica, y la degradación de este enlace o la degradación del polímero controlan la liberación del principio activo.

Tabla 1.4 Clasificación de los materiales poliméricos en función de su mecanismo de transporte y liberación de principios activos

Materiales poliméricos
<ul style="list-style-type: none">• Matrices poliméricas
<ul style="list-style-type: none">• Polímeros terapéuticos• Conjugados polímero-fármaco• Polímeros biológicamente activos• Conjugados polímero-proteína• Micelas poliméricas conjugadas covalentemente con fármacos• Complejos polímero-ADN

La idea original de conjugar una molécula de bajo peso molecular con un polímero acarreador para mejorar el efecto terapéutico fue propuesto por Helmut Ringsdorf en 1975[84]. Ringsdorf propuso un modelo que consistía en 4 elementos (**Figura 1.6**).

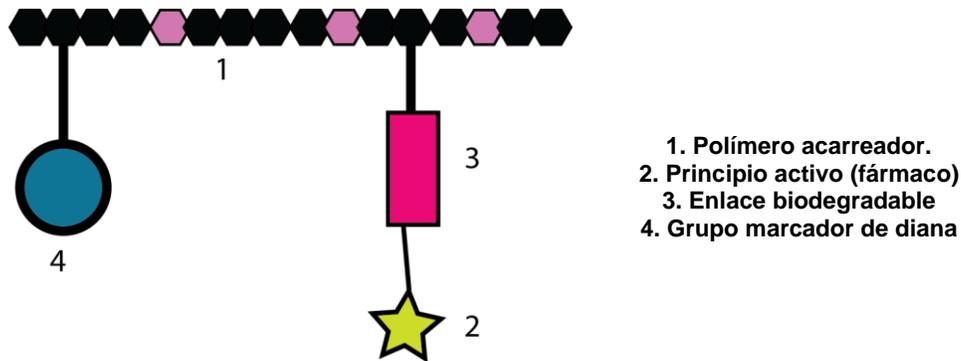


Figura 1.6 Modelo de Helmut Ringsdorf del conjugado polímero-fármaco y sus elementos constituyentes.

La posibilidad de que la conjugación covalente de un principio activo de bajo peso molecular pueda alterar la farmacocinética a un nivel celular al restringirse el ingreso al citoplasma se puede evitar usando un marcador que reconozca la célula diana, esta posibilidad de modificación es muy ventajosa cuando se busca tener un efecto sobre un tipo específico de células, como en el caso de tratamientos para el cáncer, evitando que células sanas sean afectadas.

Por otro lado, el uso de un polímero hidrofílico mejorará la solubilidad de aquellos principios activos que posean solubilidad baja en fluidos biológicos. Esta hipótesis fue probada por *Ruth Duncan y colaboradores* [85], [86], al conjugar el copolímero de N-(2-hidroxipropil) metacrilamida (HPMA) con doxorubicina (Dox) en 1994 [87], obteniendo el primer conjugado polímero-fármaco evaluado en clínicamente. Maeda y colaboradores también desarrollaron un conjugado polímero-fármaco a partir de poliestireno-co-anhídrido maleico (SMA) el cual conjugaron con neocarzinostatina (NCS), un antineoplásico [88]. Un componente particularmente importante es la cadena polimérica a la cual va anclado covalentemente el principio activo. Este polímero necesita ser hidrofílico, para asegurar la correcta solubilidad en fluidos fisiológicos, ser no-tóxico, no-inmunogénico y poseer la capacidad de conjugarse con el fármaco modelo. En adición, también de ser biodegradable y ser capaz de eliminarse por las diferentes vías de excreción una vez que ha terminado su función de acarreador, para prevenir la acumulación en el organismo. En general, los conjugados polímero-fármaco ofrecen varias ventajas como transportadores de principios activos, incluyendo una alta capacidad de carga de principio activo, mejor solubilidad de fármacos poco solubles, modulación de la farmacocinética (incluyendo mejor biodistribución), reducción de efectos secundarios no deseados, mejor estabilidad del

principio activo *in vivo*, y la posibilidad de controlar la velocidad y sitio de liberación del principio activo.

Los conjugados polímero-fármaco se pueden obtener a partir de 3 estrategias [89]

- Conjugación con biopolímeros previamente sintetizados
- Conjugación con un monómero para la subsecuente polimerización por RAFT, ROMP o ROP
- Conjugación de un fármaco con 2 o más grupos funcionales como un monómero del polímero.

La primera estrategia puede originar materiales conjugados con bajo contenido de principio activo, mientras que la conjugación con un monómero o participar como un monómero con la subsecuente polimerización provee mejor control en la cantidad de principio activo que se incorpora al material [90], [91].

1.13 Materiales conjugados polímero-fármaco.

Una estrategia para enfrentar los retos del transporte y liberación de fármacos a través de la nanomedicina, es la obtención de nuevos polímeros funcionalizados capaces de realizar múltiples funciones mediante un diseño racional de su estructura, siguiendo los modelos propuestos por investigadores como Ringsdorf [84], [92], [93]. Uno de los efectos inducidos por un profármaco polimérico es la permeabilidad y retención aumentada en algunos tejidos, lo cual está relacionado también con la masa molar ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) del polímero [94]. En general, la conjugación de un polímero puede cambiar las propiedades farmacológicas mediante las siguientes estrategias [95], [96]:

- I. Incremento de la solubilidad de fármacos hidrofóbicos mediante el uso de polímeros hidrofílicos
- II. Mejoramiento del transporte y liberación de fármacos mediante condiciones específicas que activen el proceso de liberación como cambios en el pH o la presencia de enzimas.
- III. Aumento en los tiempos de vida-media de los fármacos o en la biodisponibilidad.
- IV. Protección de los fármacos frente a las condiciones de degradación
- V. Biodistribución modificada y acumulación específica en órganos, tejidos o células mediante el uso de entidades químicas por el efecto EPR (Permeabilidad y Retención Aumentada, por sus siglas en inglés).

Además de las ventajas arriba mencionadas, los conjugados polímero-fármaco son el inicio de una forma de transporte y liberación de fármacos. Estos sistemas transportan fármacos cuya principal característica es la hidrofobicidad, lo cual provoca que las moléculas del conjugado se auto ensamblen en conformaciones micelares de tamaño nanométrico cuando están en medios acuosos. Incluso se ha observado la formación de polimerosomas las cuales son típicamente más grandes en tamaño (>30-50 nm) [95], [96]. Sin embargo, obtener un sistema conjugado polímero-fármaco exitoso es una tarea complicada en donde varios factores deberán ser tomados en cuenta para el diseño. Dentro de los factores a considerar para la obtención de dichos conjugados podemos enumerar los siguientes:

- I. Acarreadores poliméricos
- II. Blanco específico (órgano, tejido, línea celular, intracelular, etc.)
- III. Tipo de conjugación (directa o indirecta)
- IV. Tipo de molécula usada para la unión de conjugación (espaciadores)
- V. Masa molar (gmol^{-1})

En la **Tabla 1.5** se enuncian algunos conjugados polímero-fármaco que han avanzado en el desarrollo de medicamentos a la investigación clínica (Fase I-III) previo a su autorización para la comercialización. Sin embargo, se han encontrado algunos problemas relacionados con la toxicidad, la capacidad de carga (cantidad de fármaco), baja bioactividad, materiales muy estables que liberan muy lento el principio activo o materiales poco estables que liberan prematuramente el principio activo durante su transporte al sitio de acción, y algunas consideraciones farmacoeconómicas [97]–[99].

Tabla 1.5 Conjugados polímero-fármaco en ensayo clínico [100]

Conjugado	Nombre del medicamento	Compañía	Indicación	Fase clínica
PEG-naloxol	NKTR-118	Nektar	Constipación inducida por opioides	Fase III
PEG-irinotecan	NKTR-102	Nektar	Tumor sólido	Fase III
PEG-SN38	EZN-2208	Enzon	Tumor sólido	Fase II
PEG-docetaxel	NKTR-105	Nektar	Tumor sólido	Fase I
PHPMA-doxorrubicina	PK1 (FCE28068)	Pfizer	Cáncer de seno, cáncer de pulmón, cáncer colorrectal	Fase II

PHPMA-platino	AP5280	Access Pharmaceuticals	Varios tumores	Fase II
PHPM-DACH-oxaliplatino	ProLindac™ (AP5346)	Access Pharmaceuticals	Cáncer de ovario	Fase II
Fleximer®-camptotecina	XMT-1001	3	Cáncer gástrico, cáncer de pulmón	Fase I
Carboximetil dextran-T2513	Delimotecan (MEN 4901/t-0128)	Daiichi Pharmaceuticals	Varios tumores	Fase I
Ciclodextrina-camptotecina	CRLX	Cerulean	Tumores sólidos avanzados	Fase IIa
Ácido poliglutámico-paclitaxel	Xyotax™, Opaxio™, CT-2103	Cell Therapies	Cáncer de pulmón, cáncer de ovario	Fase III
Ácido poliglutámico-camptotecina	CT-2106	Cell Therapeutics	Cáncer de colon, cáncer de ovario	Fase II

La conjugación polímero-fármaco inicio con el uso de polietilenglicol (PEG) en 1970 (**Figura 1.7**), un polímero cuya alta solubilidad en agua y en otros disolventes, junto con la biocompatibilidad y la disponibilidad comercial, permitió realizar múltiples investigaciones en el campo de la conjugación con fármacos hasta acuñar el término PEGilación para obtener una serie de sustancias modificadas con PEG [101]. Se obtuvieron combinaciones de PEG con fármacos de peso molecular bajo con el fin de superar los problemas de solubilidad, la rápida excreción o la distribución generalizada, los cuales son problemas comunes que frecuentemente dificultan la utilización de estos fármacos. Sin embargo, el uso de PEG lineal tiene la limitación de que cuenta con solo 2 grupos OH terminales que son capaces de conjugación. Para superar este inconveniente se desarrollaron PEG ramificados, para aumentar la capacidad de conjugación.

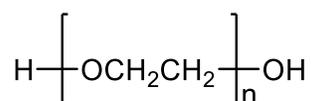


Figura 1.7 Estructura química de Polietilenglicol (PEG) lineal

La conjugación de polímero-fármaco tiene como objetivo mejorar la acción de los fármacos, actuando directamente en el sitio de acción correspondiente. Esto permite reducir la toxicidad y superar los mecanismos de resistencia celular a los fármacos. En la actualidad se han logrado comercializar una serie de medicamentos a base conjugados de principios activos con PEG para tratar varias enfermedades que incluyen cáncer, enfermedades virales y autoinmunes [102] los cuales se muestran en la **Tabla 1.5**

Tabla 1.5 Conjugados polímero-fármaco comercializados [102].

Conjugado	Nombre del medicamento	Compañía	Indicación
PEG-adenosina deaminasa	ADAGEN®	Enzon	Síndrome de inmunodeficiencia combinada severa (SCID)
PEG-L-asparaginasa	ONCASPAR®	Enzon	Leucemia linfoblástica aguda
PEG-interferon- α -2b	PEGINTRON®	Enzon	Hepatitis C
PEG-interferón- α -2b	PEGINTRON®	ScheringPlough	Cancer (carcinoma renal, hemangiomas, agioblastomas, tumores de células gigantes, esclerosis multiple, VIH/SIDA)
Estireno-anhidrido maleico neocarzinostatina (SMANCS)	ZINOSTATIN STIMALMER®	ScheringPlough	Carcino hepatocelular
PEG—interferón- α -2a	PEGASYS®	Roche	Hepatitis C
PEG- antagonista de hormona del crecimiento humana	PEGVISOMANT SOMAVERT®	Pharmacia	Acromegalia
PEG-Factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF)	PEG-Filgrastim (Neulasta®) Neupogen®	Amgen	Quimioterapia de prevención asociada a la neutropenia
Fragmento Fab-PEG de un anticuerpo monoclonal inhibidor TNF humanizado	CIMZIA®	UCB Pharma (Celltech)	Tratamiento de la enfermedad de Crohn, artritis reumatoide
Aptamero anti-VEGF-PEG	PEGAPTANIB (MACUGEN®)	Pfizer	Tratamiento de la neovascularización relacionada a la

			degeneración macular por envejecimiento
Péptido-PEG agente estimulante de la eritropoyesis	PEGINESATIDE	Affymax & Takedo	Anemia asociada con enfermedad renal crónica
PEG-EPO	MIRCERA ®	Roche	Anemia asociada con enfermedad renal crónica
PEG-uricasa	KRYSTEXXA ® PURICASA ®	Savient	Gota
PEG-Camptotecina	PROTHECAN	Enzon	Varios tipos de cancer

1.13.1 Conjugados polialqueno-fármaco.

Los polímeros alqueno, grupo derivado de un alqueno por eliminación de unos de sus átomos de hidrógeno, son sintetizados por polimerización por radicales (polimerización en cadena, chain polymerization), de los monómeros alquenos correspondientes o por la copolimerización de 2 o más monómeros, con el fin de controlar las propiedades del material obtenido. Este tipo de conjugados tienen una mayor capacidad de carga del principio activo debido a un mayor número de grupos reactivos en la estructura polimérica. Estos polímeros incluyen a la polivinil pirrolidona (PVP), poli (vinil alcohol) (PVA), poli(N-(2-hidroxipropil) metacrilamida) (PHPMA), poli (2-hidroxietil metacrilato) (PHEMA), y el poli (ácido metacrílico) (PMA). El conjugado PHPMA-(N-(4-aminobencenosulfonil)-N'-butilurea) (sulfonilurea: un secretagogo de insulina), fue obtenido en 1979 por Obereigner y colaboradores [103], a partir del cual se desarrollaron nuevas investigaciones para conjugar PHPMA con doxorubicina (agente anticancerígeno). Subsecuentemente, Greco y Vincent [104] describieron un conjugado donde se unían dos fármacos a la misma macromolecular (PHPMA-DOX-aminoglutetimida), lo cual resultó en una mayor eficacia terapéutica. Sin embargo, la degradabilidad de estos polímeros aun es una cuestión en investigación que no termina de conseguir los resultados esperados.

1.14 Poliuretanos

Los poliuretanos (PU) fueron sintetizados por primera vez en 1937 por *Bayer* [105]. Para los años 60's los usos de los PU se habían establecido como elastómeros y espumas [106], [107]. En un principio fueron sintetizados a partir de la reacción del 1,6-diisocianato de

hexametileno y el 1,4-butanodiol y se introdujeron al mercado con el nombre comercial de Perlón U.

1.14.1 Síntesis de Poliuretanos

Los poliuretanos se pueden obtener haciendo reaccionar diisocianatos y poliésteres con grupos hidroxilos terminales de bajo peso molecular para formar el polímero con el grupo uretano (o carbamato). Esta reacción tiene la característica de no liberar moléculas de bajo peso molecular durante la reacción de síntesis, caso que ocurre en las reacciones de polimerización por condensación.

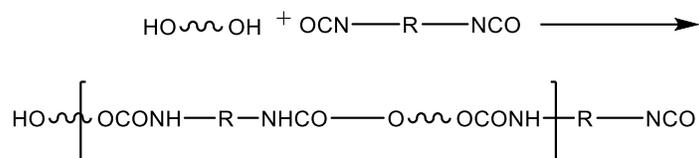
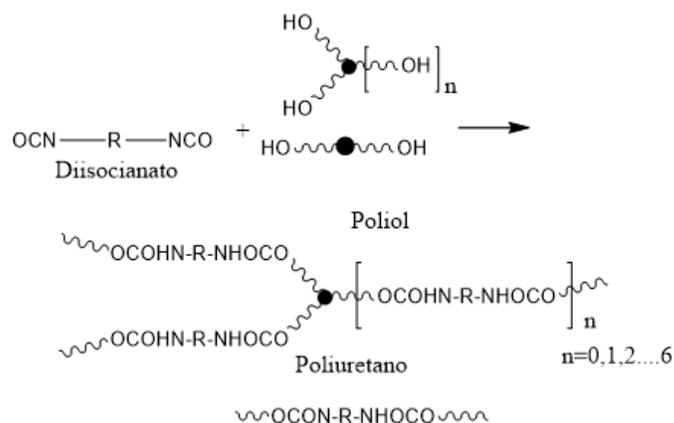


Figura 1.8 Síntesis de poliuretanos a partir de un diol y un diisocianato

La síntesis de los poliuretanos segmentados se realiza mediante el método de síntesis por etapas, donde en la primera etapa se forma un prepolímero uretano-isocianato formando bloques **BAB**, para después realizar una extensión de cadena utilizando dioles de bajo peso molecular como el 1,4-butanodiol [107]. La utilización de diaminas en la segunda etapa conduce a la formación de poliureas[108]. El peso del polímero se puede controlar al modificar la relación estequiométrica de los grupos funcionales que reaccionan[109]. Los segmentos formados se conocen como segmento rígido (isocianato más el diol de bajo peso molecular) y segmento flexible (tipo poliéster tales como la poli-(ε-caprolactona) (PCL), poli(ácido láctico), (PLA), poli(ácido glicólico) (PGA) entre otros, o incluso pueden ser poliéteres como el politetrametilen glicol). Estos segmentos son incompatibles termodinámicamente y esta inmiscibilidad se determina por su longitud y composición química [110].

Considerando las aplicaciones de los poliuretanos se pueden clasificar en dos grupos: poliuretanos elásticos (espumas flexibles, elastómeros, espumas estructurales, recubrimientos, adhesivos, fibras, etc.) y poliuretanos rígidos (espumas rígidas, espumas estructurales, sustitutos de madera, poliuretanos solidos) [111]. Esta clasificación de elástico y rígido está basado en la estructura del polioliol y en la cantidad de dominios rígidos y flexibles que se encuentren en el poliuretano (**Figura 1.10**) [109].

La reacción de acoplamiento para la formación del uretano es catalizada por compuestos como el octanoato de estaño, en el cual los átomos de estaño se coordinan con el oxígeno terminal del grupo isocianato para facilitar el acoplamiento del grupo hidroxilo en el átomo de carbono del isocianato [109].



Donde: ~~~~~ = Cadenas de poliéter, poliéster, polihidrocarbonadas

Figura 1.9 Síntesis de poliuretanos con polioles de diferente estructura y peso molecular modifican la rigidez/flexibilidad de los polímeros sintetizados

Un poliol de baja funcionalidad (entre 2 y 3 grupos hidroxilo) y alto peso molecular (2'000-10'000 Dalton) conduce a un poliuretano elástico, por el contrario, un oligo-poliol de bajo peso molecular (entre 300 y 1'000 Dalton) y alta funcionalidad (de 3 a 8 grupos hidroxilo) conducen a un poliuretano entrecruzado rígido [109]. Por otro lado, un diisocianato que se hace reaccionar con un diol de alto peso molecular (un poliéter o poliéster diol de 2'000-4'000 de peso molecular) conduce a un poliuretano lineal muy elástico (elastómero). Este enlace (uretano o urea) tiene la posibilidad de asociarse con otras moléculas mediante puentes de hidrogeno, generando un dominio o segmento rígido. Por otro lado, la gran flexibilidad y libertad de giro de la cadena de carbonos de los polioles (poliéteres o poliésteres) representa el segmento suave o flexible y provee al polímero la propiedad elástica (**Figura 1.10**)

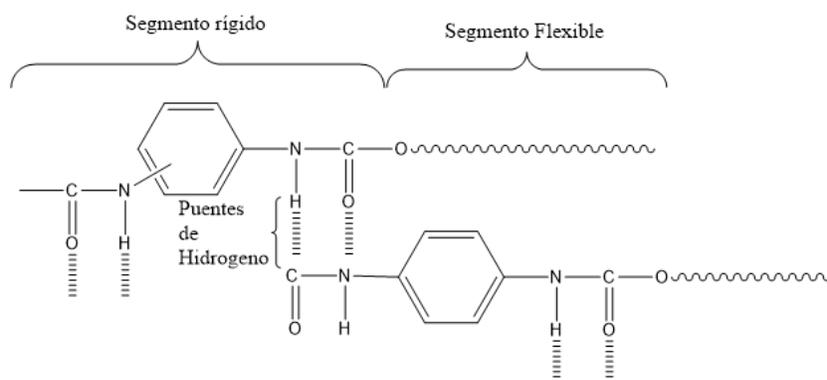


Figura 1.10 El segmento rígido de un poliuretano es formado por las interacciones entre las cadenas cercanas [109].

Esta interacción por puentes de hidrogeno puede destruirse al elevar la temperatura, dando propiedades de polímeros termoplásticos [110]. Por otro lado, los polioles de alto peso molecular (entre 3'000 y 6'500 Dalton) y baja funcionalidad (2-3 grupos hidroxilo) cuando reaccionan con un diisocianato, producen poliuretanos flexibles con bajo índice de entrecruzamiento, característica de las espumas de poliuretano. Cuando un polímero es entrecruzado el peso molecular se puede calcular desde los entrecruzamientos o una aproximación, solo los polímeros lineales tiene un valor finito y cuantificable de peso molecular [110].

1.14.2 Isocianatos

La alta reactividad de los grupos isocianato con compuestos con un hidrogeno activo puede explicarse por las siguientes estructuras de resonancia [112]:

La densidad de electrones es mayor en el átomo de oxígeno, mientras que el átomo de carbono tiene una densidad de electrones menor. Como consecuencia de esto, el átomo de carbono tiene una carga positiva, el átomo de oxígeno tiene una carga negativa y el átomo de nitrógeno tiene una carga negativa intermedia. Con estas estructuras de resonancia, la reacción del grupo isocianato con compuestos con hidrógenos reactivos (HXR) es en el doble enlace carbono-nitrógeno [112].

El centro nucleofílico del compuesto con hidrógenos reactivos (el átomo de oxígeno en grupos hidroxilo o el átomo de nitrógeno en grupos amino), ataca al átomo de carbono electrofílico y el hidrogeno se une al átomo de nitrógeno del grupo cianato (-NCO). En los compuestos isocianatos, grupos R electronegativos aumenta la reactividad del grupo -NCO, por el contrario, grupos electrodonadores disminuyen la reactividad. Los isocianatos

aromáticos (R=arilo) son más reactivos que los isocianatos alifáticos (R=alquilo). Por otro lado, el impedimento estérico de los grupos –NCO o HXR' disminuye notablemente la reactividad[112].

1.14.3 Segmento Flexible (SF)

Los poliuretanos biodegradables o parcialmente biodegradables pueden ser producidos a través de la introducción de partes lábiles, susceptibles a la hidrólisis, por medio de diferentes vías. El método más común es la introducción de estos enlaces hidrolizables por medio del segmento flexible, usando polímeros tales como polilacturos, poli(ϵ -caprolactona) (PCL) o copolímeros entre ellos. De esta manera, polímeros biodegradables conocidos pueden ser unidos por medio de enlaces uretano y posiblemente enlaces urea para formar un material elastomérico. Estos poliuretanos han sido sintetizados con estructura lineal o en red con varias propiedades físicas y de degradación [112].

1.14.3.1 Policaprolactona diol (PCL)

La PCL se encuentra entre los poliésteres biodegradables, más atractivos y comúnmente usados [111]. Puede ser empleado para diferentes aplicaciones biomédicas tales como andamios en ingeniería de tejidos y para la liberación controlada de fármacos. La PCL también se utiliza comúnmente como segmento flexible en poliuretanos, ya que se reconoce como un polímero no tóxico, además que se degrada a una velocidad más lenta que otros poliésteres. La degradación de la PCL y de sus copolímeros procede principalmente por vía enzimática y depende de su peso molecular, composición y morfología. La **Figura 1.11** se muestra la unidad básica de la PCL, mientras que la **Tabla 1.6** señala algunas de las principales propiedades de la PCL [111].

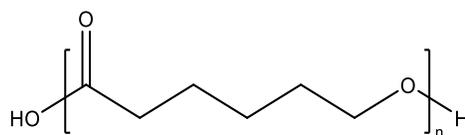


Figura 1.11 Estructura de la PCL

Tabla 1.6 Propiedades de Policaprolactona diol

Estado físico	Semicristalino
Temperatura de transición Vítrea	-60° C
Temperatura de fusión	60° C
Temperatura de descomposición térmica	350° C
Tiempo de resorción	2- 5 años
Principal mecanismo de degradación	Hidrolítica y enzimática
Propiedades superficiales	Hidrofóbico con pobre adhesión y proliferación celular

1.14.3.2 Pluronic F-127, Poloxamer

Entre los copolímeros en bloques anfífilicos más utilizados en formulaciones farmacéuticas se encuentran los compuestos por bloques derivados de los óxidos de etileno (hidrofílicos) y de propileno (lipofílicos) a los que se les conoce con los nombres comerciales de Pluronic® (BASF) (**Figura 1.12**) y Synperonic® (ICI)[113]

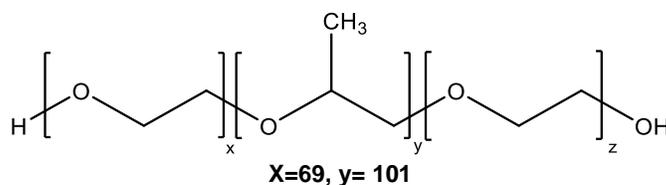


Figura 1.12 Estructura química de la molécula de Pluronic F-127®

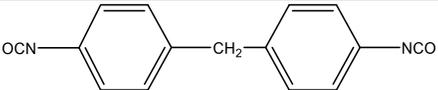
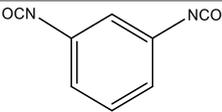
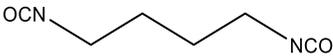
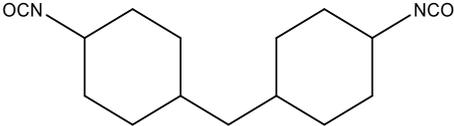
Estos copolímeros poseen masas molares relativas comprendidas entre 1000 y 15000 g·mol⁻¹ y un contenido de bloques de poli(óxido de etileno) entre 10 y el 80 por ciento en masa. Estos polímeros, que poseen un bajo costo de producción y son biocompatibles, pueden adoptar distintas estructuras cuando se dispersan en agua, las que dependen de la proporción de cada uno de los bloques y de su masa molar relativa. Esta proporción también determina la solubilidad y el balance hidrofílico-lipofílico del polímero[114]. Los Pluronic® tienen en un bloque hidrófilo (óxido de etileno) (PEO) y un bloque hidrófobo (óxido de

propileno) (PPO) dispuestos en una estructura tipo **ABA**, es decir, PEO-PPO-PEO. Debido a su carácter anfifílico estos copolímeros muestran propiedades tensoactivas tales como la capacidad para interactuar con las superficies hidrofóbicas y las membranas biológicas [113]. En diluciones acuosas por encima de la concentración crítica micelar (CMC) los Pluronic® se auto ensamblan para formar micelas. El núcleo de las micelas se compone de bloques de PPO hidrofóbico que se separan del exterior acuoso por una coraza hidratada de cadenas de PEO hidrófilos [113]. Los Pluronic® han sido ampliamente empleados en la liberación controlada de sustancias, cubiertas para heridas (apósitos biológicos) y como quimio sensibilizadores en terapias contra el cáncer. Pese a estas aplicaciones, tienen algunas desventajas, tales como baja biodegradabilidad, la necesidad de una alta concentración para que se produzca la gelificación y la baja estabilidad del gel in vivo [115].

1.14.4 Segmento Rígido (SR)

Un problema de los poliuretanos tradicionales ha sido la toxicidad de los productos de degradación, particularmente los derivados del componente diisocianato [116]. Por ejemplo, los productos de degradación de los poliuretanos a base del 4,4'-metileno-di-fenil diisocianato (MDI) y tolueno diisocianato (TDI) son tóxicos. Originalmente estos PUs fueron diseñados para ser durables, y por lo tanto degradarse muy lentamente, el riesgo del efecto tóxico de sus productos de degradación era correspondientemente bajo [117]. Sin embargo, los PUs diseñados para ser biodegradables tienen un riesgo mayor de liberar productos tóxicos, por lo que se prefieren los diisocianatos alifáticos para superar este problema. Por consiguiente, es frecuente encontrar sistemas biodegradables a base de diisocianatos alifáticos (**Tabla 1.7**), tales como como el 1,6-hexametilen diisocianato (HDI), el 1,4-butano diisocianato (BDI) y el 4,4'-metileno bis ciclo hexil diisocianato (HMDI) [118].

Tabla 1.7 Tipos de isocianatos empleados en la síntesis de poliuretanos [116].

Tipo	Nombre y abreviatura	Estructura
Aromáticos	4,4'-metilen bis (fenil isocianato) (MDI)	
	Tolueno diisocianato (TDI)	
Alifáticos	1,4-butano diisocianato (BDI)	
	1,6- hexano diisocianato (HDI)	
	4,4'-metilen bis (ciclohexil isocianato) (HMDI)	

1.14.5 Extensores de cadena

Los extensores de cadena utilizados en la síntesis de poliuretanos son moléculas reactivas de bajo peso molecular cuya composición química permite la obtención de propiedades elastoméricas de los poliuretanos[119]. Estos extensores de cadena típicamente tienen pesos moleculares bajos en el intervalo de 40-300 Dalton y tienen la característica de tener grupos funcionales hidroxilo o amina. Estos compuestos deben ser bifuncionales para ser considerados como extensores de cadena, mientras que los compuestos con una mayor funcionalidad (>2) se consideran agentes para entrecruzamiento o reticulación. En la actualidad existe una amplia variedad de extensores de cadena con diferentes reactividades y grupos funcionales como el glicerol, trimetilol propano, glicoles y compuestos diamina enlistados en la **Tabla 1.8** y **Tabla 1.9**. La proporción en el contenido de segmento rígido en la estructura polimérica de los poliuretano-urea es un factor que determina las propiedades finales y el desempeño de los materiales. En términos generales, el contenido de segmento rígido (SR) será el principal método de control de las propiedades mecánicas tales como el módulo de almacenamiento y la resistencia a la deformación, en adición a la estabilidad térmica e hidrolítica del material[119].

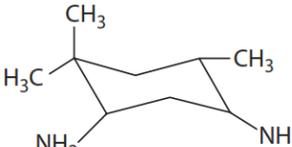
Tabla 1.8 Ejemplos de extensores de cadena[119]

Nombre	Fórmula
Diol lineal (1,4-butanodiol)	$\text{OHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$
Diol no lineal (2,3-butanodiol)	$\begin{array}{c} \text{HO} \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{OH} \end{array}$
Amina lineal (etilendiamina)	$\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$
Diol ramificado (trimetilol propano)	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH} \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH} \end{array}$

Tres extensores de cadena han ganado en los últimos años gran popularidad, el etilenglicol, 1,4-butanodiol y bis-(hidroxietil)hidroquinona. 1,4-butanodiol puede ser considerado como el extensor de cadena de mayor relevancia para los sistemas elastoméricos, si se desea aumentar la rigidez del sistema se cuenta con 2,3-butanodiol, el cual puede ser usado como una mezcla de estereoisómeros [119].

Los extensores de cadena con grupos funcionales hidroxilo reaccionan con el grupo isocianato a una velocidad lenta lo cual hace necesario el uso de un catalizador para alcanzar tasas de reacción y rendimientos mayores. Estos catalizadores son por lo general organometálicos derivados del estaño como el dibutil-dilaurato de estaño, sin embargo, los restos de estos catalizadores han mostrado causar inestabilidad térmica en el material polimérico final [112]. Por otro lado, los extensores de cadena con grupos amina reaccionan con mayor rapidez que los compuestos que contienen grupos hidroxilo. Debido a que la extensión de cadena es realizada en la segunda etapa de la síntesis de poliuretanos, una vez que se ha formado el prepolímero mediante la reacción de síntesis entre un diol y un diisocianato con la subsecuente formación del enlace uretano, la utilización de compuestos con grupos hidroxilo como extensores de cadena producirá un enlace uretano (carbamato), sin embargo, el uso de un extensor de cadena con grupos funcionales amino producirá un enlace urea, con lo cual se obtendrán un poli(uretano-urea) [112].

Tabla 1.9 Nombres comunes y estructuras químicas de algunos extensores de cadena empleados en la síntesis de poliuretanos[112].

Nombre común	Nombre químico	Estructura
1,3 BD	1,3-butanodiol	$\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHCH}_3 \end{array}$
Glicerina	1,2,3-propanotriol	$\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{CH}_2\text{CHCH}_2-\text{OH} \end{array}$
1,6-HD	1,6-Hexanediol	$\text{HO}-(\text{CH}_2)_6\text{OH}$
HQEE	Hidroquinona di (Bis hidroxietil éter)	$\text{HOCH}_2\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OCH}_2\text{CH}_2-\text{OH}$
Sorbitol	D-glucitol	$\begin{array}{ccccccc} & \text{OH} & & \text{OH} & \text{OH} & \text{OH} & \text{OH} \\ & & & & & & \\ \text{HOCH}_2- & \text{CH} & -\text{CH} & -\text{CH} & -\text{CH} & -\text{CH} & -\text{CH}_2\text{OH} \\ & & & & & & \\ & & & & & & \text{OH} \end{array}$
Piperazina	Dietilen diamina	
IPDA	Isoforona diamina	

1.14.5.1 Agua como extensor de cadena

Magnusson and White describieron un poli(uretano-urea) para aplicaciones textiles cuya principal característica fue su obtención a partir de la reacción de un prepolímero éster-uretano y un exceso de agua [120]. Para la obtención de este poliuretano se utilizó agua en exceso al menos 3 veces la cantidad residual de isocianato (NCO) en el prepolímero, a una temperatura de 70° C. Los isocianatos empleados fueron 2,4-tolueno diisocianato y 2,6-tolueno diisocianato. La molécula de agua es usada comúnmente en la síntesis de poliuretanos como un agente espumante, debido a que produce una molécula de dióxido de carbono durante la reacción con el isocianato como se muestra en la **Figura 1.13**

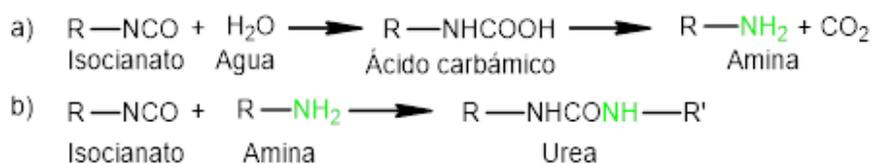


Figura 1.13. Reacciones del isocianato con agua (a) y con la amina formada (b) [118].

1.15 Poliuretanos empleados en la liberación controlada de fármacos

Las características fisicoquímicas de los poliuretanos permiten su aplicación como implantes médicos, andamios biodegradables para ingeniería de tejidos[121] o liberación de principios activos de una manera controlada[122]. Mediante la inclusión de grupos sensibles al pH (grupos carboxilo o amino) o grupos sensibles a la temperatura (diisocianatos) se puede controlar la velocidad de liberación de principios. También es posible controlar la liberación a partir de mecanismos de biodegradación, donde la relación entre grupos ester:uretano controla directamente la velocidad de hidrólisis, siendo los enlaces ester los primero en degradarse produciendo materiales de menor masa molecular, los enlaces uretanos se degradan en fragmentos más pequeños que son eliminados del organismo [122]. La liberación de fármacos a partir de matrices no biodegradables depende del mecanismo de difusión, donde la velocidad de liberación dependerá del tamaño y permeabilidad de la matriz polimérica y la solubilidad del fármaco en dicha matriz. Por otro lado, el perfil de liberación de una matriz de poliuretano biodegradable dependerá principalmente de la composición química, la capacidad de hinchamiento, la velocidad de degradación y la carga de principio activo inicial [117], [123], [124]. En la **Tabla 1.10** se enlistan algunas de las aplicaciones de los poliuretanos en el transporte y liberación de moléculas bioactivas [122][125].

Tabla 1.10 Aplicaciones de poliuretanos en el transporte y liberación de moléculas bioactivas[122][125].

Sistema de liberación	Molécula bioactiva	Descripción	Referencia
Película de poliuretano para recubrimiento de endoprótesis vascular (stent)	Gemcitabina	Liberación local de fármaco en caso de tumores malignos pancreáticos o biliares no resistentes	[126]
Recubrimiento de poliuretano de pellets con fármacos del grupo Azo	Fármacos modelo	Doble recubrimiento de pellets, capa primaria de CMEC y PU-azo, liberación específica en colon	[127]
Anillos intravaginales de poliuretano	Dapivirina y tenofovir	Liberación sostenida de fármacos con diferentes hidrofobicidad. Tenofovir mostro liberación sostenida y Dapivirina liberación lineal sobre el tiempo	[128]
Matrices de poliuretano	Cefamandol nafato	Poliuretano carboxilado cargado con nanopartículas de albumina cargadas con antibióticos	[129]
Matriz de poliuretano nanoestructurado	Cefamandol nafato	Albumina de suero bovino o nanopartículas de polialilamina cargas con antibiótico, incorporadas en una matriz de poliuretano	[130]
Nanopartículas de poliuretano	Adriamycin®	Polímero sensible a la temperatura sintetizado con PEG- ester L-lisina diisocianato, 25% de encapsulamiento	[131]
Películas de poliuretano	Diacetato de clorhexidina	Liberación del fármaco dependiente de la concentración de carga y estructura del sistema.	[132]
Poliuretano con fármaco modelo colgante	Ibuprofeno	Inclusión de ibuprofeno en la estructura del polímero vía enlaces ester. La liberación del fármaco se realiza en base a la degradación del enlace ester.	[133]

CAPÍTULO 2

CONJUGADOS POLÍMERO-FÁRMACO A BASE DE PLURÓNICO, HMDI Y METFORMINA (SPU-PLU-MET)

2.1 Materiales

Para la síntesis de la serie SPU-PLU-MET se emplearon los siguientes reactivos

- 4-4'-metilen bis(ciclohexil isocianato) (HMDI)
- Pluronic F127®, Mn = 12,600, (POE_{x=101} POP_{y=56})
- N'N-dimetilformamida (DMF)
- Clorhidrato de metformina (dimetilbiguanida)

Cada uno de los reactivos empleados se almacenaron en condiciones de control de humedad y se procesaron antes de su uso en cada reacción. A continuación, se describe el proceso realizado para la obtención de estos materiales

2.2 Síntesis en etapas

Para la preparación de los poli (uretano-urea) segmentados (PUUS) biodegradables, se utilizó como segmento flexible Pluronic F127 ® con un peso molecular de 12,600 g/mol (POE_{x=101}), POP_{y=56}). El diisocianato empleado fue 4,4' -metilen bis(ciclohexilisocianato) (HMDI) y como extensor de cadena se utilizó metformina. La reacción fue catalizada con 2-etilhexanoato de estaño. Todos los reactivos antes mencionados fueron de marca Sigma-Aldrich. Como disolvente en la síntesis se utilizó dimetilformamida (DMF).

Los reactivos fueron manipulados bajo atmosfera de nitrógeno o secados a 60° C y presión reducida para evitar la presencia de agua, la cual puede interferir en la síntesis debido a la alta reactividad del grupo isocianato.

Para la síntesis de los diferentes PUUS se realizó haciendo reaccionar los reactivos en una proporción molar de 1:2.05:1:05 de Pluronic F127® diol, HMDI y metformina como el extensor de cadena, se ajustaron las cantidades empleadas de cada reactivo para obtener porcentajes de segmento rígido de 20, 30, 40, 50 y 100% de Segmento Rígido (SR).

La molécula de poliuretano obtenida puede ser representada como:



Donde el polioli (P) es Pluronic F127; diisocianato (D) HMDI, y el extensor de cadena metformina (E), la **Figura 2.1** muestra el esquema de la síntesis de la serie con nomenclatura SPUPLUMet:

Síntesis del prepolímero
(1ra etapa)

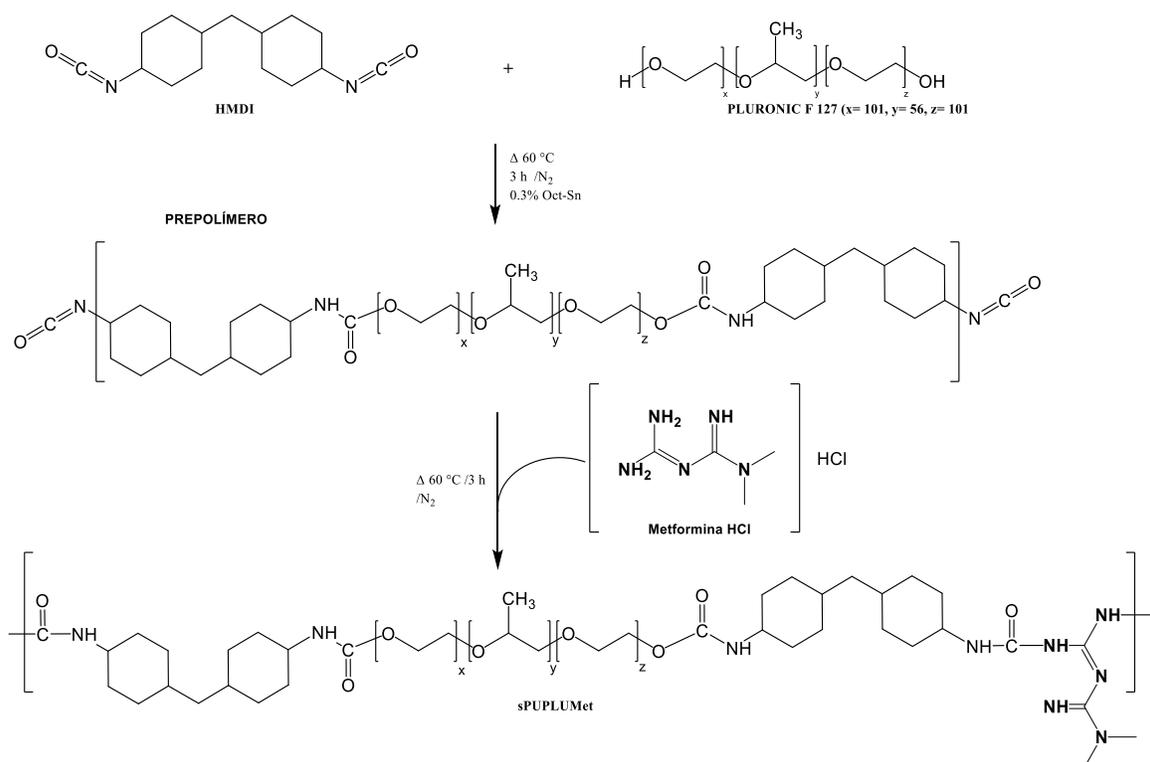


Figura 2.1. Mecanismo para la formación de poli(uretano-urea) preparados con Pluronic F127® y metformina (Met)

La nomenclatura y composición de las muestras obtenidas se menciona en la **Tabla 2.1**

Tabla 2.1 Nomenclatura de los poliuretanos obtenidos con Pluronic F127®

HMDI:Met (SR)	Abreviatura
Segmento rígido 20%	SPU-PLU-Met 20%
Segmento rígido 30%	SPU-PLU-Met 30%
Segmento rígido 40%	SPU-PLU-Met 40%
Segmento rígido 50%	SPU-PLU-Met 50%
Segmento rígido 100%	HMDI-Met 100%

2.3 Determinación de propiedades de SPU-PLU-Met

2.3.1 Caracterización espectroscópica

Una vez obtenidos los PUUS, se prepararon películas de 0.1 mm de espesor por evaporación de THF a temperatura ambiente (25° C), en un molde de teflón (100 cm²). Para la obtención de esta película se pesaron 2 g del polímero, se disolvió en 20-30 mL de disolvente (THF) mediante agitación mecánica y se vaciaron en el molde (casting), el cual se mantuvo en campana de extracción por un periodo mínimo de 48 horas antes de su recuperación y respectivo análisis.

2.3.2 Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR)

Los espectros de Infrarrojo con transformada de Fourier fueron obtenidos con un espectrómetro marca Nicolet 8700 (Thermo-Fisher Scientific) usando el aditamento ATR (Reflectancia Total Atenuada) configurado con un cristal de Seleniuro de Zinc (ZnSe) en el cual se colocaron las muestras. Cada espectro fue colectado en el intervalo de 4000 a 650 cm⁻¹ con una resolución de 4 cm⁻¹ empleando el promedio de 50 barridos.

2.3.3 Espectroscopía RAMAN

Los espectros de RAMAN fueron obtenidos utilizando un espectrómetro Raman marca Renishaw, modelo InVia. Este dispositivo cuenta con una capacidad de colectar espectros en el intervalo Raman de 3300 a 100 cm⁻¹. Para esto está configurado con un láser de Argón con longitud de onda de 633 nm que fue utilizado como fuente de radiación al 50% de potencia para la excitación del material analizado a través de un lente objetivo de 50 x usando 10 ms de exposición.

2.3.4 Resonancia Magnética Nuclear ¹H RMN y ¹³C RMN

Los espectros de resonancia magnética nuclear para protón ¹H y ¹³C fueron obtenidos a través de un espectrómetro de Resonancia marca Variant/Agilent Premium Compat de 600 MHz (14.1 T), el cual utiliza un módulo de gradiente de campo pulsado y una sonda de 5 mm con isotopos para ¹H/¹⁹F/¹⁵N-³¹P. Las muestras fueron preparadas disolviendo las muestras de los polímeros sintetizados en cloroformo deuterado (CDCl₃) en una proporción de 25 mg·mL⁻¹ de disolvente.

2.3.5 Espectroscopía de fotoelectrones emitidos por Rayos X (XPS)

La espectroscopía de fotoelectrones emitidos por Rayos X fue realizada en un espectrómetro K-Alpha X-Ray (Thermo Fisher Scientific) el cual cuenta con una configuración con una fuente monocromática de Aluminio (Al K α) con una energía de 1486.6 electro volts (eV), 12 kV y 40 W de potencia. Para el análisis elemental se utilizó un tiempo de erosión de 20 segundos usando un cañón de iones de Argón (Ar) con 3 kV y 30 W de potencia. Las evaluaciones de encuesta fueron grabadas a 100 eV con una energía de etapa de 1 eV, mientras que las evaluaciones de regiones detalladas fueron obtenidas con un paso de energía constante de 50 eV con un paso de energía de 0.1 eV. La presión de análisis fue de 2×10^{-9} mbar. Los datos obtenidos fueron analizados usando el software AAnalyzer versión 1.42 y procesados con Origin 9 (OriginLab Cop, Northampton, Ma USA). La metodología para el análisis computacional de los resultados esta descrita por Herrera-Gómez (2012)[134].

2.4 Caracterización Térmica

2.4.1 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

La evaluación de las transiciones térmicas de los polímeros sintetizados fue determinada usando un calorímetro diferencial de barrido marca Discovery DSC (TA, Instruments, USA), en el cual se colocaron $5.7 \text{ mg} \pm 0.5$ de muestra la cual fue encapsulada en una charola de aluminio y calentada de -10° C a 170° C con una rampa de calentamiento de 10° C por minuto en una atmosfera de nitrógeno para el primer ciclo. Luego, la muestra fue enfriada y mantenida isotérmicamente a -10° C durante 5 minutos para ser calentada nuevamente a 170° C en un segundo ciclo. Cuando la temperatura de fusión (T_m) fue detectada se calculó el porcentaje de cristalinidad (X_c) del poliuretano usando la siguiente ecuación:

$$\%X_c^{DSC} = \frac{\Delta H_f}{W_{ss} \times \Delta H_f^0} \times 100 \quad \text{Ecuación 2.1}$$

Donde:

ΔH_f es la entalpía de fusión de los poliuretanos segmentados obtenidos experimentalmente usando **DSC** durante la primera corrida, W_{ss} es la fracción másica teórica del segmento flexible y ΔH_f^0 la entalpia del 100% de la fracción flexible (**PLU**) reportada como $136.4 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$ [135]

2.4.2 Análisis Termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico fue realizado en el equipo TGA-7 (Perkin-Elmer). Se analizaron 10 mg de muestra en un intervalo de temperatura de 50 a 700° C con una rampa de calentamiento de 10° C·min⁻¹ en una atmósfera de nitrógeno. La pérdida de masa de la primera derivada fue analizada usando Origin 9 (OriginLab Cop, Northhampton, Ma USA) y se determinó la temperatura de descomposición (T_d) como el valor del pico mínimo de la derivada obtenida de la curva de masa residual vs temperatura.

2.4.3 Análisis Dinámico Mecánico (DMA)

Mediante esta prueba se obtuvo el módulo de almacenamiento (E') y la Tan δ: Se realizó en un equipo DMA-7 (Perkin-Elmer). Para este análisis se emplearon probetas rectangulares de 18 ±1.1 mm de largo, 4 mm de ancho y 0.1 mm de grosor. El equipo fue operado en el modo de extensión con una carga estática de 80 mN y carga dinámica de 65 mN, en una frecuencia de 1 ciclo por segundo (1 Hz). La muestra se analizó en un intervalo de temperaturas desde -100° C hasta 100° C usando una tasa de incremento de la temperatura de 5° C min⁻¹.

2.5 Caracterización Estructural

2.5.1 Difracción de Rayos X (DRX)

Para el análisis de la difracción de rayos X se empleó el difractómetro Siemens D-5000 con una fuente de radiación de cobre CuKα (λ = 1.5416 Å), en intervalo de 2θ de 5° a 60°, con un paso de 3 segundos y una ventana de 0.02° (2θ). El porcentaje de cristalinidad se calculó usando la siguiente ecuación.

$$\% X_c^{DRX} = \frac{A_c}{A_a + A_c} \times 100 \quad \text{Ecuación 2.2}$$

Donde **A_a** es el área bajo la fracción amorfa y **A_c** es el área bajo la fracción cristalina.

2.5.2 Microscopía electrónica de barrido de electrones (MEB)

Para este análisis se utilizó el equipo JEOL JMS 6360LV con un voltaje de aceleración de 20 kV. Este microscopio electrónico de barrido está acoplado a un espectrómetro de energía dispersiva de rayos X (EDX) marca INCA modelo Energy 200). Los análisis se realizaron utilizando un tiempo de corrida de 300 segundos.

2.6 Estudios de Degradación

Los estudios de degradación acelerada fueron realizados en ambientes hidrolíticos y oxidativos usando agua destilada, solución de HCl 2 N, solución de NaOH 5 M, y una solución de H₂O₂ al 30% (P/P). Para este análisis se emplearon muestras de 1 cm². Se utilizó un matraz de bola de 500 mL con sistema de reflujo y columna de enfriamiento para evitar la pérdida del medio, se calentaron por 24 horas a 100° C (n=3), el promedio pérdida de masa de las muestras se determinó gravimétricamente a partir de la nasa ubucyak (ver **Tabla 2.2**).

Tabla 2.2 Masa inicial de polímero empleado para la evaluación de la degradación en condiciones aceleradas

Material polimérico	Masa inicial (gramos)
SPU-PLU-Met 20%	1.061 ±0.051
SPU-PLU-Met 30%	1.0549 ±0.011
SPU-PLU-Met 40%	1.1140 ±0.083
SPU-PLU-Met 50%	1.0754 ±0.046

2.7 Evaluación de la Citotoxicidad *in-vitro*

2.7.1 Cultivo celular

Para la evaluación de la citotoxicidad se emplearon células multipotenciales mesenquimales (DPSC) extraídas de pulpa dental. Estas células fueron obtenidas por donación de sujetos a los que se extrajeron piezas dentales de terceros molares por indicación de diagnóstico ortodóntico. Estas células fueron cultivadas en frascos de cultivo T-25 usando 5 mL medio de cultivo Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado con 10% de suero fetal bovino (10% SFB), 2 mM de glutamina y 1% de antibióticos (G penicilina 100 U/mL, estreptomycin 100 mg/mL) a 37° C y atmósfera 95%:5% de O₂:CO₂. Una vez que las células alcanzaron el 80% de confluencia, fueron lavadas con solución buffer salino de fosfatos (PBS) y desprendidas usando una solución de 0.25% de tripsina-EDTA. Las células en suspensión fueron centrifugadas en una mezcla de DMEM:PBS 1:2 a 1200 rpm durante 10 minutos a 37° C, el sobrenadante fue desechado y el botón celular fue resuspendido usando medio de cultivo fresco (10% SFB), se realizó un conteo celular usando hematocitómetro Neubauer para cuantificar el número de células viables por microscopia x10.

2.7.2 Evaluación de la citotoxicidad

Para la evaluación de la citotoxicidad se utilizó la metodología descrita en la norma ISO 10993-12 usando el método indirecto [136], [137]. Esta norma indica la utilización de extractos líquidos. Para la obtención de estos extractos se emplearon discos de los materiales obtenidos previamente esterilizados por radiación UV durante 20 minutos. Los materiales fueron expuestos un total de 10 minutos por lado en la campana de flujo laminar con la lámpara de UV encendida. Una vez pasado este tiempo se sumergieron en medio de cultivo C con una proporción de 100:2.5 (mg/mL) muestra: medio, durante la obtención de estos extractos no se empleó suero fetal bovino. La muestra con el medio de cultivo fue incubado a 37° C y ocasionalmente agitado para asegurar una distribución homogénea del extracto. después de 1, 4 y 7 días de incubación los extractos líquidos fueron evaluados en los cultivos celulares.

Para la evaluación del efecto de los extractos, las células DPSC fueron sembradas en una caja de 96 pozos con una densidad de 5×10^3 células por pozo y 100 μ L de medio de cultivo (n=3). Una vez sembradas se dejaron 24 horas para que estas células se adhirieran a la superficie de la caja de cultivo. Para evaluar la viabilidad celular se utilizó la prueba de reducción de resazurina (RZ) a su forma reducida resofurina (RF), las estructuras químicas se muestran en la **Figura 2.2**. La RZ fue agregada según las especificaciones del fabricante (CellTiter-Blue Promega) (20% V/V de medio) y cultivada a 37° C por 4 horas. Una vez pasado el tiempo de incubación, las células fueron leídas usando lector de placas marca Cytation 3 a 570 nm y 600 nm de longitud de onda. Los datos obtenidos se analizaron como el porcentaje de diferencia en reducción entre las células control y las tratadas en el ensayo de viabilidad siguiendo la Ecuación (2.3):

$$\%viabilidad = \frac{(O_2A_1)-(O_1A_2)}{(O_2P_1)-(O_1P_2)} \times 100 \quad \text{Ecuación 2.3}$$

donde:

O_1 es el coeficiente de extinción molar (E) de la Resazurina Reducida a 570 nm

O_2 es el E de la RZ oxidada a 600 nm

A_1 es la absorbancia de la muestra a 570 nm;

A_2 es la absorbancia de la muestra a 600 nm;

P_1 es la absorbancia del control positivo a (células con RZ) a 570 nm;

P₂ es la absorbancia del control positivo a 600 nm.

Para evaluar el efecto citotóxico de los extractos de los materiales, los resultados fueron normalizados respecto al control negativo y se analizaron mediante análisis de varianza ANOVA de una vía considerando los valores de p<0.05 como significativos.

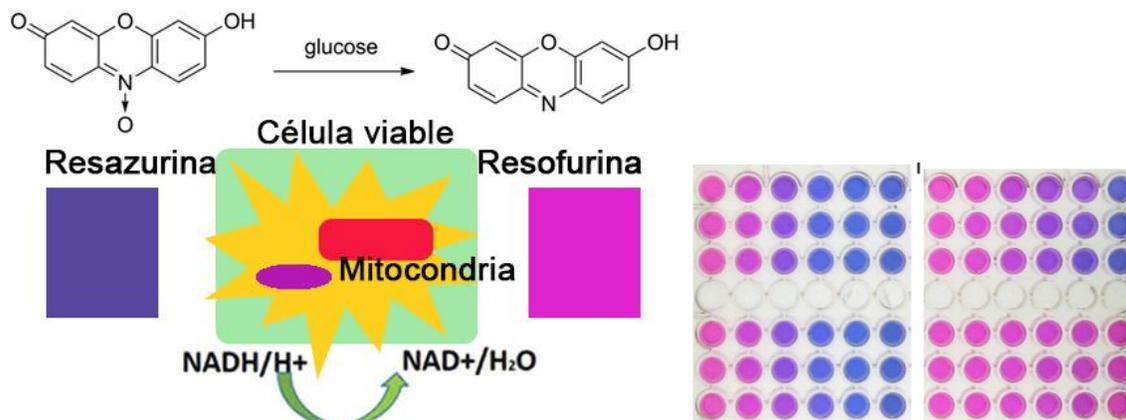


Figura 2.2. Reducción de resazurina a resofurina, con el correspondiente cambio de color

2.8 Liberación (cesión) de metformina *in-vitro* de SPU-PLU-MET

La evaluación de la liberación de metformina se realizó siguiendo los lineamientos establecidos en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM)[138] para la preparación de los medios de dilución. Brevemente, se usó un vaso de vidrio cerrado conteniendo 100 mL de solución salina búfer de fosfatos con pH de 6.8 y una concentración de 0.025 M previamente degasificado en el cual se introdujo el material a evaluar en forma de película, la masa evaluada se enlista en la **Tabla 2.3**. Para ajustar el pH de la solución se empleó una solución de NaOH 0.1 M. El medio receptor fue incubado a 37° C y agitado continuamente. Se extrajeron muestras de 1 mL al tiempo 0, y cada 5 minutos durante los primeros 30 minutos, luego cada hora hasta la hora 3, a partir de este tiempo se realizaron tres medidas más, a la hora 6, a la hora 10 y a la hora 24 de haber iniciado el experimento. Cada vez que se extrae una alícuota, el mismo volumen se recuperó con medio fresco con el fin de mantener el volumen inicial constante. Las muestras recolectadas fueron filtradas utilizando una membrana de Nylon de 0.25 µm (Acrodisc®), y leídas en espectrómetro de UV-Vis usando una cubeta de cuarzo de 1 cm². Para la cuantificación de metformina, se construyó una curva de calibración usando metformina HCl en una solución de (NaOH 0.01 N) en un intervalo de concentración de 0-50 µg/mL.

Tabla 2.3 Cantidad de metformina por muestra evaluada en la prueba de cesión.

Material polimérico	Masa (g)	Cantidad de metformina (mg)
SPU-PLU-Met 20%	0.9642	45
SPU-PLU-Met 30%	1.0092	71
SPU-PLU-Met 40%	0.982	91
SPU-PLU-Met 50%	1.0457	118

2.9 Resultados y Discusión

2.9.1 Análisis Espectroscópico FTIR/Raman/RMN

Los espectros de FTIR y de RAMAN de la serie PLU se muestran en la **Figura 2.3**. Los polímeros sintetizados muestran bandas de absorción a 3333 cm^{-1} correspondientes al estiramiento del enlace N-H correspondiente al uretano y la metformina, (N-H) y vibraciones de estiramiento asimétrico y simétrico en el número de onda de 2921 cm^{-1} y 2861 cm^{-1} pertenecientes al grupo $-(\text{CH}_2)-$ y (CH_3) presente en el Pluronic F127® y HMDI. El estiramiento del doble enlace del grupo carbonilo (C=O) aparece en el número de onda 1716 cm^{-1} para el grupo uretano mientras que a 1635 cm^{-1} aparece la urea formada durante la condensación de los grupos isocianato con los grupos amino de la metformina, junto con la adición de la reacción con agua. La señal correspondiente a la amida II se localizó en 1557 cm^{-1} y a 1241 cm^{-1} el enlace C-N en el grupo uretano y la metformina.

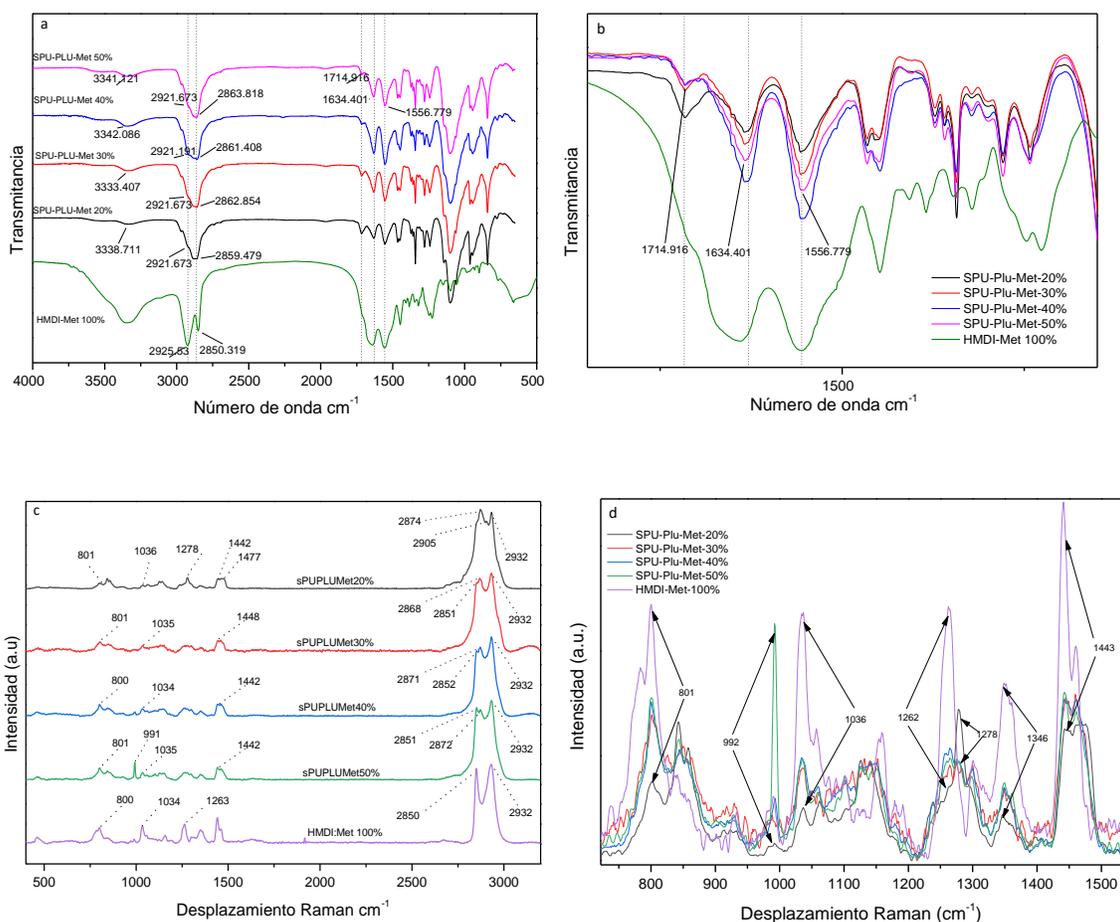


Figura 2.3. Espectros de FTIR (a) y (b), Raman (c) y (d) de los polímeros sintetizados con Pluronic F127®.

Las absorciones a 1100 cm^{-1} se atribuyeron a la vibración de estiramiento C-O-C en el segmento flexible, las cuales aumentaron según aumenta el segmento flexible (SF) de 20% a 50%. A 100% de segmento rígido, la intensidad de la señal a 1112 cm^{-1} fue baja lo cual indica la ausencia de grupos éter (C-O-C) propios de Pluronic F127®. La absorción a 1632 cm^{-1} (el cual incluye la urea y C=N de la metformina) y la absorción a 1447 cm^{-1} puede ser tomada como evidencia del incremento del contenido de metformina debido a que se incrementó la intensidad como aumentaba la proporción de segmento rígido de 20% a 50%.

Por otro lado, la metformina pura puede ser identificada mediante las absorciones a 1622 cm^{-1} (C=N), 1475 cm^{-1} (torsión asimétrica de CH_3 o la deformación simétrica del enlace N-H) y 1447 cm^{-1} (deformación del enlace N-H), 1418 cm^{-1} (deformación N-H o torsión asimétrica de CH_3), 1065 cm^{-1} (estiramiento C-N), 938 cm^{-1} (torsión o bamboleo del enlace N-H), 737 cm^{-1} (bamboleo N-H) tal como ha reportado por *Sheela* en 2010 [139]. Los

espectros Raman de las películas de los materiales SPU-PLU-Met se muestran en la **Figura 2.3c**. En estos espectros SPU-PLU-Met muestra fuertes absorciones Raman a 2850 cm^{-1} (CH_2 simétrico) y 2931 cm^{-1} (CH_2 asimétrico) con un incremento en la intensidad para este pico proporcional al incremento del segmento rígido. Correspondientemente, la absorción a 2870 cm^{-1} está relacionada con el incremento del contenido rígido. Finalmente, la señal de absorción a 1441 cm^{-1} también incrementa con el contenido de segmento rígido. Al igual que el espectro de metformina pura, las absorciones a 801 cm^{-1} incrementan con el contenido de segmento rígido (**Figura 2.3d**). Sin embargo, las típicas absorciones principales de la metformina pura a 3370 cm^{-1} (estiramiento N-H), 3307 cm^{-1} (estiramiento asimétrico N-H), 3168 cm^{-1} (estiramiento asimétrico N-H), 2817 cm^{-1} (enlace CH_3) 1647 cm^{-1} (deformación N-H o enlace C=N), 1470 cm^{-1} (deformación simétrica N-H), 936 cm^{-1} (torsión N-H), 737 cm^{-1} (N-H bamboleo) y 422 cm^{-1} (deformación del enlace C-N-C) no se observaron o presentaron un fenómeno de enmascaramiento en el espectro Raman [139].

2.9.2 Resonancia Magnética Nuclear de protón (^1H) y carbono (^{13}C).

El espectro obtenido de la resonancia de protón (^1H RMN) y carbono (^{13}C RMN), de los diferentes materiales se muestran en la **Figura 2.4**. En el espectro se aprecian las principales señales relacionadas con el segmento flexibles (SF) y el segmento rígido (SR). Señales a 3.62 ppm (O-CH_2), 3.39-3.54 ppm (CH-CH_2) y 1.13 ppm (CH_3) se asignaron a los grupos presentes en la estructura química de Pluronic F127 ® POE-POP-POE. La intensidad de la señal en estos desplazamientos químicos disminuyó de manera proporcional conforme la cantidad de segmento rígido aumentó. La señal observada a 2.27-1.97 ppm (asignada al grupo metilo) aumentó lo cual es una evidencia del aumento en la incorporación de metformina al polímero, en concordancia con lo reportado por *Gadape y colaboradores* en 2011 [140]. En relación con el protón (NH) del grupo uretano, la urea o la biguanida se logró observar a 7.1, 7.3 o 6.99 ppm como se esperaba.

En relación a los resultados obtenidos en la resonancia de carbono, se observó que las señales relacionadas con el grupo O-C en POE y POP se presentaron en un desplazamiento químico de 73.38 ppm, 73.16 ppm, 72.97 ppm, 72.8 ppm, 71.69 ppm y 71.53 ppm, mientras que el grupo CH_2 se localizó en los desplazamientos 70.54 ppm, 69.5 ppm y 69.06 ppm para los materiales que tuvieron 20% de segmento rígido, los demás materiales tuvieron los mismos desplazamientos con un ligero corrimiento. Finalmente, las señales a 17.42 ppm y 17.31 ppm se asignaron al CH_3 en la metformina mientras que el

CH₃ proveniente del grupo POP en Pluronic fue localizado en los desplazamientos químicos 13.65 ppm y 13.52 ppm. El átomo de carbono unido a nitrógeno fue observado a 75.54 ppm, 75.38 ppm y 75.13 ppm en el material SPU-PLU-Met 20% y se desplazó ligeramente debido al aumento del segmento rígido en 30%, 40% y 50%. Estas señales redujeron su intensidad de 20% a 50% de segmento rígido, lo cual sugiere que pertenecen al uretano. A 206.8 ppm se detectó a C=O, mientras que a 30.9 ppm se asignaron los carbonos CH₃ de la metformina, aunque esta señal solo se detectó en el material SPU-PLU-Met 50%. Nuevamente, las señales a 158 ppm o a 160 ppm de la imina (C=N) se lograron observar en el espectro de ¹³C.

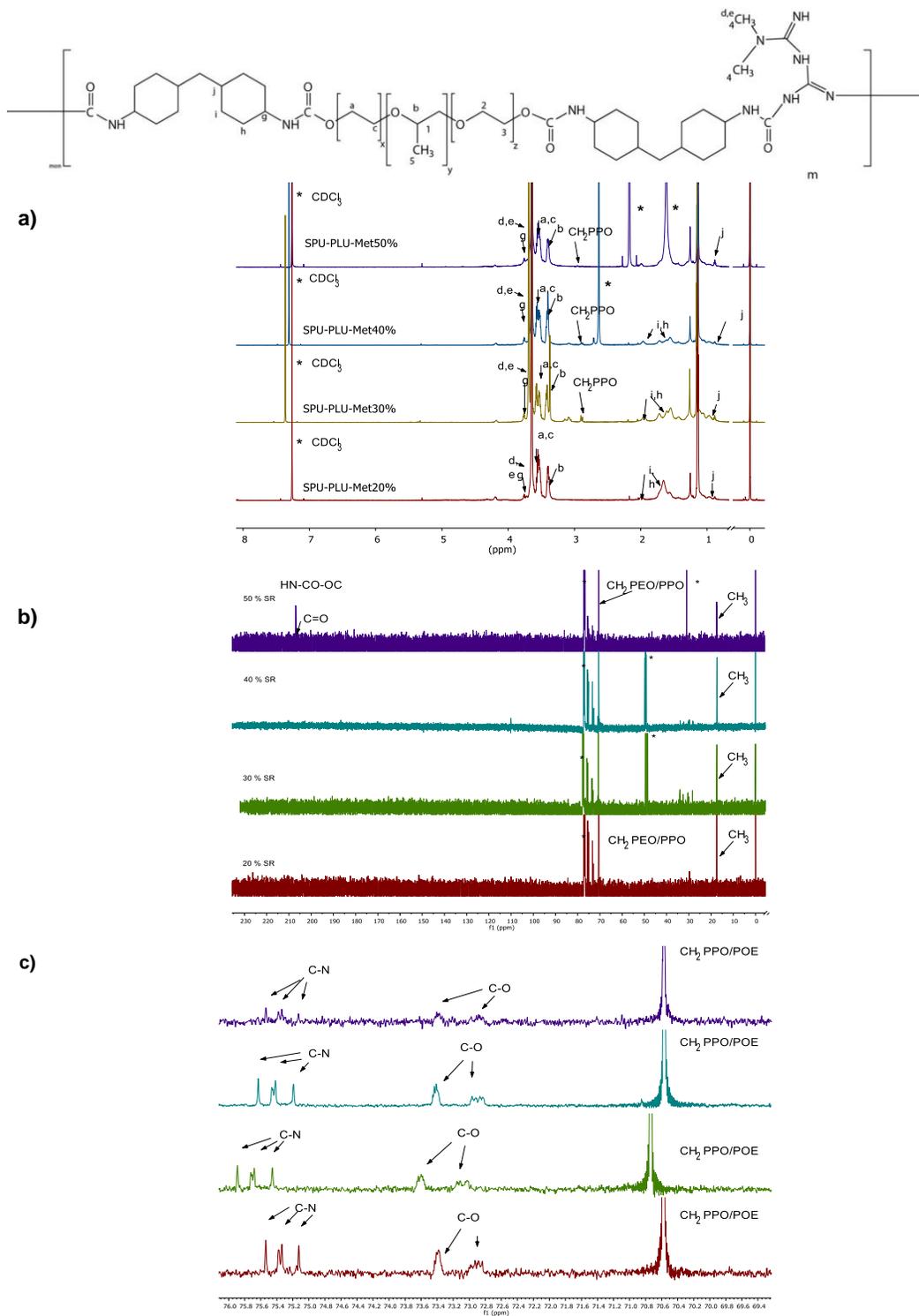


Figura 2.4 Espectro de RMN para la serie SPUPLUMet con varias proporciones de segmento rígido. (a) ^1H (protón), (b) ^{13}C .

2.9.3 Composición elemental superficial por XPS y EDX

Los espectros de las películas de SPU-PLU-Met se muestran en la **Figura 2.5**. El átomo de carbono fue detectado a 284.5 eV (C-C), a 286.5 eV (C-O) y a 288.0 eV (C=O y C-N) mientras que el oxígeno fue observado a 532.8 eV (C-O) y 533.5 eV (C=O). Finalmente, el nitrógeno se observó a 399.1 eV (C-N) y 401-403 eV ($+NH_3$). Los segmentos de Polióxido de etileno de las muestras de Pluronic F127® exhiben carbonos a 286.5 eV y picos de oxígeno a 532.8 eV. Por lo tanto, la señal para el carbono de los enlaces C-O se redujo mientras que la señal de oxígeno aumento en los poliuretanos analizados de 20% a 50% de segmento rígido (SR). Sin embargo, debido a la formación del enlace uretano, (O=C-O-C), tanto el pico de carbono como el de oxígeno aumentaron. El modelo del segmento rígido, referido como HMDI-Met 100%, es una poli(urea) que muestra solo dos energías de enlace del átomo de carbono a 284.5 eV y 285.5 eV sin la distinción entre carbonos CH_2 y CH provenientes del HMDI o en enlace C=N de la metformina. Se observaron dos señales para O1s a 531.2 eV y 532.5 eV y dos para N1s a 399.9 eV y 401-403 eV. La presencia de metformina puede ser inferida de la presencia del pico 401-403 eV (C=N). Sin embargo, los picos a 401 eV sugieren la presencia de una amina clorhidrato, pero Cl $2p_{3/2}$ no se observa a 196.6 eV.

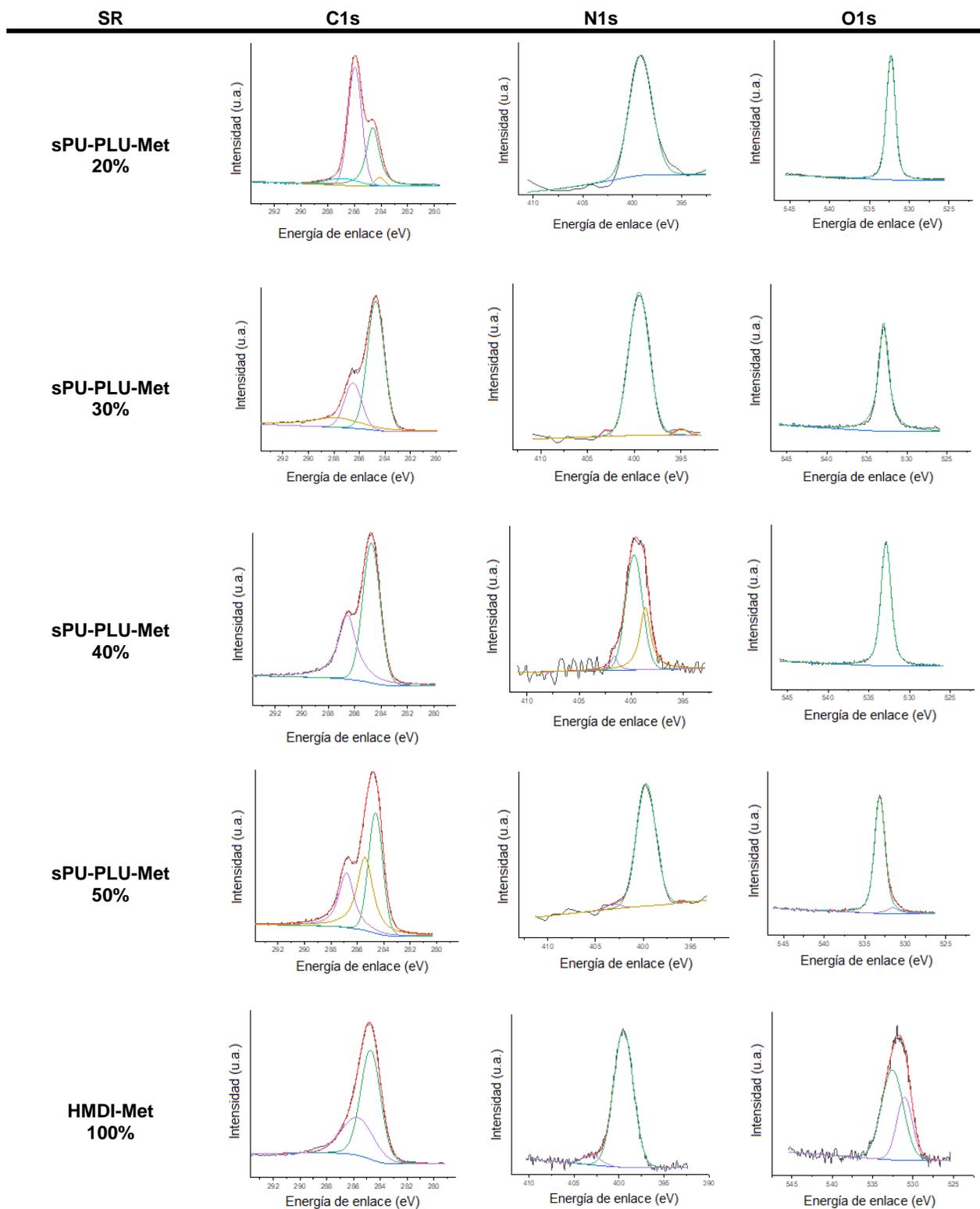


Figura 2.5 Espectros de C1s, O1s y N1s, correspondientes a las muestras analizadas de SPU-PLU-Met

En la **Tabla 2.4** se muestra la composición elemental obtenida por las técnicas EDX y XPS. La técnica de EDX permitió obtener claramente la tendencia del nitrógeno a aumentar en correspondencia con la cantidad de segmento rígido que aumenta. XPS es una técnica más superficial (hasta 10 nm) que muestra menos cantidad de nitrógeno, pero con la misma tendencia que EDX. Por otro lado, la cantidad de oxígeno que se esperaba fuera menor cuando aumentara la cantidad de segmento rígido (SR) (menor cantidad de Pluronic F127® fue empleada durante la síntesis), pero esto no es el caso para las muestras con porcentaje de SR entre 20%-50%, sin embargo, a 100% de SR confirmó cuando Pluronic F127® está completamente ausente.

Tabla 2.4. Composición elemental en % SPU-PLU-Met

Material	Técnica	Porcentaje atómico de cada elemento (%)		
		C	N	O
SPU-PLU- Met-20%	EDX	65.9 ± 0.47	3.81 ± 0.49	30.1 ± 0.37
	XPS	71.73	0.65	27.62
SPU-PLU-Met 30%	EDX	68.4 ± 0.54	5.49 ± 0.55	26 ± 0.75
	XPS	87.18	1.89	10.93
SPU-PLU-Met 40%	EDX	52.2 ± 1.6	5.38 ± 0.39	42.4 ± 1.96
	XPS	87.35	1.66	10.99
SPU-PLU-Met 50%	EDX	67.6 ± 0.50	5.63 ± 0.42	26.7 ± 0.14
	XPS	87.04	1.29	11.67
HMDI:Met 100%	EDX	71.5 ± 0.99	15 ± 1.30	13.2 ± 0.35
	XPS	89.72	5.64	4.65

2.9.4 Propiedades Térmicas (DSC, TGA, DMA)

Los termogramas de calorimetría diferencial de barrido (DSC) de las muestras SPU-PLU-Met muestran las características de un poliuretano semicristalino debido a la presencia de Pluronic F-127 el cual, en su forma pura exhibe solo un pico de fusión $T_m=59.0^\circ\text{C}$ atribuible a la región flexible del poliuretano. Además, se puede apreciar en la **Figura 2.6**, que el proceso de fusión de los segmentos flexibles (SF) de Pluronic F127® es un proceso complejo debido a la presencia de varias regiones con diferentes conformaciones o arreglos moleculares que funden a diferentes temperaturas [141].

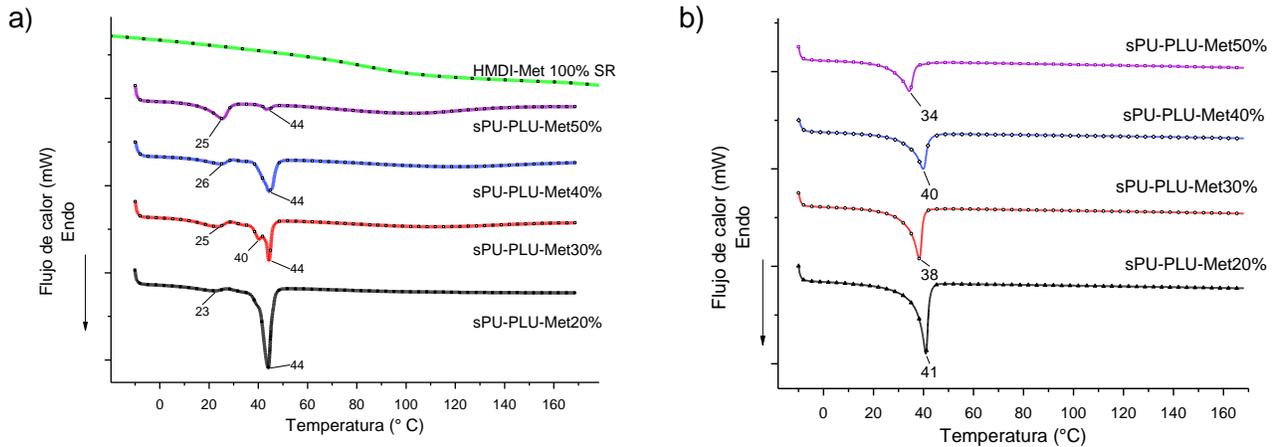


Figura 2.6. Termogramas DSC de los materiales sintetizados SPUPLUMET con 20%, 30%, 40%, 50% y HMDI-Met 100% de SR. (a) primera corrida, (b), segunda corrida.

Durante la primera evaluación de análisis calorimétrico, SPU-PLU-Met 20% mostró una transición endotérmica en un intervalo de temperatura de 35-49° C con un pico máximo a 44° C, la cual puede ser considerada como la temperatura de fusión del segmento flexible, principalmente el dominio compuesto por poli-óxido de etileno. En cuanto a SPU-PLU-Met 30%, se observó una transición endotérmica en un intervalo de temperatura entre 36.5° C y 48.5° C con la característica de que el pico de fusión se presenta con dos temperaturas máximas, a 40.3° C y 44.3° C indicando la fusión de la porción de POE, similar a SPU-PLU-Met 20% (44° C), y la presencia de una segunda región cristalina con menor tamaño y temperatura (40.3° C). Este fenómeno que se aprecia como una división de la temperatura de fusión se puede relacionar con las condiciones de solidificación del material, donde la exposición a variaciones de temperatura durante proceso de nucleación y por lo tanto el tamaño de las regiones cristalizadas puede ocasionar variaciones en la temperatura de fusión [142]. Para el caso de SPU-PLU-Met 40% el proceso de transición endotérmico sucede en un intervalo de temperatura más amplio, entre 37.95° C y 49.3° C con una temperatura máxima que se determinó a 44° C. La amplitud en este proceso se relaciona con una mayor heterogeneidad en el contenido de regiones cristalinas, atribuible a una mayor cantidad de segmentos rígidos que generan subdominios de diferentes tamaños, formas y capacidades térmicas. En el caso de SPU-PLU-Met 50% podemos observar una transición endotérmica en el intervalo de 41° C a 46.9° C con un pico máximo a 43.1° C. Esta transición además de ser en un intervalo de temperaturas corto se observa un proceso

con menor energía debido principalmente a un menor tamaño y proporción de la región cristalina del material polimérico. Por otro lado, se muestra una transición entre 23° C y 25.4° C con una mayor área relacionada con la transición endotérmica del segmento rígido.

De manera similar, se detectó una transición entre 100° C y 117° C la cual se puede atribuir a los segmentos rígidos, ya que el material modelo del segmento rígido HMDI-Met-100% (RS), exhibe la misma transición endotérmica alrededor de los 86.3° C. Por otro lado, se aprecia una transición térmica cercana a los 237.5° C que puede ser atribuida a la fusión de metformina, cuya $T_m = 230.7^\circ \text{C}$ [143].

Durante la segunda corrida del análisis calorimétrico, se detectaron picos de fusión a 40.9° C, 38.3° C, 39.8° C y 34.3° C en un intervalo de temperaturas más amplio comparado con la primera corrida, para los compuestos con 20 %, 30 %, 40 % y 50 % de SR, de manera respectiva. Estos resultados sugieren que la incorporación de Pluronic F127® en el poliuretano reduce el valor de T_m y con esto se forman una variedad de cristales de diferentes tamaños lo cual produce que el pico de fusión se ensanche y divida. Sin embargo, el porcentaje de cristalinidad tiene a reducirse con la cantidad de segmento rígido como se muestra en la **Tabla 2.5**.

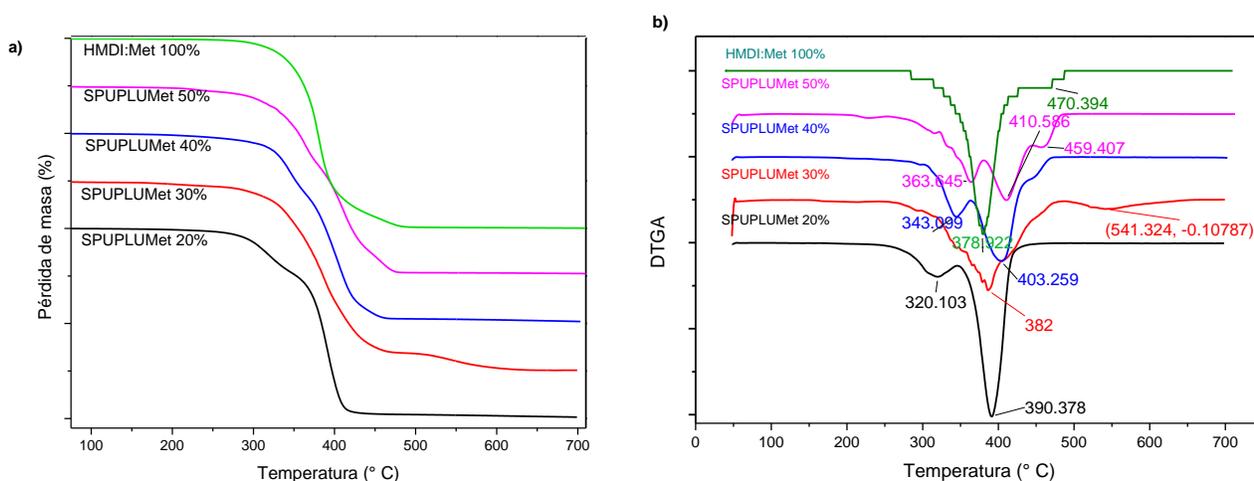
Tabla 2.5. Propiedades térmicas de SPU-PLU-MET.

Poliuretano	Temperatura del pico (° C) 1ra corrida	Temperatura del pico (° C) 2da corrida	Cristalinidad por DSC (%)	Cristalinidad por DRX (%)
SPU-PLU-MET 50%	25.4 43.1	34.3	19.1	-
SPU-PLU-MET 40%	24.6 44.2	39.8	24.9	21.3
SPU-PLU-MET 30%	23.8 40.3 44.3	38.3	30.4	34.8
SPU-PLU-MET 20%	23.0 44.0	40.9	41.9	38.7
HMDI-MET 100%	-	-	-	-

2.9.4.1 Análisis Termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico mostró al menos dos temperaturas de descomposición para los poliuretanos con 20%, 30%, 40% y para el modelo de segmento rígido (SR), HMDI:Met 100%, mientras que para el poliuretano sintetizado con 50% de segmento rígido (SR), se observó tres temperaturas de descomposición en la primera derivada del análisis termogravimétrico como se muestra en la [144].

Figura 2.7 (b). Para el polímero SPU-PLU-Met 20% la $T_{d1}=317^{\circ}\text{C}$ y $T_{d2}=396^{\circ}\text{C}$ muestran una descomposición de 22% y 77% respectivamente. Para SPU-PLU-Met 30% $T_{d1}=386^{\circ}\text{C}$ y $T_{d2}=542^{\circ}\text{C}$ con un porcentaje de 88% y 5% de descomposición térmica respectivamente. Para SPU-PLU-Met 40% las temperaturas de descomposición fueron $T_{d1}=344^{\circ}\text{C}$ y $T_{d2}=405^{\circ}\text{C}$ con porcentajes de degradación térmica de 27% y 68% respectivamente. Para SPU-PLU-MET 50% se presentaron tres temperaturas de descomposición, $T_{d1}=364^{\circ}\text{C}$, $T_{d2}=411$ y $T_{d3}=457^{\circ}\text{C}$ con porcentajes de degradación térmica de 37%, 47% y 11% respectivamente. Estos resultados muestran que todos los polímeros de la serie SPU-PLU-Met son térmicamente estables por debajo de 300°C y presentan un incremento de la estabilidad (T_{d1}) relacionada directamente con el aumento en el contenido de segmento rígido. En este mismo tenor, el análisis térmico de Pluronic F127® muestra dos temperaturas de descomposición térmica, $T_{d1}=357.3^{\circ}\text{C}$ y a $T_{d2}=371^{\circ}\text{C}$, las cuales corresponden a las fracciones POE y POP respectivamente, por otro lado, metformina



muestra dos temperaturas de descomposición a $T_{d1}=255.6^{\circ}\text{C}$ y a $T_{d2}=311^{\circ}\text{C}$ [144].

Figura 2.7. Termogramas del Análisis Termogravimétrico de SPUPLUMET con 20%, 30%, 40%, 50% y 100% de SR. (a) porcentaje de masa, (b) primera derivada.

2.9.4.2 Análisis Dinámico-Mecánico (DMA)

El Análisis Dinámico-Mecánico mostró que la transición alfa comúnmente asociada a la temperatura de transición vítrea (T_g) de un polímero, está cercana a los -80°C para SPU-PLU-Met 20% y a -50°C para SPU-PLU-Met 50% lo cual nos muestra una tendencia al aumento de la temperatura de T_g en función del aumento de segmento rígido (SR) como se muestra en la **Figura 2.8 (b)**.

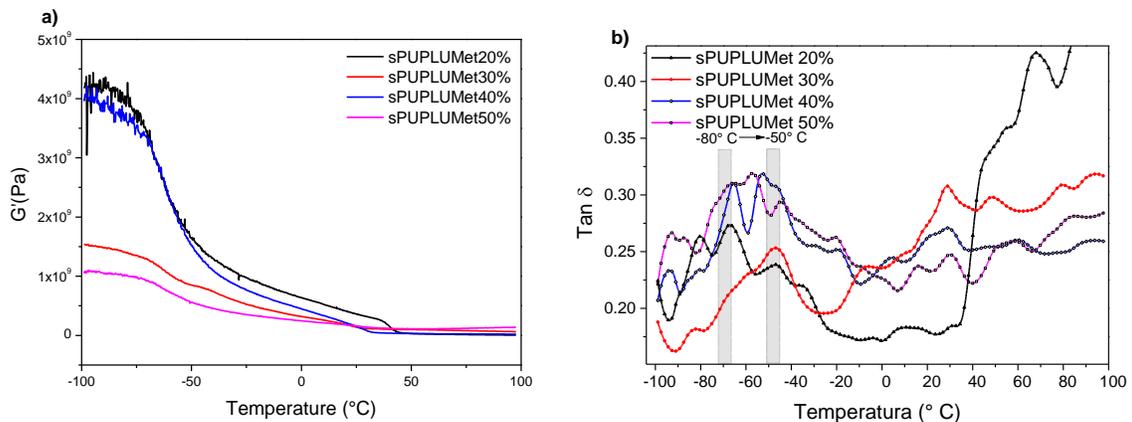


Figura 2.8 Termogramas de SPU-PLU-Met con 20%, 30%, 40%, 50 % y 100 % de SR. (a) módulo de almacenamiento, (b) Tan δ

2.9.5 Propiedades Mecánicas Mediante (DMA)

El análisis dinámico mecánico también nos permite interpretar la dependencia entre el módulo de almacenamiento (E) y la temperatura ($^\circ\text{C}$). El módulo de almacenamiento inicial a -100°C se presentó con mayor valor para SPU-PLU-Met 20% y SPU-PLU-Met 40% como se muestra en la Figura 2.8a . Sin embargo, a 25°C , el módulo de almacenamiento disminuyó a 362.0 MPa, 140.5 MPa, 155.5 MPa y 159.5 MPa para SPU-PLU-Met 20%, SPU-PLU-Met 30%, SPU-PLU-Met 40% y SPU-PLU-Met 50%, respectivamente. A 37°C , temperatura corporal y cercana a la temperatura de fusión, los valores del módulo de almacenamiento disminuyeron a 239.0 MPa, 107.0 MPa, 41.1 MPa, y 122.9 MPa de manera correspondiente a los materiales mencionados. Finalmente, a 60°C el módulo de almacenamiento fue de 22.1 MPa, 93.0 MPa, 28.0 MPa y 111.9 MPa. A esta temperatura (60°C), se observa el posible efecto del entrecruzamiento de las cadenas poliméricas durante el calentamiento. Después de esta temperatura, SPU-PLU-Met 50% exhibió el

mayor módulo de almacenamiento, lo cual nos sugiere un efecto de reforzamiento debido a la presencia de segmento rígido (SR). La Tabla 2.6 resume las propiedades dinámico-mecánicas de estos polímeros.

Tabla 2.6 Dependencia del módulo de almacenamiento con la temperatura

Material	Módulo de almacenamiento (MPa) 25° C	Módulo de almacenamiento (MPa) 37° C	Módulo de almacenamiento (MPa) 60° C
SPUPLUMET 20%	362.0	239.0	22.1
SPUPLUMET 30%	140.5	107.0	93.0
SPUPLUMET 40%	155.5	41.1	28.0
SPUPLUMET 50%	159.5	122.9	111.9

2.9.6 Análisis de Difracción por Rayos X (DRX)

Los resultados de los difractogramas obtenidos del análisis de los materiales de la serie SPU-PLU-Met se muestran en la **Figura 2.9**. Se incluye el patrón de difracción de Pluronic F127®, metformina y del modelo del Segmento Rígido (HMDI:Met 100%) con la finalidad de comparar los valores de 2θ con los obtenidos en las muestras analizadas. Pluronic F127® muestra un patrón de difracción con dos valores característicos de $2\theta=19.2^\circ$ y $2\theta=23.4^\circ$. Por otra parte, metformina muestra valores de $2\theta=17.8^\circ$, 22.5° , 23.3° , 28.4° , 29.5° , 35.8° y 39.5° principalmente debido a la formación de dímeros y tetrámeros en el empaquetamiento molecular al momento de cristalizar [143]. De los difractogramas obtenidos se observó que el compuesto modelo (HMDI:Met 100%) y SPU-PLU-Met 50% se presentan en forma amorfa, es decir, no presenta patrones de difracción comparables a estados cristalinos. Por otro lado los compuestos SPU-PLU-Met 40%, SPU-PLU-Met 30% y SPU-PLU-Met 20% muestran patrones de cristalización con valores de $2\theta=18.9^\circ$, 22.9° , 27.8° , 28.8° , 31.9° , 33.6° y 38.4° , de los cuales, $2\theta=18.9^\circ$, 22.9° se relacionan directamente con la presencia de Pluronic F127® en el material polimérico, de igual manera, los valores de $2\theta=28.8^\circ$, 31.9° , 33.6° y 38.4° , se relacionan directamente con la presencia de metformina, cuyos valores de $2\theta=28.4^\circ$, 31.3° , 35.8° y 39.4° se obtuvieron en el análisis de difracción de rayos X. Con relación a SPU-PLU-Met 50%, este material no presentó valores de 2θ y en su lugar se observó una región amorfa lo cual puede sugerir la presencia de metformina en el material en la misma conformación amorfa.

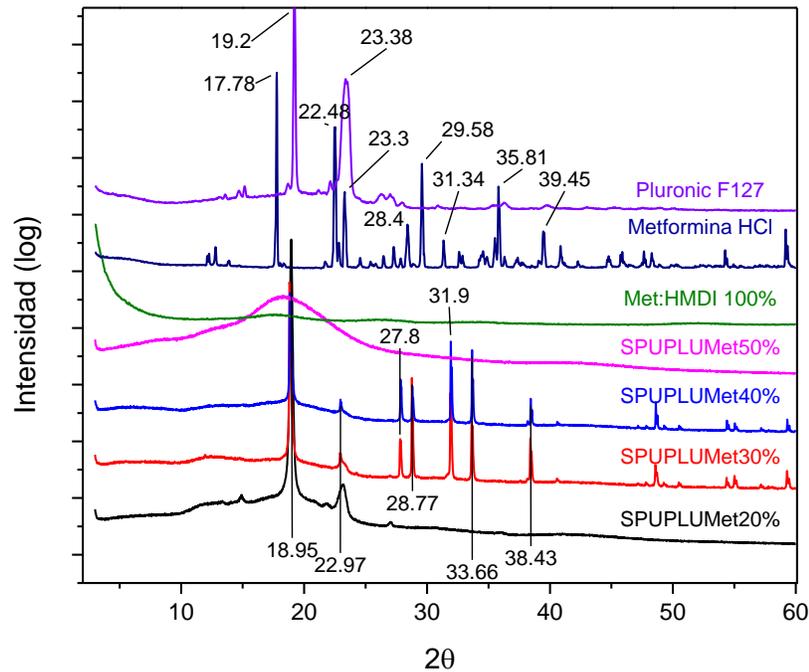


Figura 2.9 Difractogramas de SPU-PLU-Met con 20%, 30%, 40%, 50% y 100% de SR. Se incluyen los DRX de Pluronic F127® y metformina.

2.9.7 Estudios de degradación

Para la evaluación de la pérdida de masa se utilizaron diferentes medios: agua destilada, peróxido de hidrógeno 30 %, solución de ácido clorhídrico 2 N y solución de hidróxido de sodio 5 M siguiendo la metodología descrita por *Cauch-Rodríguez y colaboradores* [145]. Los resultados se muestran en la **Tabla 2.7**. El agua destilada causó solo una pequeña pérdida de masa en el material, siendo mayor en el material SPU-PLU-Met 20% ($9.4\% \pm 1.71\%$) y menor en SPU-PLU-Met 40% ($5.49\% \pm 3.43\%$). Sin embargo, la pérdida de masa se incrementó en la degradación ácida y alcalina, siendo prácticamente completa en la solución de peróxido de hidrógeno. Bajo condiciones acidificadas y alcalinas, la degradación de SPU-PLU-Met 50% fue menor, debido a una mayor estabilidad en la masa residual cercana al 60%. En contraste con SPU-PLU-Met 20%, que solo tuvo una masa residual entre el 30% y 35% de su masa original.

Tabla 2.7 Porcentaje de pérdida de masa posterior a la degradación hidrolítica de SPU-PLU-Met

Material	H ₂ O	H ₂ O ₂	HCl	NaOH
SPU-PLU-MET 50%	6.23 ± 2.77	100	40.88 ± 4.35	39.7 ± 3.88
SPU-PLU-MET 40%	5.49 ± 3.43	100	90.5 ± 2.8	47.7 ± 5.44
SPU-PLU-MET 30%	6.05 ± 3.51	100	48.9 ± 9.18	44.5 ± 8.57
SPU-PLU-MET 20%	9.44 ± 1.71	100	64.3 ± 13.2	2.10 59.6±4.04

2.10.1 Evaluación de la citotoxicidad in-vitro

Todos los materiales sintetizados exhibieron buena viabilidad celular cuando se evaluaron en cultivos celulares (**Figura 2.10**). En los resultados no se presenta una reducción en la viabilidad debido al incremento en la cantidad de segmento rígido que se considere estadísticamente significativo (ANOVA $p=0.05$). También en los resultados se puede apreciar una relación con el tiempo de extracción y la viabilidad, siendo menor a los 4 días para todos los materiales, después de ese tiempo, la viabilidad celular aumenta a los 7 días, lo cual fue más notable para SPU-PLU-Met 20%. la viabilidad celular se evaluó en células derivadas de pulpa dental, las cuales mostraron mucha facilidad para su mantenimiento.

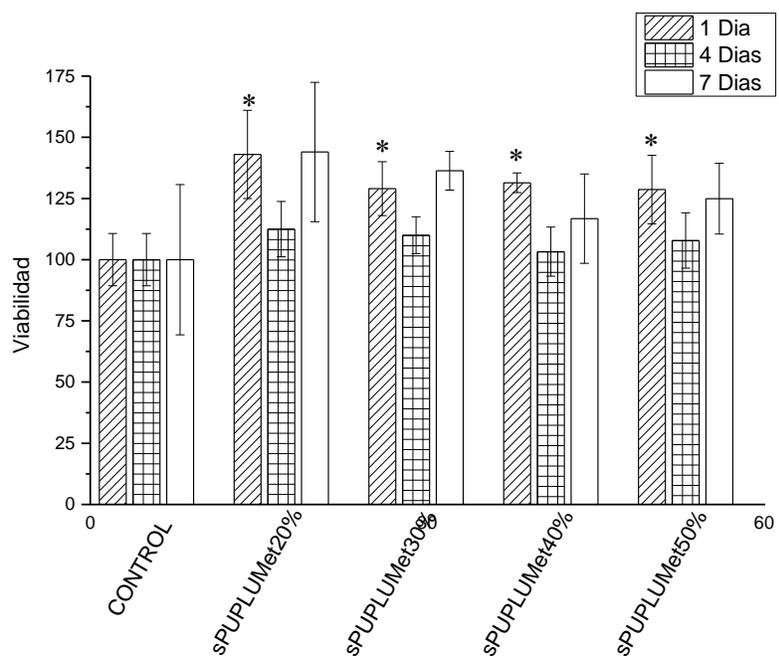


Figura 2.10 Citotoxicidad de SPU-PLU-Met evaluada con el método indirecto (extractos) a los días 1, 4 y 7. Determinación evaluada con resazurina (RZ) * diferencia significativa entre las muestras evaluadas y el control (DMEM)

2.10.2 Liberación (cesión) de metformina in-vitro de SPU-PLU-Met

La liberación de metformina se hizo a partir del material polimérico sintetizado. Aproximadamente 1.0 gramos se emplearon en un frasco de cristal con tapa (para evitar la evaporación del medio), se agregaron 100 mL de PBS preparado conforme a la Farmacopea de Estados Unidos Mexicanos (FEUM) (6.8 g de K_2HPO_4 en 100 mL de agua destilada desgasificada). El material se incubó a 37° C, tomando alícuotas a los tiempos 0, 5, 10, 15, 60, 60, 120, 180, 360, 600, 1440 (24 horas) y 10080 minutos (7 días). La lectura se realizó a 232 nm en celdas de cuarzo utilizando una alícuota de 3 mL, la cual fue inmediatamente se recuperaba con medio fresco a la misma temperatura, el medio se mantuvo en agitación constante [138].

En la **Figura 2.11** se muestra el liberación de metformina a partir de los materiales sintetizados en un intervalo de 7 días. La cantidad de metformina liberada está relacionada directamente con la cantidad de SR de cada material y se muestra en la Tabla 2.8. De esta manera SPU-PLU-MET 50% y SPU-PLU-MET 20% mostraron una de la metformina en un comportamiento con efecto ráfaga (Burst). Esto se debió principalmente a que el material SPU-PLU-MET 50 % tiene un mayor contenido de segmento rígido (SR) y el material SPU-PLU-MET 20% tiene un mayor contenido de Pluronic F127®, el cual es altamente hidrofílico, lo cual favoreció la liberación de metformina. La cantidad liberada de metformina fue de 40 µg, para Los materiales con 20 % y 50 % de SR en un periodo de 24 horas.

Tabla 2.8. Porcentaje de liberación de metformina en PBS pH 6.8 (Volumen 100 mL)

Poliuretano	% liberado 24 horas	% liberado 7 días	Masa liberada 24 horas (µg)	Masa liberada 7 días (µg)
SPU-PLU-MET 50%	3.42	3.46	4036	4092
SPU-PLU-MET 40%	3.71	3.92	3378	3567
SPU-PLU-MET 30%	2.79	3.51	1985	2497
SPU-PLU-MET 20%	8.75	8.80	394	3963

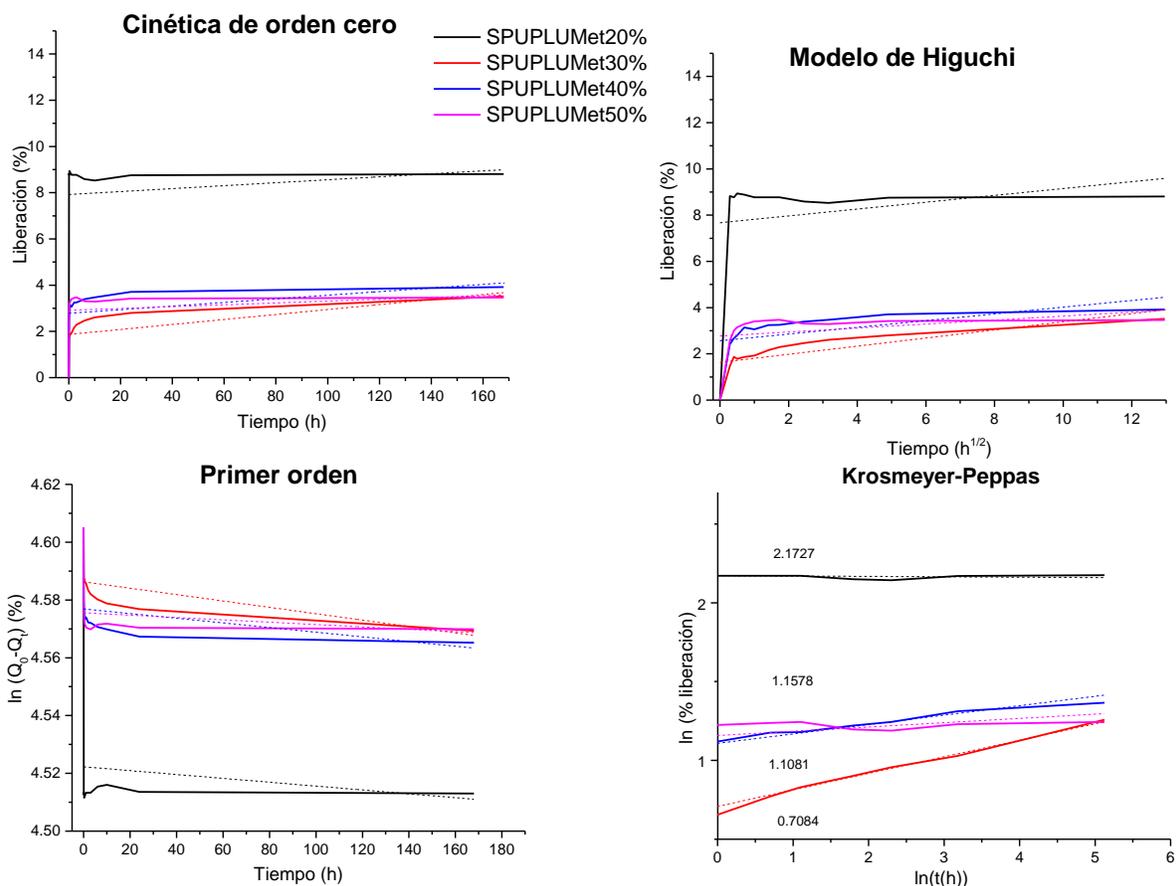


Figura 2.11 Liberación de metformina en medio búfer de fosfatos (USP) de SPU-PLU-Met 20%, 30%, 40% y 50% (datos ajustados a diferentes modelos de cinética de liberación)

En el caso de la liberación desde la superficie, el fármaco atrapado en la capa superficial de las películas de los polímeros obtenidos es liberado de manera instantánea al entrar en contacto con el medio. La liberación inicial en el caso de SPU-PLU-Met 20% fue 8% del contenido de metformina durante los primeros minutos, para después reducir la velocidad de liberación en este medio. Este comportamiento se repitió en los materiales SPU-PLU-Met 40 y 50% con liberaciones de 2.4 y 2.6% respectivamente en los primeros 5-10 minutos. En el caso de SPU-PLU-Met 30% se observó una menor velocidad de liberación con un porcentaje de liberación en los primeros 5-10 minutos de 1.4 a 1.8% de metformina contenida en el material polimérico estudiado. Este comportamiento de liberación nos da una idea de la rapidez con que se alcanza el estado de equilibrio donde los procesos de degradación hidrolítica ácida o enzimática controlan la velocidad de liberación de

metformina. En la Tabla 2.9 se muestran los coeficientes de correlación y las constantes cinéticas para los datos ajustados a un modelo cinético durante la liberación de metformina. Cabe destacar que el modelo que mejor se ajusta a la cinética de liberación para los materiales SPU-PLU-Met 30% y 40% es el de Korsmeyer-Peppas con una R^2 de 0.9913 y 0.9734 respectivamente. Dado que su coeficiente de difusión n fue de 0.0485 y 0.1125 respectivamente se considera un comportamiento

Tabla 2.9. Coeficiente de correlación y constantes cinéticas para los datos ajustados a un modelo cinético durante la liberación de metformina a partir de materiales poliméricos

Poliuretano	Orden cero		Primer orden		Higuchi		Korsmeyer-Peppas		
	R^2	k_0	R^2	k_1	R^2	k_H	R^2	k	n
SPU-PLU-MET 50%	0.0378	0.0064	0.4391	1.9831	0.1008	0.08595	0.0136	3.3888	0.0015
SPU-PLU-MET 40%	0.1359	0.0107	0.6444	1.7594	0.2654	0.1451	0.9734	3.7848	0.0485
SPU-PLU-MET 30%	0.3661	0.0078	0.9393	1.2004	0.5528	0.1756	0.9913	1.9865	0.1125
SPU-PLU-MET 20%	0.0145	0.0039	0.2783	4.1703	0.0442	0.1480	0.0019	8.7093	0.003

CAPÍTULO 3.
CONJUGADOS POLÍMERO-FÁRMACO A BASE DE POLI-CAPROLACTONA,
HMDI Y METFORMINA
(SPU-PCL-MET)

3.1 Materiales

- 4-4'-metilen bis(ciclohexil isocianato) (HMDI)
- poli(ϵ -caprolactona) (PCL, PM=2000)
- N'N-dimetilformamida (DMF)
- Clorhidrato de metformina (di-metilbiguanida)

Cada uno de los reactivos empleados se almacenaron en condiciones de control de humedad y se procesaron antes de su uso en cada reacción. A continuación, se describe el proceso realizado para la obtención de estos materiales

Para la preparación de los materiales poli(uretano-urea) segmentados (PUUS) biodegradables, se siguió la metodología descrita por Solís-Correa *et al* en 2013 [146] igualmente descrita en el **Capítulo 2**. En esta reacción de síntesis se siguió el procedimiento de 2 etapas donde se utilizó poli- ϵ -caprolactona diol (PCL diol) con un peso molecular de 2000 g/mol como segmento flexible. Este diol reaccionó con 4,4'-metilen bis(ciclohexilisocianato) (HMDI) el cual fue colocado en exceso en presencia de 2-etilhexanoato de estaño (octoato de estaño, OctSn) como catalizador para formar el prepolímero durante 3 horas a 60° C y agitación constante en ambiente de nitrógeno. En la segunda etapa, el prepolímero resultante fue sometido a una reacción de extensión con metformina (dimetilbiguanida) para formar el segmento rígido (SR). Como disolvente en la síntesis se utilizó dimetilformamida (DMF) anhidra. Los reactivos fueron manipulados bajo atmósfera de nitrógeno y secados a 60° C en presión reducida durante 24 horas previas a la síntesis.

3.2 Síntesis en etapas

- 1.- Primera etapa: Obtención de prepolímero por medio de la reacción de la PCL diol con el diisocianato (HMDI) a 60°C y 0.3% de octoato de estaño como catalizador en disolución de DMF durante 4 h.

- 2.- Segunda etapa: Reacción el prepolímero obtenido en la etapa previa con cantidades equimolares del extensor de cadena por 2 h. Para incluir la metformina, esta se disolvió previamente en DMF a la cual se agregaron 500 μL de trietilamina (TEA) como secuestrante del ion cloro, para favorecer la solubilización.
- 3.- Lavado: El producto de reacción fue precipitado en agua destilada a 4° C para detener la reacción, se mantuvo en agitación constante por al menos 12 horas, para posteriormente ser lavado exhaustivamente con agua destilada para eliminar los residuos de la reacción. Finalmente, el producto fue secado a presión reducida a 60 °C por 24 h.
- 4.-Para la síntesis de los diferentes PUUS se siguió el procedimiento mencionado para obtener la proporción molar de 1:2.05:1:05 de PCL diol, HMDI y metformina se realizaron los cálculos para obtener proporciones de segmento rígido de 20%, 30%, 40%, 50%.
5. Segmento rígido modelo (HMDI-Met 100%), se empleó el material sintetizado previamente descrito en el **Capítulo 2**.

La molécula de poliuretano obtenida puede ser representada como:



Donde el polioliol (P) es la PCL; el diisocianato (D) HMDI, y el extensor de cadena metformina (E), a continuación, se muestra la **Figura 3.1** donde se muestra la síntesis de la serie con nomenclatura SPU-PCL-Met:

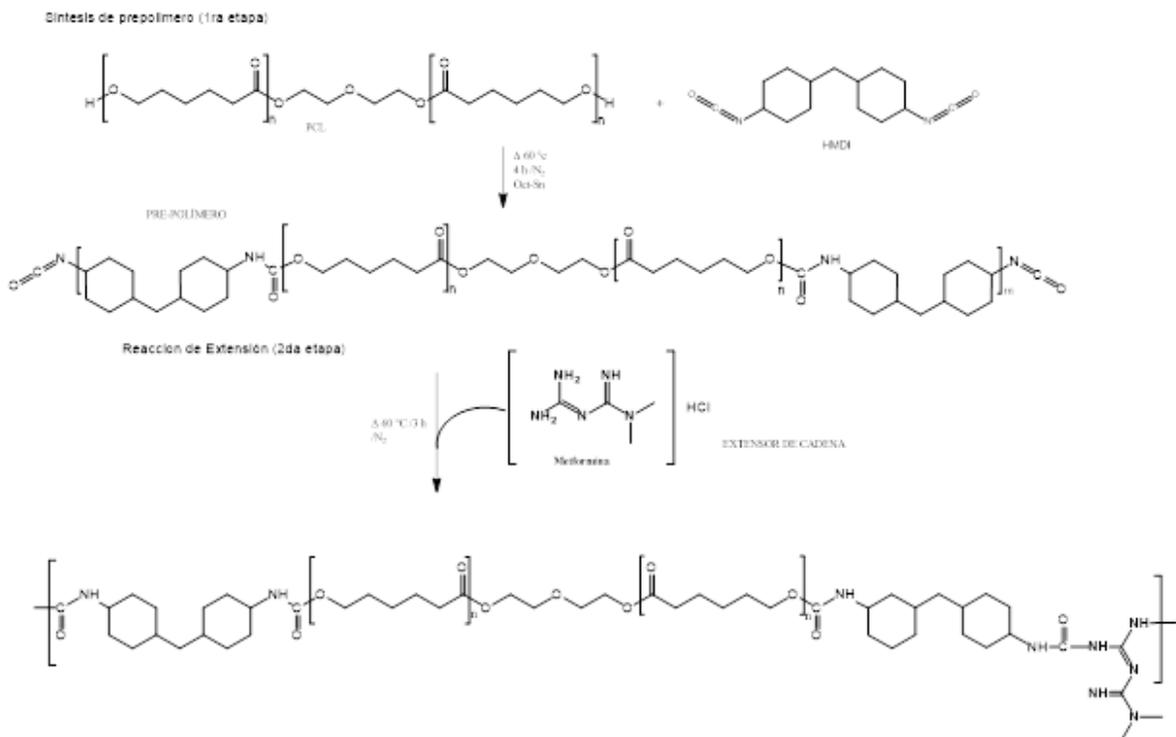


Figura 3.1 Mecanismo de reacción en la síntesis de la serie SPU-PCL-Met.

La nomenclatura y composición de las muestras obtenidas se menciona en la **Tabla 3.1**, donde se mencionan los nombres asignados a los materiales obtenidos.

Tabla 3.1 Nomenclatura de los poliuretanos obtenidos.

HMDI:Met (SR)	Abreviatura
Segmento rígido 20%	SPU-PCL-Met 20%
Segmento rígido 30%	SPU-PCL-Met 30%
Segmento rígido 40%	SPU-PCL-Met 40%
Segmento rígido 50%	SPU-PCL-Met 50%
Segmento rígido 100%	HMDI:Met 100%

3.3 Determinación de propiedades de SPU-PCL-Met

3.3.1 *Caracterización espectroscópica*

Una vez obtenidos los PUUS, se prepararon películas de 0.2 mm de espesor siguiendo la metodología descrita en el **Capítulo 2**.

3.3.2 *Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR)*

Los espectros de Infrarrojo con Transformada de Fourier fueron obtenidos con un espectrómetro marca Nicolet 8700 (Thermo-Fisher Scientific) usando el aditamento ATR (Reflexión Total Atenuada) configurado con un cristal de Seleniuro de Zinc (ZnSe) en el cual se colocaron las muestras. Cada espectro fue colectado en el intervalo de 4000 a 650 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} empleando el promedio de 50 barridos.

3.3.3 *Espectroscopía RAMAN*

Los espectros de RAMAN fueron obtenidos utilizando un espectrómetro marca Bruker Innova. Este dispositivo cuenta con una capacidad de colectar espectros en el intervalo Raman de 3300 a 100 cm^{-1} . Para esto está configurado con un láser de Argón con longitud de onda de 633 nm que fue utilizado como fuente de radiación al 50% de potencia para la excitación del material analizado a través de un lente objetivo de 50 x usando 10 ms de exposición.

3.3.4 *Resonancia Magnética Nuclear (^1H) y (^{13}C) RMN*

Los espectros de resonancia magnética nuclear para protón ^1H y ^{13}C fueron obtenidos a través de un espectrómetro de resonancia marca Variant/Agilent Premium Compact de 600 MHz (14.1 T), el cual utiliza un módulo de gradiente de campo pulsado y una sonda de 5 mm con isotopos para $^1\text{H}^{19}\text{F}/^{15}\text{N}$ - ^{31}P . Las muestras fueron preparadas disolviendo las muestras de los polímeros sintetizados en cloroformo deuterado (CDCl_3) en una proporción de 25 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ de disolvente.

3.3.5 *Espectroscopía de fotoelectrones emitidos por Rayos X (XPS)*

La espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X fue realizada en un espectrómetro K-Alpha X-Ray (Thermo Fisher Scientific) el cual cuenta con una configuración con una fuente monocromática de Aluminio ($\text{Al K}\alpha$) con una energía de 1486.6 electro volts (eV), 12 kV y 40 W de potencia. Para el análisis elemental se utilizó un tiempo de erosión de 20 segundos usando un cañón de iones de Argón (Ar) con 3 kV y 30 W de potencia. Las

evaluaciones de encuesta fueron grabadas a 100 eV con una energía de etapa de 1 eV, mientras que las evaluaciones de regiones detalladas fueron obtenidas con un paso de energía constante de 50 eV con un paso de energía de 0.1 eV. La presión de análisis fue de 2×10^{-9} mbar. Los datos obtenidos fueron analizados usando el software AAnalyzer versión 1.42 y procesados con Origin 9 (OriginLab Cop, Northhampton, Ma USA). La metodología para el análisis computacional de los resultados esta descrita por Herrera-Gómez en 2012 [134].

3.4 Caracterización Térmica

3.4.1 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

La evaluación de las transiciones térmicas de los polímeros sintetizados fue determinada usando un calorímetro diferencial de barrido marca Discovery DSC (TA, Instruments, USA), en el cual se colocaron 5.5 mg ± 0.5 de muestra la cual fue encapsulada en una charola de aluminio y calentada de -10°C a 170°C con una rampa de calentamiento de 10°C por minuto en una atmosfera de nitrógeno para el primer ciclo. Luego, la muestra es enfriada y mantenida isotérmicamente a -10°C durante 5 minutos para ser calentada nuevamente a 170°C en un segundo ciclo. Cuando la temperatura de fusión (T_m) fue detectada se calculó el porcentaje de cristalinidad (X_c) del poliuretano usando la siguiente ecuación:

$$\%X_c^{DSC} = \frac{\Delta H_f}{W_{ss} \Delta H_f^0} \times 100 \quad \text{Ecuación 2.1}$$

Donde:

ΔH_f es la entalpía de fusión de los poliuretanos segmentados obtenidos experimentalmente usando **DSC** durante la primera corrida, W_{ss} es la fracción másica teórica del segmento flexible y ΔH_f^0 es la entalpía del 100% de la fracción flexible (**PCL**) reportada como **140 J·g⁻¹**

3.4.2 Análisis Termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico fue realizado en el equipo TGA-7 (Perkin-Elmer). Se analizaron 25 mg de muestra en un intervalo de temperatura de 50 a 700°C con una rampa de calentamiento de $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ en una atmósfera de nitrógeno. La pérdida de masa de la primera derivada fue analizada usando Origin 9 (OriginLab Cop, Northhampton, Ma USA) y se determinó la temperatura de descomposición (T_d) como el pico después de obtener la derivada de la curva de masa residual contra la temperatura.

3.4.3 Análisis Dinámico Mecánico (DMA)

Mediante esta prueba se obtuvo el módulo de almacenamiento (E') y la $\tan \delta$: Se realizó en un equipo DMA-7 (Perkin-Elmer). Para este análisis se emplearon probetas rectangulares de 15-20 mm de largo, 4 mm de ancho y 0.1 mm de grosor. El equipo fue operado en el modo de extensión con una carga estática de 80 mN y carga dinámica de 65 mN, en una frecuencia de 1 ciclo por segundo (1 Hz). La muestra se analizó en un intervalo de temperaturas desde -100°C hasta 100°C usando una tasa de incremento de la temperatura de 5°C min^{-1} .

3.5 Caracterización estructural

3.5.1 Difracción de Rayos X (DRX)

Para el análisis de la difracción de rayos X se empleó el difractómetro Siemens D-5000 con una fuente de radiación de cobre $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1.5416 \text{ \AA}$), en intervalo de 2θ de 5° a 60° , con un paso de 3 segundos y una ventana de 0.02° (2θ). El porcentaje de cristalinidad se calculó usando la siguiente ecuación:

$$\% X_c^{DRX} = \frac{A_c}{A_a + A_c} \times 100 \quad \text{Ecuación 2.2}$$

Donde A_a es el área bajo la fracción amorfa y A_c es el área bajo la fracción cristalina.

3.5.2 Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Para este análisis se utilizó el equipo JEOL JMS 6360LV con un voltaje de aceleración de 20 kV. Este microscopio electrónico de barrido posee un aditamento que permite realizar microanálisis superficial el cual utiliza un espectrómetro de energía dispersiva de rayos X (INCA Energy 200). Los análisis se realizaron utilizando un tiempo de corrida de 300 segundos.

3.6 Estudios de degradación

Los estudios de degradación acelerada fueron realizados en ambientes hidrolíticos y oxidativos usando agua destilada, solución de HCl 2 N, solución de NaOH 5 M, y una solución de H_2O_2 al 30% (P/P). Para este análisis se emplearon muestras de 1 cm^2 . Se utilizó un matraz de bola de 500 mL con sistema de reflujo y columna de enfriamiento para evitar la pérdida del medio, se calentaron por 24 horas a 100°C ($n=3$), el promedio pérdida de masa de las muestras se determinó gravimétricamente.

La liberación de metformina se hizo a partir de la masa inicial de material polímero (g) indicada en la **Tabla 3.2**.

Tabla 3.2 Masa inicial de polímero empleado para la evaluación de la degradación en condiciones aceleradas.

Material polimérico	Masa (gramos)
SPU-PCL-Met 20%	1.0193
SPU-PCL-Met 30%	0.9549
SPU-PCL-Met 40%	1.0840
SPU-PCL-Met 50%	1.0044

3.7 Evaluación de la citotoxicidad in-vitro

3.7.1 *Cultivo celular*

Para la evaluación de la citotoxicidad se emplearon células multipotenciales mesenquimales (DPSC) extraídas de pulpa dental. Estas células son obtenidas por donación de sujetos que se extraen piezas dentales terceras molares por indicación de diagnóstico ortodóntico. Estas células son cultivadas en frascos de cultivo T-25 usando 5 mL medio de cultivo Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado con 10% de suero fetal bovino (10% SFB), 2 mM de glutamina y 1% de antibióticos (G penicilina 100 U/mL, estreptomina 100 mg/mL) a 37° C y atmósfera 95%:5% de O₂:CO₂. Una vez que las células alcanzaron 80% de confluencia, fueron lavadas con solución buffer salino de fosfatos (PBS) y desprendidas usando una solución de 0.25% de tripsina-EDTA. Las células en suspensión fueron centrifugadas en una mezcla de DMEM:PBS 1:2 a 1200 rpm durante 10 minutos a 37° C, el sobrenadante fue desechado y el botón celular fue resuspendido usando medio de cultivo fresco (10% SFB), se realizó un conteo celular usando hematocitómetro Neubauer para cuantificar el número de células viables por microscopía óptica usando un objetivo con x10 de aumento.

3.7.2 *Evaluación de la citotoxicidad*

Para la evaluación de la citotoxicidad se utilizó la metodología descrita en la norma ISO 10993-12 usando el método indirecto [136], [137]. Esta norma indica la utilización de extractos líquidos. Para la obtención de estos extractos se emplearon discos de los materiales obtenidos previamente esterilizados por radiación UV durante 20 minutos. Los materiales fueron expuestos un total de 10 minutos por lado en la campana de flujo laminar con la lámpara de UV encendida. Una vez pasado este tiempo se sumergieron en medio de cultivo C con una proporción de 100:2.5 (mg/mL) muestra: medio, durante la obtención

de estos extractos no se empleó suero fetal bovino. La muestra con el medio de cultivo fue incubado a 37° C y ocasionalmente agitado para asegurar una distribución homogénea del extracto. Después de 1, 4 y 7 días de incubación los extractos líquidos fueron evaluados en los cultivos celulares.

Para la evaluación del efecto de los extractos, las células DPSC fueron sembradas en una caja de 96 pozos con una densidad de 5×10^3 células por pozo y 100 μ L de medio de cultivo (n=3). Una vez sembradas se dejaron 24 horas para que estas células se adhirieran a la superficie de la caja de cultivo. Para evaluar la viabilidad celular se utilizó la prueba de reducción de resazurina (RZ) a su forma reducida resofurina. La RZ fue agregada según las especificaciones del fabricante (CellTiter-Blue Promega) (20% V/V de medio) y cultivada a 37° C por 4 horas. Una vez pasado el tiempo de incubación, las células fueron leídas usando lector de placas marca Cytation 3 a 570 nm y 600 nm de longitud de onda. Los datos obtenidos se analizaron como el porcentaje de diferencia en reducción entre las células control y las tratadas en el ensaño de viabilidad siguiendo la descrita en el **Capítulo 2** (Ecuación 2.3):

$$\%viabilidad = \frac{(O_2A_1)-(O_1A_2)}{(O_2P_1)-(O_1P_2)} \times 100 \quad \text{Ecuación 2.3}$$

donde:

O_1 es el coeficiente de extinción molar (E) de la Rezosurina Reducida a 570 nm

O_2 es el E de la RZ oxidada a 600 nm

A_1 es la absorbancia de la muestra a 570 nm;

A_2 es la absorbancia de la muestra a 600 nm;

P_1 es la absorbancia del control positivo (células con RZ) a 570 nm;

P_2 es la absorbancia del control positivo a 600 nm.

Para evaluar el efecto citotóxico de los extractos de los materiales, los resultados fueron normalizados respecto al control negativo y se analizaron mediante análisis de varianza ANOVA ($p < 0.05$)

3.8 Liberación (cesión) de metformina in-vitro de SPU-PCL-Met

La evaluación de la liberación de metformina se realizó siguiendo los lineamientos establecidos en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM), usando un vaso de vidrio con tapa conteniendo 100 mL de solución salina búfer de fosfatos con pH de 6.8

y una concentración de 0.025 M previamente degasificado. Para ajustar el pH de la solución al indicado se empleó una solución de NaOH 0.1 M. Las cantidades evaluadas se indican en la **Tabla 3.3**. El medio receptor fue incubado a 37° C y agitado continuamente. Se extrajeron muestras de 1 mL al tiempo 0, y cada 5 minutos durante los primeros 30 minutos, luego cada hora hasta la hora 3, a partir de este tiempo se realizaron tres medidas más, a la hora 6, a la hora 10 y a la hora 24 de haber iniciado el experimento. Cada vez que se extraía una alícuota, el mismo volumen se reponía con medio fresco con el fin de mantener el volumen inicial constante. Las muestras recolectadas fueron filtradas utilizando una membrana de Nylon de 0.25 µm (Acrodisc®) y leídas en espectrómetro de UV-Vis usando una cubeta de cuarzo de 1 cm². Para la cuantificación de metformina se construyó una curva de calibración usando metformina HCl en una solución de (NaOH 0.01 N) en un intervalo de concentración de 0-50 µg/mL.

Tabla 3.3 Cantidad de metformina por muestra evaluada en la prueba de cesión de los materiales SPU-PCL-Met

Material polimérico	Masa (g)	Cantidad de Metformina (mg)
SPU-PCL-Met 20%	0.9642	45
SPU-PCL-Met 30%	1.0092	71
SPU-PCL-Met 40%	0.982	91
SPU-PCL-Met 50%	1.0457	118

3.9 Resultados y discusión

3.9.1 Análisis espectroscópico FTIR/Raman

Los espectros de FTIR y de Raman de la serie PCL se muestran en la **Figura 3.2**. Los polímeros sintetizados muestran bandas de absorción a 3370–3357 cm⁻¹ por el estiramiento del enlace N-H correspondiente al uretano, y vibraciones de estiramiento asimétrico y simétrico en el número de onda de 2925 cm⁻¹ y 2850 cm⁻¹ pertenecientes al grupo -(CH₂)- presente en la PCL y HMDI. El estiramiento del grupo carbonilo (C=O) aparece en el número de onda 1730 cm⁻¹ y 1635 cm⁻¹ el cual nos incluye los grupos éster (COOC) de la PCL y del grupo urea, el enlace C=O del uretano tiende a aparecer alrededor de 1715 cm⁻¹, sin embargo, en los materiales SPU-PCL-Met queda enmascarado debido a las señales obtenidas de los carbonilos de PCL. La señal correspondiente a la Amida II, las cuales pertenecen a la flexión del enlace N-H y al estiramiento del enlace C-N en el grupo uretano

se localizaron en 1557 cm^{-1} y 1237 cm^{-1} respectivamente. En el material con 100% segmento rígido la señal a 1150 cm^{-1} es de baja intensidad, pero en cambio en los materiales con 20%, 30%, 40% y 50% de segmento rígido aparece la señal a $1159\text{-}1164\text{ cm}^{-1}$ atribuido a los grupos C-O-C existentes en el segmento flexible de la PCL. A 1636 cm^{-1} se ha encontrado una señal del grupo HNCONH que pertenece al bamboleo o movimiento de tijera de los hidrógenos de la urea formada, esto se presenta debido a la reacción que acontece en los grupos residuales de isocianato del prepolímero con los grupos amino de la metformina y el agua durante el proceso de lavado del material polimérico al momento de su precipitación después de la síntesis. Por otro lado, metformina puede ser identificada mediante las absorciones a 1626 cm^{-1} (deformación N-H), 1456 cm^{-1} (deformación N-H), 1418 cm^{-1} (deformación N-H), 1065 cm^{-1} (estiramiento C-N), $931\text{-}935\text{ cm}^{-1}$ (deformación fuera del plano del enlace N-H), $731\text{-}735\text{ cm}^{-1}$ (bamboleo N-H) [139].

Mediante espectroscopía Raman es aún más claro que los grupos carbonilos son menos intensos que en infrarrojo y estos aumentan a un menor contenido de SR (20%) y están ausentes en el compuesto con 100% de SR, es decir, sin PCL.

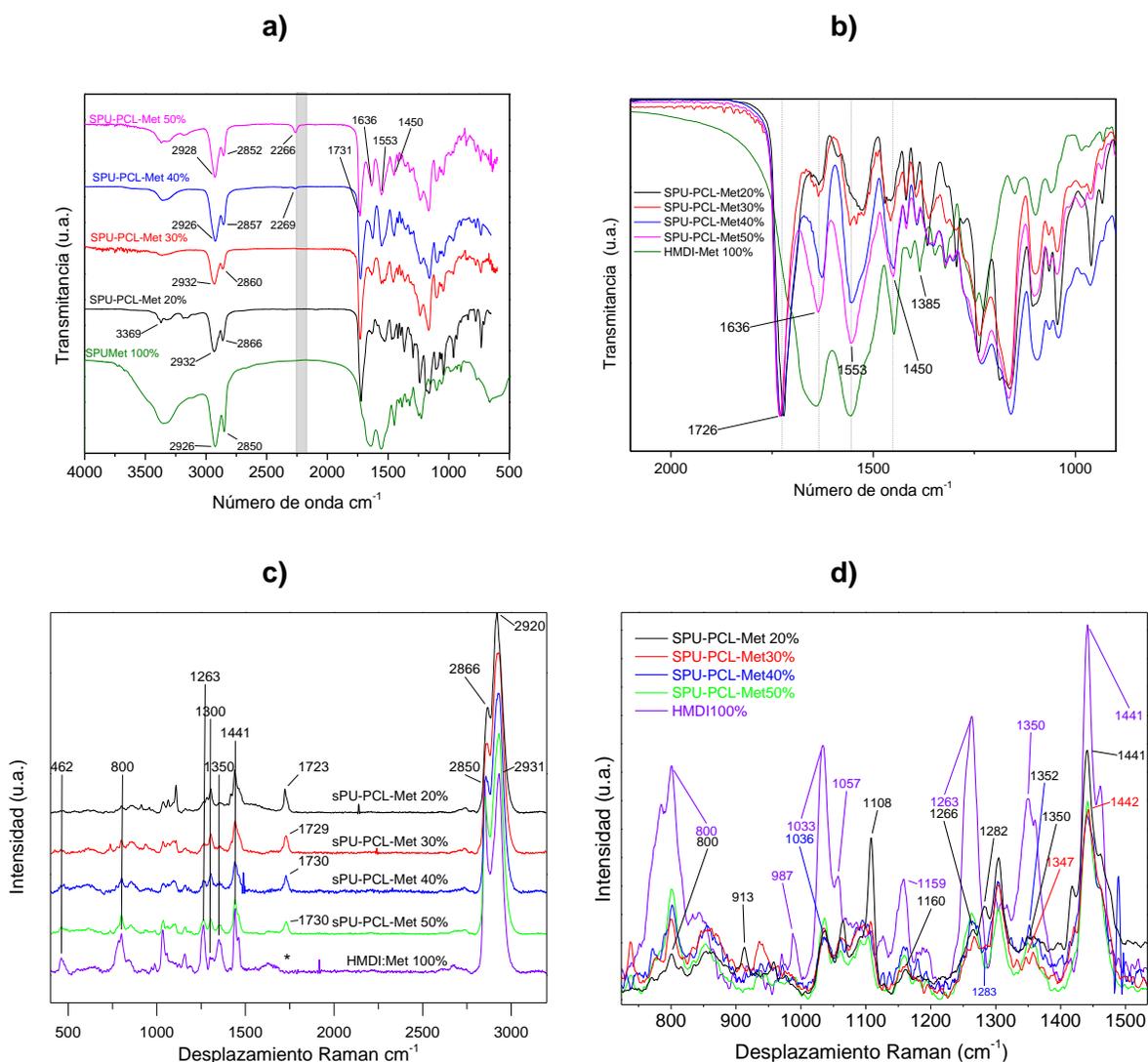


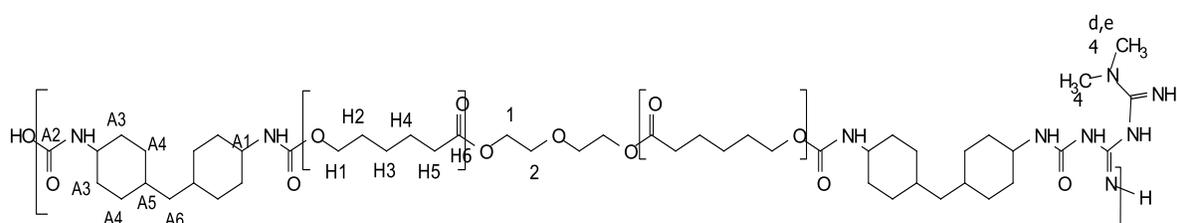
Figura 3.2 Espectros vibracionales de SPU-PCL-Met, (a) y (b) FTIR, (c) y (d) RAMAN

3.9.2 Resonancia Magnética Nuclear de protón (1H) y carbono (^{13}C).

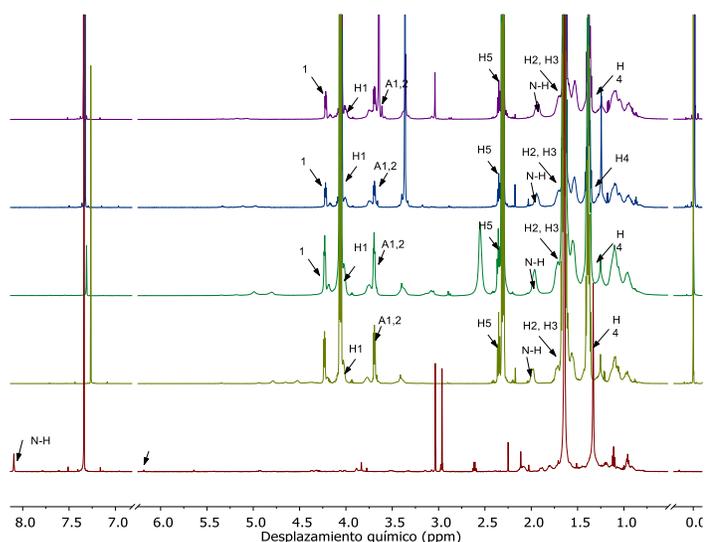
Para la determinación de metformina en los polímeros sintetizados con PCL se realizó 1H RMN y ^{13}C RMN. Los espectros obtenidos para la resonancia de protón (ver **Figura 3.3 a y b**) mostraron señales a 3.39 ppm de desplazamiento, señales típicas de protones adyacentes a átomos de nitrógeno (N) del grupo uretano y del grupo amina.

En el espectro se aprecian las principales señales relacionadas con el segmento flexible (SF) Policaprolactona (PCL). Señales para los protones del ciclohexano (HMDI) en desplazamientos de 3.7 ppm junto con las señales del metileno (CH_2) que forman una serie de picos en desplazamientos entre 1,47 y 1.64 ppm, los cuales están presentes en el

segmento rígido (HMDI) y en el segmento flexible (PCL). Aunado a esto encontramos una señal a 8.1 ppm, aunque solo pudo detectarse en el material HMDI:Met. Por otro lado, señales a 3.70 ppm (O-CH₂), 4.06 ppm (OCHO-CH₂) y 1.68 ppm (CH₂-CH₂) se asignaron a los grupos presentes en la estructura química de PCL. La señal observada a 1.5 ppm se relaciona con los grupos metilo de la metformina, señal que aumento de tamaño conforme aumento la cantidad de SR en el material, como se esperaba, en concordancia con lo reportado por [140]. En relación con los resultados obtenidos en la resonancia de ¹³C, se observó que las señales relacionadas al grupo O-C en PCL se presentaron en un desplazamiento químico de 67.7 69.26, y 64.5 ppm, mientras que el grupo CH₂ se localizó en desplazamientos 69.47 ppm para los materiales obtenidos. Por otro lado, los desplazamientos para CH₃ de la metformina, encontrados en 13.65 y 13.52 ppm en SPUPLUMet, estuvieron presentes a 32.39 ppm. A 173.35 ppm se detectó a C=O.



a)



3.9.3 Composición elemental superficial por XPS y EDX

Los resultados mostraron un incremento en el contenido de nitrógeno conforme de aumenta la concentración de metformina, esto es, con el aumento de los segmentos rígidos. La presencia de varios tipos de nitrógeno es evidente en el espectro XPS (**Figura 3.4**) en la zona específica de 410 a 395 eV donde nitrógenos provenientes de los uretanos (OOCNH), ureas (HNCONH) y aquellos provenientes de la metformina (C=N) fueron detectados durante la deconvolución. El átomo de carbono fue detectado a 285 eV (C-C), a 287 eV (C-O) y a 289 eV (C=O y C-N) mientras que el oxígeno fue observado a 532 eV y 534 eV (C=O). De igual manera, el nitrógeno se observó a 399 eV (C-N) y 401-403 eV (*NH). Los segmentos de poli caprolactona de los PUUS, exhiben carbonos a 285 eV y picos de oxígeno a 533-534 eV. Al igual que con la serie SPU-PLU-Met, las señales para el carbono de los enlaces C-O se reduce mientras aumenta la señal para el enlace C-O en proporción al aumento del SF, de igual manera, la formación del enlace uretano (O=C-O-C), el pico de carbono y de oxígeno aumentan. El modelo del segmento rígido, HMDI-Met 100%, solo contiene enlaces urea, no contiene enlaces uretano, por lo tanto, solo tendrá energías de enlace del átomo de carbono a 284.5 eV y 285.5 eV, igual que en el **Capítulo 2**, el análisis no puede diferenciar entre los carbonos CH₂ y CH provenientes del HMDI o en el enlace C=N de la metformina. Por último, podemos afirmar la presencia de metformina debido a presentación de los picos a 401-403 eV (C=N) en todos los materiales SPU-PCL-Met analizados.

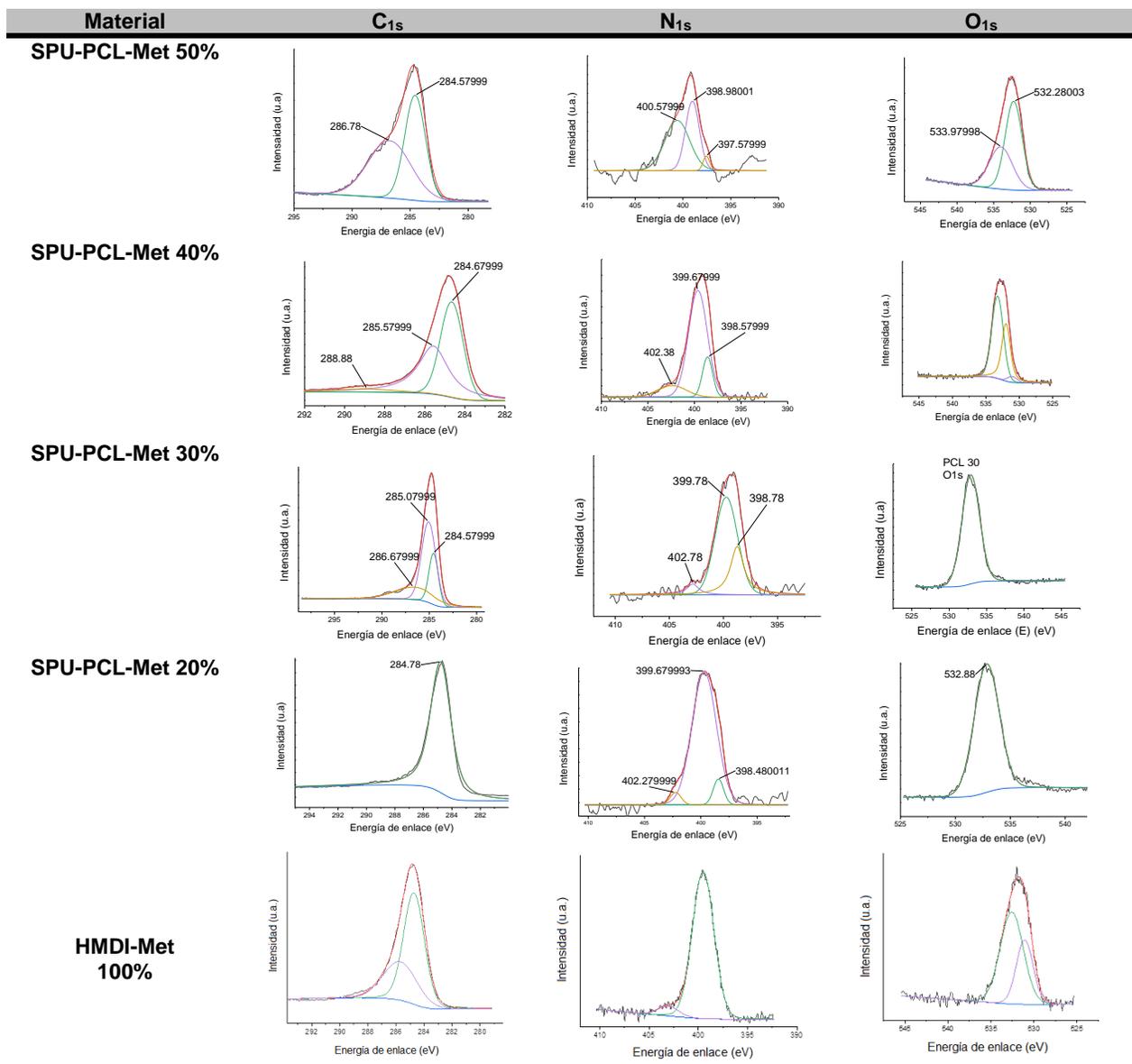


Figura 3.4 Espectros XPS de SPU-PCL-Met para carbono, oxígeno y nitrógeno.

La **Tabla 3.4** muestra la composición elemental obtenida tanto por EDX y por XPS. En este caso, los resultados del porcentaje atómico de cada elemento muestran una tendencia de disminución del contenido de nitrógeno, a excepción del material con 40% de SR. Es importante relacionar la tendencia de aumento de contenido de átomos de carbono conforme aumenta el SR y la tendencia de disminución del átomo de oxígeno, de igual manera, conforme aumenta SR. Sin embargo, el contenido de átomos de nitrógeno se mantiene dentro de un intervalo de 1.5-1.9% para los materiales, menos para el que tiene 40% de SR. Cabe destacar que esta técnica es superficial, hasta 10 nm. Por otro lado, en

este material podemos apreciar claramente la tendencia de disminución de oxígeno cuando aumentamos la cantidad de segmento rígido (menor cantidad de PCL fue empleada durante la síntesis).

Tabla 3.4 Composición porcentual de los elementos atómicos que integran los materiales sintetizados para la serie SPU-PCL- Met

Material	Técnica	Porcentaje Atómico de cada elemento		
		C	N	O
SPU-PCL-20%	EDX	66.1% ± 0.88	6.76 ± 1.32	27.34 % ± 1.07
	XPS	93.83%	1.9%	4.27%
SPU-PCL-30%	EDX	74.56% ± 0.05	--	25.25% ± 0.05
	XPS	92.22%	1.76%	6.02%
SPU-PCL-40%	EDX	73.33% ± 1.18	3.28% ± 1.85	23.63% ± 0.69
	XPS	92.76%	2.89%	4.35%
SPU-PCL-50%	EDX	76.95% ± 0.20	--	22.77% ± 0.175
	XPS	81.01%	1.51%	17.48%
100%	EDX	72.03% ± 0.81	14.35% ± 1.06	13.26 % ± 0.29
	XPS	---	---	---

3.9.4 Propiedades térmicas (DSC, TGA, DMA)

Los termogramas se muestran en la **Figura 3.5** con la característica de que solo a bajos contenidos de segmento rígido, como en el caso de SPU-PCL-Met 20%, se detectan transiciones de fusión correspondientes a la PCL [147] y que este evento térmico no se detectó en los materiales con 30%,40%, 50% o 100% de SR. Esto se puede relacionar con una falta de organización de la estructura del polímero sintetizado en un orden semicristalino y que esto solo ocurre cuando el SR es lo suficientemente bajo como para modificar significativamente el grado de cristalinidad de un material. Esto se relaciona con la ausencia de nucleación molecular o la falta de organización que permite que los núcleos de cristalización se expandan y crezcan por lo que se produce un aumento en la dispersión de rayos X.

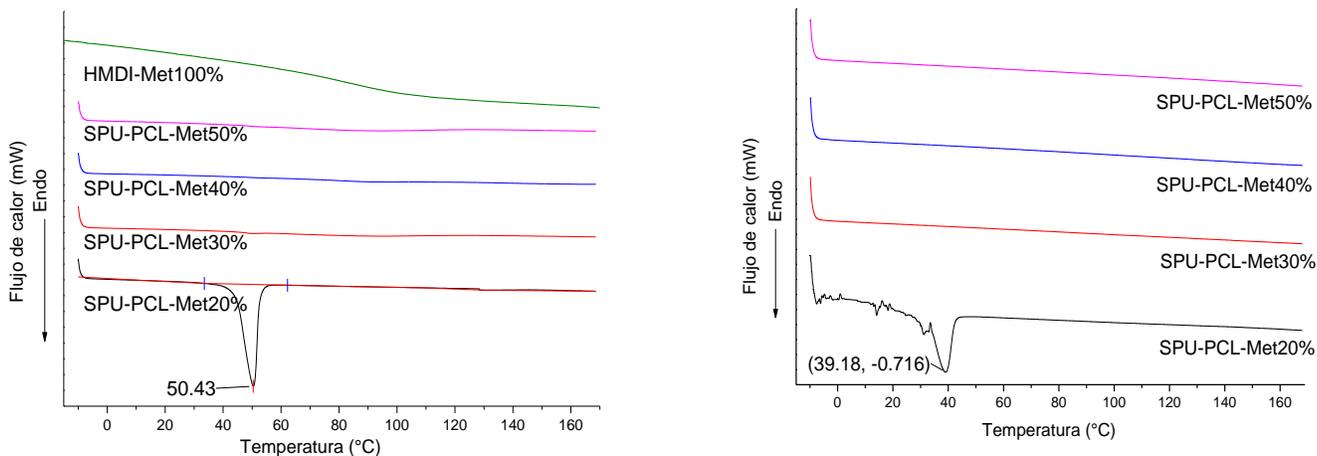


Figura 3.5 Termograma de DSC de SPUPCLMet

Sin embargo, el porcentaje de cristalinidad desaparece con la cantidad de segmento rígido como se muestra en la **Tabla 3.5** y solo el material con 20% de SR muestra un fracción cristalina debido a la presencia de la PCL (50° C).

Tabla 3.5. Propiedades térmicas de SPU-PCL-Met

Poliuretano	Temperatura del pico (° C) 1ra corrida	Temperatura del pico (° C) 2da corrida	Cristalinidad por DSC (%)	Cristalinidad por DRX (%)
SPUPCLMET 50%	--	--	--	-
SPUPCLMET 40%	--	--	--	--
SPUPCLMET 30%	--	--	--	--
SPUPCLMET 20%	50.4	39.2	41.9	38.7
HMDI-MET 100%	-	-	-	-

3.9.4.1 Análisis Termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico mostró al menos dos temperaturas de descomposición para los PUUS con 20%, 30%, 40% y para el modelo de segmento rígido (SR), HMDI:Met 100%, mientras que para el poliuretano sintetizado con 50 % de segmento rígido (SR), se observaron tres temperaturas de descomposición, como se muestra en la **Figura 3.6 (a)**.

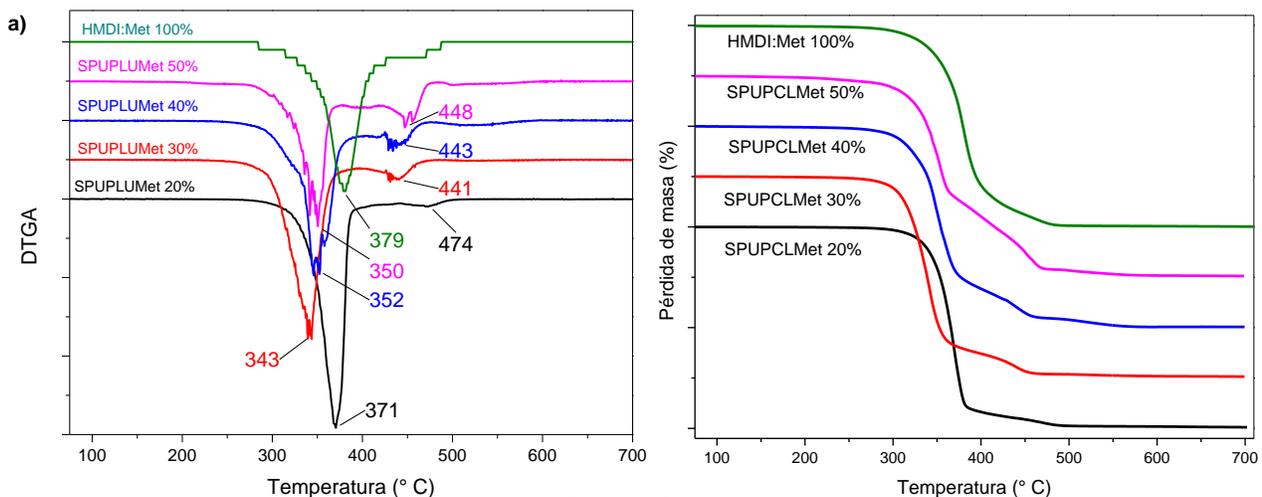


Figura 3.6 Termogramas de la serie SPU-PCL-Met que muestran las temperaturas de descomposición. a) Curva DTGA b) % de pérdida de masa (TGA)

Para el polímero SPU-PCL-Met 20 % la $T_{d1}=371^{\circ}\text{C}$ y $T_{d2}=474^{\circ}\text{C}$, con un porcentaje de degradación de 93% y 3% respectivamente, mientras que para SPU-PCL-Met 30% $T_{d1}=343^{\circ}\text{C}$ y $T_{d2}=441^{\circ}\text{C}$ con porcentajes de degradación de 83% y 9% respectivamente.

Para SPU-PCL-Met 40% $T_{d1}=352^{\circ}\text{C}$ y $T_{d2}=443^{\circ}\text{C}$ con un porcentaje de degradación de 73% y 9% respectivamente. Por último, para SPU-PCL-Met 50% se encontraron tres temperaturas de descomposición térmica, $T_{d1}=350^{\circ}\text{C}$, $T_{d2}=401^{\circ}\text{C}$ y $T_{d3}=452^{\circ}\text{C}$, con porcentajes de degradación de 61%, 13% y 19% respectivamente. Estos resultados demuestran que todos los polímeros de la serie SPU-PCL-Met también son térmicamente estables por debajo de 300°C con una ligera disminución de la estabilidad (T_{d1}) $371^{\circ}\text{C} \rightarrow 343^{\circ}\text{C}$ ($\Delta T=28^{\circ}\text{C}$). La PCL pura muestra una temperatura de descomposición 365°C correspondiente a la pirólisis. La degradación térmica en un ambiente inerte (atmósfera de nitrógeno) produce la ruptura de la cadena de poliéster mediante una reacción de pirólisis del éster con la subsecuente liberación de CO_2 , H_2O y la formación de grupos carboxílicos (ácido carboxílico). Este proceso se ha descrito por *Vogel y Siesler* [148] que libera ácido 5-hexenóico. Por otro lado, la metformina pura muestra dos temperaturas de descomposición a 255.6°C y a 311°C . De esta manera podemos ver como ocurre una disminución de la T_{d1} debido a una disminución de la fase condensada del material proporcional al aumento del porcentaje de SR que se incorpora en el material. Este fenómeno también nos puede indicar de un proceso de internalización de la fracción rígida del PUUS dejando expuesta una parte de la cadena polimérica que es más sensible a la

degradación térmica, lo cual también ayudaría a explicar la presencia de una segunda etapa de degradación. Por otro lado, la relación de la degradación con el grado de cristalinidad nos muestra una relación entre la T_{d1} y la cristalinidad. Análisis Dinámico-Mecánico (DMA)

El Análisis Dinámico-Mecánico mostró que la transición alfa comúnmente asociada a la temperatura de transición vítrea (T_g) de un polímero, está cercana a los -40°C para SPU-PCL-Met 20 % y a -35°C para SPU-PCL-Met 50 % lo cual nos muestra una tendencia a la disminución de la temperatura de T_g en función del aumento de segmento rígido (SR) (**Figura 3.7**).

En los termogramas de DMA (**Figura 3.7**) se aprecia la temperatura de transición vítrea (T_g) de la fase amorfa de la PCL. La transición se presenta como un pico ancho alrededor de -39°C es intenso a bajos contenidos de segmentos rígidos (30%) y disminuye en intensidad y se desplaza a temperaturas mayores conforme se aumenta el contenido de segmentos rígidos (50%). De este análisis también observamos que el módulo de almacenamiento es mayor para bajos contenidos de segmentos rígidos o altos contenidos de PCL debido a la mayor cristalinidad de esta muestra, similar a los resultados obtenidos mediante DSC. Esto puede explicarse debido a dos situaciones: 1) la formación de dominios cristalinos en el interior del material polímero de tamaños muy pequeños de tal manera que la periodicidad no se mantiene, lo cual produce un material con características amorfas, y a 2) la características hidrofóbica de la Policaprolactona afecta la conformación tridimensional del material polimérico debido a las interacciones entre este material y las características hidrofílicas de la metformina y el enlace uretano-urea. Por otro lado, se observó un ligero aumento en el módulo de almacenamiento conforme se aumentaba el contenido de segmentos rígidos, lo cual se relaciona directamente con las interacciones de corto y largo alcance entre los grupos uretano-urea que aumenta en proporción con el segmento rígido.

3.9.5 Propiedades Mecánicas Mediante (DMA)

El Análisis Dinámico Mecánico también nos permite interpretar la dependencia entre el módulo de almacenamiento (E) y la temperatura ($^\circ\text{C}$). El módulo de almacenamiento inicial a -100°C se presentó con mayor valor para SPU-PCL-Met 30 % y SPU-PCL-Met 50 % (3.39×10^3 MPa) y (2.14×10^3 MPa) respectivamente (**Figura 3.7**). Sin embargo, a 25°C , el módulo de almacenamiento disminuyó a 109.09 MPa, 18.09 MPa, 37.93 MPa y 387.48 MPa para SPU-PCL-Met 20 %, SPU-PCL-Met 30 %, SPU-PCL-Met 40 % y SPU-PCL-Met

50 %, respectivamente. A 37° C, temperatura corporal y cercana a la temperatura de fusión, los valores del módulo de almacenamiento disminuyeron a 64.23 MPa, 15.56 MPa, 27.85 MPa, y 343.5 MPa de manera correspondiente a los materiales mencionados.

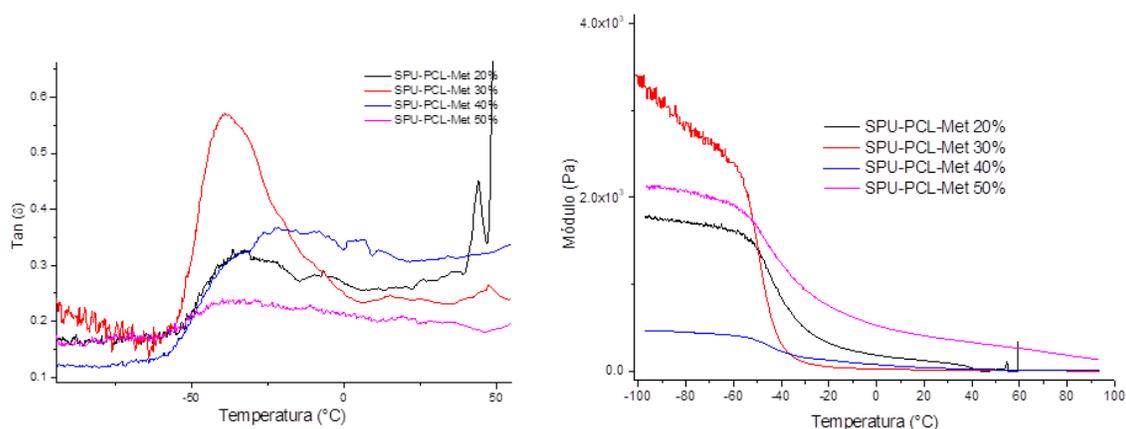


Figura 3.7 Termograma de DMA de SPU-PCL-Met

Finalmente, a 60° C el módulo de almacenamiento fue de 0 MPa, 10.08 MPa, 15.72 MPa y 263.92 MPa. A esta temperatura (60° C), se observa el posible efecto del entrecruzamiento de las cadenas poliméricas durante el calentamiento el cual está presente de manera excepcional en el material SPU-PCL-Met 50%, sin embargo, el material con 20% de SR falló y perdió su integridad física perdiendo el módulo de almacenamiento. Después de esta temperatura, SPU-PCL-Met 50% exhibió el mayor módulo de almacenamiento, lo cual nos sugiere un efecto de reforzamiento debido a la presencia de segmento rígido (SR). La **Tabla 3.6** resume las propiedades dinámico-mecánicas de estos polímeros.

Tabla 3.6 Dependencia del módulo de almacenamiento con la temperatura

Material	Módulo de almacenamiento (MPa) 25° C	Módulo de almacenamiento (MPa) 37° C	Módulo de almacenamiento (MPa) 60° C
SPU-PCL-MET 20%	109.09	64.23	--
SPU-PCL-MET 30%	18.09	15.56	10.08
SPU-PCL-MET 40%	37.93	27.85	15.72
SPU-PCL-MET 50%	387.48	343.5	263.92

3.9.6 Determinación Estructural

En la **Figura 3.8** se muestran los patrones de difracción donde se puede apreciar claramente la naturaleza semicristalina y amorfa de los polímeros sintetizados de la serie SPU-PCL-Met, en este caso solo se presentan reflexiones a 21.37° , 21.95° y 23.63° las cuales pueden ser atribuidas a PCL. Estas difracciones solo están presentes en SPU-PCL-Met 20% y después desaparecen completamente, es decir, los demás materiales sintetizados son completamente amorfos. Sin embargo, a pesar de que la metformina es un compuesto cristalino y que debería ser más evidente a altos contenidos de segmentos rígidos, no se observó un aumento de la cristalinidad, posiblemente a que las características hidrofóbicas de PCL evito la formación de dominios cristalinos de metformina.

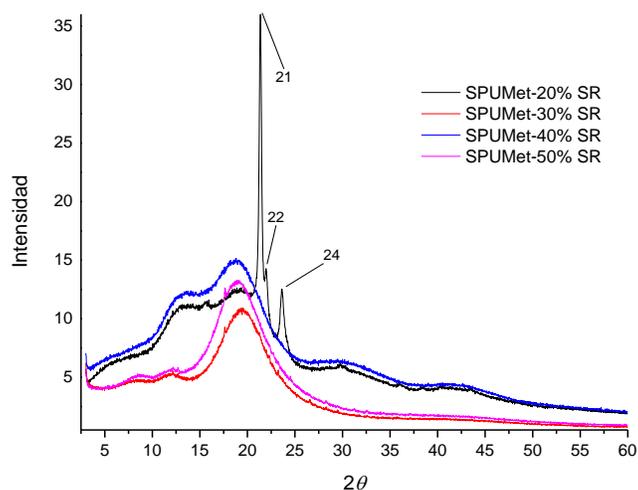


Figura 3.8 Patrones de difracción de SPUPCLMet

3.9.7 Estudios de degradación

El comportamiento de los materiales en función del medio en el que se encuentran rodeados nos permite comprender las vías por las cuales un material cambia sus propiedades mecánicas y fisicoquímicas [145], [149]. El cambio en estas propiedades es importante debido a las múltiples aplicaciones que tienen los biomateriales, como el caso de recubrimientos de marcapasos e injertos vasculares, en los cuales se puede considerar que los biomateriales son bioestable [145]. Por otro lado, el ambiente en el cual se encuentran los tejidos en el cuerpo suelen ser condiciones que aceleran la degradación de los materiales sintéticos debido a la presencia de ambientes ácidos, oxidantes o a la calcificación [145]. Un ejemplo de estos ambientes es el producido por los neutrófilos y

monocitos, células del sistema inmunológico que liberan ácido hipocloroso (HClO) e hidrolasas lisosomales como parte de una reacción contra objetos extraños[150]. Al igual que en el **Capítulo 2**, se utilizó agua destilada, peróxido de hidrogeno 30 %, solución de ácido clorhídrico 2 N y solución de hidróxido de sodio 5 M. Los resultados se muestran en la **Tabla 3.7**. Al igual que con las muestras preparadas con PCL, el agua destilada causó solo una pequeña pérdida de masa en el material, siendo mayor en el material SPU-PCL-Met 20% (10.8% ± 2.11 %) y menor en SPU-PCL-Met 50% (2.49 % ± 1.88 %). Sin embargo, la pérdida de masa se incrementó en la degradación ácida y alcalina, siendo prácticamente completa en la solución de peróxido de hidrógeno. Bajo condiciones ácidas y alcalinas, la degradación de SPU-PCL-Met 50 % fue menor, debido a una mayor estabilidad en la masa residual cercana al 43 % y 48%. En contraste con SPU-PCL-Met 20 %, que solo tuvo una masa residual entre el 30 y 35% de su masa original.

Tabla 3.7 Porcentaje de pérdida de masa después de la degradación hidrolítica de SPU-PCL-Met

Poliuretano	H ₂ O	H ₂ O ₂	HCl	NaOH
SPU-PCL-Met 50%	2.49±1.88	100	57.11±2.15	52.3±1.58
SPU-PCL-Met 40%	5.49±3.43	100	60.5±2.1	58.5±2.44
SPU-PCL-Met 30%	6.05±3.51	100	63.9±7.18	69.5±3.57
SPU-PCL-Met 20%	10.8±2.11	100	74.3±13.2	71.6±4.04

3.9.8 Evaluación de la citotoxicidad in-vitro

Todos los materiales analizados mostraron una viabilidad dentro de lo esperado, entre el 75 y 100% de la viabilidad comparada con el control positivo (solo medio de cultivo suplementado sin extractos) (**Figura 3.9**). De manera similar a los materiales sintetizados con Pluronic F127®, al inicio del experimento (24 horas) sucede una disminución del conteo de celular, que se muestra como una reducción de la viabilidad el cual es más evidente si se relaciona el contenido de SR, de tal manera que podemos apreciar una mayor reducción de la viabilidad al día 1 en los materiales con 20% de SR el cual se recupera en los días 4 y 7. También en los resultados se puede apreciar una relación con el tiempo de extracción y la viabilidad, siendo mayor para el día 4 para el material SPU-PCL-Met 30% y mayor en el día 7 para el resto de los materiales ensayados. Los resultados no mostraron diferencia significativa al compararse con el control positivo.

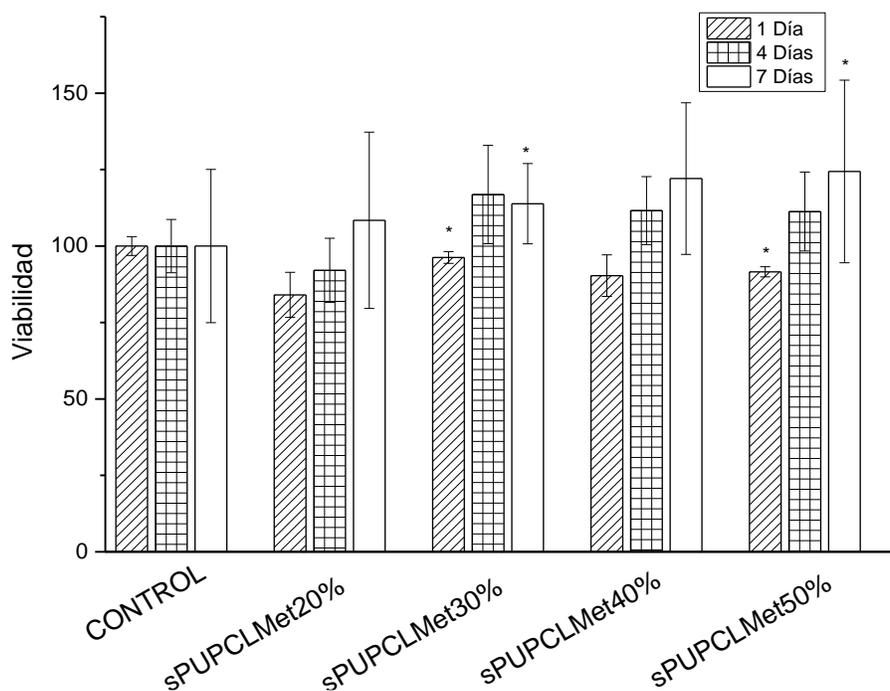


Figura 3.9 Citotoxicidad de SPU PCL MET evaluada a 1, 4 y 7 días. * diferencia significativa entre las muestras evaluadas y el control (DMEM)

3.9.9 Liberación (cesión) de metformina in-vitro de SPU-PCL-Met

La liberación a partir de los materiales sintetizados se hizo siguiendo la metodología descrita en el **Capítulo 2**, de igual manera se colocaron tiras de los materiales sintetizados con una masa aproximada de 1 gramo (ver **Tabla 3.3**), en un vaso de vidrio con tapa hermética, con 100 mL de buffer de fosfatos preparado y degasificado como se indica en la Farmacopea de Estados Unidos Mexicanos (FEUM). El material se incubó a 37° C, tomándose muestras cada 0, 5, 10, 15, 60, 60, 120, 180, 360 y 600, 1440 (24 horas) y 10080 minutos (7 días) (n=3). La lectura se realizó a 232 nm en celdas de cuarzo utilizando una alícuota de 3 mL, los cuales inmediatamente se reponían con medio fresco a la misma temperatura, se agitaba gentilmente y se esperaba a la siguiente toma de muestra [138].

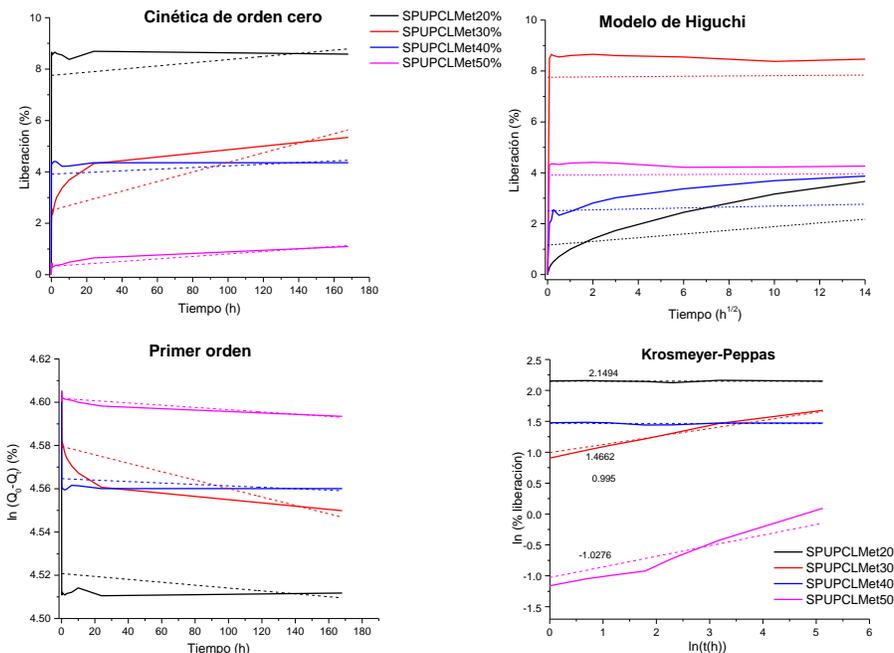


Figura 3.10. Liberación de metformina en medio búfer de fosfatos (USP) de SPU-PCL-Met 20%, 30%, 40% y 50% (datos ajustados a diferentes modelos de cinética de liberación)

En la **Figura 3.10** se muestra la cantidad de metformina que fue liberada de manera continua a partir de los materiales sintetizados hasta por 7 días. La cantidad de metformina liberada se muestran en la Tabla 3.8. Brevemente, se ajustaron los perfiles de liberación a los cuatro modelos descritos en el **Capítulo 1**. A diferencia del material sintetizado con Pluronic F127®, los materiales sintetizados con PCL liberaron un mínimo de 820 μg (SPU-PCL-Met 50%) y un máximo de 4063 μg (SPU-PCL-Met 20%) de metformina durante el periodo de 7 días. Sin lugar a dudas la características hidrofóbica [151] del material conjugado (Policaprolactona) hace que existan dominios hidrofóbicos lo cual no favorece la liberación de metformina, similar a lo reportado por *Hammady y colaboradores* [151]. De igual manera SPU-PCL-Met 20 % y SPU-PLU-Met 20 % mostraron aproximadamente el mismo porcentaje de liberación (8.69% y 8.75% respectivamente). La cantidad liberada de metformina fue de 4022 μg , para los materiales con 20 % y 40 % de SR. A diferencia de la serie de materiales con Pluronic®, los materiales con PCL y 50% de SR mostraron una muy lenta liberación de metformina. En la **Tabla 3.9** se muestran los coeficientes de correlación (R^2) y las constantes cinéticas calculadas para los datos ajustados a los modelos de liberación descritos en el **Capítulo 1**. De esta manera, en el caso de los materiales SPU-PCL-Met el modelos que más se ajustó para fue el de Korsmeyer-Peppas con un valor de

R^2 de 0.9744, 0.9883 para los materiales SPU-PCL-Met 50% y SPU-PCL-Met-30%, respectivamente. Los demás materiales (SPU-PCL-Met 40% y SPU-PCL-Met-20%) no mostraron ajuste a ninguno de los modelos empleados (ver **Tabla 3.9**)

Tabla 3.8. Porcentaje de liberación de metformina en PBS pH 6.8 (Volumen 100 mL)

Poliuretano	% liberado 24 horas	% liberado 7 días	Masa liberada 24 horas (μg)	Masa liberada 7 días (μg)
SPU-PCL-MET 50%	0.654	1.09	820.2	1375.4
SPU-PCL-MET 40%	4.35	4.35	4011.7	4011
SPU-PCL-MET 30%	4.32	5.34	3089.7	3820.76
SPU-PCL-MET 20%	8.69	8.57	4063.8	4022

Tabla 3.9. Coeficiente de correlación y constantes cinéticas para los datos ajustados a un modelo cinético durante la liberación de metformina a partir de materiales poliméricos

Poliuretano	Orden cero		Primer orden		Higuchi		Korsmeyer-Peppas		
	R^2	k_0	R^2	k_1	R^2	k_H	R^2	k	n
SPU-PCL-MET 50%	0.7443	0.0061	0.7828	-0.027	0.8695	0.0695	0.9744	-2.794	0.2525
SPU-PCL-MET 40%	0.0149	0.0186	0.0108	0.3825	0.0464	0.075	0.378	4.3327	-0.002
SPU-PCL-MET 30%	0.4538	0.0032	0.9626	-0.005	0.6635	0.2992	0.9883	2.7047	0.1523
SPU-PCL-MET 20%	0.014	0.0048	0.0007	0.7650	0.0463	0.1481	0.0091	8.5797	0.0007

CONCLUSIONES

La principal finalidad de este trabajo fue establecer las condiciones para la obtención de un material que incluyera en su estructura principal un fármaco con actividad antidiabética cuya modificación permitiera alterar las características farmacológicas de dicho fármaco. Con este objetivo en mente logramos obtener 8 materiales poliméricos, 4 con características hidrofílicas debido a la presencia de Pluronic F127®, y 4 con características hidrofóbicas debido a la presencia de Policaprolactona. Estos materiales poseen diferentes características que los reactivos empleados para su síntesis, con características mecánicas, fisicoquímicas y de compatibilidad biológica que pueden acercar nuevas aplicaciones en el área de la bioingeniería de tejidos y la tecnología de empleada para la liberación controlada de fármacos. De los resultados obtenidos y el subsecuente análisis podemos concluir que el diseño del conjugado polímero-fármaco permite obtener materiales con propiedades mecánicas adecuadas para ser empleados como sistemas poliméricos para el transporte y liberación de fármacos cuyo principal mecanismo de control de las propiedades aquí analizadas es el contenido de segmento rígido. De estos materiales, los que tuvieron mejor desempeño en la liberación y un mejor ajuste a los modelos matemáticos son SPU-PLU-Met-30% y SPU-PCL-Met 30% (ajuste >0.9000 en el modelo de Korsmeyer-Peppas). De esta manera vemos cumplida la hipótesis sobre la capacidad de metformina de formar parte de la cadena polimérica. En relación con el uso de dos segmentos flexibles con características de hidrofobicidad diferentes (Pluronic F127® es altamente hidrofílico y PCL es altamente hidrofóbico), podemos observar como este SF afecta directamente las propiedades fisicoquímicas tal como el grado de cristalinidad, presentando mayor cristalinidad para la serie sintetizada con Pluronic donde prácticamente todos los materiales fueron semicristalinos comparados con la serie sintetizada con PCL en cuyo caso solo el material con 20% de SR presentó características de cristalinidad, el resto de los materiales con PCL fueron amorfos. Por este motivo podemos concluir que el grado de cristalinidad depende del tipo de polímero empleado para formar el SR y la proporción con que se obtenga el material polimérico, lo cual conduce a modificar la disponibilidad final de metformina. Los materiales sintetizados también presentaron características de estabilidad en condiciones ácidas y básicas, pero con mayor susceptibilidad a la degradación por agentes oxidantes (peróxido de hidrógeno e hipoclorito de sodio).

PERSPECTIVAS

Como trabajo futuro se plantea la oportunidad de desarrollar ensambles macromoleculares de estos materiales para la formulación de nano medicamentos (auto ensambles micelares) con características hidrofílicas e hidrofóbicas, que permitan el transporte y liberación de moléculas bioactivas compatibles con los materiales sintetizados. Para realizar esto se plante utilizar técnicas de electro hilado, micro y nano encapsulación e impresión 3D con el fin de obtener estructuras tridimensionales que permitan la liberación de principios activos, como la metformina, permitiendo desarrollar nuevas formas de liberación tipo matriz polimérica. De igual manera, debido a la biocompatibilidad que demostraron durante la realización de este trabajo, y a las características mecánicas que presentan estos materiales, se abre la posibilidad de utilizarlos como sistemas de liberación controlada de fármacos aplicada a la bioingeniería, con la posibilidad de emplearlos como material de soporte (andamios) en el diseño tridimensional (3D) de ingeniería de tejidos, medicina regenerativa o dispositivos médicos.

De igual manera, este proyecto presenta una propuesta para obtener nuevos materiales que incluyan no solo fármacos con actividades antidiabéticas o para el tratamiento de enfermedades crónicas, sino también incluir fármacos o moléculas que modulen el crecimiento celular (factores de crecimiento celular), así como su diferenciación o especialización.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] International Diabetes Federation, *ATLAS DE LA DIABETES DE LA FID*, 9th ed. BRUSSELS, BELGIUM: INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2019 .
- [2] R. Meza *et al.*, “Burden of type 2 diabetes in Mexico: Past, current and future prevalence and incidence rates”, *Prev. Med. (Baltim).*, vol. 81, pp. 445–450, 2015, doi: 10.1016/j.ypmed.2015.10.015.
- [3] J. P. Gutiérrez *et al.*, “Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. 2a. ed.”, *Instituto Nacional de Salud Publica*. p. 192, 2013, [En línea]. Disponible en: <http://ensanut.insp.mx/informes/ENSANUT2012ResultadosNacionales2Ed.pdf>.
- [4] 8th edition International Diabetes Federation, IDF Diabetes Atlas, *Eighth edition 2017*. 2017.
- [5] R. Pérez-Cuevas *et al.*, “Evaluating quality of care for patients with type 2 diabetes using electronic health record information in Mexico”, *BMC Med. Inform. Decis. Mak.*, vol. 12, núm. 1, 2012, doi: 10.1186/1472-6947-12-50.
- [6] “Impact of Pharmaceutical Care in the Evolution of Patients With Metabolic Syndrome in a Second Level Hospital .”
- [7] IDF, *International Diabetes Federation - Epidemiology & Research*. 2017.
- [8] P. Z. Zimmet, “Diabetes and its drivers: The largest epidemic in human history?”, *Clin. Diabetes Endocrinol.*, vol. 3, núm. 1, pp. 1–8, 2017, doi: 10.1186/s40842-016-0039-3.
- [9] J. Davidson y H. Howlett, “New prolonged-release metformin improves gastrointestinal tolerability”, *Br. J. Diabetes Vasc. Dis.*, vol. 4, núm. 4, pp. 273–277, 2004, doi: 10.1177/14746514040040041101.
- [10] R. Langer, “Polymeric delivery systems for controlled drug release”, *Chem. Eng. Commun.*, vol. 6, núm. 1–3, pp. 1–48, 1980, doi: 10.1080/00986448008912519.
- [11] J. Wang, *Controlled-Potential Techniques*, vol. 3. 2000.
- [12] S. Buhse, I. Mühlhauser, y M. Lenz, “The ‘Old’ Anti-Diabetic Agents: A Systematic

- Inventory”, en *Endocrine Development*, vol. 31, 2016, pp. 28–42.
- [13] WHO Library, “Global Report on Diabetes”, *Isbn*, vol. 978, pp. 6–86, 2016, [En línea]. Disponible en: <http://www.who.int/about/licensing/>.
- [14] S. P. Lasker, C. S. Mclachlan, L. Wang, S. M. K. Ali, y H. F. Jelinek, “Review Article : Discovery , treatment and management of diabetes”, *J. Diabetol.*, pp. 1–8, 2010.
- [15] I. N. de E. G. e I. INEGI, *Estadísticas Históricas de México, Tomo 1*. Aguascalientes, Ags.: INEGI, 1985.
- [16] S. de Salud., “Sistema de Información de la Secretaría de Salud. Causas de defunción.”, 2019. <http://sinaiscap.salud.gob.mx:8080/DGIS/> (consultado dic. 31, 2019).
- [17] S. Röckl *et al.*, “All-cause mortality in adults with and without type 2 diabetes: findings from the national health monitoring in Germany”, *BMJ Open Diabetes Res. Care*, vol. 5, núm. 1, p. e000451, dic. 2017, doi: 10.1136/bmjdr-2017-000451.
- [18] NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC), “Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4.4 million participants.”, *Lancet (London, England)*, vol. 387, núm. 10027, pp. 1513–1530, abr. 2016, doi: 10.1016/S0140-6736(16)00618-8.
- [19] C. Bommer *et al.*, “The global economic burden of diabetes in adults aged 20-79 years: a cost-of-illness study.”, *lancet. Diabetes Endocrinol.*, vol. 5, núm. 6, pp. 423–430, jun. 2017, doi: 10.1016/S2213-8587(17)30097-9.
- [20] E. J. Mayer-Davis, D. Dabelea, y J. M. Lawrence, “Incidence Trends of Type 1 and Type 2 Diabetes among Youths, 2002-2012.”, *N. Engl. J. Med.*, vol. 377, núm. 3, p. 301, jul. 2017, doi: 10.1056/NEJMc1706291.
- [21] A. Amutha *et al.*, “Incidence of complications in young-onset diabetes: Comparing type 2 with type 1 (the young diab study)”, *Diabetes Res. Clin. Pract.*, vol. 123, pp. 1–8, ene. 2017, doi: 10.1016/j.diabres.2016.11.006.
- [22] J. S. Skyler *et al.*, “Differentiation of Diabetes by Pathophysiology, Natural History, and Prognosis”, *Diabetes*, vol. 66, núm. 2, pp. 241–255, feb. 2017, doi: 10.2337/db16-

0806.

- [23] C. N. Hales *et al.*, “Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64”, *BMJ*, vol. 303, núm. 6809, pp. 1019–22, oct. 1991, doi: 10.1136/bmj.303.6809.1019.
- [24] C. Hales y D. Barker, “Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis”, *Int. J. Epidemiol.*, vol. 42, núm. 5, pp. 1215–1222, oct. 2013, doi: 10.1093/ije/dyt133.
- [25] H. K. Seligman, A. B. Bindman, E. Vittinghoff, A. M. Kanaya, y M. B. Kushel, “Food Insecurity is Associated with Diabetes Mellitus: Results from the National Health Examination and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999–2002”, *J. Gen. Intern. Med.*, vol. 22, núm. 7, pp. 1018–1023, jun. 2007, doi: 10.1007/s11606-007-0192-6.
- [26] J. Beagley, L. Guariguata, C. Weil, A. A. Motala, y A. A. Montala, “Global estimates of undiagnosed diabetes in adults.”, *Diabetes Res. Clin. Pract.*, vol. 103, núm. 2, pp. 150–160, feb. 2014, doi: 10.1016/j.diabres.2013.11.001.
- [27] J. Dooley *et al.*, “Genetic predisposition for beta cell fragility underlies type 1 and type 2 diabetes”, *Nat. Genet.*, vol. 48, núm. 5, pp. 519–527, may 2016, doi: 10.1038/ng.3531.
- [28] M. A. Atkinson, “The pathogenesis and natural history of type 1 diabetes.”, *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, vol. 2, núm. 11, pp. a007641–a007641, nov. 2012, doi: 10.1101/cshperspect.a007641.
- [29] F. Pociot, “Type 1 diabetes genome-wide association studies: not to be lost in translation.”, *Clin. Transl. Immunol.*, vol. 6, núm. 12, p. e162, dic. 2017, doi: 10.1038/cti.2017.51.
- [30] H.-C. Hsu *et al.*, “Folate Deficiency Triggers an Oxidative-Nitrosative Stress-Mediated Apoptotic Cell Death and Impedes Insulin Biosynthesis in RINm5F Pancreatic Islet β -Cells: Relevant to the Pathogenesis of Diabetes”, *PLoS One*, vol. 8, núm. 11, p. e77931, nov. 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0077931.
- [31] T. J. Wilkin, “The accelerator hypothesis: weight gain as the missing link between Type I and Type II diabetes.”, *Diabetologia*, vol. 44, núm. 7, pp. 914–22, jul. 2001,

doi: 10.1007/s001250100548.

- [32] R. A. DeFronzo, "Insulin resistance, lipotoxicity, type 2 diabetes and atherosclerosis: the missing links. The Claude Bernard Lecture 2009", *Diabetologia*, vol. 53, núm. 7, pp. 1270–1287, jul. 2010, doi: 10.1007/s00125-010-1684-1.
- [33] M. Lytrivi, A.-L. Castell, V. Poitout, y M. Cnop, "Recent Insights Into Mechanisms of β -Cell Lipo- and Glucolipotoxicity in Type 2 Diabetes", *J. Mol. Biol.*, vol. 432, núm. 5, pp. 1514–1534, mar. 2020, doi: 10.1016/j.jmb.2019.09.016.
- [34] W. H. O. T. R. Ser, "Diabetes Mellitus: Report of a WHO Expert Committee", *Diabetes*, vol. 16, núm. 5, pp. 354–354, may 1967, doi: 10.2337/diab.16.5.354a.
- [35] National Diabetes Data Group, *Guide to diagnosis and classification of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance*, vol. 20, núm. 1 SUPPL. 1997.
- [36] D. M. Nathan *et al.*, "Impaired Fasting Glucose and Impaired Glucose Tolerance: Implications for care", *Diabetes Care*, vol. 30, núm. 3, pp. 753–759, mar. 2007, doi: 10.2337/dc07-9920.
- [37] N. G. Forouhi, J. Luan, S. Hennings, y N. J. Wareham, "Incidence of Type 2 diabetes in England and its association with baseline impaired fasting glucose: The Ely study 1990-2000", *Diabet. Med.*, vol. 24, núm. 2, pp. 200–207, feb. 2007, doi: 10.1111/j.1464-5491.2007.02068.x.
- [38] D. M. Nathan, M. B. Davidson, y R. A. DeFronzo, "Impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance", *Diabetes Care*, vol. 30, pp. 753–759, 2007.
- [39] E. Ferrannini, M. Nannipieri, K. Williams, C. Gonzales, S. M. Haffner, y M. P. Stern, "Mode of onset of type 2 diabetes from normal or impaired glucose tolerance.", *Diabetes*, vol. 53, núm. 1, pp. 160–5, ene. 2004, doi: 10.2337/diabetes.53.1.160.
- [40] K. P. Peterson, J. G. Pavlovich, D. Goldstein, R. Little, J. England, y C. M. Peterson, "What is hemoglobin A1c? An analysis of glycated hemoglobins by electrospray ionization mass spectrometry.", *Clin. Chem.*, vol. 44, núm. 9, pp. 1951–8, sep. 1998, [En línea]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9732983>.
- [41] E. Steen *et al.*, "Impaired insulin and insulin-like growth factor expression and

- signaling mechanisms in Alzheimer's disease – is this type 3 diabetes?”, *J. Alzheimer's Dis.*, vol. 7, núm. 1, pp. 63–80, mar. 2005, doi: 10.3233/JAD-2005-7107.
- [42] C. B. Sanjeevi *et al.*, “Polymorphic amino acid variations in HLA-DQ are associated with systematic physical property changes and occurrence of IDDM”, *Diabetes*, vol. 44, núm. 1, pp. 125–131, ene. 1995, doi: 10.2337/diab.44.1.125.
- [43] X. Hu *et al.*, “Additive and interaction effects at three amino acid positions in HLA-DQ and HLA-DR molecules drive type 1 diabetes risk”, *Nat. Genet.*, vol. 47, núm. 8, pp. 898–905, ago. 2015, doi: 10.1038/ng.3353.
- [44] P. J. Bingley, “Clinical Applications of Diabetes Antibody Testing”, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 95, núm. 1, pp. 25–33, ene. 2010, doi: 10.1210/jc.2009-1365.
- [45] A.-G. Ziegler y G. T. Nepom, “Prediction and Pathogenesis in Type 1 Diabetes”, *Immunity*, vol. 32, núm. 4, pp. 468–478, abr. 2010, doi: 10.1016/j.immuni.2010.03.018.
- [46] J. Wahlberg, O. Vaarala, y J. Ludvigsson, “Dietary risk factors for the emergence of type 1 diabetes-related autoantibodies in 2½-year-old Swedish children”, *Br. J. Nutr.*, vol. 95, núm. 3, pp. 603–608, mar. 2006, doi: 10.1079/BJN20051676.
- [47] P. Zeitler, K. Hirst, L. Pyle, B. Linder, y K. Copeland, “A Clinical Trial to Maintain Glycemic Control in Youth with Type 2 Diabetes”, *N. Engl. J. Med.*, vol. 366, núm. 24, pp. 2247–2256, jun. 2012, doi: 10.1056/NEJMoa1109333.
- [48] S. M. de la Monte, *The full spectrum of Alzheimer's disease is rooted in metabolic derangements that drive type 3 diabetes*, vol. 1128. 2019.
- [49] W. Q. Qiu *et al.*, “Insulin-degrading enzyme regulates extracellular levels of amyloid β - protein by degradation”, *J. Biol. Chem.*, vol. 273, núm. 49, pp. 32730–32738, dic. 1998, doi: 10.1074/jbc.273.49.32730.
- [50] K. Gudala, D. Bansal, F. Schifano, y A. Bhansali, “Diabetes mellitus and risk of dementia: A meta-analysis of prospective observational studies”, *J. Diabetes Investig.*, vol. 4, núm. 6, pp. 640–650, nov. 2013, doi: 10.1111/jdi.12087.
- [51] E. Steen *et al.*, “Impaired insulin and insulin-like growth factor expression and

- signaling mechanisms in Alzheimer's disease - Is this type 3 diabetes?", *J. Alzheimer's Dis.*, vol. 7, núm. 1, pp. 63–80, 2005, doi: 10.3233/JAD-2005-7107.
- [52] S. DE SALUD, "NORMA Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus", vol. 015 SSA2. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN, Mexico, D.F., MEXICO, p. 45, 2010.
- [53] K. Imam, *Management and treatment of diabetes mellitus*, vol. 771. 2013.
- [54] R. Boussageon, F. Gueyffier, y C. Cornu, "Effects of pharmacological treatments on micro- and macrovascular complications of type 2 diabetes: What is the level of evidence?", *Diabetes Metab.*, vol. 40, núm. 3, pp. 169–175, jun. 2014, doi: 10.1016/j.diabet.2013.12.010.
- [55] G. G. Graham *et al.*, "Clinical Pharmacokinetics of Metformin: Clinical Pharmacokinetics", *J. Clin. Pharmacol.*, vol. 50, núm. 2, pp. 81–98, 2011, doi: 20690781.
- [56] D. Israni y R. Goyal, "A Descriptive Review of Metformin and Its Use in Polycystic Ovary Syndrome (Pcos)", *J. Curr. Pharm. Res.*, vol. 3, núm. 1, pp. 1–7, 2010, [En línea]. Disponible en: <http://jcpronline.com/final/098453d.pdf>.
- [57] C. J. Bailey, "Metformin an update", *Gen. Pharmacol.*, vol. 24, pp. 1299–1309, 1993.
- [58] R. A. Defronzo y A. M. Goodman, "Efficacy of metformin in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus", *N. Engl. J. Med.*, vol. 333, núm. 9, pp. 541–549, ago. 1995, doi: 10.1056/NEJM199508313330902.
- [59] J.-P. Fulgencio, C. Kohl, J. Girard, y J.-P. Pégrier, "Effect of metformin on fatty acid and glucose metabolism in freshly isolated hepatocytes and on specific gene expression in cultured hepatocytes11Abbreviations: CPT I or II, carnitine palmitoyltransferase I or II; mtHMG-CoA synthase, mitochondrial hydroxy", *Biochem. Pharmacol.*, vol. 62, núm. 4, pp. 439–446, ago. 2001, doi: 10.1016/S0006-2952(01)00679-7.
- [60] D. Israni y R. Goyal, "A Descriptive Review of Metformin and Its Use in Polycystic Ovary Syndrome (Pcos)", *J. Curr. Pharm. Res.*, vol. 3, núm. 1, pp. 1–7, 2010, [En línea]. Disponible en: <http://jcpronline.com/final/098453d.pdf>.

- [61] E. I. M. Widen, J. G. Eriksson, y L. C. Groop, "Metformin Normalizes Nonoxidative Glucose Metabolism in Insulin-Resistant Normoglycemic First-Degree Relatives of Patients With NIDDM", *Diabetes*, vol. 41, núm. 3, pp. 354–358, mar. 1992, doi: 10.2337/diab.41.3.354.
- [62] R. A. Defronzo, N. Barzilai, y D. C. Simonson, "Mechanism of Metformin Action in Obese and Lean Noninsulin-Dependent Diabetic Subjects*", *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 73, núm. 6, pp. 1294–1301, dic. 1991, doi: 10.1210/jcem-73-6-1294.
- [63] V. Sarabia, L. Lam, E. Burdett, L. A. Leiter, y A. Klip, "Glucose transport in human skeletal muscle cells in culture. Stimulation by insulin and metformin.", *J. Clin. Invest.*, vol. 90, núm. 4, pp. 1386–1395, oct. 1992, doi: 10.1172/JCI116005.
- [64] K. Landin, L. Tengborn, y U. Smith, "Metformin and metoprolol CR treatment in non-obese men", *J. Intern. Med.*, vol. 235, núm. 4, pp. 335–341, abr. 1994, doi: 10.1111/j.1365-2796.1994.tb01083.x.
- [65] A. Rudnichi *et al.*, "The effect of metformin on the metabolic anomalies associated with android type body-fat distribution. Results of the BIGPRO trial.", *Diabetes*, vol. 43, pp. A150–A150, 1994.
- [66] L. E. García-Pérez, M. Álvarez, T. Dilla, V. Gil-Guillén, y D. Orozco-Beltrán, "Adherence to therapies in patients with type 2 diabetes", *Diabetes Ther.*, vol. 4, núm. 2, pp. 175–194, 2013, doi: 10.1007/s13300-013-0034-y.
- [67] M. Ballauf y L. Yan, "Smart nanoparticles: preparation, characterization and applications", *Polymer (Guildf)*, vol. 48, pp. 1815–1823, 2007.
- [68] C. Alvarez-Lorenzo, L. Bromberg, y A. Concheiro, "Light-sensitive Intelligent Drug Delivery Systems", *Photochem. Photobiol.*, vol. 85, núm. 4, pp. 848–860, jul. 2009, doi: 10.1111/j.1751-1097.2008.00530.x.
- [69] A. Kumar, A. Srivastava, I. Y. Galaev, y B. Mattiasson, "Smart polymers: Physical forms and bioengineering applications", *Prog. Polym. Sci.*, vol. 32, núm. 10, pp. 1205–1237, oct. 2007, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2007.05.003.
- [70] H. Priya James, R. John, A. Alex, y K. R. Anoop, "Smart polymers for the controlled delivery of drugs – a concise overview", *Acta Pharm. Sin. B*, vol. 4, núm. 2, pp. 120–

127, 2014, doi: 10.1016/j.apsb.2014.02.005.

- [71] F. E. Karch y L. Lasagna, "Adverse Drug Reactions: A critical review", *JAMA J. Am. Med. Assoc.*, vol. 234, pp. 1236–1241, 1975.
- [72] T. I. Poirier y R. L. Maher, "Adverse Drug Reactions", en *Encyclopedia of pharmaceutical Technology*, 2009, pp. 34–45.
- [73] A. S. of H. Pharmacists, "Suggested definitions and relationships among medication misadventures, medication errors, adverse drug events, and adverse drug reactions.", *Am. J. Health. Syst. Pharm.*, vol. 55, núm. 2, pp. 165–6, ene. 1998, doi: 10.1093/ajhp/55.2.165.
- [74] M. J. Rathbone, [*Advances in Delivery Science and Technology*] Clive G. Wilson (auth.), Juergen Siepmann, Ronald A. Siegel, Michael J. Rathbone (eds.) - *Fundamentals and Applications of Controlled Release Drug Delivery* (2012, Springe.pdf. .
- [75] D. F. Williams, *The Williams Dictionary of Biomaterials*. Liverpool University Press, 1999.
- [76] J. Park y R. S. Lakes, *Biomaterials An Introduction*, 3th ed. New York, NY: Springer-Verlag New York, 2007.
- [77] E. P. Ivanova, K. Bazaka, y R. J. Crawford, *New Functional Biomaterials for Medicine and Healthcare*. 2014.
- [78] D. J. Siegwart, J. K. Oh, y K. Matyjaszewski, "ATRP in the design of functional materials for biomedical applications", *Prog. Polym. Sci.*, vol. 37, núm. 1, pp. 18–37, 2012, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2011.08.001.
- [79] R. Gautam, A. S. Bassi, y E. K. Yanful, "A Review of Biodegradation", *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 141, núm. 2, pp. 85–108, 2007.
- [80] L. S. Nair y C. T. Laurencin, "Biodegradable polymers as biomaterials", *Prog. Polym. Sci.*, vol. 32, núm. 8–9, pp. 762–798, 2007, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2007.05.017.
- [81] F. Danhier, E. Ansorena, J. M. Silva, R. Coco, A. Le Breton, y V. Préat, "PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications", *J. Control. Release*, vol. 161,

- núm. 2, pp. 505–522, 2012, doi: 10.1016/j.jconrel.2012.01.043.
- [82] N. Singh, A. Tiwari, R. Kesharwani, y D. K. Patel, “Pharmaceutical polymer in drug delivery: A review”, *Res. J. Pharm. Technol.*, vol. 9, núm. 7, pp. 982–994, 2016, doi: 10.5958/0974-360X.2016.00188.8.
- [83] A. Domb y W. Khan, *Biodegradable Polymers as Drug Carrier Systems*. 2013.
- [84] H. Ringsdorf, “Structure and properties of pharmacologically active polymers”, *J. Polym. Sci. Polym. Symp.*, vol. 51, núm. 1, pp. 135–153, 1975, doi: 10.1002/polc.5070510111.
- [85] R. Duncan, “The dawning era of polymer therapeutics”, *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 2, núm. 5, pp. 347–360, 2003, doi: 10.1038/nrd1088.
- [86] R. Duncan y F. Spreafico, “Polymer Conjugates”, *Clin. Pharmacokinet.*, vol. 27, núm. 4, pp. 290–306, 1994, doi: 10.2165/00003088-199427040-00004.
- [87] R. Duncan, “Development of HPMA copolymer-anticancer conjugates: Clinical experience and lessons learnt”, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 61, núm. 13, pp. 1131–1148, 2009, doi: 10.1016/j.addr.2009.05.007.
- [88] Y. Matsumura y H. Maeda, “A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumoritropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs.”, *Cancer Res.*, vol. 46, núm. 12 Pt 1, pp. 6387–92, dic. 1986, [En línea]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2946403>.
- [89] A. N. Zelikin, C. Ehrhardt, y A. M. Healy, “Materials and methods for delivery of biological drugs”, *Nat. Chem.*, vol. 8, núm. 11, pp. 997–1007, nov. 2016, doi: 10.1038/nchem.2629.
- [90] Q. Feng y R. Tong, “Anticancer nanoparticulate polymer-drug conjugate”, *Bioeng. Transl. Med.*, vol. 1, núm. 3, pp. 277–296, sep. 2016, doi: 10.1002/btm2.10033.
- [91] V. Delplace, P. Couvreur, y J. Nicolas, “Recent trends in the design of anticancer polymer prodrug nanocarriers”, *Polym. Chem.*, vol. 5, núm. 5, pp. 1529–1544, 2014, doi: 10.1039/C3PY01384G.
- [92] Ronit Satchi-Fainaro y Ruth Duncan, *Polymer Therapeutics I: Polymers as Drugs*,

Conjugates and Gene Delivery Systems. 2006.

- [93] R. Duncan, H. Ringsdorf, y R. Satchi-Fainaro, "Polymer therapeutics: Polymers as drugs, drug and protein conjugates and gene delivery systems: Past, present and future opportunities", *Adv. Polym. Sci.*, vol. 192, núm. 1, pp. 1–8, 2006, doi: 10.1007/12_037.
- [94] H. Maeda, J. Wu, T. Sawa, Y. Matsumura, y K. Hori, "Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review", *J. Control. Release*, vol. 65, núm. 1–2, pp. 271–284, mar. 2000, doi: 10.1016/S0168-3659(99)00248-5.
- [95] G. N. Grover y H. D. Maynard, "Protein-polymer conjugates: Synthetic approaches by controlled radical polymerizations and interesting applications", *Curr. Opin. Chem. Biol.*, vol. 14, núm. 6, pp. 818–827, 2010, doi: 10.1016/j.cbpa.2010.10.008.
- [96] R. Van Dijkhuizen-radersma, "Biodegradable multiblock copolymers for drug delivery applications", University of Twente, 2004.
- [97] R. Gaspar y R. Duncan, "Polymeric carriers: Preclinical safety and the regulatory implications for design and development of polymer therapeutics", *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 61, núm. 13, pp. 1220–1231, 2009, doi: 10.1016/j.addr.2009.06.003.
- [98] I. Ekladios, Y. L. Colson, y M. W. Grinstaff, "Polymer–drug conjugate therapeutics: advances, insights and prospects", *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 18, núm. 4, pp. 273–294, 2019, doi: 10.1038/s41573-018-0005-0.
- [99] R. Duncan, "Polymer conjugates as anticancer nanomedicines", *Nat. Rev. Cancer*, vol. 6, núm. 9, pp. 688–701, sep. 2006, doi: 10.1038/nrc1958.
- [100] G. Pasut y F. M. Veronese, "Polymer-drug conjugation, recent achievements and general strategies", *Prog. Polym. Sci.*, vol. 32, núm. 8–9, pp. 933–961, 2007, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2007.05.008.
- [101] G. Pasut y F. M. Veronese, "State of the art in PEGylation: The great versatility achieved after forty years of research", *J. Control. Release*, vol. 161, núm. 2, pp. 461–472, 2012, doi: 10.1016/j.jconrel.2011.10.037.
- [102] P. Chawla y M. Mis, "Polymeric Drugs: A Novel Approach to Drug Delivery System",

Int. J. Pharm. Sci. Nanotechnol., vol. 6, núm. 1, pp. 1925–1934, may 2013, doi: 10.37285/ijpsn.2013.6.1.2.

- [103] B. S. Tucker, S. G. Getchell, M. R. Hill, y B. S. Sumerlin, “Facile synthesis of drug-conjugated PHPMA core-crosslinked star polymers”, *Polym. Chem.*, vol. 6, núm. 23, pp. 4258–4263, 2015, doi: 10.1039/c5py00497g.
- [104] F. Greco y M. J. Vicent, “Combination therapy: Opportunities and challenges for polymer-drug conjugates as anticancer nanomedicines”, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 61, núm. 13, pp. 1203–1213, 2009, doi: 10.1016/j.addr.2009.05.006.
- [105] O. Bayer, “Das Di-Isocyanat-Poluadditionsverfahren (Polyurethane)”, *Angew. Chemie*, vol. 59, núm. 9, pp. 257–272, 1947.
- [106] T. Thomson, “Polyurethanes as specialty chemicals: Principles and applications”, *Polyurethanes as Spec. Chem. Princ. Appl.*, pp. 1–191, 2004.
- [107] P. Król, “Linear polyurethanes: Synthesis methods, chemical structures, properties and applications”, *Linear Polyurethanes Synth. Methods, Chem. Struct. Prop. Appl.*, pp. 1–253, 2008.
- [108] A. Vesel *et al.*, “Functionalization of Polyurethane/Urea Copolymers with Amide Groups by Polymer Treatment with Ammonia Plasma”, *Plasma Chem. Plasma Process.*, vol. 36, núm. 3, pp. 835–848, 2016, doi: 10.1007/s11090-016-9696-3.
- [109] M. Szycher, *Szycher’s handbook of polyurethanes*, 2nd Editio. Boca Raton, FL: CRC Press, 2013.
- [110] L. Tatai *et al.*, “Thermoplastic biodegradable polyurethanes: the effect of chain extender structure on properties and in-vitro degradation.”, *Biomaterials*, vol. 28, núm. 36, pp. 5407–17, dic. 2007, doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.08.035.
- [111] M. Ionescu, *Chemistry and Technology of Polyols for Polyurethanes*. Shawbury, Shrewsbury, Shropshire, SY4 4NR, UK: Rapra Technology, 2005.
- [112] M. Szycher, *Szycher’s Handbook of Polyurethanes*, 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2013.
- [113] E. V. Batrakova y A. V. Kabanov, “Pluronic block copolymers: Evolution of drug

- delivery concept from inert nanocarriers to biological response modifiers”, *J. Control. Release*, vol. 130, núm. 2, pp. 98–106, sep. 2008, doi: 10.1016/j.jconrel.2008.04.013.
- [114] R. C. Pasquali, D. A. Chiappetta, y C. Bregni, “Los copolímeros en bloques anfífilicos y sus aplicaciones farmacéuticas”, *Acta Farm. Bonaer.*, vol. 24, núm. 4, pp. 610–618, 2005.
- [115] X. J. Loh, Y. X. Tan, Z. Li, L. S. Teo, S. H. Goh, y J. Li, “Biodegradable thermogelling poly(éster urethane)s consisting of poly(lactic acid) - Thermodynamics of micellization and hydrolytic degradation”, *Biomaterials*, vol. 29, núm. 14, pp. 2164–2172, may 2008, doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.01.016.
- [116] L. H. Chan, “Degradación Y Evaluación Biológica De Poli (Uretano Urea) S Segmentados Biodegradables a”, p. 21, 2012.
- [117] L. H. Chan-Chan, C. Tkaczyk, R. F. Vargas-Coronado, J. M. Cervantes-Uc, M. Tabrizian, y J. V. Cauich-Rodriguez, “Characterization and biocompatibility studies of new degradable poly(urea)urethanes prepared with arginine, glycine or aspartic acid as chain extenders”, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 24, núm. 7, pp. 1733–1744, 2013, doi: 10.1007/s10856-013-4931-4.
- [118] M. C. Delpech y G. S. Miranda, “Waterborne polyurethanes: Influence of chain extender in FTIR spectra profiles”, *Cent. Eur. J. Eng.*, vol. 2, núm. 2, pp. 231–238, 2012, doi: 10.2478/s13531-011-0060-3.
- [119] S. Oprea, “The effect of chain extenders structure on properties of new polyurethane elastomers”, *Polym. Bull.*, vol. 65, núm. 8, pp. 753–766, 2010, doi: 10.1007/s00289-009-0242-9.
- [120] A. B. Magnusson y H. S. White, “Chain Extending polyurethanes with a large excess of water”, 4,049,632, 1977.
- [121] P. Vermette, H. J. Griesser, G. Laroche, y R. Guidoin, *Biomedical Applications of Polyurethanes (Tissue Engineering Intelligence Unit 6)*. 2001.
- [122] J. Y. Cherng, T. Y. Hou, M. F. Shih, H. Talsma, y W. E. Hennink, “Polyurethane-based drug delivery systems”, *Int. J. Pharm.*, vol. 450, núm. 1–2, pp. 145–162, 2013, doi: 10.1016/j.ijpharm.2013.04.063.

- [123] J. Yang, H. Chen, Y. Yuan, D. Sarkar, y J. Zheng, "Synthesis and characterization of biocompatible polyurethanes for controlled release of hydrophobic and hydrophilic drugs", *Front. Chem. Sci. Eng.*, vol. 8, núm. 4, pp. 498–510, 2014, doi: 10.1007/s11705-014-1451-9.
- [124] J. S. Roma, "Synthesis and characterization of biodegradable non-toxic poly (ester-urethane-urea) s based on poly (3 -caprolactone) and amino acid derivatives", vol. 47, pp. 785–798, 2006, doi: 10.1016/j.polymer.2005.12.007.
- [125] S. L. Cooper y J. Guan, *Advances in Polyurethane Biomaterials*. Elsevier, 2016.
- [126] M. S. Shin, J. Y. Hong, y S. Park, "Gemcitabine release behavior of polyurethane matrixes designed for local anti-cancer drug delivery via stent", *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, vol. 22, núm. 4, pp. 301–306, 2012, doi: 10.1016/S1773-2247(12)50050-X.
- [127] T. Yamaoka, Y. Makita, H. Sasatani, S.-I. Kim, y Y. Kimura, "Linear type azo-containing polyurethane as drug-coating material for colon-specific delivery: its properties, degradation behavior, and utilization for drug formulation", *J. Control. Release*, vol. 66, núm. 2–3, pp. 187–197, may 2000, doi: 10.1016/S0168-3659(99)00270-9.
- [128] T. J. Johnson, K. M. Gupta, J. Fabian, T. H. Albright, y P. F. Kiser, "Segmented polyurethane intravaginal rings for the sustained combined delivery of antiretroviral agents dapivirine and tenofovir", *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 39, núm. 4, pp. 203–212, 2010, doi: 10.1016/j.ejps.2009.11.007.
- [129] A. Martinelli, L. D'Ilario, I. Francolini, y A. Piozzi, "Water state effect on drug release from an antibiotic loaded polyurethane matrix containing albumin nanoparticles", *Int. J. Pharm.*, vol. 407, núm. 1–2, pp. 197–206, 2011, doi: 10.1016/j.ijpharm.2011.01.029.
- [130] F. Crisante, I. Francolini, M. Bellusci, A. Martinelli, L. D'Ilario, y A. Piozzi, "Antibiotic delivery polyurethanes containing albumin and polyallylamine nanoparticles", *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 36, núm. 4–5, pp. 555–564, mar. 2009, doi: 10.1016/j.ejps.2008.12.006.
- [131] X. Sun, H. Gao, G. Wu, Y. Wang, Y. Fan, y J. Ma, "Biodegradable and temperature-

- responsive polyurethanes for adriamycin delivery.”, *Int. J. Pharm.*, vol. 412, núm. 1–2, pp. 52–8, jun. 2011, doi: 10.1016/j.ijpharm.2011.04.007.
- [132] T. T. N. Huynh *et al.*, “Characterization of a polyurethane-based controlled release system for local delivery of chlorhexidine diacetate.”, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 74, núm. 2, pp. 255–64, feb. 2010, doi: 10.1016/j.ejpb.2009.11.002.
- [133] S. Ghosh y S. M. Mandal, “Novel ibuprofen-based polyurethane: A new approach for drug delivery”, *J. Macromol. Sci. Part A Pure Appl. Chem.*, vol. 45, núm. 6, pp. 445–448, 2008, doi: 10.1080/10601320801977707.
- [134] A. Herrera-Gomez, “The active background method in XPS data peak fitting”, *Intern. Report, CINVESTAV-Unidad Querétaro*, p. 10, 2012.
- [135] G. Dumortier, J. L. Grossiord, F. Agnely, y J. C. Chaumeil, “A review of poloxamer 407 pharmaceutical and pharmacological characteristics”, *Pharm. Res.*, vol. 23, núm. 12, pp. 2709–2728, 2006, doi: 10.1007/s11095-006-9104-4.
- [136] T. Jansen y R. F. Wallin, “Practical guide to ISO 10993-12: Sample preparation and reference materials”, *Med. Device Diagnostic Ind.*, vol. 20, núm. 12, pp. 61–62, 1998.
- [137] Y. L. Uscátegui, L. E. Díaz, y M. F. Valero, “In vitro and in vivo biocompatibility of polyurethanes synthesized with castor oil polyols for biomedical devices”, *J. Mater. Res.*, vol. 34, núm. 4, pp. 519–531, 2019, doi: 10.1557/jmr.2018.448.
- [138] Secretaría de Salud y Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, Eds., *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM)*, 10 ed. 2011.
- [139] N. R. Sheela, S. Muthu, y S. Sampath Krishnan, “FTIR, FT raman and UV-visible spectroscopic analysis on metformin hydrochloride”, *Asian J. Chem.*, vol. 22, núm. 7, pp. 5049–5056, 2010.
- [140] H. H. Gadape y K. S. Parikh, “Quantitative Determination and Validation of Metformin Hydrochloride in Pharmaceutical Using Quantitative Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy”, *E-Journal Chem.*, vol. 8, núm. 2, pp. 767–781, 2011, doi: 10.1155/2011/461898.

- [141] K. Ishikiriyama y B. Wunderlich, "Melting of Poly(oxyethylene) Analyzed by Temperature-Modulated Calorimetry", *Macromolecules*, vol. 30, núm. 14, pp. 4126–4131, jul. 1997, doi: 10.1021/ma961795q.
- [142] K. Ishikiriyama y B. Wunderlich, "Melting of Poly(oxyethylene) Analyzed by Temperature-Modulated Calorimetry", *Macromolecules*, vol. 30, núm. 14, pp. 4126–4131, jul. 1997, doi: 10.1021/ma961795q.
- [143] J. B. Nanubolu *et al.*, "Polymorphism in metformin embonate salt-recurrence of dimeric and tetrameric guanidinium-carboxylate synthons", *CrystEngComm*, vol. 15, núm. 22, pp. 4448–4464, 2013, doi: 10.1039/c3ce26986h.
- [144] S. Gunasekaran, R. K. Natarajan, V. Renganayaki, y S. Natarajan, "Vibrational spectra and thermodynamic analysis of metformin", *Indian J. Pure Appl. Phys.*, vol. 44, núm. 7, pp. 495–500, 2006.
- [145] J. V. Cauich-Rodriguez, L. Chan-Chan, F. Hernandez-Sanchez, y J. M. Cervantes-Uc, "Degradation of Polyurethanes for Cardiovascular Applications", en *Advances in Biomaterials Science and Biomedical Applications*, InTech, 2013.
- [146] R. E. Solís-Correa, R. Vargas-Coronado, M. Aguilar-Vega, J. V. Cauich-Rodríguez, J. San Román, y A. Marcos, "Synthesis of HMDI-based segmented polyurethanes and their use in the manufacture of elastomeric composites for cardiovascular applications", *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, vol. 18, núm. 5, pp. 561–578, 2007, doi: 10.1163/156856207780852488.
- [147] A. P. Kotula y K. B. Migler, "Evaluating models for polycaprolactone crystallization via simultaneous rheology and Raman spectroscopy.", *J. Rheol. (N. Y. N. Y.)*, vol. 62, núm. 1, pp. 343–356, ene. 2018, doi: 10.1122/1.5008381.
- [148] C. Vogel y H. W. Siesler, "Thermal Degradation of Poly(ϵ -caprolactone), Poly(L-lactic acid) and their Blends with Poly(3-hydroxy-butyrato) Studied by TGA/FT-IR Spectroscopy", *Macromol. Symp.*, vol. 265, núm. 1, pp. 183–194, may 2008, doi: 10.1002/masy.200850520.
- [149] L. Zhou *et al.*, "The degradation and biocompatibility of pH-sensitive biodegradable polyurethanes for intracellular multifunctional antitumor drug delivery", *Biomaterials*,

vol. 33, núm. 9, pp. 2734–2745, 2012, doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.11.009.

- [150] E. M. Christenson, J. M. Anderson, y A. Hiltner, “Antioxidant inhibition of poly(carbonate urethane)in vivo biodegradation”, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, vol. 76A, núm. 3, pp. 480–490, mar. 2006, doi: 10.1002/jbm.a.30506.
- [151] T. Hammady, A. El-Gindy, E. Lejmi, R. S. Dhanikula, P. Moreau, y P. Hildgen, “Characteristics and properties of nanospheres co-loaded with lipophilic and hydrophilic drug models”, *Int. J. Pharm.*, vol. 369, núm. 1–2, pp. 185–195, 2009, doi: 10.1016/j.ijpharm.2008.10.034.