



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

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

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE UN BIOMATERIAL COMPUESTO
(POLIURETANO- NANOPARTÍCULAS), CON POSIBLES APLICACIONES
PARA SER USADO COMO MARCADOR DE BIOPSIA**

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

**PRESENTA:
MARTÍN CASTILLO SANTILLÁN**

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

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

**DRA. MARTHA ELENA CRUZ SOTO
UNIVERSIDAD DEL VALLE DE MÉXICO, CAMPUS QUERÉTARO**

JURIQUILLA, QUERÉTARO, NOVIEMBRE DEL 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Dedicatorias

**A DIOS,
Y A MIS GRANDES AMORES DE MI VIDA, MIS HIJOS Y MI ESPOSA**

Agradecimientos

A mi tutor principal, Dra. Miriam Rocío Estévez González por su liderazgo, experiencia, apoyo, mentoría y guía en el camino de la investigación.

Al Dr. Ángel Ramón Hernández Martínez como parte de mi comité tutor, por su apoyo en el desarrollo de mi investigación.

A la Dra. Martha Elena Cruz Soto, como parte de mi comité tutor, por su amistad, sus consejos y guía en la parte de la investigación y de este proyecto.

Al Dr. Rodrigo Alonso Esparza Muñoz, por su gran amistad, consejos, ayuda y apoyo técnico en las caracterizaciones DRX, SEM y TEM.

A la Dra. Genoveva Hernández Padrón, por su apoyo técnico y consejos en la caracterización de FTIR y RAMAN y apoyo en el Laboratorio de Síntesis.

A la M. en I.Q. Alicia del Real López, por su apoyo técnico en la formación de películas, consejos que me ayudaron en el desarrollo de este polímero y apoyo técnico en la observación de la Microscopia Electrónica de Barrido.

Al Ing. Adrián Hendrik Oskam Voorduin, por su apoyo técnico en el desarrollo de materiales en la formación de películas de poliuretano.

Al Dr. Achim Max Loske Mehling por su gran amistad, su aportación y gran compromiso en la revisión de este proyecto.

A la Lic. Nancy Retiz Vázquez por su apoyo técnico para la recuperación y revisión bibliográfica.

A la Dra. Blanca Edith Millán Chiu, por su amistad y su gran apoyo en la capacitación para el manejo de equipos, y el tratamiento de organismos vivos para la prueba de radiopacidad.

Al M.C. Francisco Fernández Escobar por su amistad y consejos en el camino de la investigación.

Al M.I. Gerardo Antonio Fonseca Hernández, por su amistad y gran apoyo técnico en las pruebas mecánicas que se realizaron en este proyecto.

Al Dr. José Antonio Pérez Guzmán como gran apoyo y asesoría en la parte técnica en los equipos de cómputo y programas.

Al M.C. Guillermo Vázquez Sánchez como gran apoyo y asesoría en la parte técnica en los equipos de cómputo y programas.

A la Dra. Ma. Lourdes Palma Tirado, por su gran apoyo técnico en las técnicas de Microscopía Electrónica de Transmisión.

Al Q. Miguel Ángel Canseco Martínez, del Departamento de Polímeros del Instituto de Investigaciones en Materiales de la UNAM, por su apoyo técnico en los análisis termogravimétricos y su interpretación de los resultados.

Al MVZ José Martín García Servín y a la Dra. Alejandra Castilla León, del Laboratorio Universitario de Bioterio del Instituto de Neurobiología de la UNAM, Campus Juriquilla por su gran apoyo para realizar la prueba de radiopacidad.

Agradezco a los laboratorios de Difracción de Rayos-x y Microscopía Electrónica de Barrido.

Al Laboratorio Nacional de Caracterización de Materiales (LaNCaM) del CFATA.

Agradezco a mis sinodales por su tiempo y las aportaciones durante la elaboración de esta tesis.

Al Dr. Ángel Luis Rodríguez Morales, por sus consejos y amistad que me ayudaron a terminar a tiempo, y por el apoyo técnico especializado en el diseño y construcción de la cámara incubadora, análisis y procesamiento de imágenes, así como su asesoría en la investigación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico otorgado a través de la beca.

Al Programa de Apoyo de Estímulos del Posgrado por el apoyo en la adquisición de material, reactivos y para actividades foráneas al CFATA.

A todas las personas que integran y forman parte del CFATA, cuyos comentarios, consejos y amistad pude lograr esta meta.

Contenido

DEDICATORIAS.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
ÍNDICE DE TABLAS.....	8
ÍNDICE DE FIGURAS.....	9
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	11
RESUMEN.....	12
ABSTRACT.....	14
INTRODUCCIÓN.....	16
HIPÓTESIS.....	16
JUSTIFICACIÓN.....	16
ANTECEDENTES.....	17
OBJETIVOS.....	21
<i>Objetivo General</i>	21
<i>Objetivos Específicos</i>	21
CAPÍTULO I.....	22
1 MARCO TEÓRICO.....	22
1.1. POLÍMEROS.....	22
1.1.1 <i>Generalidades</i>	22
1.1.2 <i>Mecanismo de síntesis de polímeros</i>	23
1.2 POLIURETANOS.....	24
1.2.1 <i>Historia</i>	24
1.2.2 <i>Síntesis</i>	25
1.3 BIOMATERIALES.....	29
1.3.1 <i>Biodegradación</i>	33
1.3.2 <i>Características de polímeros biodegradables</i>	35
1.4 PCL.....	36
1.4.1 <i>Historia</i>	36
1.4.2 <i>Síntesis</i>	37
1.4.3 <i>Bioaplicaciones</i>	37
1.5 QUITOSANO.....	38
1.5.1 <i>Fórmula y estructura</i>	38
1.5.2 <i>Bioaplicaciones</i>	38
1.6 INULINA.....	39
1.6.1 <i>Fórmula y estructura</i>	39
1.6.2 <i>Bioaplicaciones</i>	40
1.7 NANOPARTÍCULAS METÁLICAS.....	40
1.7.1 <i>Síntesis</i>	40
1.7.2 <i>Bioaplicaciones de nanopartículas de óxido de hierro</i>	42
1.7.3 <i>Síntesis verde de nanopartículas metálicas</i>	42
1.8 <i>KALAONCHOE DAIGREMONTIANA [KD] (ARANTO)</i>	44
1.9 MARCADORES DE BIOPSIA.....	44

CAPÍTULO II.....	46
2 MATERIALES Y EQUIPO	46
2.1 MATERIALES PARA SÍNTESIS DE POLIURETANO	46
2.2 MATERIALES PARA SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE HIERRO	46
2.3 EQUIPOS	46
2.4 CARACTERIZACIONES Y EQUIPOS	47
2.4.1 Radiopacidad	47
2.4.2 Análisis Termogravimétricos.....	47
2.4.3 Espectroscopia Infrarroja FTIR	48
2.4.4 Espectroscopia RAMAN.....	48
2.4.5 Pruebas Mecánicas	48
2.4.6 Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)	49
2.4.7 Difracción de Rayos X (DRX).....	50
2.4.9 Espectrofotometría UV-VIS	50
2.4.10 Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM)	50
CAPÍTULO III.....	51
3 METODOLOGÍA	51
3.1 SÍNTESIS DE POLIURETANO.....	51
3.2 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE HIERRO.....	53
3.2.1 Síntesis química co-precipitación IONPC.....	53
3.2.2 Síntesis de nanopartículas de óxido de hierro “vía verde” IONPG.....	54
3.3 COMPOSITO (POLIURETANO-NANOPARTÍCULAS).....	58
3.4 PRUEBAS DE DEGRADACIÓN <i>IN VITRO</i>	60
3.4.1 Prueba de degradación de poliuretanos	60
3.4.2 Prueba de degradación del composito.....	64
3.5 RADIOPACIDAD.....	65
CAPÍTULO IV	67
4 RESULTADOS Y DISCUSIONES	67
4.1 POLIURETANO	67
4.1.1 Espectroscopia Infrarroja FTIR (poliuretanos).....	67
4.1.2 Espectroscopia RAMAN (poliuretanos)	69
4.1.3 Análisis termogravimétricos DSC/TGA en poliuretanos	73
4.1.4 Pruebas mecánicas de poliuretano	82
4.1.5 Microscopia electrónica de barrido(SEM) en poliuretano.....	90
4.2 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE HIERRO.....	92
4.2.1 Caracterización de IONPC	93
4.2.2 Caracterización de IONPG.....	96
4.3 COMPOSITO POLIURETANO-NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE HIERRO.....	101
4.3.1 Caracterización del composito	101
4.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE DEGRADACIÓN EN SOLUCIÓN FISIOLÓGICA.....	104
4.4.1 Pruebas de Degradación del Poliuretano.....	104
4.5 DEGRADACIÓN DE COMPOSITO	113
4.5.1 Degradación de composito PUNP-3 vs polímero PU-3.....	114
4.6 RADIOPACIDAD.....	116

4.7 DISCUSIONES GENERALES.....	121
4.7.1 <i>Propuesta de reacción para poliuretanos</i>	121
4.7.2 <i>Nanopartículas de óxido de hierro</i>	124
4.7.3 <i>Pruebas de degradación</i>	125
CAPÍTULO V	126
5 CONCLUSIONES	126
REFERENCIAS	128

Índice de Tablas

Tabla 1.- Principales familias de polímeros con aplicaciones médicas [7]	30
Tabla 2.- Proporciones molares [INU : PCL] y [OH ^{PCL} : OCN ^{HMD}] para la síntesis de la serie de poliuretanos	51
Tabla 3.- Variación en proporciones de precursores para síntesis de nanopartículas de óxido de hierro.....	56
Tabla 4.- Relaciones [poliuretano-nanopartícula] del composito.....	58
Tabla 5.- Tabla de control en pruebas de degradación de las series de poliuretanos, en soluciones fisiológicas con diferente pH.....	64
Tabla 6.- Tabla de resultados de espectroscopia infrarroja para PU-1, PU-2 y PU- 3.	67
Tabla 7.- Resultados de espectroscopia RAMAN para PU-1, PU-2 y PU-3.....	70
Tabla 8.- Análisis térmico para el cálculo de las entalpías relacionadas con los eventos energéticos para PU-1, PU-2 y PU-3	79
Tabla 9.- Resultados de análisis termogravimétricos TGA y DSC	80
Tabla 10.- Dimensiones de las películas de poliuretano (PU-2 y PU-3).....	83
Tabla 11.- Resultados de pruebas mecánicas de poliuretanos (Tensión).	83
Tabla 12.- Dimensiones de muestras de poliuretano (PU-1, PU-2 y PU-3).....	85
Tabla 13.- Resultados de pruebas mecánicas de compresión. En la serie de poliuretanos.....	86
Tabla 14.- Fitocomposición de extracción aqua-etánolica de <i>K. Daigremontiana</i> , bandas de absorción en espectro UV VIS.....	99
Tabla 15.- Absorción de agua y tiempo de inicio de degradación para poliuretanos	111

Índice de Figuras

Figura 1.-Mecanismo de reacción de polimerización por adición [37].....	23
Figura 2.- Mecanismo de reacción de polimerización por condensación [37]	24
Figura 3.- Escala Rockwell para diferentes tipos de polímeros	25
Figura 4.- Propuesta de formación de poliuretano	26
Figura 5.- Hidrólisis de enlace X-Y por una molécula de H ₂ O	31
Figura 6.- Tasa de hidrólisis relativa en enlaces susceptibles en familias de polímeros [75].....	32
Figura 7.- Monómeros que conforman la cadena de quitosano	38
Figura 8.- Estructura general de la inulina.....	39
Figura 9.- Mecanismo general de reacción de síntesis de nanopartículas de óxido de hierro por el método	41
Figura 10.- Estructura general de los bufadienólidos	44
Figura 11.- Formas de marcadores de biopsia comerciales.....	45
Figura 12.- Diagrama de flujo de síntesis de poliuretanos	52
Figura 13.- Diagrama de flujo de síntesis de nanopartículas de óxido de hierro por método de co-precipitación	54
Figura 14.- Diagrama de flujo de obtención del extracto	55
Figura 15.- Diagrama de flujo de síntesis de nanopartículas de óxido de hierro “Vía Verde”	56
Figura 16.- Diagrama de flujo para secado de nanopartículas	57
Figura 17.- Diagrama de flujo para fabricación de composito	59
Figura 18.- Diagrama de flujo para la metodología de degradación de los polímeros PU-1, PU-2 y PU-3	63
Figura 19.- Diagrama de flujo de la prueba de radiopacidad del marcador.	66
Figura 20.- Espectro de FTIR de Poliuretanos [PU-1, PU-2, PU-3].....	68
Figura 21.- Espectro RAMAN 0-2000 cm ⁻¹ para las series de poliuretanos	70
Figura 22.- Espectro RAMAN 0-3500 cm ⁻¹	72
Figura 23.- Termograma TGA (PU-1).....	73
Figura 24.- Termograma TGA (PU-2).....	74
Figura 25.- Termograma TGA (PU-3).....	75
Figura 26.- Termograma DSC para PU-1.....	76
Figura 27.- Termograma DSC para PU-2.....	77
Figura 28.- Termograma DSC para PU-3.....	78
Figura 29.- Estructura general de los poliuretanos (cadena integrada por segmentos suave y duro).....	78
Figura 30.- Equipo para pruebas mecánicas (tensión).....	82
Figura 31.- Prueba de tensión de poliuretano PU-2	83
Figura 32.- Prueba de tensión de poliuretano PU-3	84
Figura 33.- Equipo de pruebas mecánicas (compresión).	85
Figura 34.- Prueba de compresión en PU-1	86

Figura 36.- Prueba de compresión en PU-3	87
Figura 35.- Prueba de compresión en PU-2	87
Figura 37.- Microscopía electrónica de barrido en muestra PU-1, con aumentos de 1000 y 5000	91
Figura 38.- Microscopía electrónica de barrido en muestra PU-2, con aumentos de 1000 y 5000	91
Figura 39.- Microscopía electrónica de barrido en muestra PU-3, con aumentos de 1000 y 5000	92
Figura 40 .- Difractograma de comparación de IONPC con estándares de magnetita, maghemita, hematita	93
Figura 41.- TEM de nanopartículas de óxido de hierro (IONPC) síntesis por coprecipitación	95
Figura 42.- Difractograma de rayos X para nanopartículas de óxido de hierro sintetizados por vía verde, para las fórmulas IONPG1 y IONPG2.	96
Figura 43.- Espectrometría RAMAN para nanopartículas de óxido de hierro por el método de síntesis verde, para muestras IONPG1 & IONPG2.	98
Figura 44.- Espectrofotometría UV VIS de la extracción aqua-etánolica de <i>K. Daigremontiana</i> , y bandas de absorción en espectro UVVIS	100
Figura 45.- Microscopía electrónica de barrido topografía superficial en poliuretano PU-3 y composito PUNP-3	102
Figura 46.- Fractura de películas en pruebas de degradación.	105
Figura 47.- Propuesta de interacción nanopartículas con poliuretano, durante la formación del composito PUNP-3	115
Figura 48.- Dimensiones del chip y región de colocación del chip	116
Figura 49.- Imagen de radiografía digitalizada, en original procesada a escala de grises con alto contraste.	117
Figura 50 .- Histograma de escala de grises en 8 bits	118
Figura 51.- Imagen procesada con alto contraste en la región de procesamiento	119
Figura 52.- Identificación del implante con medición de opacidad en escala de 8 bits.	120
Figura 53.- Propuesta general de reacción general de la síntesis de poliuretano base inulina y policaprolactona.	123
Figura 54 .- Propuesta de entrecruzamientos en poliuretano. PU-1, PU-2 y PU-3.	124

Índice de Gráficas

Gráfica 1.- Pruebas de degradación de PU-1.....	106
Gráfica 2.- Pruebas de degradación de PU-2.....	108
Gráfica 3.- Pruebas de degradación de PU-3.....	110
Gráfica 4.- Pruebas de degradación de composito PUNP-3 vs poliuretano PU-3 en solución fisiológica	114

Resumen

En las últimas décadas se han presentado muchos progresos en el desarrollo de nuevos materiales con diversas aplicaciones, entre estos se encuentran los empleados para usos biomédicos que se conocen como biomateriales.

Justamente en el área médica, uno de los desarrollos más importantes, son los utilizados en el campo de diagnóstico, específicamente los llamados “marcadores de biopsia”. Su función es servir de referencia en un área donde se presente una posible lesión o se requiera seguimiento postquirúrgico, para poder ser observado por técnicas de imagenología. A través de esto se puede dar un adecuado seguimiento en el tratamiento y/o evolución de diferentes enfermedades.

Los primeros materiales utilizados como marcadores fueron de acero inoxidable y titanio, debido a las propiedades de biocompatibilidad y radiopacidad; esta última propiedad es necesaria para poder visualizarse por rayos X. Sin embargo, existen dos desventajas: la primera es que son materiales rígidos y pueden ser incómodos; por otro lado, se requiere una segunda cirugía, para retirarlo, incrementando el costo de tratamiento, estrés para el paciente y la probabilidad de riesgo de infección inherente por la segunda cirugía.

Posteriormente, los materiales metálicos fueron recubiertos con polímeros biocompatibles de monómeros como: ϵ -caprolactona, ácido láctico, ácido glicólico, sólo por mencionar los más usados, cuyo objetivo fue para mejorar las técnicas de detección por imágenes cruzadas, complementando la técnica con un equipo de ultrasonido. Sin embargo, tienen las mismas desventajas de la primera generación. Requieren de una segunda cirugía para su remoción, por lo tanto, conlleva a los mismos riesgos.

El extenso uso de los polímeros en aplicaciones médicas se debe a la versatilidad en sus propiedades. Pueden ser rígidos, flexibles, porosos, moldeables, biocompatibles, etc., sólo por mencionar algunas características. Los poliuretanos se encuentran dentro de este grupo de materiales y se han empleado en muchas aplicaciones médicas. Se caracterizan por ser biocompatibles, homocompatibles (no generan interacciones con la sangre, como la trombosis) y tener excepcionales propiedades mecánicas. Es común usarlos en aparatos en contacto con la sangre, como marcapasos, endoprótesis vasculares, etc. A pesar de los prolongados tiempos de contacto con la sangre, poseen una tasa de degradación muy lenta o prácticamente inexistente.

En este proyecto se propone la síntesis de un nuevo polímero tipo poliuretano con propiedades de biodegradabilidad y biocompatibilidad. Para esto se utilizaron polisacáridos naturales, como precursores o portadores de los grupos OH, necesarios para la formación de grupos uretano, como la inulina y/o quitosano. La selección de estos polímeros se debe a que se cuenta con investigaciones previas en aplicaciones biomédicas y a que son biocompatibles.

Debido a las aplicaciones propuestas en este proyecto, los nuevos materiales poliméricos sintetizados deberán poseer una velocidad de biodegradación controlada. Para poder obtener la propiedad de radiopacidad y ser usados como marcadores de biopsia, al marcador se le incorporarán nanopartículas de óxido de hierro. En trabajos previos se ha demostrado su uso como agente contrastante en el campo de diagnóstico, además de ser biocompatibles a ciertas concentraciones.

Esta investigación proporciona una nueva propuesta de síntesis “vía verde” para poliuretanos, debido a que se utilizan polisacáridos naturales como precursores. Se pretende sustituir a los precursores sintéticos, con la ventaja adicional de que son recursos renovables. Estos biomateriales ofrecen la posibilidad de iniciar nuevas líneas de investigación en la síntesis de polímeros, usando precursores más económicos y/o de desechos industriales o agrícolas, lo que ayudará a reducir costos y contaminantes en la creación de nuevos materiales.

Abstract

During the last decades, a new kind of materials has been developed for different applications. An example is biomaterials, which have been used in medical areas. For example, biopsy markers belong to this category. Their main uses are in the field of detection and diagnosis.

Their objective is to function as a position reference in injuries or post-surgical sites, which could be detected due to their radiopacity by x-ray techniques, in order to have an adequate following treatment or evaluation of the evolution the disease.

So far, only two generations of markers have been developed. The first ones were made of steel stainless or titanium; they were used due to their biocompatibility and radiopacity. The second one, were metals covered with a polymer (such as polycaprolactone, polylactic acid or polyglycolic acid). These markers also were biocompatible and radiopaque, but with two additional features: They had a hemostatic effect and could be used for cross-imaging techniques for both x-ray and ultrasound.

Both have the disadvantage of being rigid materials, which could be uncomfortable. Furthermore, a second surgery is necessary to remove them, increasing costs of treatment, stress for the patient and the risk of infection.

Polymers have been used in medical applications due to their properties, such as stiffness, flexibility, porosity, moldability and, the most important, biocompatibility. Polyurethanes belong to this group, being hemocompatibles (they do not interact with the blood to produce thrombosis) and having adequate mechanical properties. Their main applications involve devices that are in contact with the blood, such as stents, cardiac valves and pacemaker. In spite of the time of contact with blood, they show a very slow or almost non-existent degradation rate.

This project focuses on the development of a new degradable and biocompatible polymer -polyurethane type- based on natural polysaccharides, which are carriers of OH groups, needed for the synthesis of polyurethanes. Polysaccharides, such as inulin and chitosan, have been reported in biomedical applications due to their biocompatibility.

The new synthesized polyurethane must have a controlled biodegradation rate to fulfill the requirements for the desired biomedical applications. To be used as a contrast agent in the field of diagnosis, the devices were covered with a biocompatible concentration of iron oxide nanoparticles.

This thesis deals with the development of so-called “green way” polyurethanes, obtained by replacing synthetic precursors by natural polysaccharides, which additionally are renewable resources. These new biomaterials offer the possibility of initiating new research fields to synthesize polymers, using cheaper precursors, and industrial or agricultural waste, to reduce costs and contaminants.

Introducción

Hipótesis

El uso de polisacáridos naturales como portadores de grupos hidroxilo servirá para poder sintetizar, por diferentes rutas químicas, nuevos polímeros tipo poliuretano, que sean biocompatibles y que posean una velocidad de biodegradación controlada, para poder ser usados en diversas bioaplicaciones

Justificación

Los marcadores de biopsia han ayudado en el seguimiento y tratamiento de algunas lesiones y enfermedades. Su desventaja es que una vez que cumplen su función se requiere una intervención quirúrgica para retirarlos, aumentando con ello los riesgos de infección, y el al estrés en el paciente, además de generar costos adicionales por la cirugía requerida para su remoción.

Los poliuretanos, son polímeros que han sido ampliamente utilizados en biomedicina, debido a sus excelentes propiedades mecánicas, biocompatibilidad y homocompatibilidad. Sin embargo, presentan una tasa de degradación nula o muy baja, por lo que en este proyecto se propone sintetizar un nuevo material polimérico tipo poliuretano a través de nuevas rutas químicas de síntesis. Además de usar precursores naturales como portadores de los grupos hidroxilo para sintetizar polímeros tipo poliuretano, que sean biodegradables, biocompatibles y con propiedades mecánicas adecuadas para poder usarse como marcador de biopsia. Es necesario que el prototipo sea radiopaco, y para lograrlo se propone el uso de nanopartículas de óxido de hierro, que se ha demostrado son biocompatibles.

Esta nueva propuesta, reduce el uso de precursores obtenidos por síntesis química y los substituye por compuestos naturales o recursos renovables. Además, y de forma no menos importante, disminuye los costos y riesgos en la salud de los pacientes.

Antecedentes

Los materiales siempre han estado en contacto con la historia de la humanidad. El desarrollo y progreso de las sociedades están íntimamente ligados con la comprensión y manipulación de los materiales [1]. El conocimiento de su composición y estructura, así como el procesamiento y su síntesis, han ayudado en el desarrollo de nuevas tecnologías y aplicaciones, ofreciendo mejoras en nuestra confortabilidad y existencia. [2]

La idea principal es desarrollar materiales con propiedades específicas que se adecuen a nuestras necesidades y que promuevan una respuesta adecuada a cierto estímulo; además, esta nueva propuesta debe ser versátil, viable y factible.

En general los materiales los categorizamos en términos de sus estructuras y propiedades y los podemos clasificar en forma general como polímeros, cerámicos, metales, materiales naturales y compositos. [3] .Es normal que en la naturaleza no se encuentren materiales que cumplan con todas las propiedades requeridas, por lo que la búsqueda y la creación de nuevos materiales, conllevan a nuevas investigaciones o desarrollos, donde se requiere un conocimiento más detallado en la comprensión de sus estructuras.

El enorme progreso que se ha logrado, ha desarrollado materiales muy avanzados, donde se han mejorado sus propiedades con un alto rendimiento, los cuales se han utilizado o aplicado en áreas complejas como aeroespaciales, semiconductores, electrónica, magnética, medicina, que no sólo son mejoras en la tecnología, sino han llegado a tener un enfoque más esperanzador para la humanidad. Si nos enfocamos en el área de la biomedicina, en general se han aplicado con fines terapéuticos, en el campo de detección, diagnóstico, desarrollo de implantes o prótesis. [2] [4] Estos nuevos materiales aplicados en el área médica son llamados *biomateriales*, y cuya síntesis y precursores que se han utilizado son de origen natural, sintéticos o una combinación de los mismos. Sus aplicaciones y usos se han probado con excelentes resultados en implantes, dispositivos o equipos de proceso que han interactuado con sistemas biológicos. [5] Un biomaterial se define como cualquier material usado en el área médica, destinado a interactuar con sistemas biológicos. [6]

Se puede generalizar más al eliminar la palabra “área médica”, donde además de fines terapéuticos y de diagnóstico, pueden incluirse aplicaciones como ingeniería de tejidos e inclusive órganos artificiales híbridos, donde podemos incluir células. [4] Finalmente, se definiría como la interacción de un material con un sistema biológico.

Si usamos el término *sistema biológico*, es importante mencionar la palabra *biocompatibilidad*, indicando que es la capacidad de un material para funcionar con una adecuada respuesta en una aplicación específica. [6].

Donde *capacidad para funcionar con una adecuada respuesta* se refiere a una cicatrización, mimetización o curación normal. Y por *aplicación específica*, se entiende la función para la cual fue diseñada, por ejemplo, un lente de contacto es sólo para mejorar la capacidad visual, por lo que no debe de producir otro tipo de respuestas o interacciones. En el desarrollo de los biomateriales se pueden mencionar tres principales generaciones: [4]

- a) La primera generación, es decir, la de los llamados materiales bioinertes tuvo como objetivo reducir la interacción o reacción en él huésped.
- b) La segunda generación de biomateriales, denominados bioactivos, se caracterizó por una reacción controlada con el ambiente donde interactuaban, incluidos los materiales biodegradables.
- c) La tercera generación, que se encuentra en desarrollo, es la regeneración de los tejidos. Aunque ya existen muchas investigaciones enfocadas a este tema, aún se tiene una gran brecha para su comprensión, debido a lo complicado de las interacciones del organismo biológico con el biomaterial.

Para la fabricación de biomateriales se han utilizado metales, cerámicos, vidrios, polímeros y/o composites. Los polímeros presentan mayores ventajas comparados con otros materiales [4]. Una de ellas es su gran flexibilidad; además se pueden producir, desarrollar y diseñar para ofrecer un amplio rango de propiedades mecánicas, con una gran diversidad de propiedades físicas y químicas para diferentes aplicaciones. Aún más interesante, es la propiedad de poder ser biodegradable, con la posibilidad de ser excretados y/o absorbidos. Por consiguiente, se puede evitar la intervención quirúrgica una vez que ha concluido su función. [7]

El tema de biodegradación es muy complejo, pero existen consideraciones que se deben tomar en cuenta en el diseño de polímeros biodegradables.

El material al interactuar con un sistema biológico: [8]

- 1) No deben de generar una respuesta inflamatoria aguda
- 2) El tiempo de degradación debe de coincidir con la función de diseño
- 3) Debe de tener adecuadas propiedades mecánicas referentes al uso
- 4) No debe ser tóxico, al igual que los sus subproductos
- 5) Los productos de degradación deben de absorberse o excretarse.

Un factor importante a considerar es que puede existir cambio de propiedades y características durante el proceso de degradación. [7]

Se pueden mencionar una gran variedad de polímeros o copolímeros que se han desarrollado como biomateriales. El siguiente listado es enunciativo mas no limitativo, por ejemplo, poliacido láctico, poliacido glicólico, policaprolactona, poli 1,8-octanediol, glicerol, ácido sebásico, colágeno, poliacido málico. También existen familias especializadas de polímeros, como lo son los poliuretanos, —cuyos precursores también se han utilizado algunos de estos monómeros como, polipropilen glicol, polietilen glicol, ácido glicólico. Los resultados de estos materiales en estas investigaciones, muestran una diversidad de propiedades como biodegradabilidad, biocompatibilidad, atóxicidad, tanto en productos como subproductos, versatilidad en propiedades mecánicas como dureza o suavidad, adecuada estabilidad mecánica e integridad estructural. Estos nuevos biomateriales se han aplicado en campos como medicina, ingeniería de tejidos, liberación de fármacos, marcadores para diagnóstico, andamios, etc. Inclusive muchos de ellos ya cuentan con aprobación de la FDA. [9] [10] [11] [12]

La gran relevancia del uso de los poliuretanos comparado con otros polímeros, es que presentan alta eficiencia estructural, adecuadas propiedades mecánicas como dureza y elasticidad, alta resistencia a la fatiga, buena integridad mecánica, hemocompatibilidad para aplicaciones en contacto con la sangre. De ello su gran uso en marcapasos, catéteres, bombas de asistencia cardiacas, esfínter artificial, etc. Los poliuretanos tienen una tasa de degradación muy baja, que es otra característica necesaria para estas aplicaciones. [13] [14] [15]

Se han descrito algunas aplicaciones de biomateriales con fines terapéuticos, y en las últimas décadas se han realizado exitosamente en implantes dentales, suturas quirúrgicas, prótesis de rodilla y cardera, implantes de busto, endoprótesis vasculares, etc. [4] [16]

Sin embargo, como se mencionó al principio existen otros campos de uso en el área de diagnóstico; algunos de ellos son llamados marcadores, cuyo uso principal es servir de referencia al detectar una lesión o microcalcificaciones para evaluar su evolución, o para seguimiento a tratamientos de alguna enfermedad o en quimioterapia. [17] [18] [19]

De este tipo de marcadores algunos han sido utilizados para biopsia. Han existido dos generaciones; los primeros fueron metálicos fabricados de acero inoxidable o titanio, debido a sus propiedades radiopacas, se puede visualizar por rayos X o resonancia magnética.

La segunda generación apareció en el 2003, utilizando el mismo material metálico de la primera generación, pero embebidos en un material polimérico, la ventaja con respecto a la primera generación es que se pueden visualizar por dos técnicas de imagenología cruzadas, como son los rayos X y el ultrasonido, por la propiedad radiopacidad de la parte metálica y ecogenicidad por el material exterior. La parte polimérica ayuda a la localización del marcador e inclusive a la recuperación porque algunos tienen propiedades hemostáticas. [18] [20] [21]

Existen recomendaciones por parte de especialistas como los oncólogos, radiólogos, cirujanos y patólogos, que se debe de colocar un marcador cuando se realiza una biopsia o cirugía. También la Sociedad Europea de Oncología Médica recomienda que al menos se debe de tener un seguimiento de hasta 3 años en caso de presentarse una lesión, biopsia o cirugía. [18] [22] [23]

Después de muchos años del uso de marcadores, aún no se ha detectado efectos adversos en su aplicación. Sin embargo, algunos pacientes presentan estrés relacionado con la presencia del clip y la dureza del mismo. La principal desventaja es que el marcador una vez que ha cumplido su función requiere una segunda intervención, incrementando los costos del tratamiento, ansiedad del paciente y la probabilidad de infección por la cirugía. [24] [25] [26]

Se ha observado un progreso notable en el desarrollo de nuevos biomateriales. Aún existen muchos retos tecnológicos en la síntesis de materiales cada vez más especializados y con un enfoque a la tercera generación que es medicina regenerativa. Sin embargo, no se está tomando en consideración el impacto ambiental en el desarrollo de los mismos. [1] [4]

Recientemente se han creado líneas de investigación alternativas con un enfoque ambiental llamado “síntesis verde”, mediante las cuales se proponen algunas propuestas; este listado es enunciativo, pero no limitativo;

- a) Reducción o eliminación de precursores sintéticos
- b) Uso de precursores naturales o renovables como el CO₂
- c) Disminución o eliminación del uso de solventes orgánicos o tóxicos, mediante la substitución en productos base agua. [9] [27]

La búsqueda de nuevos biomateriales ambientalmente benéficos, ofrece propuestas que disminuyen el uso de precursores tóxicos, solventes orgánicos y promueven el uso de precursores naturales y recursos renovables; que adicionalmente se conserven o mejoren sus propiedades físicas o químicas y que además sean biocompatibles y/o biodegradables. Esta nueva línea a explorar, ofrece una perspectiva a nuevas líneas de investigación de síntesis verde en la creación de nuevos materiales.

Objetivos

Objetivo General

Sintetizar y caracterizar un biomaterial compuesto, mediante la síntesis verde de poliuretano-nanopartículas metálicas, para evaluar sus aplicaciones como posible marcador de biopsia.

Objetivos Específicos

1. Sintetizar y caracterizar un poliuretano base síntesis verde, utilizando polisacáridos naturales.
2. Sintetizar y caracterizar nanopartículas de hierro usando extractos naturales como agentes reductores.
3. Establecer las relaciones polímero-nanopartículas.
4. Caracterización del material compuesto obtenido de poliuretano-nanopartículas.
5. Evaluar la velocidad de biodegradación del poliuretano “in vitro”, en soluciones fisiológicas.
6. Evaluar la velocidad de biodegradación del composito “in vitro”, en soluciones fisiológicas.
7. Evaluar las propiedades radiopacas del material compuesto.

CAPÍTULO I

1 Marco Teórico

1.1. Polímeros

1.1.1 Generalidades

Los polímeros como el algodón, almidón, proteínas existen en la naturaleza y han sido utilizados por el hombre con usos desde el vestido hasta aplicaciones industriales. Sólo a inicios del siglo XX, se comenzaron a producir polímeros sintéticos cuyo objetivo era reducir costos o mejorar algunas propiedades. En general los polímeros son largas cadenas de monómeros con un alto peso molecular, en literatura también se ha utilizado el nombre de “macromoléculas”, cuando se refirieren a materiales poliméricos o materiales base polimérica. [28]

La arquitectura estructural de los polímeros se define como la manera en que la que los monómeros se organizan y forman una secuencia dentro de la macromolécula. El desarrollo de esta microestructura está muy relacionado con las propiedades mecánicas y físicas macroscópicas de los polímeros. Estas mismas propiedades también dependen de la composición de los monómeros, la morfología, topografía, estereodisposición, distribución del peso molecular y peso molecular promedio en la macromolécula polimérica. Es importante mencionar que este listado es enunciativo más no limitativo. [29] [30] Por otro lado, la topografía, arquitectura y funcionalidad de las estructuras a desarrollar, también dependen de las proporciones de los precursores, del catalizador, del diseño de la síntesis, la técnica y el proceso. [29] [31]

La clasificación de los polímeros de acuerdo al mecanismo de síntesis por Flory, se divide en dos: polimerización por adición y polimerización por condensación. [32] En forma general se puede incluir una tercera reacción llamada polimerización por metátesis, que incluye polimerización por apertura de anillo y metilación acíclica. [33] [34]

Cerca de un 50% de la síntesis de polímeros que se han realizado en las últimas décadas han sido principalmente por polimerización por adición, también llamada por radicales libres; aunque algunos autores la consideran inadecuada para la preparación de macromoléculas complejas, [29] [35] por lo que se han diseñado nuevas metodologías para la síntesis de arquitecturas más complejas y sofisticadas, como polimerización iónica controlada, polimerización por radicales, polimerización por emulsión, polimerización por apertura de anillo, polimerización por etapas o técnicas de modificación post polimerización. [31] [35]

1.1.2 Mecanismo de síntesis de polímeros

Polimerización por adición; está compuesta por tres etapas que son iniciación, propagación y terminación. Normalmente utiliza precursores de monómeros insaturados. Es un método mediante la adición sucesiva de bloques activos con radicales libres, que se pueden generar por varios mecanismos. Este tipo de polimerización es muy versátil, útil y no incluye la pérdida de moléculas. [36]

Algunos ejemplos comunes obtenidos por este tipo de síntesis son el polietileno, el poliácridonitrilo, el poliestireno y el poliisobuteno. El mecanismo general de la reacción de polimerización por adición se muestra en la Figura 1. [37]

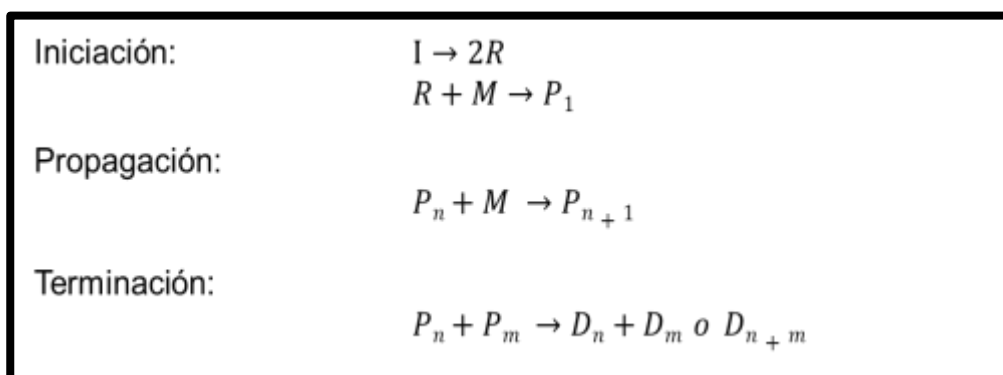


Figura 1 .-Mecanismo de reacción de polimerización por adición [37]

En la etapa de iniciación; el iniciador **I**, se descompone generando 2 radicales libres **R**, el cual reacciona con el monómero **M**, para producir el polímero de longitud **P1**, el cual tiene un radical libre. En la etapa de propagación se extiende de acuerdo a la unión de monómeros activos **P1**. Como último paso se termina al unirse dos partes con radicales activos **Pn + Pm**. [37]

En un inicio uno de los problemas a controlar en este tipo de reacciones fue la estereoespecificidad, pero se han desarrollado técnicas usando catalizadores Ziegler-Natta, que ayudaron a resolver estos inconvenientes. [38]

Polimerización por condensación; también conocida como polimerización por etapas. Es la reacción de dos monómeros o cadenas por medio de grupos funcionales, que incluye la eliminación de moléculas como el agua, metanol, amonio. etc. Es importante mencionar que los monómeros o cadenas deben de tener al menos dos grupos funcionales. Un ejemplo de polímeros sintetizados por este mecanismo son los poliuretanos, las poliamidas y los poliésteres. [37] El mecanismo se muestra en la Figura 2.

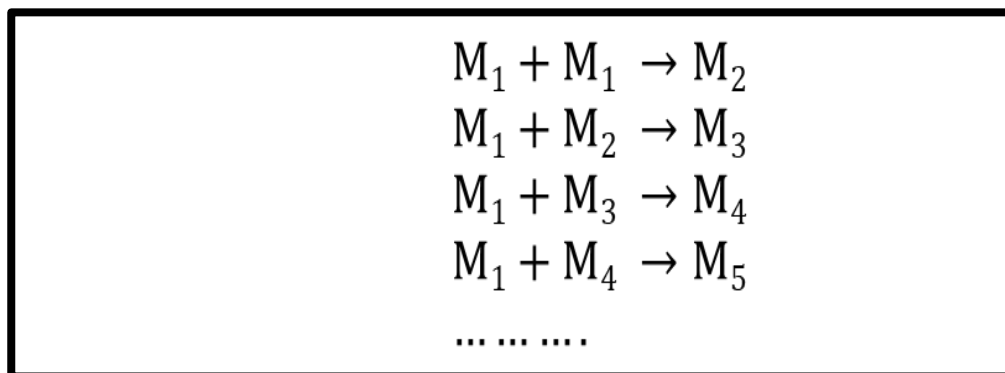


Figura 2.- Mecanismo de reacción de polimerización por condensación [37]

La reacción entre monómeros **M1**, genera un dímero **M2**, trímero **M3**... y así sucesivamente, la cadena se va incrementando hasta que se termina el monómero. [28] Las proteínas son un ejemplo de polimerización por condensación en la que el grupo funcional es el grupo amino y carboxílico formando un enlace o grupo funcional llamado amida o peptídico. Algunos polímeros sintetizados por esta vía como los poliuretanos, tienen una gran importancia en las bioaplicaciones. [36]

1.2 Poliuretanos

1.2.1 Historia

Los poliuretanos son polímeros con una gran variedad de aplicaciones, presentan una gran versatilidad en sus propiedades mecánicas, una gran estabilidad, resistencia a la fatiga, así como una flexibilidad. Debido a esto, han sido ampliamente útiles en la vida diaria. La producción anual de poliuretanos corresponde un 5% de la producción del mercado global y son el sexto grupo de polímeros distribuido a nivel mundial. [27] [39] [40] [41]

Los poliuretanos fueron creados por Otto Bayer y algunos colaboradores en 1937. Las primeras producciones fueron reacciones entre grupos diisocianato y diaminas; se llamaban poliureas. Posteriormente, la reacción fue entre diisocianatos y dioles alifáticos, cuyo resultado fueron los llamados poliuretanos. La síntesis general de poliuretanos es por polimerización por condensación. [16] [39] [42]

En la industria tienen usos como espumas, adhesivos, aislamientos, fibras textiles, [41] [27]; en la agricultura como herbicidas, insecticidas, abonos, nutrientes [43], pero fue hasta 1960 cuando se empezaron a desarrollar avances en el área médica, debido a sus excelentes propiedades mecánicas, biocompatibilidad y hemocompatibilidad, específicamente en aplicaciones cardiovasculares y en sistemas que están en contacto con la sangre, como válvulas de asistencia cardiaca. [4] [44]

En la Figura 3 se puede observar una excelente propiedad mecánica de los poliuretanos, por ejemplo, la dureza de los plásticos cuyas unidades para medir se definen como shore, y su escala se usa para expresar la dureza elástica en plásticos y elastómeros.

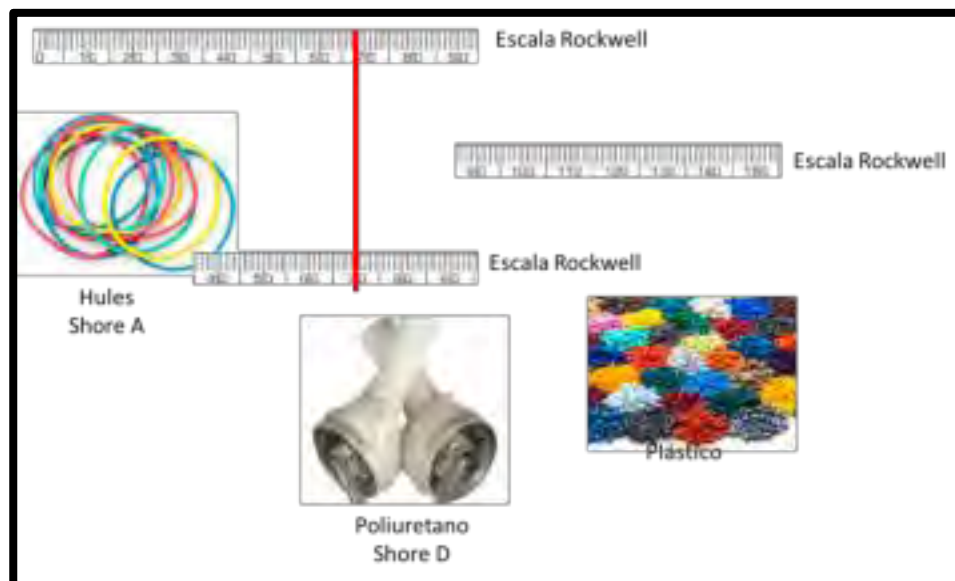


Figura 3.- Escala Rockwell para diferentes tipos de polímeros

1.2.2 Síntesis

Los poliuretanos son heterocadenas de polímeros cuya estructura se define $[OCONH-R-NHCOO-R']$ donde el grupo uretano es $[-NHCOO-]$. [45] La reacción general de la síntesis de poliuretanos se realiza entre el grupo hidroxilo $[-OH]$ de un diol o poliol y el grupo $[-OCN]$ isocianato de otro componente, el cual debe de contener al menos dos grupos funcionales que puede ser disocianato o poliisocianato [27] [46], en presencia de catalizadores como aminas ternarias, compuestos de estaño o plomo. También en algunas reacciones incluyen la adición de extensores de cadena [47]

En general, los poliuretanos tienen una baja tasa de degradación y presentan una alta resistencia a la degradación hidrolítica, sobre todo aquellos cuyos precursores son alifáticos, de los precursores de dioles y diisocianatos. [14] [48] [49] Debido a esta propiedad, además de la biocompatibilidad, han sido muy utilizados exitosamente como catéteres, marcapasos, soportes endovasculares, bombas de cardioasistencia. [41]

Existen varias técnicas de síntesis de poliuretanos: dos pasos (pre-polímero), cuasi pre-polímero y un paso. En el diseño de la síntesis se modifica la secuencia, proporciones, las etapas, cantidad y número de precursores, el tiempo, tipo de precursores como dioles, polioliés, isocianatos, adición de extensores de cadena o reticulantes. [41] [50] Las rutas para la síntesis de poliuretanos puede ser a través del uso de isocianatos, o la ruta de no-isocianatos donde se usan diaminas y anhídridos alifáticos o aromáticos, la formación de polioliés de aceites vegetales por medio de epoxidación, hidroformilación-reducción, ozonólisis-reducción, transesterificación, sulfonación-adición. [51] [52] o por funcionalización con aminosilanos/carbonatos [27] [53].

El peso molecular final y las propiedades finales del poliuretano, dependen del proceso de síntesis, pero también en gran parte de la relación entre el tipo de precursores y sus proporciones, así como el extensor de cadena seleccionado [27] y el grado de entrecruzamiento. Algunas de las propiedades físico-mecánicas que se verán afectadas pueden ser la elasticidad, suavidad, dureza, rigidez o clasificación del mismo, ya sea termoplásticos, termofijos o termoestables [50] [54] e inclusive algunas otras propiedades físico-químicas, como la temperatura de degradación. Por ejemplo, existe un amplio rango de temperatura de degradación para algunos poliuretanos que va desde 88 hasta 388°C. [55]

Aunque existen muchos procesos mediante los cuales se lleva a cabo la reacción de polimerización, a continuación, se representa en forma muy general la formación del proceso de síntesis de poliuretanos, La Figura 4 nos muestra la propuesta de reacción para la formación de un poliuretano.

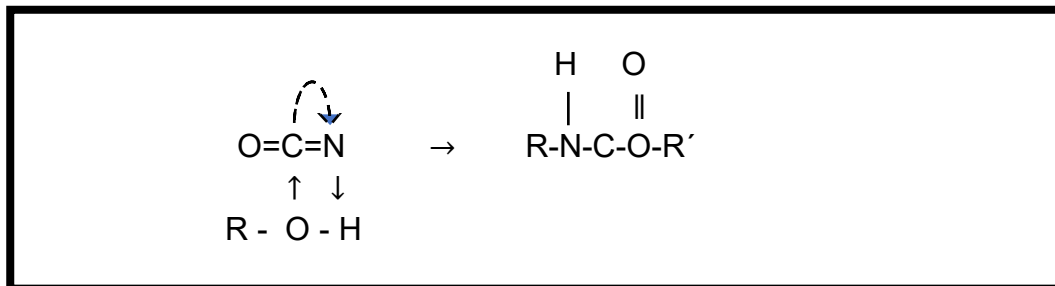


Figura 4.- Propuesta de formación de poliuretano

La importancia de los precursores en la síntesis, afectará las propiedades finales del polímero e inclusive sus aplicaciones, uno de ellos son los isocianatos. Debido a la característica electrofílica del carbón en el grupo ciano [-OCN-], estos compuestos químicos son altamente reactivos. Existen diisocianatos alifáticos o aromáticos o poliisocianatos, todos ellos se han usado para sintetizar poliuretanos, algunos ejemplos de los más utilizados son tolueno diisocianato, difenilmetil diisocianato, hexametil diisocianato, isoforona diisocianato, 4,4' dicilohexil diisocianato, isocianurato. [27] [50] Sin embargo, para aplicaciones biomédicas, la degradación de isocianatos aromáticos puede producir subproductos teratogénos, por lo que se han creado nuevos desarrollos de isocianatos; uno de ellos es funcionalizando lisina y adicionando el grupo funcional ciano. [41]

Los isocianatos con grupos aromáticos son más reactivos que los alifáticos [56], pueden actuar dentro de la fase del polímero como segmento suave o duro, que no sólo depende del tipo de monómero a utilizar, sino también de la técnica de síntesis realizada. Dependiendo de la función de la fase dentro de la estructura puede otorgarle propiedades elásticas o rígidas en el poliuretano. Esta mezcla de estructuras o separación de fases es lo que hace atractivo a este tipo de polímeros. [42]

Sin embargo, en los últimos avances de síntesis tratan de reducir, substituir o eliminar el uso de diisocianatos y/o precursores obtenidos por síntesis química o derivados de petróleo, para ofrecer una alternativa más amigable con el medio ambiente [47] [57] y riesgos a la salud [27]. Una alternativa es utilizar otras fuentes de carbono como el CO₂ o la síntesis de PU base agua, sustituyendo los solventes orgánicos volátiles. [58]

Por otro lado, los dioles o polioles son muy importantes para la síntesis de poliuretanos comúnmente usados, como los poliéteres o poliésteres. Los poliésteres son más susceptibles a degradación hidrolítica, pueden ser tan simples como 1,4 butanodiol, 1,6-hexano diol, o de mayor peso molecular como policaprolactona, poliacidoláctico, poliacido glicólico o pueden ser polioles que funcionan como reticulantes en la estructura de los poliuretanos como glicerol, etilenglicol, propilene glicol. [10] [44] [47]

Recientes investigaciones se enfocan en reducir el uso de polioles derivados del petróleo por polioles naturales y substituirlos por aceites vegetales, lignina, madera, celulosa, [27] o polisacáridos naturales, triglicéridos u otro precursor derivado de un recurso natural de bajo costo. [59] [60] Se pueden obtener poliuretanos inmersos en una estructura o matriz polimérica, los cuales están distribuidos dentro de la red de un polisacárido. O el mismo polisacárido pertenece a la cadena principal de la estructura del poliuretano. [61] [62]

La importancia de los catalizadores en la síntesis de poliuretanos promueve la reacción entre los precursores. Aún no se tiene certeza como actúan durante la catálisis, pero existen diferentes mecanismos propuestos en compuestos organometálicos o aminas ternarias. En forma general se pueden clasificar en grupos como activadores nucleofílicos o electrofílicos, cuya acción catalítica puede funcionar como bases o ácidos de Lewis. Algunos ejemplos de los catalizadores más comunes en la síntesis de PU, como aminas ternarias son trietilendiaminas, N,N-Dimetiletanolamina, 2,2'-diazabicyclo[2.2.2]octano (DABCO) o compuestos organometálicos de diferentes metales como plomo, mercurio, fierro, zirconio, magnesio o estaño. [15] [50] [63] [64] Sin embargo, los compuestos de estaño son los que presentan mayores características catalíticas como el dibutil dilaurato de estaño u octoato de Estaño [64]

Es importante el uso de los catalizadores en la síntesis, pero también se debe considerar a las características del solvente. Propiedades como la polaridad, la constante dieléctrica, la facilidad de formación de enlaces de hidrogeno, capacidad de donación de electrones una forma de medir interacciones entre soluto/solvente, en nuestro caso es el diol, polioliol o diaminas. [65] Algunos de solventes más utilizados son dimetilsulfóxido o dimetilformamida, debido a que presentan valores de número donador de electrones y constante dieléctrica adecuada necesaria para la síntesis. Si la selección del solvente no es adecuada, puede existir una inhibición de la reacción pudiendo existir competencia entre el solvente y uno de los reactivos. [64] [66] [67]

Como extensores de cadena pueden ser dioles o diaminas; en algunos casos se pueden sustituir por péptidos, aminoácidos, polisacáridos, la cadena molecular debe ser corta, y su función es aumentar el peso molecular del polímero. [44]

La polimerización vía condensación, proporciona a muchos polímeros la propiedad de poder funcionar como biomateriales. En la tabla no 1, se observa que los poliuretanos pertenecen a grupo de biomateriales aprobados, y se utilizan ampliamente en el campo de la medicina, debido a su propiedad de biocompatibilidad y homocompatibilidad; son resistentes a la hidrólisis con una tasa de degradación muy baja o casi nula. [68]

1.3 Biomateriales

Hoy en día a algunos de los nuevos materiales que se han utilizado en áreas como medicina, odontología y biotecnología, se les conoce con el nombre de “biomateriales”. Sin embargo, hace 60 años aún no se conocía esta palabra, no existían empresas dedicadas a su manufactura, ni tampoco existía un proceso regulatorio o una entidad de aprobación, por lo que no se tenía conocimiento de su impacto en el organismo o de su biocompatibilidad. [16]

Sin embargo, los biomateriales se usaron aun sin existir organismos reguladores y teniendo poco conocimiento de su interacción. Algunos tuvieron resultados satisfactorios y otros fallaron. Esta acumulación de conocimiento y resultados a través de la historia y el desarrollo de nuevas investigaciones, perfeccionaron el desarrollo de los biomateriales. Generalmente su uso es con fines terapéuticos o diagnóstico en una amplia variedad de implantes, aparatos, accesorios, equipos de proceso que tienen contacto con sistemas biológicos. [4] [16]

Un biomaterial se puede definir como un material que interactúa con un sistema biológico. Esta definición es muy amplia porque incluye aplicaciones médicas e ingeniería y regeneración de tejidos, desarrollo de órganos artificiales y el uso de células. [4] [6] [7]

Se puede definir como biocompatibilidad, la habilidad de un biomaterial de realizar una adecuada respuesta del huésped, para una aplicación específica. Donde “adecuada respuesta del huésped” se refiere a una curación sin complicaciones, y “una aplicación específica” se refiere a la función para la cual fue diseñado. [4] [7] [69]


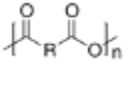
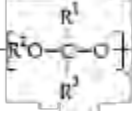
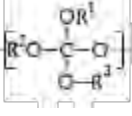
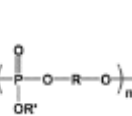

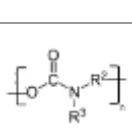
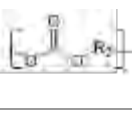
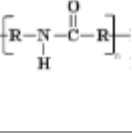
Familia de Polímero	Estructura	Aplicaciones	Ventajas	Desventajas
Polifosfacenos		Ingeniería de tejidos Adyuvante de vacunas	Flexibilidad Control de propiedades mecánicas	Síntesis compleja
Polianhídridos		Liberador de fármacos Ingeniería de tejidos	Degradación controlada Monómeros muy flexibles	Propiedades mecánicas débiles Bajos pesos moleculares
Poliacetales		Liberador de fármacos	Sensible a pH Degradación controlada por pH	Bajo peso molecular Síntesis Compleja
Poliortoésteres		Liberador de fármacos	Degradación controlada por pH Velocidad degradación controlada	Propiedades mecánicas débiles Síntesis Compleja
Polifosfoésteres		Liberador de fármacos Ingeniería de tejidos	Biocompatibilidad Subproductos biocompatibles	Síntesis compleja
Poliésteres		Ingeniería de tejidos Liberador de fármacos	Gran número de empresas de manufactura de monómeros	No es degradable Inflamación por degradación ácida
Poliuretanos		Prótesis Ingeniería de tejidos	Excelentes propiedades mecánicas Resistencia a tensión	No es degradable Síntesis con copolímeros
Policarbonatos		Ingeniería de tejidos Liberador de fármacos	Control químico de propiedades mecánicas Degradación por superficie	No es degradable Síntesis con copolímeros
Poliamidas		Liberador de fármacos	Biocompatibilidad de polímero y subproductos	No es degradable Carga de toxicidad inducida

Tabla 1.- Principales familias de polímeros con aplicaciones médicas [7]

Para el diseño y desarrollo de un biomaterial podemos utilizar metales, cerámicos, vidrios, polímeros. Sin embargo, los polímeros son los más ampliamente usados como biomateriales. Esto se debe a su flexibilidad o versatilidad en un amplio rango de propiedades físicas y químicas. Por ejemplo, pueden ser duros, flexibles, rugosos, porosos. Se pueden aplicar en diversos campos o áreas biomédicas. Un ejemplo que ya fue aprobado son lentes de contacto. Sin embargo, existen nuevas bioaplicaciones que se están diseñando y son más complejas como la liberación de fármacos, la ingeniería de tejidos, los órganos artificiales, los implantes y las prótesis. Su propiedad más interesante es que pueden ser degradables, ya sea absorbidos o excretados. [7] [36] [70]. En general existen 4 mecanismos de biodegradación; degradación hidrolítica, enzimática, oxidativa y mecánica. [71]

Las bioaplicaciones con polímeros naturales como colágeno o quitosano, tienden a ser más susceptibles a la degradación enzimática u oxidativa, debido a que los pacientes muestran una diversidad enzimática y diferente perfil de niveles de macrófagos; la degradación es variada y no existe un control o predicción del comportamiento. [72] [73]

Por otro lado, biopolímeros cuya composición de monómeros no son naturales, ya sea total o parcial en la cadena principal, tienen mayores posibilidades de tener una degradación uniforme, además de control de sus propiedades mecánicas. Por lo anterior es una característica atractiva de este tipo de materiales. Generalmente la degradación es hidrolítica. [7]

La hidrólisis en polímeros, se realiza en el enlace más débil de su cadena principal y reacciona con agua, mediante la cual no se requiere otro activo o influencia. En esta ruptura uno de los productos gana un hidrógeno y otro gana un grupo hidroxilo de acuerdo a la Figura 5. [39] [74]

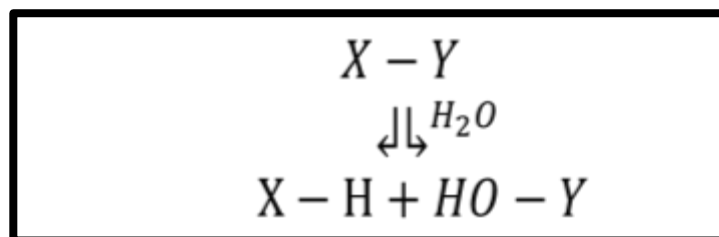


Figura 5.- Hidrólisis de enlace X-Y por una molécula de H₂O

En la Figura 6, se muestra la tasa de degradación hidrolítica de principales familias de polímeros en pH fisiológico. En general los polímeros con alta tasa de degradación, presentan velocidades de hidrólisis más rápidas en su cadena principal y viceversa. Sin embargo, también existen otros factores que modifican la tasa de degradación además del pH, como la composición de monómeros, estructura, morfología, geometría, contenido de agua. [75]

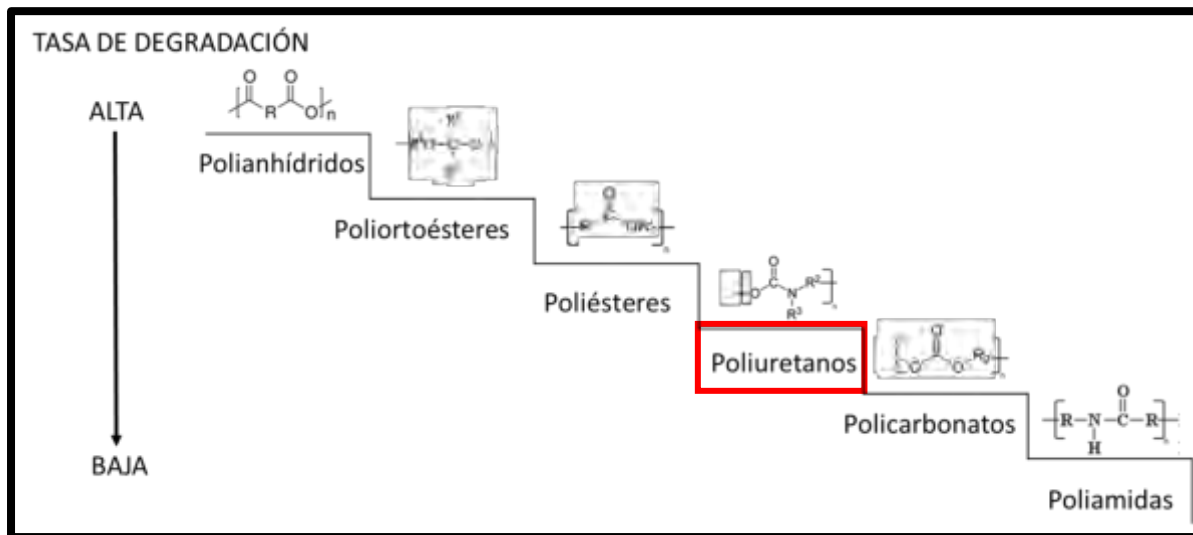


Figura 6.- Tasa de hidrólisis relativa en enlaces susceptibles en familias de polímeros [75]

Polímeros como ésteres, amidas, anhídridos, acetales su enlace es susceptible a hidrólisis. Si revisamos el estado del arte, existen reportadas nuevas líneas de investigación que ha incursionado en la búsqueda y diseño de nuevos polímeros biocompatibles, biodegradables y nuevos biomateriales para diferentes aplicaciones en el área de medicina. [7]

Los poliuretanos son considerados resistentes a la hidrolisis. Como se puede observar en la Figura 6, tienen una tasa de degradación muy baja o se podrá decir que son no degradables, sin embargo, existen investigaciones que realizan modificaciones en los enlaces o en la cadena, para otorgarles la propiedad de degradación. [76]

1.3.1 Biodegradación

El término biodegradación se refiere al rompimiento de los enlaces covalentes por medio de un procesos químico o biológico. Un polímero es biodegradable si desaparece en el tiempo para el cual fue diseñado, en una función determinada. [74]. El prefijo “bio” aunque presenta muchas controversias y aún no se tiene una definición, se refiere a que se colocará dentro un organismo biológico.

Debido a la variedad de respuestas por parte del organismo, todavía existe una brecha en la investigación y el desarrollo de nuevos polímeros biodegradables. Las pruebas *in vivo* están muy controladas, el proceso para regulaciones es muy complejo, costoso y muy extenso, por lo que existen pocas investigaciones acerca de los avances. Sin embargo, existen algunos biopolímeros que ya han sido aprobados como el caso de algunos polianhídridos, poliésteres, policarbonatos y poliuretanos. [4] [74] Aunque existe un grupo limitado de polímeros aprobados para usos médicos, no todos tienen adecuadas propiedades mecánicas, un requerimiento importante a considerar para el diseño de bioaplicaciones. [77]

Por ejemplo, el uso de los poliuretanos para aplicaciones en contacto con el sistema cardiovascular, fue debido a su excelente resistencia a la fatiga, biocompatibilidad, hemocompatibilidad, adecuada resistencia mecánica, una tasa de degradación muy baja y que prácticamente no son degradables. Pero no pueden ser útiles para otros fines médicos como liberadores de fármacos o en ingeniería de tejidos. [7] [9] [44] [68] [70] [74] [78]

Recientemente se empezaron a desarrollar propuestas con materiales sintéticos, para otorgarles propiedades de biodegradabilidad. Como se mencionó, en general los poliuretanos han sido sintetizados por polimerización por condensación, los reactivos deben de tener grupos funcionales ciano [-OCN-] y grupos funcionas hidroxilo [-OH]; algunos macrodioles se han empezado a utilizar como propuestas para poder otorgar la propiedad de biodegradabilidad, como poliacido láctico, policaprolactona, poliacido glicólico, polioxido de etileno, polihidroxitirato y poli(trimetilenecarbonato), los cuales se han probado y han marcado la pauta para el desarrollo de investigaciones de biodegradabilidad en polímeros. [44] [71] [79]

Una vía de cómo se degradan los esteres o éteres de dioles sintéticos, es que son susceptibles a degradación hidrolítica; esto se ha comprobado por pruebas *in vivo* e *in vitro* y como resultado generan α -hidroxiácidos. Por otro lado, la degradación del grupo uretano es enzimática u oxidativa que generarán como subproductos poliaminas. [44]

En búsqueda de fuente de grupos hidroxilos, se han propuesto algunos carbohidratos. Entre sus principales ventajas puede mencionarse que son biocompatibles, algunos de bajo costo, pueden llegar a mimetizarse en el organismo y, en recientes investigaciones, ya se han realizado bioaplicaciones que han demostrado que no generan subproductos tóxicos. Una propuesta es colocarlos en la estructura de la cadena o estar dentro de la matriz de poliuretano, pudiendo otorgar la característica de susceptibilidad para degradación.

Así mismo, se ha comprobado que la relación o características del polisacárido pueden afectar las propiedades del poliuretano como es la velocidad de degradación, las propiedades mecánicas. Esto se debe a la cantidad de grupos hidroxilo que también intervienen en la formación de entrecruzamientos. [7] [71] [61] [80] [81]

Entre los carbohidratos que se han utilizado para síntesis de poliuretano base carbohidratos están el almidón, la celulosa, el quitosano, los alginatos y la heparina. La desventaja es que algunos tienen poca solubilidad, pobre estabilidad, no homogeneidad, por lo que se requiere buscar nuevos métodos de síntesis. Estos nuevos desarrollos de poliuretanos biodegradables ofrecen nuevas aplicaciones en medicina con un gran interés como liberador de fármacos, recubrimientos de piel, andamios para ingeniería de tejidos e implantes dermatológicos. [71] [61] [82] [83] [84] [85] Por otro lado, no sólo los polisacáridos han podido dar la propiedad de biodegradabilidad. En algunos se usaron aminoácidos como el caso de lisina combinada con diisocianato de hexametileno y policaprolactona se pudo obtener un poliuretano biodegradable. [86]

La degradación de los polímeros naturales o polímeros cuyo precursor es un polímero natural es por vía oxidativa y enzimática. La variación de mecanismos de respuestas es diferente por cada paciente, por lo que no existe control en la degradación del material. Las nuevas propuestas combinan material sintético con natural, con el fin de tener una respuesta de degradación más controlada, dentro de los cuales se han podido combinar polisacáridos naturales con polímeros sintéticos principalmente poliácido láctico, policaprolactona, poliácido glicólico, polióxido de etileno, polihidroxibutirato y poli(trimetilenecarbonato). [44] [71] [79]

Generalmente estos precursores sintéticos funcionan como segmento suave dentro de la estructura del poliuretano, lo que pueden otorgar propiedades mecánicas elásticas. También se ha observado que afectan el peso molecular final del polímero, y la velocidad de degradación; se ha reportado recomendaciones del peso molecular de los macrodioles entre 0.4-5 Kg/mol. [44]

En literatura se encuentran dos principales mecanismos de degradación para polímeros, uno es a través de un mecanismo superficial que llamaremos erosión, y el segundo mecanismo en inglés es llamado “bulk degradation” o degradación en bulto; para este último proceso existe un ingreso de agua en la matriz polimérica y una hidrólisis de las estructuras de los polímeros con posibles modificaciones en el peso molecular del polímero.

1.3.2 Características de polímeros biodegradables

Cualquier polímero que se pretenda usar con fines médicos y que además se desee que sea biodegradable, debe de cumplir con un listado de requisitos [4] [7]:

- a) No debe generar una respuesta inflamatoria crónica y debe de conducir a una respuesta de curación normal
- b) Debe ser biocompatible
- c) La biodegradación del material debe de empatar con el tiempo de función, ya sea con fines terapéuticos o de diagnóstico.
- d) Debe tener una adecuada vida de anaquel.
- e) Adecuadas propiedades mecánicas e integridad estructural, de acuerdo a la función de diseño. También el desarrollo mecánico durante el proceso de degradación, deben de empatar de acuerdo a su funcionalidad.
- f) El material y los subproductos no deben de ser tóxicos, excepto por diseño en liberación controlada de fármacos. Deberán ser metabolizados o excretados.
- g) Debe de tener una adecuada respuesta a la permeabilidad y procesabilidad de acuerdo a la función de diseño.
- h) Debe de ser esterilizable.

Estas características son otorgadas por diferentes factores, como el tipo de monómero, estructura del polímero, estereoquímica, peso molecular, distribución del peso molecular, polaridad de la superficie, absorción de agua, permeabilidad, morfología, grupos funcionales, proceso de producción, geometría, etc. [7] [74] [87]

Además de las pruebas de fisicomecánicas estables *in vivo*, también se requiere evaluaciones de respuesta toxicológica y un gran número de pruebas donde interviene diferentes áreas multidisciplinarias. Cumplir con los códigos de ética y los procesos regulatorios, los cuales son muy complejos y costosos. Todo lo anterior ha complicado el desarrollo de nuevos biomateriales, y sólo se han aprobado un grupo muy estrecho de polímeros. [4] [10] [74] [87]

Algunos polímeros que han sido aprobados por la FDA son policaprolactona, polietilenglicol, polidioxanona, polimetilmetacrilato, poliacido láctico, polihidroxitirato, polivinilpirrolidona, polihidroxitirato, poliglicerol, poliacido sebásico, poliacido málico y politrimetilcarbonato. También se han utilizado polímeros naturales como quitosano, inulina, colágeno, gelatina, alginato, carragenina, ácido hialurónico, albúmina, almidón, goma xantana, goma guar. [10] [11] [36] [71] [74] [87]

También se han aprobado familias de polímeros para uso biomédico, por ejemplo, silicones, policianoacrilates, polifosfacenos, polianhídridos, poliacetales, poliésteres, poliortoésteres, polifosfoésteres, poliuretanos, policarbonatos, poliamidas, poliaminoácidos, etc., que pueden ofrecer una amplia variedad de propiedades, características, y una diversidad de atributos en propiedades mecánicas, velocidad de degradación y biocompatibilidad. [4] [16] [74] [87] En la Tabla 1 se describen las principales familias de polímeros, su estructura general, aplicaciones, ventajas y desventajas de diferentes familias de polímeros.

1.4 PCL

1.4.1 Historia

El PCL es un poliéster alifático con punto de fusión 60°C y bajo temperatura de transición vítrea, generalmente es semicristalino, pero depende de su peso molecular. Soluble en solventes orgánicos como cloroformo, benceno, tolueno. [7] [36] [71] [74]

Normalmente es usado en síntesis de PU, y es compatible con otros polímeros como poliestireno, policloruro de vinilo, ABS, policarbonatos, nitrocelulosa, poliácido lácticos, poliéteres, almidón. Proporciona características como resistencia al agua, aceites, solvente, biodegradabilidad, elasticidad; se usa como aditivo en resinas para proporcionar características como resistencia al impacto y reducir el costo. [70]

Es biodegradable, por medio de la hidrólisis que se realiza a través del rompimiento del enlace éster. Para este tipo de polímeros tiene una alta tasa de difusión de agua y permeabilidad para algunos fármacos, la propuesta para vías de absorción y eliminación es a través del ciclo del ácido cítrico. [44] [88]

Tiene una baja velocidad de degradación, mucho menor que los poliácidos lácticos, alta permeabilidad para absorción de fármacos y aprobación por la FDA en aplicaciones médicas, puede ser precursor para la síntesis de poliuretanos, es biocompatible y no genera subproductos tóxicos. Dependiendo del peso molecular puede funcionar como segmento suave o duro, que finalmente afectará las propiedades de flexibilidad o dureza del polímero. [74] [89]

1.4.2 Síntesis

En 1930 se realizó la primera síntesis de PCL a través de la síntesis por apertura de anillo de ϵ -caprolactona o 2-methyl-1,3-dioxepan, por radicales libres, cadena de transferencia de radicales adición-fragmentación. [7] [44] [71] [74]

1.4.3 Bioaplicaciones

Se pueden mencionar algunas aplicaciones en ingeniería de tejidos para regeneración ósea, ligamentos, cartílagos, nervios, aplicaciones dentales y liberación de fármacos a largo plazo (1-3 años). Además, puede usarse como liberador de fármacos a través de la formación de PU con almidón, implantes cardiovasculares, así como andamios para reparación en el sistema musculoesquelético. [90] Existen en el mercado marcas como Monocryl® y SynBiosys™ que son liberadores de fármacos. Neurolac® en regeneración de nervios, Resilon™ cirugías dentales y Capronor™ como sistema anticonceptivo. [61] [70]

Para todas estas aplicaciones la velocidad de degradación depende del peso molecular e inclusive puede inhibir su biodegradabilidad, las propiedades mecánicas como elasticidad, tensión, etc. En general actúa como segmento suave dentro de las fases del polímero. [61] [70]

Se está usando en la fabricación de poliuretanos con propiedades biodegradables, como Lubrizol Pearlthane®, Huntsman Irogran® y SK Chemicals Skytane®. [70] [91]

1.5 Quitosano

1.5.1 Fórmula y estructura

El quitosano es un polímero natural que se obtiene de la quitina, es una fuente renovable y muy abundante en la naturaleza. Su extracción se realiza por medio básico, y se localiza principalmente en el exoesqueleto de crustáceos y artrópodos. Son cadenas lineales donde monómeros β -(1-4) D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina se encuentran en forma aleatoria dentro su cadena principal. [36] Su fórmula se puede observar en la Figura 7.

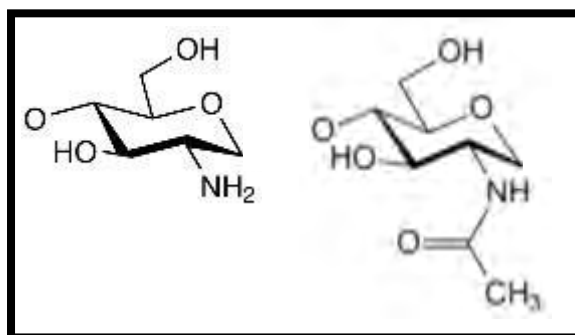


Figura 7.- Monómeros que conforman la cadena de quitosano β -(1-4) D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina

Es soluble en medios ligeramente ácidos, pero en pH neutro o agua se precipita. Comercialmente las cadenas de quitosano son heterogéneas y el grado de acetilación varía entre 60 a 90%. También tiene variación en el peso molecular que va desde 50 a 2000 kDa. [92]

1.5.2 Bioaplicaciones

Algunas propiedades muy importantes del quitosano son las propiedades de biocompatibilidad y biodegradabilidad, además no es tóxico, tiene aplicaciones en áreas como la medicina, farmacéutica, bioquímica, biotecnología y cosmética. Otra característica importante que se ha reportado es su uso como agente hemostático, antibacterial y como mucoadhesivo. También se han desarrollado nuevas tecnologías para usos como liberador de fármacos de insulina, proteínas y vacunas, suturas quirúrgicas, apósitos para curación, regeneración de nervios y membrana artificial de riñón. [93] [94] [95]

Se han mezclado con otros polisacáridos naturales como, por ejemplo, almidón, colágeno, pectina, gelatina, alginatos y celulosa, [96] que se han obtenido mejores propiedades en su solubilidad, permeabilidad o nuevas propiedades.

1.6 Inulina

1.6.1 Fórmula y estructura

La inulina fue descubierta hace aproximadamente dos siglos, fue nombrada como inulina en 1818 y aislada de *Inula helenium*. Se encuentra presente en una gran variedad de plantas, como por ejemplo en la alcachofa de Jerusalén, achicoria común y las raíces de espárragos. Pertenece a la familia de los fructosanos. Después de los almidones es el segundo polisacárido no estructural más abundante encontrado en la naturaleza. [97] [98]

Es empleada comúnmente en la industria de los alimentos, como endulzante, formador de geles, fuente de fibra no digerible, prebiótico, sustituto de fuente calórica para diabéticos y formulaciones infantiles. También puede obtenerse vía enzimática, por medio de modificación genética del gen frutiltransferasa en *Escherichia coli*. [99] en la industria es usado como aditivo para formar espumas de poliuretanos biodegradables vía etoxilación. [100]

La inulina es un polisacárido, cuyas propiedades dependen de su peso molecular, está compuesta por cadenas de unidades de D-fructosa unidos por enlace β -glucosídico 2 \rightarrow 1 y normalmente la cadena termina con enlace α -glucosídico 1 \leftrightarrow 2 D-glucosa. [101]. Recientemente se ha descubierto que existen 2% de ramificaciones con enlace frutosil fructosa β (2 \rightarrow 6) [102] [103] La Figura 8 muestra la estructura de la inulina.

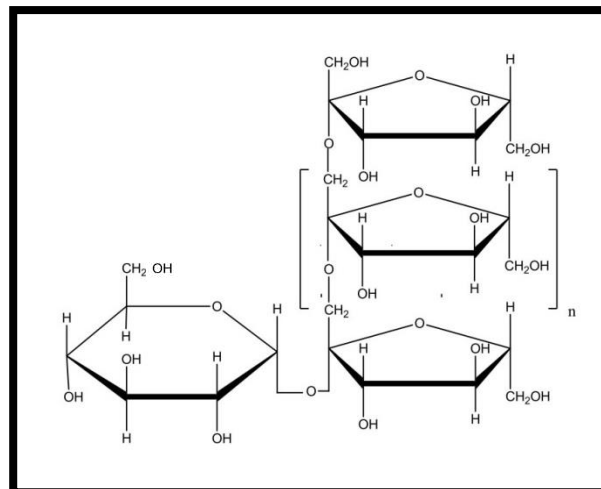


Figura 8.- Estructura general de la inulina

Existen investigaciones que muestran diferentes grados de polimerización promedio DP_n para la inulina, y depende del tipo de fuente de donde se obtenga ya sea natural o por vía enzimática. En general es de 2-60 unidades; en promedio son 12. [104] Sin embargo, también el peso molecular depende de otras condiciones como la fuente de donde se obtiene, las estaciones de cultivo, tiempo y tipo de almacenaje.

La inulina es insoluble en agua, etanol e isopropanol, pero soluble en dimetilsulfóxido. [105]

1.6.2 Bioaplicaciones

La inulina, como muchos otros polisacáridos naturales, ofrece una opción como fuente para sintetizar polímeros biodegradables. En la literatura se ha reportado su uso en el área de medicina e ingeniería de tejidos, aplicaciones en la industria farmacéutica, como excipiente y estabilizante de fármacos base como proteínas, liberador de fármacos en colon y diagnóstico para determinar el funcionamiento de riñones. [105] [106] [107] [108]

Adicionalmente se han demostrado sus propiedades como estimulante en el sistema inmunológico, reduce la proliferación de bacterias patógenas en el intestino, reduce la probabilidad de riesgo de osteoporosis y aterosclerosis. También se ha demostrado que en ratones con una dieta con contenido de 15% de inulina reduce significativamente el crecimiento de tumores en colon y cáncer de mama. [99] [109] [110] [111] [112]

1.7 Nanopartículas metálicas

1.7.1 Síntesis

Dentro de los nuevos desarrollos en ciencia de materiales, la nanotecnología ha tenido un auge en las últimas décadas, en el campo de la medicina se han desarrollado bioaplicaciones en áreas de diagnóstico, terapéuticas o liberadores de fármacos, sólo por mencionar algunos avances importantes, estos generados nuevas esperanzas y despertado nuevas expectativas de beneficios para la humanidad. Con nanopartículas de oro y de óxido de hierro, se han desarrollado varias bioaplicaciones, debido a que han mostrado ser biocompatibles. [113]

La biocompatibilidad es una de las características más importantes de las nanopartículas de óxido de hierro para usos en medicina. En la literatura se ha reportado que son absorbibles, excretadas y/o metabolizadas, además tiene dos ventajas importantes con respecto a otras: tienen propiedades magnéticas y su síntesis de mucho menor costo. [114]

Existen 8 fases de óxido de hierro, pero son tres las que tienen bioaplicaciones, hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), magnetita (Fe_3O_4) y maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), cuyas estructuras son hexagonales, cúbica centrada en cara (espinel) y cúbica centrada en caras respectivamente. [115]

Revisando el estado del arte, se ha reportado que la magnetita es la fase más utilizada en el área de medicina, y además existen varias técnicas para su síntesis como son co-precipitación, microemulsión, hidrotérmico en altas temperaturas, reacción en sol-gel, decomposición de compuestos organometálicos, método de polioles, sonólisis, inyección de flujo, electroquímica y se clasifican como síntesis en medio acuoso o no acuoso. Las características y propiedades finales dependerán del método y las condiciones experimentales para síntesis. [116]

De todas las técnicas mencionadas, la más común es el método de co-precipitación, se basa en reacción con la relación molar [2:1] de Fe^{+3} y Fe^{+2} , en un medio básico y una atmósfera inerte. El mecanismo de reacción se puede generalizar de acuerdo a la Figura 9. [116]

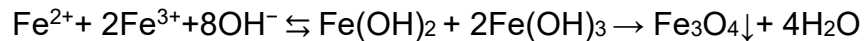


Figura 9.- Mecanismo general de reacción de síntesis de nanopartículas de óxido de hierro por el método de co-precipitación

Sin embargo, las nanopartículas de magnetita tienden a aglomerarse, y en algunos casos son inestables y se oxidan, reduciendo las propiedades magnéticas. Para evitar estos inconvenientes, existe reportado en literatura el uso de compuestos surfactantes cuya función es estabilizarlas, funcionalizarlas e inclusive en algunos casos estos componentes le otorgan nuevas propiedades, como biosensores o bioactividad, por ejemplo, se han utilizado compuestos orgánicos, polímeros, biomoléculas, materiales inorgánicos, silica y metales, que pueden adicionarse en la síntesis in situ o post síntesis. [114]

1.7.2 Bioaplicaciones de nanopartículas de óxido de hierro

Como se mencionó, las nanopartículas de óxido de hierro son biocompatibles y cuentan con aprobaciones por entidades de regulación internacionales. Se han usado como agente de contraste en las técnicas de imagenología por Resonancia Magnética. Las agencias que han aprobado el uso de estas son la FDA y Agencia de Medicina Europea. En literatura se ha reportado su uso en productos como Ferumoxide (conocido como AMI-25), Feridex® y Endorem™, que inclusive ya se encuentran en el mercado, cuyo contenido son nanopartículas de óxido de hierro, principalmente magnetita estabilizadas con dextran o algún otro polisacárido. Su aplicación específica es que funcionan como agente contrastante en hígado, vaso y nodos linfáticos, pero también tiene otros fines terapéuticos en el tratamiento de deficiencia de hierro. También hay líneas de investigación que están enfocados en desarrollar otras bioaplicaciones como hipertermia para el tratamiento de cáncer y como liberador de fármacos. [113] [117]

Existen ciertos criterios y características que se han considerado importantes en el desarrollo y síntesis de nanopartículas, para aplicaciones en medicina y su farmacocinética, como, por ejemplo: No deben ser tóxicas, tener estabilidad del composito, conocer la naturaleza de los precursores y surfactantes utilizados, tamaño y distribución de tamaño de partícula, densidad de carga superficial, hidrofobicidad, radio hidrodinámico, dosis, etc. [113] [118]

Por ejemplo, el radio hidrodinámico que se ha reportado para aplicaciones de nanopartículas de óxido de hierro recubiertas de compuestos como dextran o almidones, es entre 80-180 nm, y se ha utilizado en dosis de 4 mg/kg como agente de contraste, o hasta 268 mg Fe para una persona de 70 Kg y para tratamiento de anemia en dosis de hasta 30 mg Fe/Kg en un periodo de 7 días. [117] [118] [119]

1.7.3 Síntesis verde de nanopartículas metálicas

Existe una nueva tendencia de síntesis de nanopartículas, a través del uso de enzimas, de microorganismos o metabolitos de ciertas plantas con propiedad de ser antioxidantes y con poder reductor. También es llamada síntesis verde, debido a que es un procedimiento muy amigable con el medio ambiente, pero también se utilizan compuestos de origen natural, por lo que existe una gran probabilidad de que sea biocompatible. [120]

El método verde utiliza extractos de plantas, semillas o frutos, y en algunos procesos es más rápido, económico y seguro comparado con algunos procedimientos físico-químicos. Aunque esta corriente de síntesis “vía verde” es nueva, ya existen reportadas una gran variedad de investigaciones que han utilizado extractos naturales como por ejemplo *Perilla frutescens*, cuyo extracto se obtiene de las hojas, *Artemisia annua* del fruto, *Kappaphycus alvarezii* que se obtiene de un alga, etc. Como ejemplo, con *Kappaphycus alvarezii* se sintetizó magnetita, utilizando como precursores sales de hierro con valencia [+3,+2] y el extracto del alga, la cual posee un gran contenido de carragenina, que durante el proceso de síntesis actúa como agente reductor y surfactante. [121] Es importante mencionar que son los metabolitos que actúan como agentes antioxidantes o reductores, e interactúan con los precursores.

Otro ejemplo, es el uso del extracto de té verde o de hojas de eucalipto para producir nanopartículas de hierro valencia cero, usadas para remover nitratos en el tratamiento de agua, [122] o para la síntesis de magnetita de tamaño hidrodinámico entre 20-30 nm que se obtuvo de un extracto de *Pisum sativum*. [123]

Algunas de estas plantas o productos naturales, ya se han utilizado para aplicaciones terapéuticas y medicinales. En algunos casos han demostrado actividades antimicrobianas, desinflamatorias o antioxidantes. [124]

La propiedad del poder reductor o antioxidante del metabolito para producir nanopartículas, y la capacidad de poder actuar como estabilizante o surfactante, puede también agregar una característica de bioactividad superficial, que puede actuar con fines terapéuticos o sensores. Abre la oportunidad de desarrollar nuevas líneas de investigación, no sólo para sintetizar nanopartículas por medio más amigable con el medio ambiente, sino con actividad para posibles bioaplicaciones en tratamientos de enfermedades. [125]

Aún hay una brecha muy grande para poder controlar los procesos por esta vía. Existen muchos criterios, condiciones a controlar en la síntesis, el tipo de proceso de extracción como maceración, extracción por microondas asistida, soxhlet, etc., así como la naturaleza de los precursores, las proporciones, etc. El objetivo es obtener un procedimiento con resultados repetibles, y con las nanopartículas con las características apropiadas para la aplicación deseada.

1.8 *Kalaonchoe daigremontiana* [KD] (Aranto)

K. daigremontiana [KD] es una planta que pertenece a la familia de las crasuláceas. Se ha reportado que esta especie tiene bioactividades terapéuticas antiinflamatorias, efectos cardiacos y antitumorales (con cierta citotoxicidad en algunas líneas de células carcinogénicas como cáncer cervical, próstata o adenocarcinoma en células de glándula mamaria). [126] El contenido bioactivo de este tipo de plantas son los triterpenoides, flavonoides glucósilados, bufadienólidos (diagremontianin y bersaldegenin), compuestos fitoesteroideos polihidroxiados y algunos ácidos grasos. Ver Figura 10. [127]

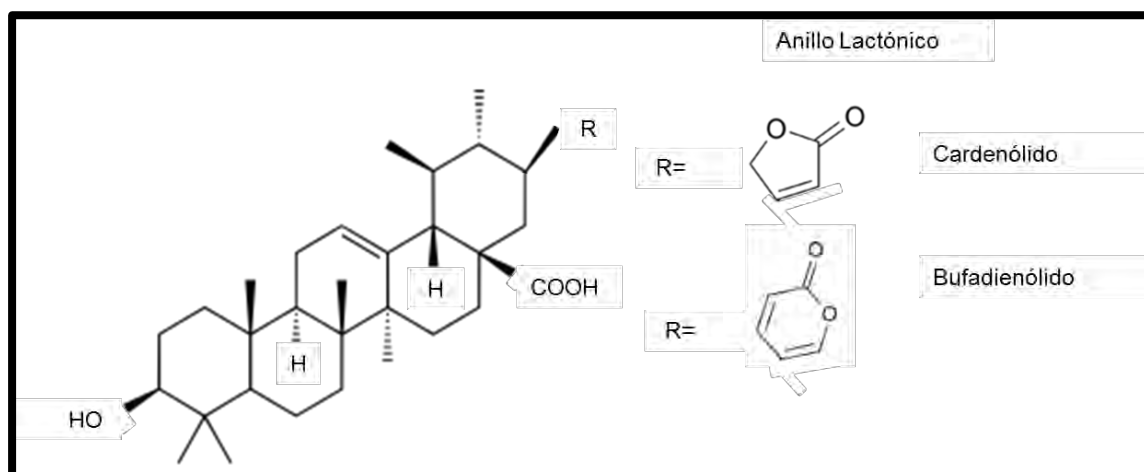


Figura 10.- Estructura general de los bufadienólidos

1.9 Marcadores de biopsia

Como se mencionó anteriormente, el objetivo de un marcador es servir de referencia para el seguimiento de una posible lesión, o evolución en el tratamiento de una enfermedad, inclusive en el seguimiento de una intervención quirúrgica. Han existido dos generaciones de marcadores de biopsia. La primera fueron metálicos y en la segunda se utilizaron los marcadores metálicos embebidos en polímeros biocompatibles. La importancia de utilizar metales es debido a la propiedad de radiopacidad.

En este proyecto se busca desarrollar un poliuretano y poder dar el atributo de radiopacidad, para poder tener aplicación como marcador de biopsia. Para ello se incorporarán nanopartículas de óxido de hierro en la matriz polimérica de poliuretano, para obtener un material compuesto, con posibles propiedades de radiopacidad.

Actualmente existen varios marcadores de biopsia con diferentes formas. Es una recomendación que se deben de desarrollar con una forma no biológica para poder visualizarse a través de las técnicas de rayos X. Algunos tienen forma de espiral, listón, "T", símbolo de cáncer de mama, "S", "X", "O", "M", "V", grano de arroz, etc. (ver Figura 11). Los tamaños que se han desarrollado van desde 5 a 20 mm. El procedimiento para colocarlos es a través de agujas especializadas en biopsia, cuyo tamaño varía desde 7G a 14G, 17G y 18 G. [18] [128]



Figura 11.- Formas de marcadores de biopsia comerciales

CAPÍTULO II

2 Materiales y Equipo

2.1 Materiales para síntesis de poliuretano

Inulina de *Cichorium intybus* **INU** (I2255) Sigma Aldrich, Quitosano (448869 - Bajo peso molecular PM 50000-190000) Sigma Aldrich, Policaprolactona Diol **PCL** (36890 PM promedio \approx 2000), Ácido 2-etihexanoico de Estaño II **OS** (S3252) Sigma Aldrich, Diisocianato de Hexametileno **HMD** (52649) Sigma Aldrich, N,N Dimetilformamida **DMF** (227056-1) Sigma Aldrich, 1,4-Butanodiamina **BDA** (D13208) Sigma Aldrich, 2-Propanol Grado Reactivo **ISO**. Solución Hartmann HT PISA **HS**

2.2 Materiales para síntesis de nanopartículas de óxido de Hierro

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (157740) Sigma Aldrich, $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (220249) Sigma Aldrich, Etanol **ETA** Grado Técnico, 2-Propanol Grado Reactivo **ISO**, Solución de Hidróxido de Amonio **HAM** NH_4OH 28-30% (9721) J.T. Baker, Citrato de Sodio Dihidratado **CSO** (3646) J.T. Baker, Metanol Grado Técnico **MET**, Agua Destilada, planta de *K. daigremontiana* **KD** que fue proporcionada por el Centro de Física Aplica y Tecnología Avanzada.

2.3 Equipos

- 2.3.1 Balanza analítica OHAUS Mod PA214Sonicador Cole Parmer Mod. 08895-39
- 2.3.2 Parrilla de calentamiento con sistema de agitación magnética. CIMAREC
- 2.3.3 Horno eléctrico marca Oster
- 2.3.4 Imán de neodimio
- 2.3.5 Centrífuga Centrifientt IV
- 2.3.6 Vortex -2 Genie Mod. ST-0236
- 2.3.7 Potenciómetro HANNA Instruments Mod. HI 2211
- 2.3.8 Cámara o incubadora para mantener condiciones de temperatura a 37°C.

2.4 Caracterizaciones y Equipos

2.4.1 Radiopacidad

Para determinar la radiopacidad del composito (poliuretano-nanopartículas de óxido de hierro) se utilizó un equipo de rayos X Toshiba D-102 Mod. HF80+.

La radiopacidad es la capacidad que posee el óxido de hierro de no permitir penetrar los rayos X, característica que se debe principalmente a la densidad atómica en algunos metales.

2.4.2 Análisis Termogravimétricos

Las técnicas de análisis termogravimétricas que se usaron en la caracterización de los poliuretanos sintetizados, fueron DSC y TGA. [129]

2.4.2.1 Análisis Termogravimétricos TGA

Para esta técnica se utilizó un analizador termogravimétrico TGA Q5000IR. Marca T.A. Instruments. Las pruebas se realizaron desde condiciones ambientales hasta temperaturas de 700°C, bajo condiciones controladas de velocidad de calentamiento, presión y atmósfera de reacción.

En todos los casos la velocidad de calentamiento fue de 10°C/min, con un flujo de 40 ml / min (mililitro por minuto en condiciones normales de temperatura y presión), de nitrógeno con 99.99% de pureza y a una atmósfera de presión durante todo el análisis. Mediante esta técnica se registra la pérdida de peso en función de la variación de la temperatura. Estos cambios, nos ayudaron a identificar propiedades termoquímicas propias, tanto de sus precursores, como de los nuevos polímeros. Por ejemplo, la temperatura de degradación o combustión. [130]

2.4.2.2 Análisis Termogravimétricos DSC

Para esta técnica se utilizó un calorímetro diferencial de barrido - Q100 TA Instruments. Las pruebas se realizaron en las mismas condiciones que en TGA, desde condiciones ambientales hasta temperaturas de 250°C, bajo condiciones controladas de velocidad de calentamiento, presión y atmósfera de reacción.

En todos los casos la velocidad de calentamiento fue de 5°C / min, con un flujo de 40 ml / min (mililitro por minuto en condiciones normales de temperatura y presión) de nitrógeno con 99.99% de pureza y a una atmósfera de presión durante todo el análisis. Mediante esta caracterización se identificaron las disrupciones de temperatura en función del flujo de calor, específicamente la entalpía que requiere cada muestra para su degradación térmica. Estas nuevas propiedades termoquímicas nos ayudaron en el análisis del nuevo polímero, así de como relacionaron con las propiedades de los precursores, como Tg (temperatura de cristalización) o Tf (Temperatura de fusión) de los precursores de **INU** y **PCL**, así como la nueva arquitectura de los polímeros. [129]

2.4.3 Espectroscopia Infrarroja FTIR

Se utilizó un equipo Thermoscientific mod. Nicolet 6700, en la región media del infrarrojo entre los 4000 a 400 cm⁻¹. Mediante esta caracterización se identificaron los modos vibracionales de grupos funcionales uretano, producto de los distintos cambios energéticos producidos por las transiciones de las moléculas, tanto vibracionales como rotacionales. [131]

2.4.4 Espectroscopia RAMAN

Para esta caracterización se utilizó un microscopio Raman Bruker Mod. Senterra, en un intervalo de medición de 80 a 3300 cm⁻¹, con una longitud del láser de 785 nm. Esta técnica es complementaria a la de espectrometría infrarroja; por medio de ella también se identificaron la polarizabilidad de moléculas, enlaces o grupos funcionales. Por ejemplo, pueden observarse los modos vibracionales de enlaces que en FTIR sería complicado observarlos. [131]

Para los poliuretanos se pudieron identificar los grupos funcionales uretano, técnica complementaría de la espectroscopia infrarroja ver sección **2.4.3**.

Esta misma técnica se utilizó para detectar la presencia del enlace Fe-O, presente en las nanopartículas de óxido de hierro sintetizadas vía verde, ver sección **4.2.2**.

2.4.5 Pruebas Mecánicas

Para la caracterización mediante pruebas mecánicas se utilizó un equipo Zwick/Roell modelo Z005 con una celda de carga de 500 N. Con ellas se midió la resistencia, elongación y tensión de los materiales, como respuesta a la aplicación de fuerzas o cargas externas. [129]

2.4.5.1 Prueba mecánica - Tensión

Con esta prueba se determinó el esfuerzo de ruptura y el porcentaje de elongación en nuestros materiales. Para poder realizar la prueba se requiere que el largo de las películas sea al menos de 14 mm. El procedimiento fue el siguiente; se colocó una película de la muestra, la cual fue sujeta por dos mordazas en los extremos, donde se aplicó una fuerza uniaxial con una velocidad constante. [129]

La prueba se detuvo una vez que se observó una fractura en la película. Los resultados proporcionan el esfuerzo aplicado en MPa (Megapascales) relacionado con el % de deformación de la muestra.

2.4.5.2 Prueba mecánica – Compresión

Para la técnica de compresión se requiere que las muestras se presenten en forma de pastilla, con ella se determina la fuerza de carga aplicada y el desplazamiento en la compresión del material.

Los resultados se grafican como el esfuerzo de compresión aplicado en Megapascales contra la distancia de desplazamiento en milímetros.

Debido a que se observó que los polímeros recuperaban su forma, en los primeros ensayos, se propuso realizar dos etapas por cada muestra. La primera consistió en aplicar un esfuerzo de compresión hasta un 70% del espesor inicial de la muestra. En la segunda etapa se aplicó nuevamente la carga, pero en este caso se fijó una compresión al 98% del espesor de la muestra.

2.4.6 Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)

Se utilizó un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-6060 LV, con voltaje de aceleración de 0.5 a 30 kV. Se produjeron imágenes de alta resolución de la superficie de las muestras de los polímeros utilizando las interacciones electrón-materia, cuyo objetivo fue observar la topografía y morfología superficial o porosidad en los poliuretanos y el composito. [129]

Para el caso de los poliuretanos se utilizaron los electrones secundarios, el voltaje de trabajo fue de 15 kV.

Para el composito se utilizaron electrones retro-dispersados, para detectar las nanopartículas de óxido de hierro. El voltaje de operación fue de 20 kV.

2.4.7 Difracción de Rayos X (DRX)

Esta técnica de caracterización se utilizó para identificar la estructura de cada una de las tres fases de óxido de hierro. El equipo que se usó fue un difractómetro Rigaku modelo Ultima UIV con detector de ultra alta velocidad D/teX. El voltaje de operación fue de 40kV (30 mA). Tubo de cobre con longitud de onda correspondiente a K-alpha igual a 1,54 Angstroms. Intervalo de medición de 5-80 grados en 2θ .

Los difractogramas son característicos para cada una de las estructuras de las muestras a analizar, los cuales se compararon con patrones de difracción o estándares ya establecidos en literatura. Esta técnica se utilizó para identificar las fases de las nanopartículas de óxido de hierro obtenidas por los métodos de co-precipitación y síntesis verde. [131]

2.4.9 Espectrofotometría UV-VIS

Se utilizó un espectrofotómetro VWR modelo 1600-PC, para evaluar la capacidad de absorción en espectro electromagnético en la zona ultravioleta y visible de compuestos orgánicos. El método también se conoce como espectrometría. El uso de esta técnica nos permitió realizar un análisis cualitativo para identificar los grupos cromóforos orgánicos que se encuentran en los metabolitos del extracto de agua etanol del Aranto [KD]. [132]

2.4.10 Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

Para visualizar el tamaño y la morfología de las nanopartículas de óxido de hierro se utilizó un microscopio electrónico de transmisión marca JEOL, modelo JEM-1010, rango de 60-80 kV con una resolución de 0.25 nm.

CAPÍTULO III

3 Metodología

3.1 Síntesis de Poliuretano

3.1.1.- Se pesó **INU** y **PCL** en relaciones molares [**INU: PCL**], de acuerdo a la Tabla 2, se les designaron con los siguientes nombres **PU-1**, **PU-2**, **PU-3**. La síntesis se realizó en un matraz de tres bocas de 50 mL y se vertió el solvente **DMF**. El matraz se colocó sobre una parrilla, se mantuvo con agitación y se elevó la temperatura a 60°C, posteriormente se agregaron **INU** y **PCL**, de acuerdo a la relación molar indicada en Tabla 2. Una vez que se disolvieron los precursores **INU** y **PCL**, se agregaron 25µl de **OS**.

3.1.2.- Se elevó la temperatura a entre 80 y 85°C, se adicionó **HMD**, en la relación molar con respecto los compuestos con grupos hidroxilo [**OH: OCN**] de acuerdo a la Tabla No. 2, cuyos nombres fueron designados previamente como **PU-1**, **PU-2**, **PU-3** y se mantuvo en agitación por 4 horas.

3.1.3.- La mezcla se enfrió a 40°C, y se agregaron finalmente 175 µl de **BDA**. Se precipitó agregando **ISO**.

3.1.4.- El precipitado se enjuagó tres veces con **ISO**, el color del precipitado fue de color blanco o amarillo lechoso.

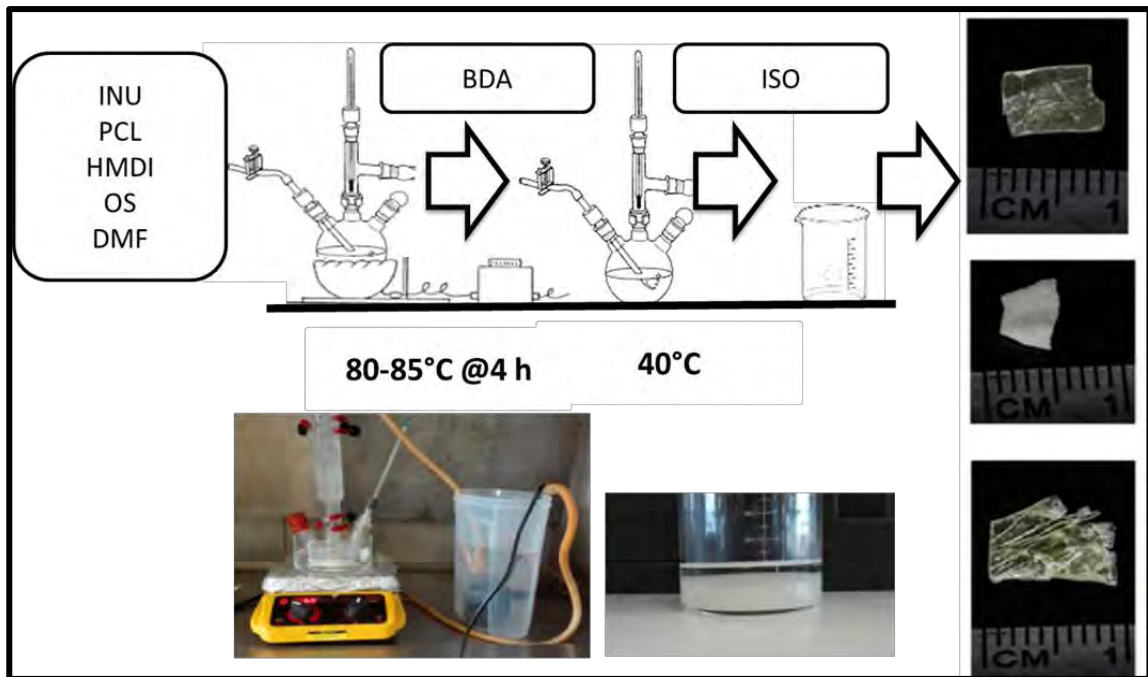
3.1.5.- El procedimiento que se usó para formar películas fue el siguiente: El sedimento o precipitado que se formó se vertió sobre contenedores cuadrados de polietileno, el solvente se evaporó a temperatura ambiente en un tiempo de aproximadamente 30-45 días. En la Figura 12 se muestra el diagrama de flujo general de la síntesis de poliuretano.

	Relaciones Molares	
	INU : PCL	[OH] ^{PCL} : [OCN] ^{HMD}
PU-1	1 : 2	1 : 4
PU-2	1 : 1	1 : 4
PU-3	2 : 1	1 : 4

Tabla 2.- Proporciones molares [INU : PCL] y [OH^{PCL} : OCN^{HMD}] para la síntesis de la serie de poliuretanos

Dónde:

INU: Inulina, **PCL**: Policaprolactona, **PU-1**, **PU-2** & **PU-3**: Serie de poliuretanos



Las caracterizaciones que se realizaron para los poliuretanos fueron las siguientes
 Figura 12.- Diagrama de flujo de síntesis de poliuretanos

Dónde:

INU: Inulina

PCL: Policaprolactona

HMD: Diisocianato de Hexametileno

OS: Octanoato de Estaño

DMF: Dimetilformamida

BDA: Butanodiamina

ISO: 2-Propanol

- **Espectroscopia Infrarroja FTIR**
- **Espectroscopia RAMAN**
- **Análisis Termogravimétricos DSC/TGA**
- **Pruebas Mecánicas [Tensión/Compresión]**
- **Microscopia Electrónica de Barrido (SEM).**

3.2 Síntesis de nanopartículas de óxido de hierro

Se realizaron dos métodos de síntesis de nanopartículas de óxido de hierro: a) Síntesis química por el método de co-precipitación **IONPC**; y b) Síntesis verde por la técnica de maceración **IONPG**.

El objetivo fue realizar un análisis comparativo de las estructuras de las fases obtenidas de la caracterización por difracción de rayos X.

3.2.1 Síntesis química co-precipitación **IONPC**

3.2.1.1- Se prepararon soluciones de cloruro férrico **FeCl₃ (0.25M)** y cloruro ferroso **FeCl₂ (0.125M)**, además, se prepararon una solución de NH₄OH 2M (**HAM 2M**) y una solución de citrato de sodio de 18.45 gr en 18 mL de agua destilada (**CSOS**).

3.2.1.2- En un matraz de tres bocas de 250 mL se colocaron las dos soluciones de las sales [**FeCl₃ 0.25M / FeCl₂ 0.125M**] en una relación molar de [**2 : 1**], se mantuvo en una atmósfera inerte usando N₂, y posteriormente el matraz se colocó en el sonicador.

3.2.1.3- Al matraz se agregaron 22 mL de la solución de **HAM 2M**, hasta que se obtuvo un pH de 11. Inmediatamente se adicionó toda la solución preparada de **CSOS**. Durante la adición las soluciones se mantuvieron sonificadas, posteriormente las soluciones se sonificaron por un periodo adicional de 2 horas, después de que se agregaron todas las soluciones. Se observó la formación de un precipitado color negro que eran las partículas de magnetita.

3.2.1.4.- Las nanopartículas obtenidas se precipitaron con usando un imán de neodimio colocándolo en el fondo del matraz, se lavaron con **MET**. El procedimiento fue el siguiente; el precipitado negro se cubrió totalmente con **MET**, las soluciones se sonificaron por 20 minutos y al terminar este tiempo, se decantaron eliminando el sobrenadante. Este proceso de lavado se repitió 10 veces.

3.2.1.5.- Finalmente, las partículas obtenidas se secaron a 60°C durante un periodo de 48 horas, y se almacenaron en un frasco oscuro para protegerlas de la luz directa y humedad. Ver diagrama de flujo en la Figura 13, para la síntesis de nanopartículas de óxido de hierro.

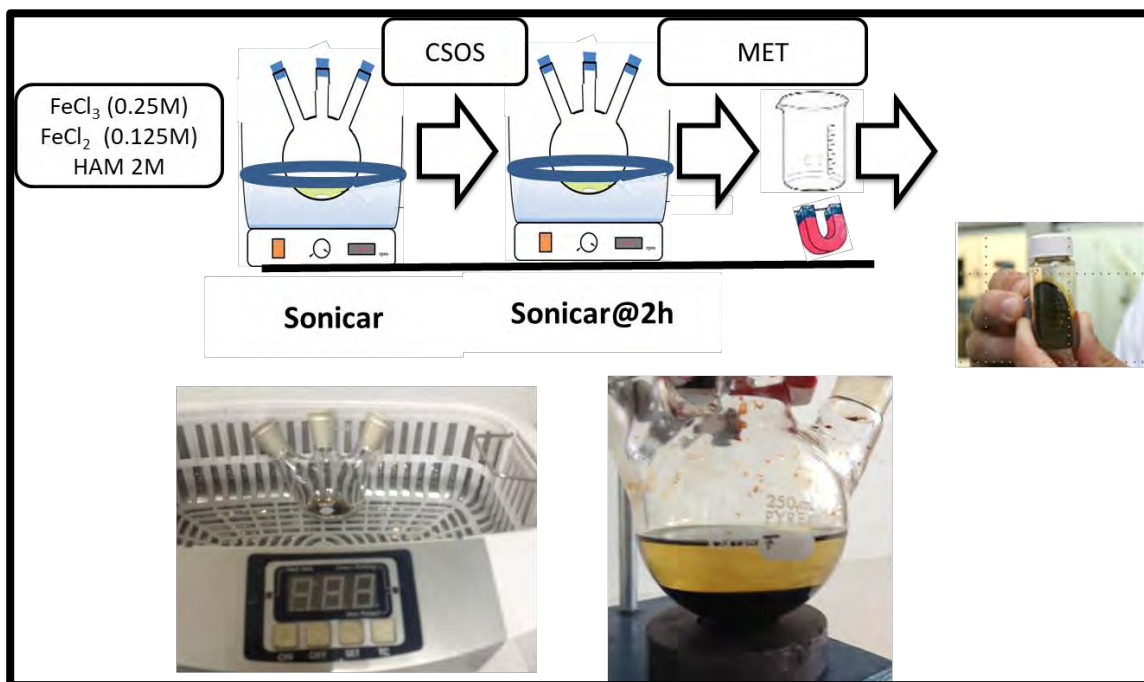


Figura 13.- Diagrama de flujo de síntesis de nanopartículas de óxido de hierro por método de co-precipitación

Dónde:

HMA: Hidróxido de sodio

CSO. Citrato de sodio

MET: Metanol

3.2.2 Síntesis de nanopartículas de óxido de hierro “vía verde” IONPG

3.2.2.1 Preparación del extracto

Se preparó una solución de Etanol/Agua : **[ETA/AGUA 50:50]** en volumen. Se pesaron 5 g de *K. daigremontiana*, previamente lavadas y deshidratadas, que posteriormente se realizó una maceración con la solución **ETA/AGUA** a 50°C por 50 minutos en una parrilla con agitación. El extracto obtenido se filtró y almacenó en un frasco ámbar a temperatura de 4°C. La Figura 14 muestra el diagrama de flujo para producción del extracto.

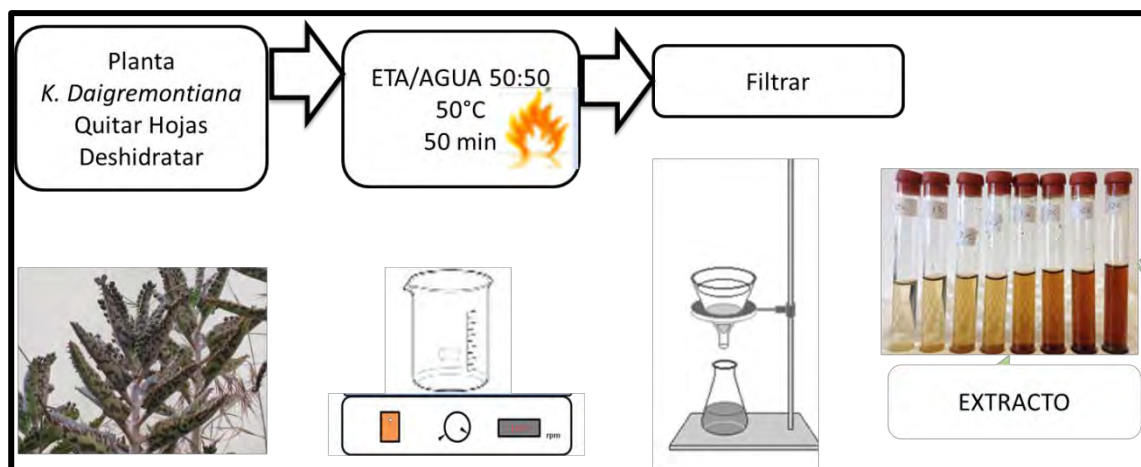


Figura 14.- Diagrama de flujo de obtención del extracto
Donde:

ETA: Etanol

3.2.2.2 Síntesis de nanopartículas

Se realizaron dos propuestas para la síntesis de nanopartículas, **IONPG1** y **IONPG2**, las síntesis se realizaron en una atmósfera inerte usando N_2 .

3.2.2.2.1.- Previamente se prepararon dos soluciones de **$FeCl_3$ 20mM** y **$FeCl_2$ 10mM**. En la Figura 15, se muestra el diagrama de flujo general de la “síntesis verde” para nanopartículas de óxido de hierro.

3.2.2.2.2.- Para la síntesis de **IONPG1**, En un matraz de tres bocas de 50 mL se colocó en una relación volumétrica de [20:1], el **Extracto** obtenido previamente en la sección **3.2.2.1** y la solución **$FeCl_3$ 20mM**, ver Tabla No. 3. Las soluciones se sonicaron por 5 ciclos de 6 minutos cada uno. El contenido se vertió en un vaso de precipitados de 50 mL., se tapó y se formó un precipitado negro en 24 horas. Se colocó un imán de neodimio y se observaron propiedades ligeramente magnéticas.

3.2.2.2.3.- IONPG2, En un vaso de precipitados de 50 mL se midieron las cantidades en una relación molar [2 : 1] de sales de hierro [**$FeCl_3$ 20 mM / $FeCl_2$ 10 mM**]. Esta solución se llamó **Solución de Sales de Hierro SSH**.

3.2.2.2.3.1.- Posteriormente se vertió en un matraz de tres bocas el **Extracto** y **SSH**, obtenidos en las secciones anteriores 3.2.2.1 y 3.2.2.2.3 respectivamente en una relación de volumen [**5:1**]. La solución contenida en el matraz se sonicó por 5 ciclos de 6 minutos cada uno. El producto obtenido se vació en un vaso de precipitados de 50 mL, después de 24 horas se observó un precipitado negro, el cual se le colocó un imán de neodimio y se observaron propiedades ligeramente magnéticas.

	Relación Molar	Relación Volumétrica	Relación Volumétrica
	FeCl ₃ 20mM : FeCl ₂ 10mM	Extracto : FeCl ₃ 20mM	Extracto : [FeCl ₃ 20mM/ FeCl ₂ 10mM]
3.2.2.2.2 ONPG1		20:1	
3.2.2.2.3 IONPG2	2:1		5:1

Tabla 3.- Variación en proporciones de precursores para síntesis de nanopartículas de óxido de hierro

Donde:

IONPG: Nanopartículas de óxido de hierro síntesis verde

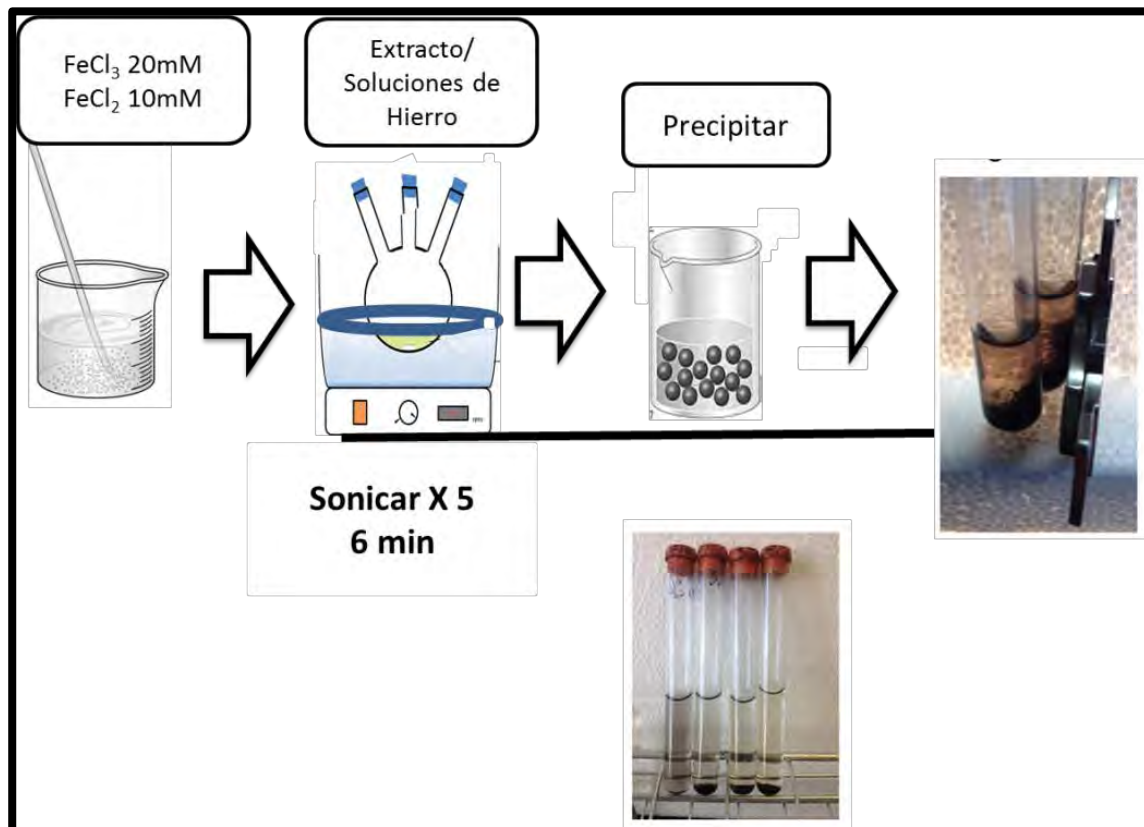


Figura 15.- Diagrama de flujo de síntesis de nanopartículas de óxido de hierro "Vía Verde"

3.2.2.3 Proceso de lavado de nanopartículas IONPG

3.2.2.3.1.- En las dos propuestas de síntesis **IONPG1** y **IONPG2** descritas en las secciones **3.2.2.2.2** y **3.2.2.2.3**, se obtuvieron precipitados de color negro en la solución de **ETA/AGUA**. De las dos muestras se separó la solución por decantación, se agregó más solución **ETA/AGUA** cubriendo los precipitados obtenidos, enseguida se sonicaron las soluciones por 10 minutos y les se dejó precipitar de 24 a 48 horas. Una vez cumplido el tiempo se centrifugó a 4500 r.p.m. por 10 minutos. Este proceso se repitió 6 veces.

3.2.2.3.2.- Una vez terminado la etapa de la sección **3.2.2.3.1**, los precipitados se vertieron en una caja petri de vidrio por separado, donde se secaron en un horno eléctrico a 40°C por 96 horas. En las dos propuestas se obtuvieron polvos de color negro, los cuales se almacenaron en viales de plástico cerrados. En la Figura 16 se muestra el diagrama de flujo general del proceso de lavado y secado de **IONPG1** y **IONPG2**.

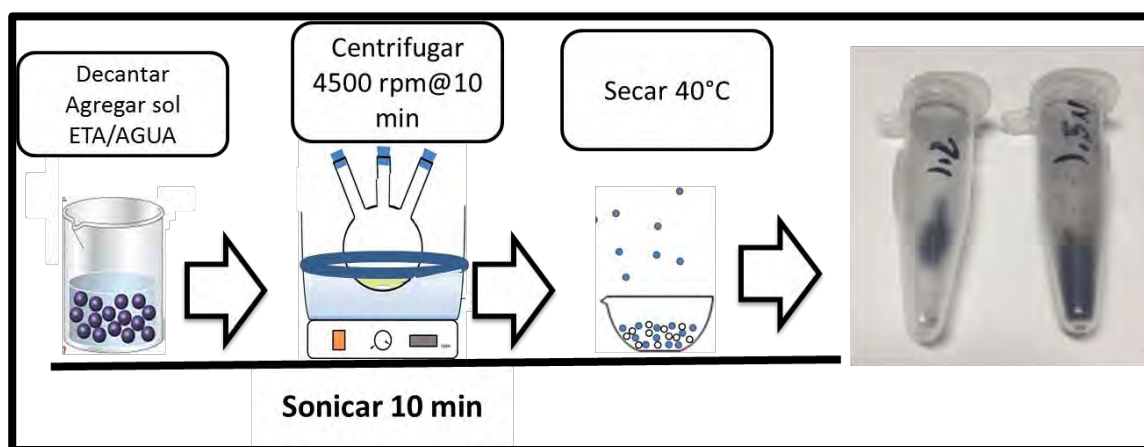


Figura 16.- Diagrama de flujo para secado de nanopartículas

Donde:

ETA: Etanol

Las técnicas de caracterización para nanopartículas de óxido de hierro fueron:

- **Difracción de Rayos X (DRX)**
- **Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM)**
- **Espectroscopia RAMAN**

La caracterización para el extracto de *K. Diagremontina* fue:

- **Espectrofotometría (UV-VIS)**

3.3 Composito (Poliuretano-Nanopartículas)

3.3.1.- Para esta sección, se preparó previamente una solución con las nanopartículas obtenidas por el método co-precipitación **IONPC** descrito en la sección **3.2.1**, en un vaso de precipitados se pesó 1.98 mg **IONPC**, posteriormente se adicionaron 5 mL de **DMF**, y se dispersaron utilizando un equipo de ultrasonido por 10 minutos. Este proceso se repitió por 5 ciclos, finalmente la mezcla obtenida se denominó como **IONPC-DMF**.

3.3.2.- Por otro lado, se dispersó la formulación de poliuretano **PU-3** obtenida en la sección **3.1**, el procedimiento fue el siguiente, se pesaron las siguientes cantidades de **PU-3** en viales de vidrio por separado **226.8 mg**, **230.6 mg**, **210.5 mg**, que se identificaron como **PUNP-1**, **PUNP-2** y **PUNP-3** respectivamente, en el siguiente paso se agregó 5 mL de **DMF** a cada una, se mantuvieron en agitación por 4 horas en la parrilla.

3.3.3.- Una vez dispersas las muestras de poliuretano obtenidas en el punto anterior, se agregó la solución identificada como **IONPC-DMF** obtenidas en la sección **3.3.1**, de acuerdo a las proporciones de relación de nanopartículas y poliuretano indicadas en la Tabla 4.

3.4.4.- Para homogenizar las mezclas de las tres propuestas de formulaciones que contienen **PU-3**, **IONPC** y **DMF**, se utilizó un equipo vortex por 20 minutos a 600 rpm, posteriormente se precipitaron con **ISO** y se dejaron reposar por 24 horas.

3.4.5.- En las tres propuestas se formaron precipitados color café. Con el fin de eliminar el exceso de **DMF**, las muestras se decantaron, se les agregó nuevamente **ISO** para finalmente dejar reposar por 4 horas. Este proceso se realizó por 3 ciclos.

	IONPC (mg)	PU-3 (mg)	% (IONPC/PU-3)
PUNP-1	0.396	226.8	0.17%
PUNP-2	0.792	230.6	0.34%
PUNP-3	1.188	210.5	0.56%

Tabla 4.- Relaciones [poliuretano-nanopartícula] del composito.

Donde:

IONPC: Nanopartículas de óxido de hierro síntesis co-precipitación,

PU-3: Poliuretano.

3.4.6.- Una vez obtenidos los precipitados en las tres propuestas de composites, que contienen poliuretano y nanopartículas, se vertieron sobre contenedores de polipropileno, y se mantuvieron a temperatura ambiente de 7 a 10 días, este proceso se utilizó para evaporar el exceso de **ISO**. La Figura 17 muestra el diagrama de flujo para la síntesis de las tres propuestas de formulación de composites. **PUNP-1, PUNP-2 y PUNP-3.**

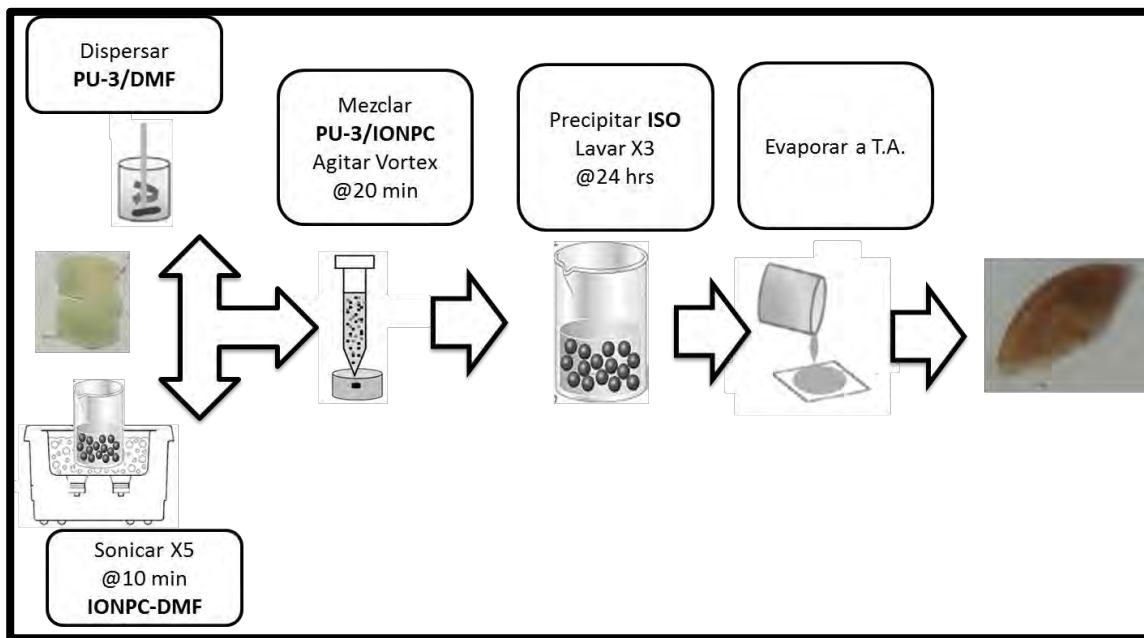


Figura 17.- Diagrama de flujo para fabricación de compuesto (poliuretano-nanopartículas de óxido de hierro)

Donde:

PU-3: Poliuretano
DMF: Dimetilformamida
IONPC-DMF: Nanopartículas de óxido de hierro-dimetilformamida
ISO: Isopropanol

El compuesto se caracterizó por medio de la siguiente técnica:

- **Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)**

3.4 Pruebas de degradación *In Vitro*

3.4.1 Prueba de degradación de poliuretanos

3.4.1.1 Preparación de soluciones fisiológicas pH 6.8 y 7.4

Para las pruebas de degradación, se utilizó una solución Hartmann PISA **HS**, debido a que los polímeros estarán en contacto con esta solución, se requirió conocer el pH, que se midió usando un potenciómetro y su valor fue de 6.8. En la literatura se ha reportado, que en algunos tejidos con presencia de cáncer existen modificaciones en el pH en el intervalo de pH 5 y 6.8. [133] Por lo anterior se utilizó esta solución para las pruebas de degradación, pero también se requirió obtener una solución fisiológica con un pH de 7.4.

3.4.1.1.1.- Para obtener la solución fisiológica a pH 7.4, se preparó una solución **HAM 1mM**, que posteriormente se utilizó para titular la solución **HS**, hasta obtener el pH de 7.4

3.4.1.1.2.- Ambas soluciones se utilizaron para la prueba de degradación e identificaron como **HS-6 y HS-7** y cuyo pH fue de 6.8 y 7.4 respectivamente. En la Tabla 5 se pueden observar las pruebas de degradación de poliuretanos y composito en la solución **HS-6** que corresponden a las filas 1 a 4. Por otro lado, las pruebas que corresponden a la degradación en solución **HS-7** se encuentran en las filas 5 a la 8.

3.4.1.2 Prueba de absorción de agua en poliuretanos

3.4.1.2.1.- Las tres muestras de poliuretano se pesaron y se registró el dato de cada uno, agregando el prefijo **Po**, quedando como **Po PU-1, Po PU-2 y Po PU-3**. En la Tabla 5 se puede observar en la tercera columna como se llevó a cabo el registro los pesos iniciales de poliuretanos y compositos tanto en solución **HS-6** como en **HS-7**.

3.4.1.2.2.- Para medir la cantidad de agua absorbida o “humectabilidad” de las muestras de los polímeros previamente pesados, se colocaron cada uno en un frasco de vidrio, posteriormente se agregó solución fisiológica **HS-6** y se mantuvieron por 4 horas, posteriormente las muestras se retiraron del frasco de vidrio, se eliminó el exceso de **HS-6** con papel absorbente y finalmente se mantuvieron a temperatura ambiente por 4 horas más. Para el registro del peso se les colocó el prefijo **P1** a cada una de las muestras de acuerdo a la siguiente connotación **P1 PU-1, P1 PU-2 y P1 PU-3**. Para la solución de **HS-7** se repitió el proceso que se realizó con el medio **HS-6**.

3.4.1.2.3.- Una vez obtenido los valores del peso en la sección anterior, se procedió a calcular el porcentaje de humectabilidad de acuerdo a la siguiente metodología (se tomó como ejemplo el porcentaje de humectabilidad para **PU-1**).

[%H PU-1] Donde %H corresponde al porcentaje de humectabilidad a la muestra PU-1.

Se realizó la diferencia de peso después de la absorción de agua, entre el peso original. De acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% H PU - 1 = \frac{(P1 PU - 1) - (Po PU - 1)}{Po PU - 1}$$

Donde:

P1 PU-1: El peso de la muestra de **PU-1** después de 4 horas en **HS**

HS: Solución fisiológica

Po PU-1: Peso inicial de la muestra **PU-1**

En la Tabla 5 se muestra un ejemplo del registro de datos, localizado en la tercera columna identificada como humectabilidad en unidades de % respecto al peso inicial, esta prueba se realizó con las dos soluciones fisiológicas **HS-6** y **HS-7**.

3.4.1.3 Prueba de degradación en poliuretanos

3.4.1.3.1.- Una vez concluida la prueba de humectabilidad descrita en la sección **3.4.2.1**, las muestras de los polímeros se regresaron a los frascos de vidrio con las soluciones **HS-6** y **HS-7**, y se colocaron dentro de una incubadora o cámara la cual fue diseñada para mantener la temperatura interior de 37°C, simulando las condiciones fisiológicas.

3.4.1.3.2.- Se propuso realizar mediciones del peso de las muestras cada dos semanas, en un periodo de hasta 25 semanas.

El procedimiento fue el siguiente: Se retiraba la muestra del contenedor de vidrio, se eliminaba el exceso de **HS** con papel absorbente y se mantenía por 4 horas a temperatura ambiente, para evaporar el exceso de humedad. Finalmente se pesaban las muestras y se registraban de acuerdo a la siguiente identificación **PS PU-X**.

Donde

PS: **P** es el peso de la muestra y **S** es la semana en que se realizó la medición, valores desde la semana 2 hasta 25.

PU-X: Indica el tipo de formulación del poliuretano y **X** puede ser 1,2 o 3.

3.4.1.3.3.- Para obtener la pérdida de peso o degradación en porcentaje, se utilizó la siguiente fórmula; se tomó como ejemplo el porcentaje de degradación para PU-1 en la semana 2).

[%2 PU-1] Donde %2 corresponde al porcentaje de degradación de la muestra PU-1 en la semana 2, en **HS** a 37°C.

La degradación se calculó como la diferencia de peso después de dos semanas, entre el peso original. De acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\%2 \text{ PU} - 1 = \frac{(P2 \text{ PU} - 1) - (P0 \text{ PU} - 1)}{P0 \text{ PU} - 1}$$

Donde:

P2 PU-1: El peso de la muestra de **PU-1** después de 2 semanas

P0 PU-1: Peso inicial de la muestra **PU-1**

La Tabla 5 muestra un ejemplo de cómo se llevó a cabo el registro de los datos de porcentaje de pérdida de peso.

3.4.1.3.4.- Posteriormente las muestras se regresaron al frasco con la solución **HS-6** o **HS-7** correspondiente, se cerraron y se ingresaron a la incubadora a 37°C, para su posterior seguimiento de peso en las semanas posteriores.

3.4.1.3.5.- La Figura 18 muestra el diagrama de flujo general para la metodología de la prueba de degradación.

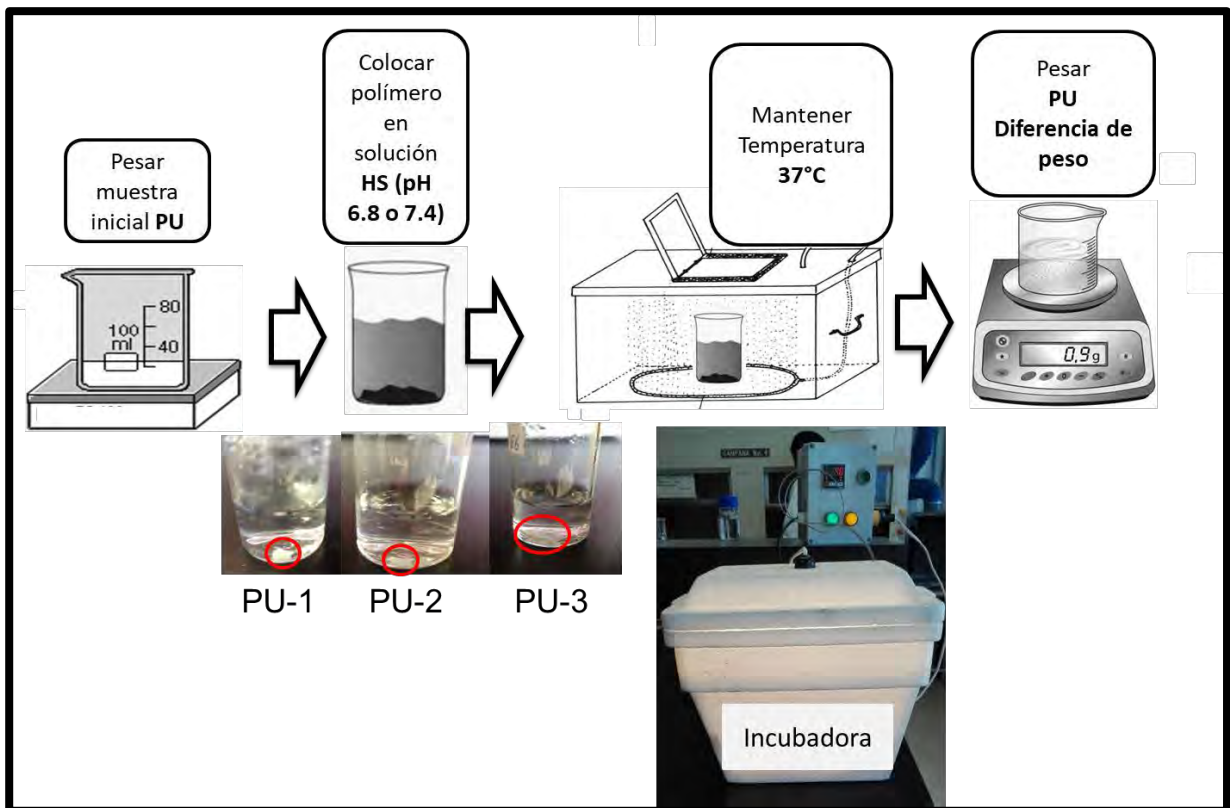


Figura 18.- Diagrama de flujo para la metodología de degradación de los polímeros PU-1, PU-2 y PU-3

Donde:

PU: Poliuretano

HS: Solución fisiológica

Prueba de Degradación						
	Peso inicial	% Humectabilidad	% Degradación Semana 2	% Degradación Semana 4→24	% Degradación Semana 25	
	Poliuretano	Po (mg)	%H	%2 PU	%S ...	%25 PU
Solución Fisiológica pH 6.8 HS-6	PU-1	Po PU-1	% H PU-1	%2 PU-1	%S..PU-1	%25 PU-1
	PU-2	Po PU-2	% H PU-2	%2 PU-2	%S..PU-2	%25 PU-2
	PU-3	Po PU-3	% H PU-3	%2 PU-3	%S..PU-3	%25 PU-3
	PUNP-3	Po PUNP-3	% H PUNP-3	%2 PUNP-3		
Solución Fisiológica pH 7.4 HS-7	PU-1	Po PU-1	% H PU-1	%2 PU-1	%S..PU-1	%25 PU-1
	PU-2	Po PU-2	% H PU-2	%2 PU-2	%S..PU-2	%25 PU-2
	PU-3	Po PU-3	% H PU-3	%2 PU-3	%S..PU-3	%25 PU-3
	PUNP-3	Po PUNP-3	% H PUNP-3	%2 PUNP-3		

Tabla 5.- Tabla de control en pruebas de degradación de las series de poliuretanos, en soluciones fisiológicas con diferente pH

Donde:

PU-1, PU-2, PU-3 son las diferentes formulaciones de polímeros

PUNP-3, compuesto de PU-3 y nanopartículas de óxido de hierro ver sección 3.3

HS-6 y HS-7, la solución fisiológica a pH 6.8 y 7.4 respectivamente

Po: Prefijo que identifica el peso inicial en mg. de la muestra

%H: % del valor de absorción de agua de la muestra del poliuretano en base el peso original Po

%S: % del valor de degradación del polímero en la semana desde 2 hasta 25. Este valor porcentual representa la diferencia de peso de la muestra menos el valor de peso original, en base al peso original Po.

3.4.2 Prueba de degradación del composito

3.4.2.1 Preparación de soluciones fisiológicas pH 6.8 y 7.4

Para esta técnica se utilizó una de las formulaciones de composito **PUNP-3**, sintetizado en la sección 3.3. Las soluciones se prepararon de acuerdo a la misma metodología que se realizó en la sección el punto 3.4.1.1.

3.4.2.2 Prueba de absorción de agua del composito

La prueba de absorción de agua se realizó siguiendo la misma metodología descrita en la sección **3.4.1.2**. En la Tabla 5 se muestra un ejemplo de como se llevó a cabo el registro del peso inicial del composito y % de absorción de agua respecto al peso inicial, tanto en solución **HS-6** y **HS-7**, datos que se registraron en la Tabla 5, columna 3.

3.4.2.3 Prueba de degradación del composito

Con el objetivo de comparar la degradación del poliuretano **PU-3** y el composito **PUNP-3**, se estableció llevar a cabo la misma metodología, que se describió en la sección **3.4.1.3**.

En la Tabla 5 en las filas 4 y 8, se muestra la forma en cómo se llevó a cabo el registro de los datos de porcentaje de pérdida de peso en el composito, los valores en las columnas 4 y 5, identificadas como % de degradación correspondiente a la semana de la medición, respecto al peso inicial. La prueba se realizó en las dos soluciones fisiológicas **HS-6** y **HS-7**.

3.5 Radiopacidad

3.5.1.- Para verificar la radiopacidad del marcador, se realizó la inserción del material vía intramuscular en una rata Wistar adulta, bajo anestesia con pentobarbital por vía intraperitoneal. El procedimiento se llevó a cabo siguiendo la NOM-062-ZOO-1999: Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio y su uso fue aprobado por el Comité de Investigación y Bioética de la Escuela de Ciencias de la Salud, UVM, Campus Querétaro. Registro Número CSUVM 2016-002.

3.5.2.- Se utilizó la muestra identificada como PUNP-3, debido a que presentó un mejor comportamiento estructural y mejores propiedades mecánicas. Sin embargo, la muestra seleccionada al momento de manipularla fue muy frágil y quebradiza, y sólo se pudo obtener una forma elipsoide, muy parecida a un grano de arroz, a la cual se le denominó chip.

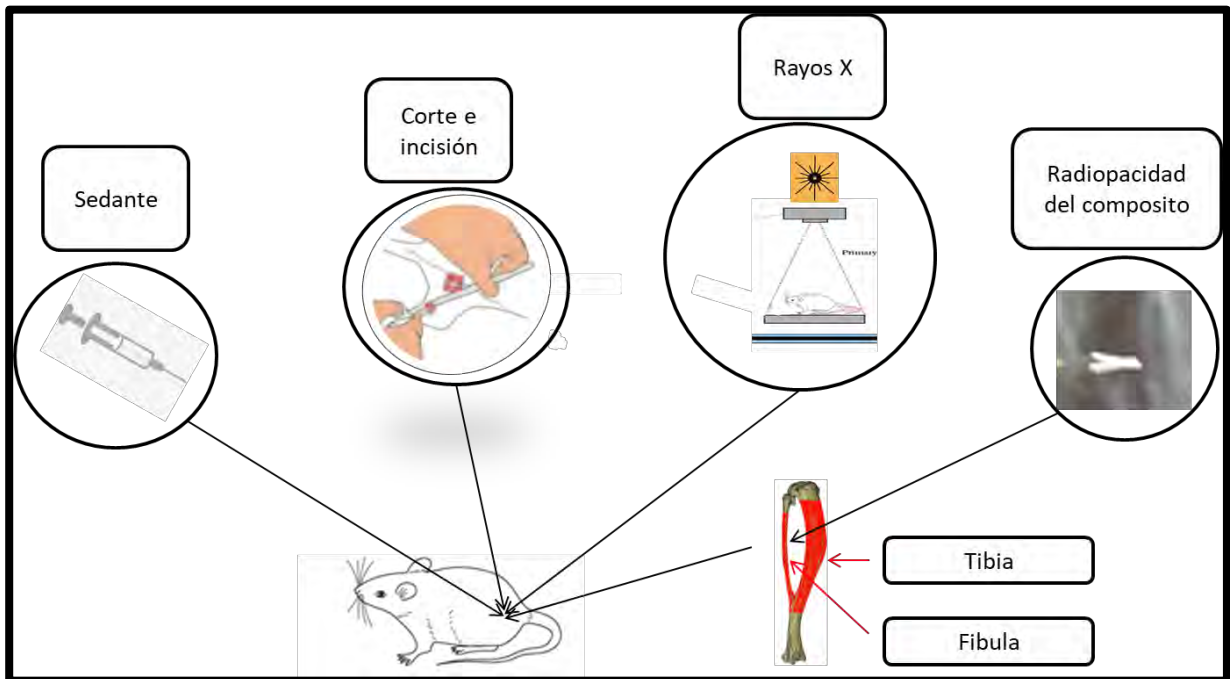
Las dimensiones del chip fueron 5 mm de largo por 1 mm de ancho, el peso total del composito fue de 3.1 mg y el contenido de nanopartículas de óxido de hierro fue 17.49 µg.

3.5.3.- Se tomó una placa de rayos X, con el equipo indicado en la sección **2.4.1** en el muslo izquierdo de la rata, antes de la colocación del chip.

3.5.4.- Para el procedimiento de colocación del chip, primero se rasuró la parte del muslo izquierdo de la rata, se realizó una incisión de 1 cm., con unas pinzas se colocó el chip, en una zona muscular entre la fíbula y la tibia. Finalmente se cerró la herida con hilo quirúrgico.

3.5.5.- En el siguiente paso se tomó la radiografía del muslo izquierdo. El animal fue sacrificado siguiendo la NOM-062-ZOO-1999.

En la Figura 19, se muestra el diagrama de flujo general para las pruebas de radiopacidad del composito.



La caracterización para el composito fue:

- **Radiografía**

CAPÍTULO IV

4 Resultados y Discusiones

4.1 Poliuretano

4.1.1 Espectroscopia Infrarroja FTIR (poliuretanos)

En la Figura 20 se muestran los espectros de los poliuretanos sintetizados, donde se pueden identificar los picos de transmitancia de enlaces relacionados con el grupo funcional uretano de las cuales se obtienen los siguientes valores.

PU-1: 3316, 1722, 1655, 1618 1571 y 1529 cm^{-1}

PU-2: 3317, 1730, 1647 y 1560 cm^{-1}

PU-3: 3310,1730,1680,1660 y 1559 cm^{-1}

La Tabla No 6, también nos ayuda a comparar los modos vibracionales de los grupos funcionales de poliuretanos reportados, con los poliuretanos sintetizados en este proyecto.

Bandas de Transmisión de Enlaces en Grupo Funcional Uretano				
Enlaces	$\nu\text{-N-H}$ cm^{-1}	$\nu\text{-C=O}$ cm^{-1}	Amida cm^{-1}	$\delta(\text{N-H}) + \nu(\text{C-N})$ cm^{-1}
Poliuretano**	3319-3350	1703-1733	1600-1700	1530-1534
PU-1	3316	1722	1655, 1618	1571,1529
PU-2	3317	1730	1647	1560
PU-3	3310	1730	1680, 1660	1559

Tabla 6.- Tabla de resultados de espectroscopia infrarroja para PU-1, PU-2 y PU- 3.

Donde:

**Reportado en literatura [9] [129].

Modos vibracionales ν -estiramiento; δ -balanceo

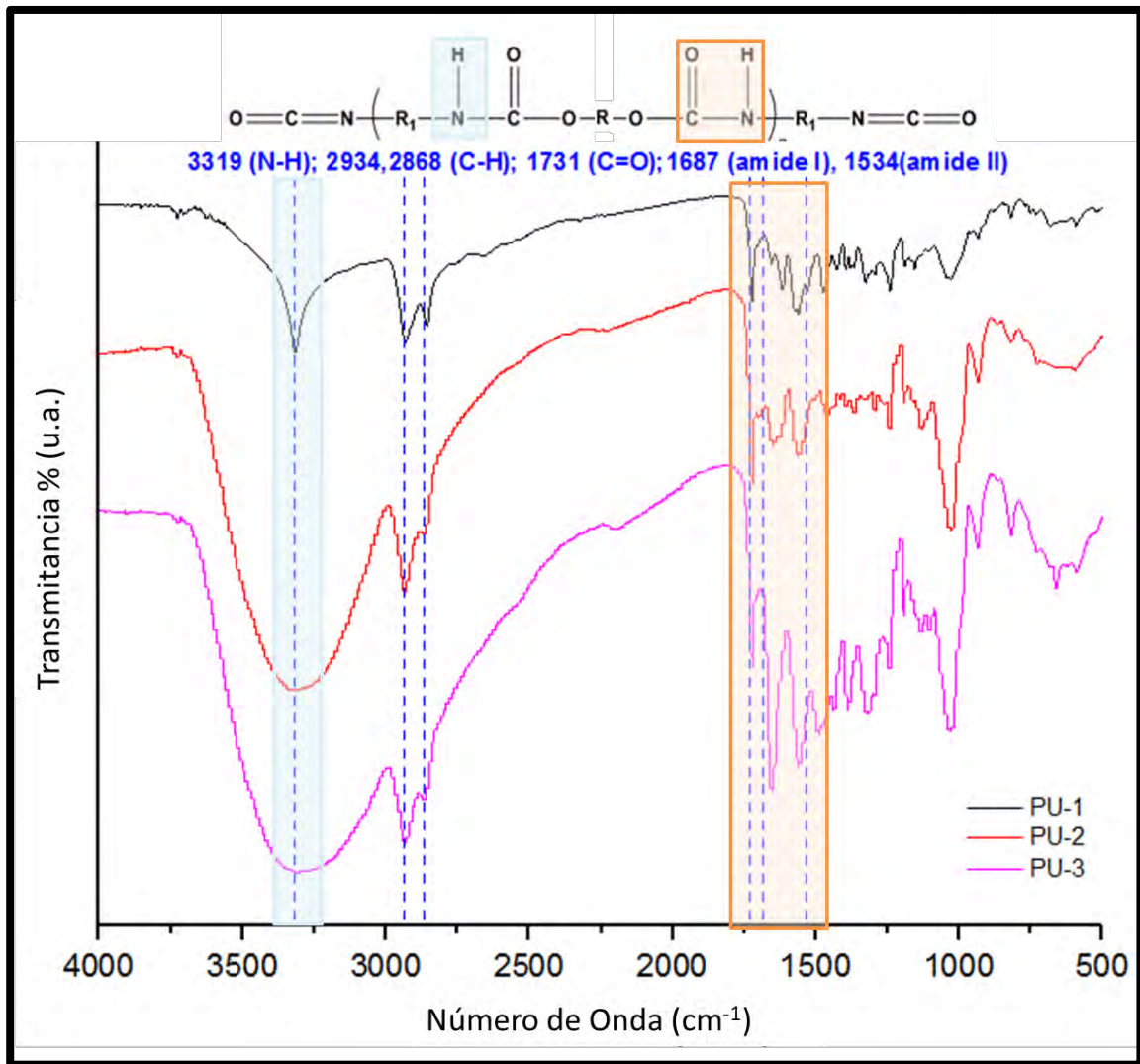


Figura 20.- Espectro de FTIR de Poliuretanos [PU-1, PU-2, PU-3].

Analizando los valores obtenidos por espectroscopia infrarroja en la Tabla No. 6, las tres primeras columnas coinciden con lo reportado en literatura; sin embargo, en la cuarta columna existen corrimientos de hasta 41 números de onda. Este resultado se puede considerar aceptable, debido a que se utilizan diferentes precursores en la síntesis de poliuretanos se obtendrá la presencia de otras interacciones que generen este desplazamiento. Si observamos la Figura 20, las huellas de los espectros corresponden a lo reportado en literatura, y se identifica el grupo funcional uretano principalmente en las zonas sombreadas. Por lo anterior, se confirma la formación de poliuretano en las tres formulaciones sintetizadas **PU-1**, **PU-2** y **PU-3**, principalmente por la presencia del grupo funcional uretano.

Por otro lado, se pudo observar en las formulaciones la variación de la proporción de **INU**, y está relacionado con la presencia del grupo funcional **[-OH]**, y posiblemente la presencia de enlaces de hidrógeno. Este grupo tiene absorbancia en la banda de transmisión entre $3300-3350\text{ cm}^{-1}$. En la Figura 20, se logra observar incremento en la transmitancia en esta región. Corroborando el incremento de **INU** por la presencia de los grupos **[OH]**, en nuestras formulaciones de la manera siguiente **PU-3>PU-2>PU-1**

4.1.2 Espectroscopia RAMAN (poliuretanos)

La espectroscopia RAMAN es una técnica complementaria para identificar la presencia del grupo uretano, también existe mucha literatura acerca de los modos vibracionales del grupo funcional uretano. [134] En la Tabla No. 7, las cuatro primeras columnas muestran los desplazamientos RAMAN para el grupo funcional uretano de algunos poliuretanos sintéticos, y en la segunda fila se encuentran los valores de su banda de transmisión. [134]

En la Figura 21 se muestran los espectros de los poliuretanos sintetizados en el intervalo de 0 a 2000 cm^{-1} , los picos de transmitancia más representativos y relacionados con el grupo funcional uretano, se encuentran marcados con una línea azul segmentada [134], también de los espectros en RAMAN de los nuevos poliuretanos se obtuvieron los siguientes valores:

PU-1: 1145, 1244, 1313, 1534 y 1723 cm^{-1}

PU-2: 1178, 1255, 1306, 1521 y 1723 cm^{-1}

PU-3: 1185, 1245, 1310, 1533 y 1722 cm^{-1}

La Tabla No 7. también nos ayuda a comparar los modos vibracionales **RAMAN** de los grupos funcionales uretano reportado en literatura, comparado con los valores de corrimientos **RAMAN** de los poliuretanos sintetizados en este proyecto, desde la columna 1 hasta la 4.

Desplazamiento RAMAN					
Enlaces	$\nu\text{-C=O}$ cm^{-1}	$\delta\text{-N-H} + \nu\text{-C-N}$ cm^{-1}	$\delta\text{-C-N} + \nu\text{-C-O}$ cm^{-1}	Amida cm^{-1}	C-H y O-H cm^{-1}
Poliuretano	1650-1735	1520-1540	1303-1312	1251,1185	
Inulina					2800-3380
PU-1	1723	1534	1313	1244,1145	2864,2924
PU-2	1723	1521	1306	1255,1178	2861,2921
PU-3	1722	1533	1310	1245,1185	2868,2931

Tabla 7.- Resultados de espectroscopia RAMAN para PU-1, PU-2 y PU-3.
Donde: **Reportado en literatura; Modo vibracional: ν -estiramiento; δ -balanceo

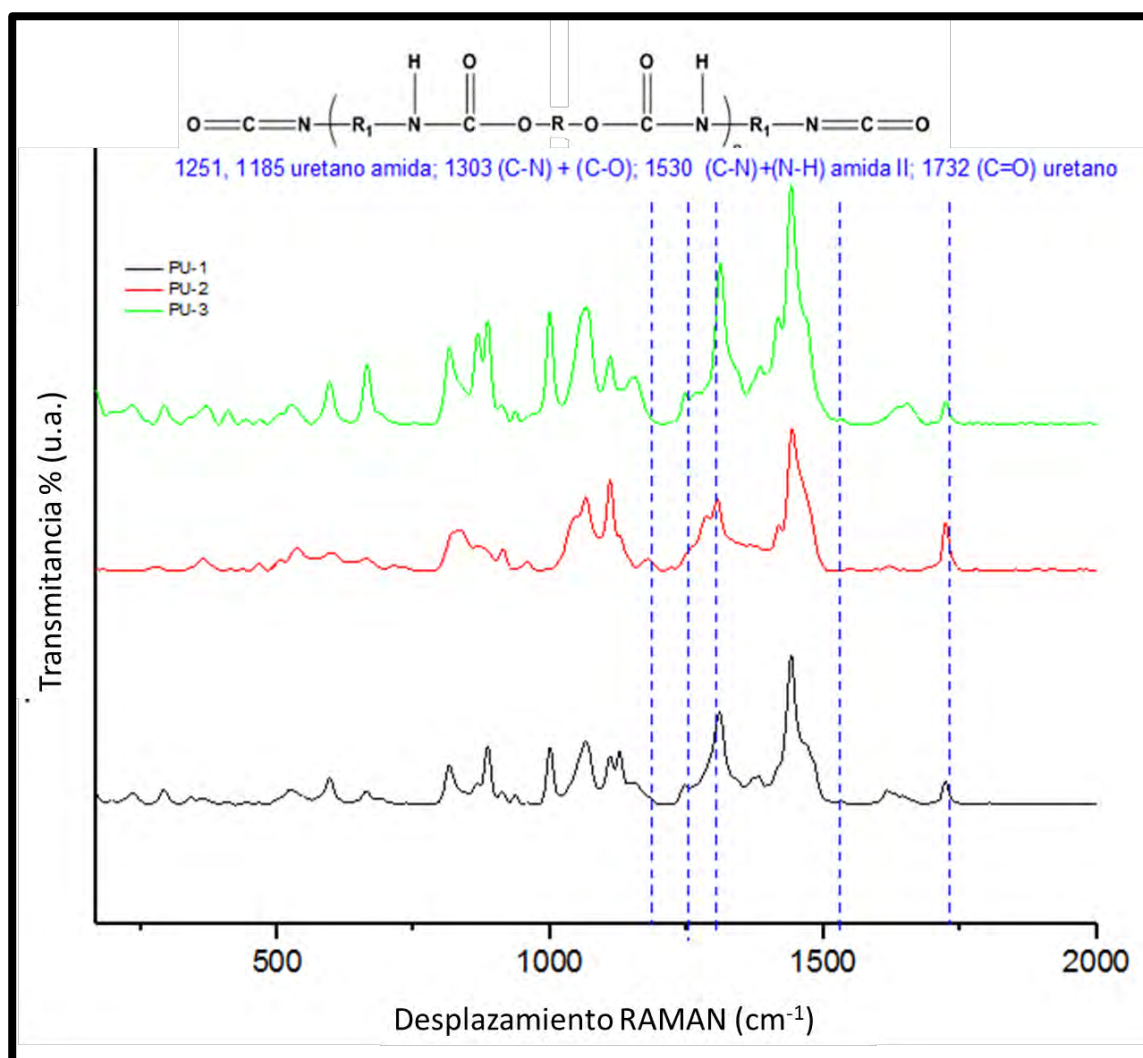


Figura 21.- Espectro RAMAN 0-2000 cm^{-1} para las series de poliuretanos [PU-1, PU-2, PU-3]

Como se mencionó en un inicio para el diseño del protocolo de este proyecto, se propuso modificar la proporción de **INU** en las diferentes formulaciones de cada uno de los nuevos poliuretanos, por lo que se pensó que el contenido de los enlaces **C-H** y **O-H** era dependiente de la proporción molar de la **INU** en los poliuretanos. En la Tabla 7 se muestran los modos vibracionales reportados para estos enlaces presentes en inulina [135].

La presencia de los enlaces **C-H** y **O-H** en las muestras de poliuretanos se pueden observar en la Figura 22, en ella se muestran los espectros RAMAN en un intervalo de 0 a 3500 cm^{-1} , y se localizan en el área sombreada dentro del intervalo de 2800 a 3380 cm^{-1} . [135] En ellos se observa la presencia de los enlaces en las tres formulaciones de poliuretanos. Los valores de desplazamiento RAMAN para cada uno de ellos se reportaron en la Tabla No 7, colocados en la quinta columna identificada como los enlaces **C-H** y **O-H** con unidades en [cm^{-1}].

De acuerdo a los resultados mostrados en la Tabla No 7 y en la Figura 21, se identificaron la presencia de los grupos uretano dentro de la estructura de los nuevos polímeros sintetizados, aunque existen algunos corrimientos en los modos vibracionales de hasta 40 cm^{-1} , localizado en la cuarta columna de la Tabla No 7. Este resultado puede ser aceptable debido a que la literatura se refiere a poliuretanos sintetizados con precursores sintéticos, nosotros utilizamos **INU**, que es un polisacárido natural que aún no existe ninguna referencia reportada, y por lo tanto pueden estar presente interacciones que nos produzcan algunos desplazamientos.

Por otro lado, en la Figura 22, se muestra un aumento en el contenido de los enlaces en los grupos **[OH]** y **[CH]** que pertenecen a la **INU**, dentro de la región de 2800-3380 cm^{-1} , y como se indicó anteriormente, la intensidad de la señal de transmisión de los enlaces es proporcional el contenido de inulina, de acuerdo a las siguientes propuestas **PU-3 > PU-2 > PU-1**. Este resultado puede ayudar a corroborar que el monómero de **INU** es parte de la estructura del poliuretano, debido a que se observa un incremento en la intensidad de transmitancia en el espectro, al incrementar la proporción de **INU** en las tres propuestas de poliuretano.

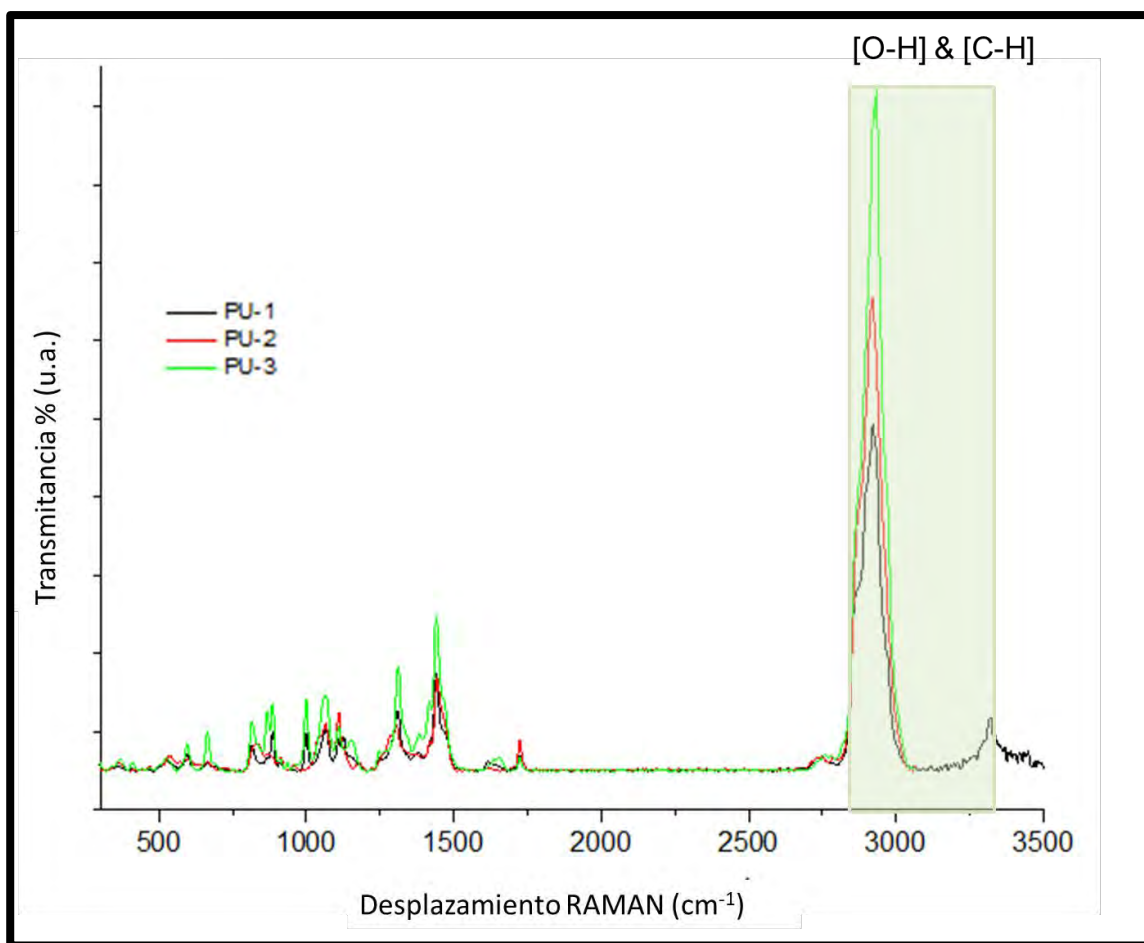


Figura 22.- Espectro RAMAN 0-3500 cm⁻¹
De las series de poliuretanos [PU-1, PU-2, PU-3]
Desplazamiento RAMAN para enlaces C-H y O-H

De los resultados obtenidos por esta técnica, así como los observados por espectroscopia infrarroja se observa la presencia de grupos funcionales **[OH]** y por ende la posibilidad de enlaces de hidrógeno. Por otro lado, en la literatura está reportado que la presencia de grupos **[OH]** dentro de la estructura de los polímeros, pueden otorgarle propiedades estímulo responsivas, o también se les puede llamar “polímeros inteligentes”, debido a que modifican sus propiedades físicas o químicas a ciertos cambios en el ambiente o estímulos, como temperatura, pH, etc. En este proyecto se incluyen pruebas *in vitro* de degradabilidad de nuestros poliuretanos, en dos medios de diferentes pH. Aunque no es el objetivo del proyecto, pero podrán evaluarse el comportamiento de los nuevos polímeros en diferentes condiciones de acidez 6.8 y 7.4, que de acuerdo a su comportamiento podrán clasificarse como polímero pH responsivo.

4.1.3 Análisis termogravimétricos DSC/TGA en poliuretanos

4.1.3.1 Análisis termogravimétricos TGA (poliuretanos)

Los resultados obtenidos para las muestras PU-1, PU-2 y PU-3, se observan en las Figuras 23, 24 y 25, las cuales se obtuvieron de acuerdo a las condiciones mencionadas en la sección 3.4.1.

En la Figura 23 se observa el termograma de la muestra PU-1, en el cual se presentan cuatro regiones de degradación. En la primera región, entre 120 y 180 °C, hay una pérdida aproximada del 20% en peso del material, en la segunda región comprendida entre 200 y 310 °C existe una pérdida de peso cercana al 50%, en la tercera región de degradación se ubica entre 320 y 430 °C con una pérdida en peso acumulada del 70% y en la región entre 500 y 700°C se tiene una pérdida de cerca del 90% de peso.

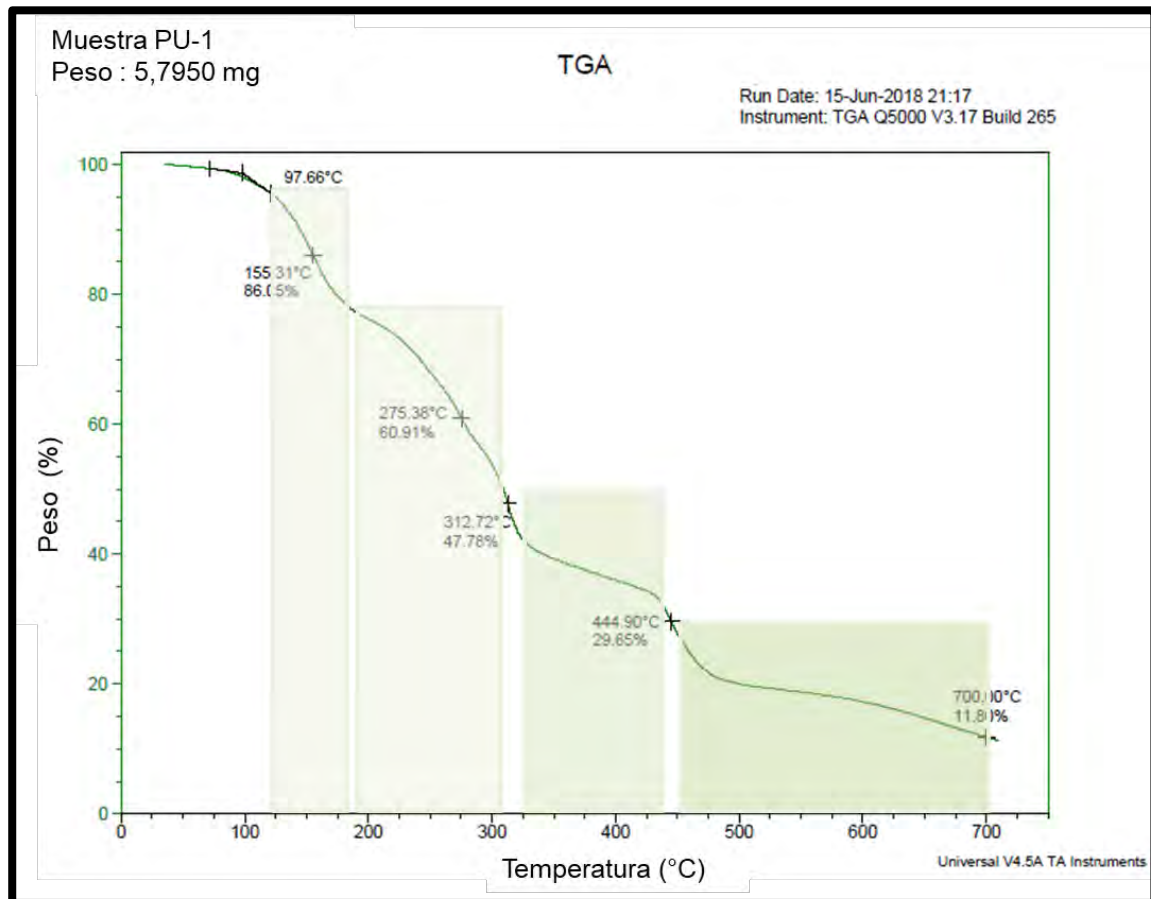


Figura 23.- Termograma TGA (PU-1)

Por otro lado, en el termograma de la Figura 24 que corresponde a la muestra PU-2, también presentan cuatro regiones de degradación. En la primera región, entre 105 y 190 °C, hay una pérdida aproximada del 20% en peso del material, en la segunda región comprendida entre 200 y 310 °C existe una pérdida de peso cercana al 50%, en la tercera región de degradación se ubica entre 318 y 438 °C con una pérdida en peso acumulada del 65% y en la región entre 490 y 700°C se tiene una pérdida de cerca del 80% de peso.

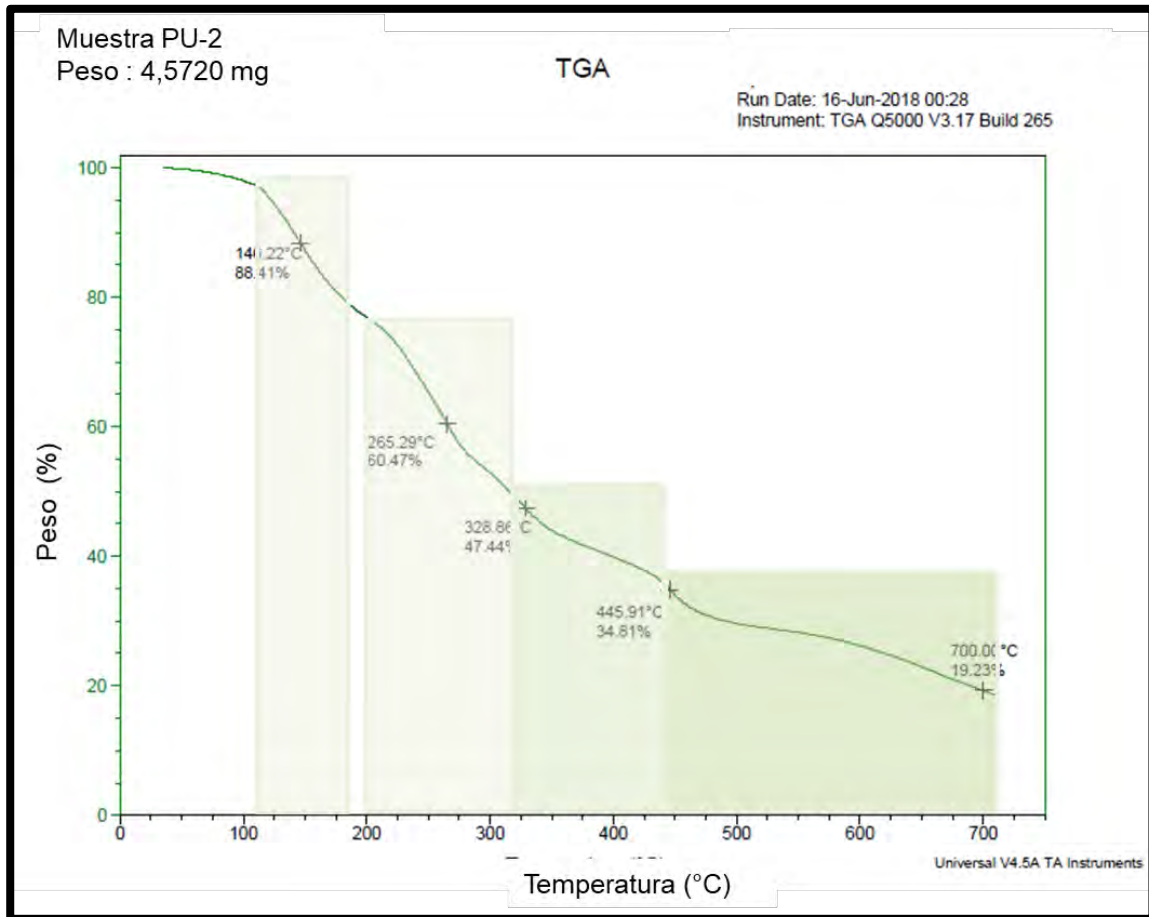


Figura 24.- Termograma TGA (PU-2)

Finalmente, en la Figura 25, se muestra el termograma que representa al poliuretano identificado como PU-3; también se observan cuatro regiones de degradación. En la primera región, entre 110 y 220 °C, tiene una pérdida de peso del material aproximadamente del 20%, en la segunda región comprendida entre 225 y 310 °C existe una pérdida de peso cercana al 50%, en la tercera región de degradación se ubica entre 310 y 470 °C con una pérdida en peso acumulada del 70% y en la región entre 490 y 700°C se tiene una pérdida de cerca del 80% de peso.

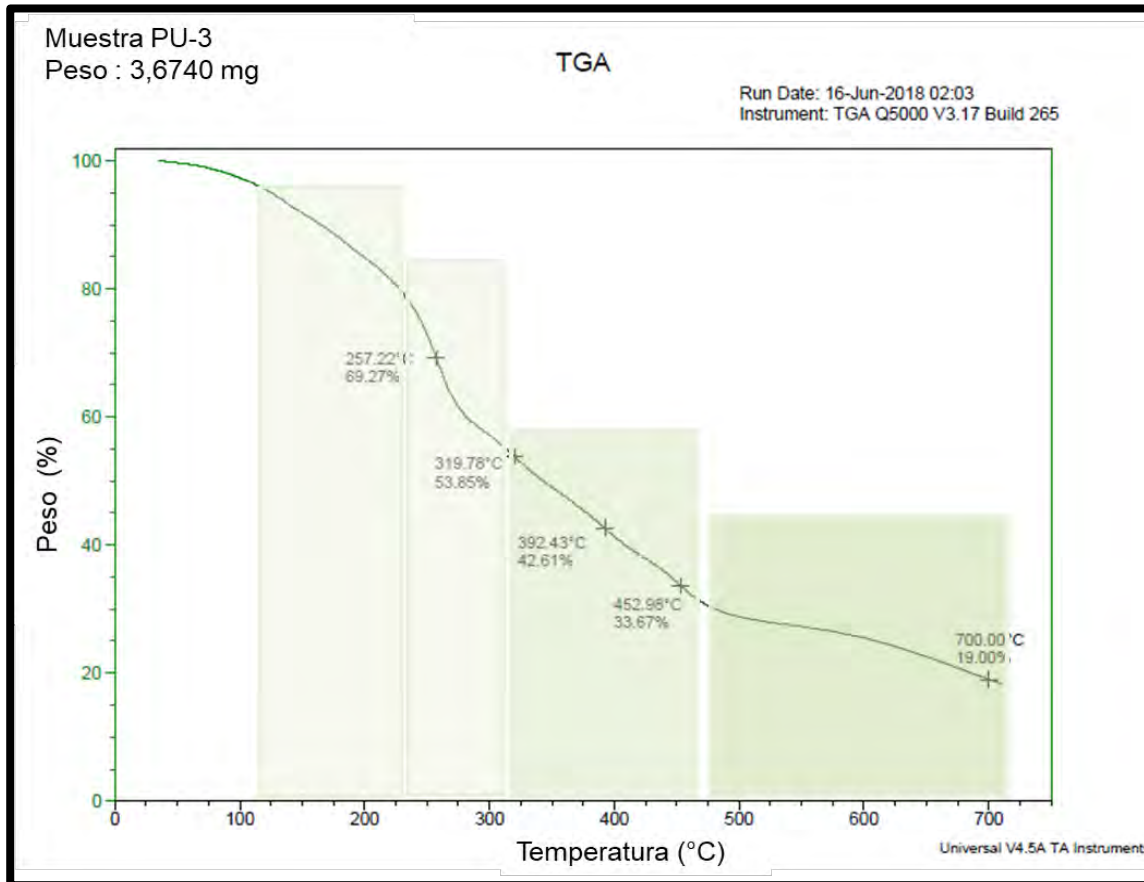


Figura 25.- Termograma TGA (PU-3)

De acuerdo a los resultados en los termogramas (TGA), obtenidos de las tres propuestas de poliuretano, se presentan 4 eventos.

El primer evento para los tres corresponde a una pérdida inicial de humedad.

Los eventos segundo y tercero se deben a una hidrólisis térmica de la inulina en las fracciones correspondiente a los grupos furanos hidratados, asociados a la liberación CO y CO₂, producto de la degradación de componentes minoritarios de la inulina, por lo que se puede indicar la degradación e inicio de la combustión de la inulina. En literatura se ha reportado dos intervalos de degradación de la inulina, el primero entre 225 y 250°C con una pérdida de peso del 23%, y en el segundo intervalo que se encuentra entre 250 y 350°C, con una pérdida de peso del 60%. [130]

El último evento se puede asociar al rompimiento de los enlaces uretano de los segmentos duros.

4.1.3.2 Análisis termogravimétricos DSC (poliuretanos)

Las pruebas de calorimetría diferencial de barrido (DSC), se realizaron en las mismas condiciones experimentales del TGA, ver sección 3.4.2. por lo tanto, los dos eventos termogravimétricos DSC y TGA, podrán ser correlacionados. La información presente en cada DSC se puede utilizar para evaluar el flujo de calor, específicamente la entalpía, que requiere cada muestra para su degradación térmica.

En las Figuras 26 a la 28 se observan los termogramas DSC, para las muestras identificadas como PU-1, PU-2 y PU-3 respectivamente.

En la Figura 26, se muestra el termograma DSC para el poliuretano identificado como PU-1. Presenta tres eventos, el primer evento térmico se da cerca de 56°C, el segundo evento en 118°C y finalmente el tercer evento en 154°C.

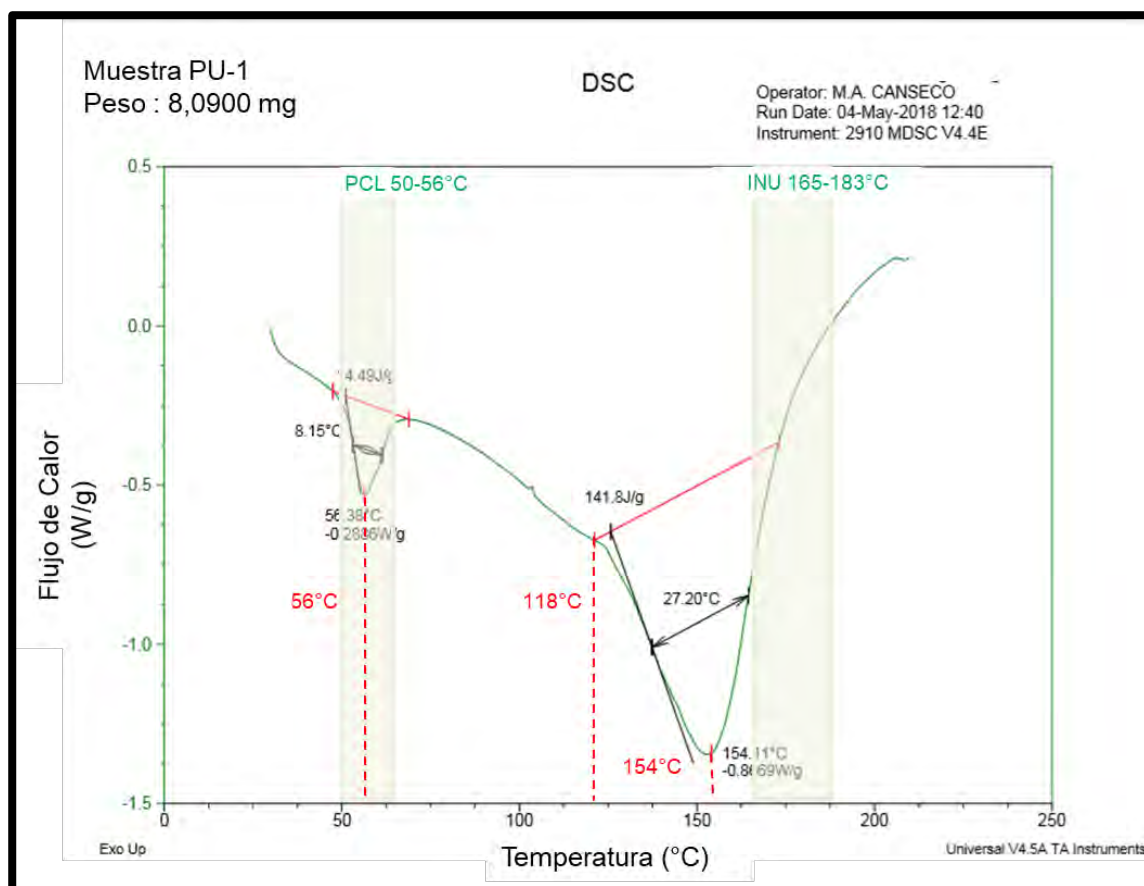


Figura 26.- Termograma DSC para PU-1

Por otro lado, en la Figura 27, se muestra el termograma DSC para el poliuretano identificado como PU-2. También presenta tres eventos, el primero se encuentra cerca de 57°C, el segundo en 122°C y el último en 129°C.

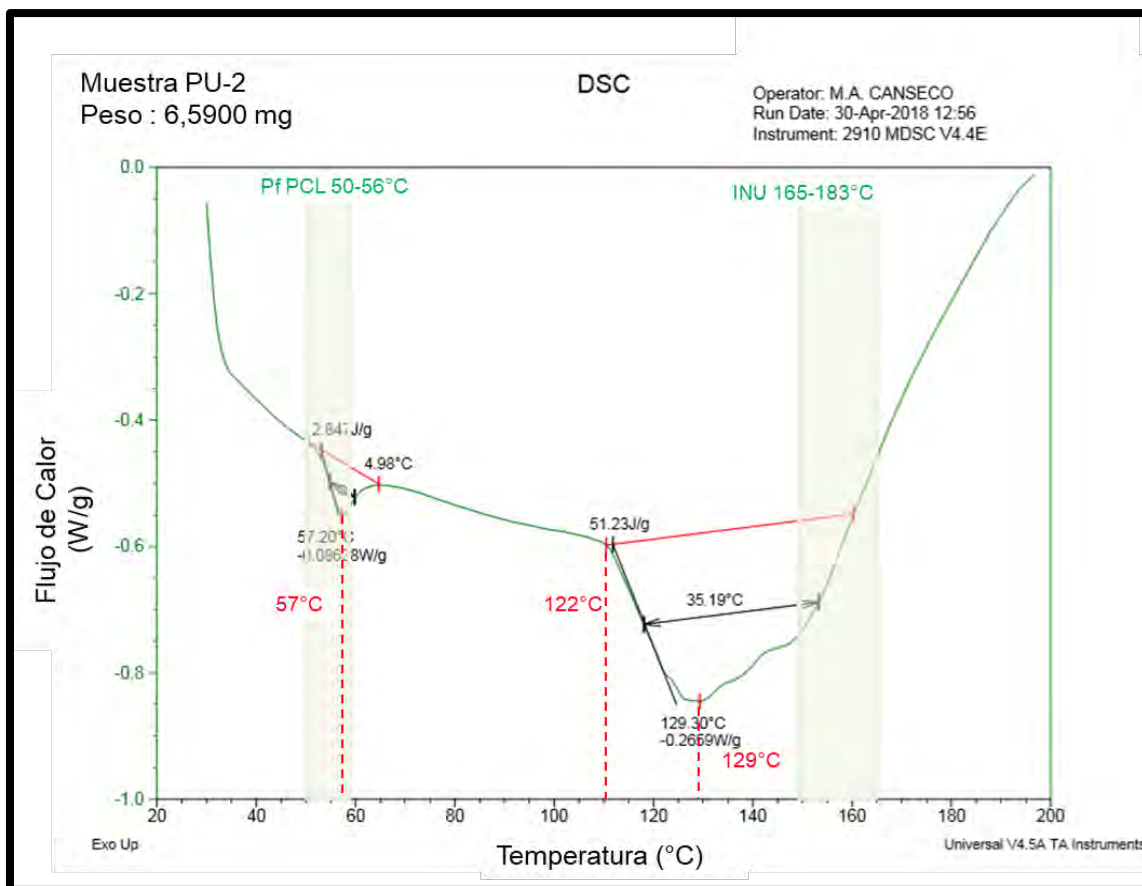


Figura 27.- Termograma DSC para PU-2

Finalmente, en la Figura 28 se observa el termograma DSC para la muestra identificada como PU-3. Se observan tres eventos, el primer evento térmico se presenta cerca de 56°C y el segundo evento en 154°C.

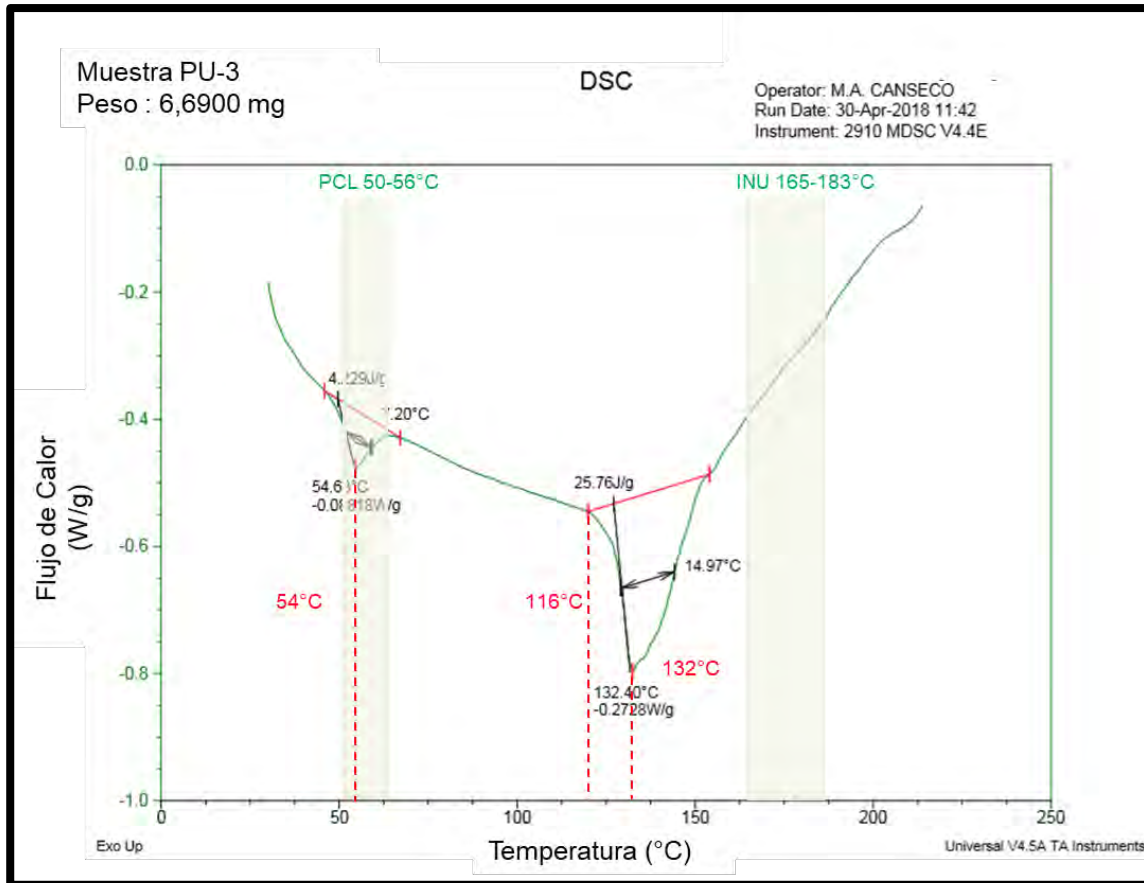


Figura 28.- Termograma DSC para PU-3

Los resultados de los termogramas (DSC) de las muestras presentan dos eventos térmicos, se pueden identificar como un requerimiento energético (mayor flujo de calor), en forma de picos u hombros con la orientación hacia abajo. En la bibliografía se ha reportado la presencia de dos microfases en la estructura de un poliuretano. En la Figura 29 se muestra la estructura general de la cadena principal de un poliuretano. [42]

Mediante esta técnica se pueden identificar la presencia de las dos microfases presentes. El primer evento se relaciona con el segmento suave, y puede existir un segundo evento que pertenecería al segmento duro, o indicarnos la temperatura de fusión o degradación.

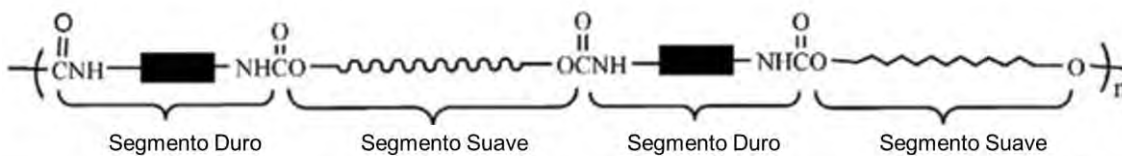


Figura 29.- Estructura general de los poliuretanos (cadena integrada por segmentos suave y duro)

El primer evento térmico que se muestra en los termogramas DSC, presente entre 55 y 58 °C se asocia a la entalpía de fusión de la policaprolactona en cada una de las muestras. Se ha reportado que la **PCL** con peso molecular 2000 da, tiene un punto de fusión entre 50-56°C [136]

También se puede observar un segundo evento en el intervalo de 129 y 154°C, que nos representa el segmento duro, el punto de fusión o temperatura de degradación. Este valor es menor a la temperatura de fusión de la **INU** reportada, que se encuentra entre 165 y 183°C [105]. Se puede corroborar la síntesis de un nuevo polímero, debido a que se obtienen propiedades termogravimétricas diferentes a la de sus precursores.

Por otro lado, si analizamos los valores de las ordenas de los tres termogramas, se aprecia un requerimiento energético al incrementar la proporción molar de **PCL**, (segundo pico en los termogramas). Este resultado puede explicar que se forman entrecruzamientos con la **PCL**, por lo que, en términos de flujo de calor, se requiere mayor energía para romper los enlaces adicionales debido al incremento de la densidad de entrecruzamiento antes de que se lleve a cabo el rompimiento total de la red de poliuretano [137] (ver Tabla No 8).

Poliuretanos	Relación Molar INU : PCL	Entalpía (Joules)
PU-1	1 : 2	0,1161
PU-2	1 : 1	0,0188
PU-3	2 : 1	0,0283

Tabla 8.- Análisis térmico para el cálculo de las entalpías relacionadas con los eventos energéticos para PU-1, PU-2 y PU-3

4.1.3.3 Resultados generales termogravimétricos DSC/TGA de poliuretanos

En las secciones 4.1.1 y 4.1.2 se corroboró la presencia del grupo uretano en las tres propuestas de polímeros tipo uretano sintetizadas; para ello se requiere la reacción de los precursores **PCL**, **INU** y **HMD** dentro de la estructura del polímero. También en la sección anterior 4.1.3.2 se determinó la función de la **PCL**, que actúa como microfase o dominio suave dentro de la cadena del poliuretano, por lo que se deduce que la **INU** y **HMD** funcionan como segmento duro. Esta información es muy importante para el diseño de una formulación de poliuretano, porque afectaran sus propiedades mecánicas y por lo tanto su funcionalidad para las bioaplicaciones.

Por otro lado, en la literatura se encontraron las temperaturas de transición para diferentes poliuretanos. El primero se encuentra entre 35 y 115°C y un rango segundo de 130°C a 190°C, incluyendo la temperatura de fusión que se encuentran en un rango de 200 a 225°C. [129]

La Tabla 9 muestra los resultados del comportamiento termogravimétrico de las muestras, en las Figuras 22 a la 24 para **TGA**, y de las Figura 26 a la 28 para los resultados en **DSC**.

También se incluyen los valores de referencia y aquellos reportados en la literatura, como los puntos de fusión de **INU** y **PCL**, los rangos de degradación y temperaturas de fusión para algunos poliuretanos obtenidos con precursores sintéticos.

Resultados de Análisis Termogravimétricos				
TGA				
Eventos Térmicos (°C)				
INU*		225-250	250-350	>500
PU-1	120-180	200-310	320-430	500-700
PU-2	105-190	200-310	318-438	490-700
PU-3	110-220	225-310	310-470	490-700

DSC			
Eventos Térmicos (°C)			
PCL*	50-56**		
INU			165-183**
PU*	35-115	130-190	220-225**
PU-1	56	118	154
PU-2	57	122	129,3
PU-3	54	116	132

Tabla 9.- Resultados de análisis termogravimétricos TGA y DSC

Donde:

INU: Inulina

PCL: Policaprolactona

PU: Poliuretanos Sintéticos reportados en literatura

PU-1, PU-2, PU-3: Poliuretanos Sintetizados

* Reportado en literatura; ** Punto de fusión

En los resultados obtenidos por la técnica de caracterización **TGA** se observa que existe un posible inicio de degradación entre el rango de temperatura entre 200 y 225°C. Por otro lado, si comparamos los intervalos de degradación de la **INU** reportados en literatura [105], con los resultados los eventos térmicos de los poliuretanos, corroboramos la presencia de **INU** dentro de la estructura de los polímeros. Lo que demuestra que es el último componente que se degrada y que actúa como segmento duro en la formulación.

La literatura menciona que en general existen dos microfases en la cadena de un poliuretano [42], la cual se observa en la Tabla 9 en la tercera fila identificada como **PU**, donde se muestran dos rangos de temperatura en las dos primeras columnas. También en los resultados termogravimétricos **DSC**, identificamos la presencia de al menos dos fases dentro de la cadena principal de nuestro poliuretano. La primera entre 54 - 57°C, que podemos relacionar con la **PCL**, debido a que su punto de fusión se encuentra en ese rango. La segunda microfase se encuentra en el rango de 116 a 154°C, que puede deberse a los otros componentes como **INU** y el segmento alifático del **HMD**.

En las Figuras 26 a la 28, se observa un segundo evento de térmico en un intervalo entre 118-154°C, puede representar la degradación del polímero, temperatura por debajo de la reportada en literatura de 220-225°C. Esto podría significar que los nuevos poliuretanos no tienen temperatura de fusión, por lo que se clasificarían como termofijos, en contraste con los poliuretanos con bioaplicaciones, que en la gran mayoría son clasificados como termoplásticos.

Este cambio de propiedades se puede deber a que en literatura la síntesis de los poliuretanos se realiza con precursores sintéticos. Al sustituirlos por un polisacárido natural se puede dar un cambio en las propiedades, que puede originarse por la presencia de nuevas interacciones, como enlaces de hidrógeno o entrecruzamientos. Para este caso la **INU** es un compuesto polihidroxilado. Este precursor puede ser responsable de la presencia y la formación de entrecruzamientos en nuestro poliuretano, y que son proporcionales en base al contenido de **INU** dentro de la estructura del polímero.

De los resultados de DSC tenemos un rango de temperatura de posible fusión entre 129-154°C. Por otro lado, los resultados de TGA muestran una posible temperatura de degradación entre 200 y 225°C. Probablemente podría existir un rango muy estrecho que diferencia la temperatura de fusión y de degradación entre 129 y 146°C, información importante en el procesamiento, tratamiento y aplicación para nuestro polímero del polímero.

4.1.4 Pruebas mecánicas de poliuretano

Los polímeros sintetizados fueron caracterizados mediante pruebas de tensión y compresión.

4.1.4.1 Pruebas mecánicas de tensión

Para realizar las pruebas de tensión se requirió que la presentación de los polímeros fuera en forma de película, y además el largo de la película debía ser mínimo de 14 mm para poder sujetarse con unas mordazas en los dos extremos. Después de varios ensayos con varias metodologías y propuestas, sólo se pudieron generar películas con las formulaciones **PU-2** y **PU-3**.

Una vez obtenida la película y colocada en las mordazas, se aplicó una fuerza uniaxial a una velocidad constante de 1mm/min., la prueba se finalizó una vez que se observó la fractura en las muestras (ver Figura 30). Existen poliuretanos que ya se comercializan y tienen bioaplicaciones, donde el porcentaje de elongación máximo antes de la ruptura se encuentra en 130-1000 %, y el esfuerzo de tensión aplicado va desde 2.5-62.7 MPa. Por ejemplo, Biomer SolG®, Cardiothane 51®. [129]

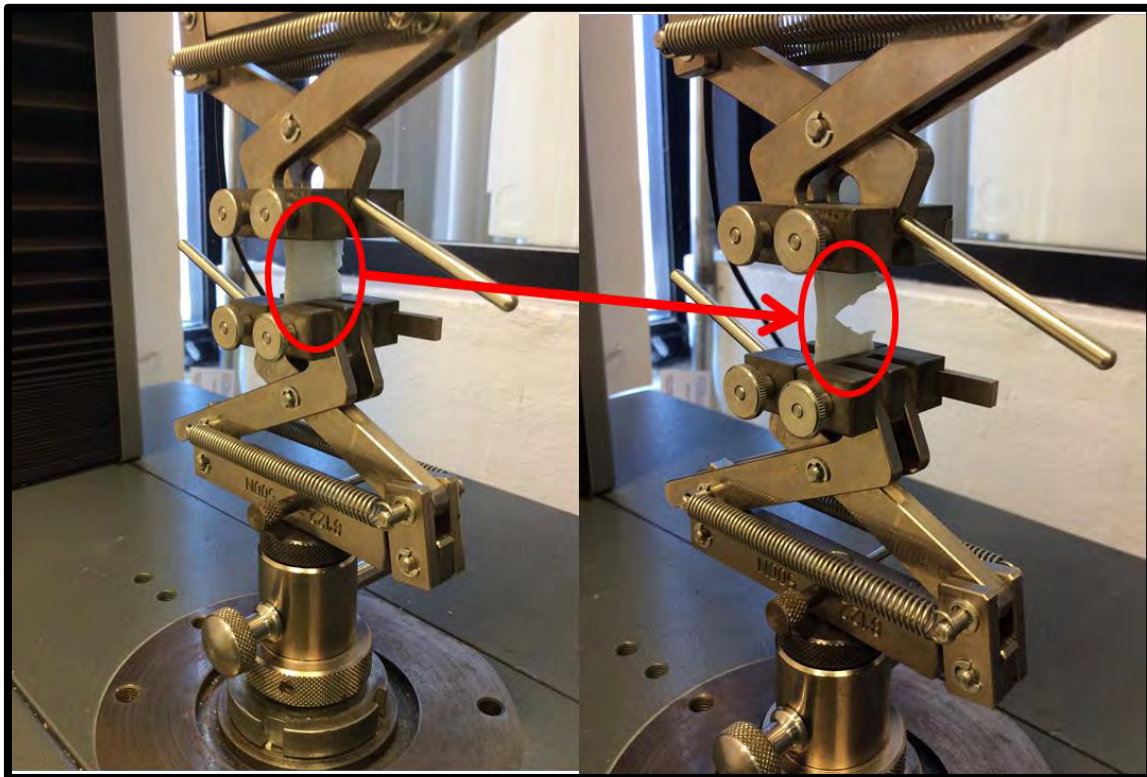


Figura 30.- Equipo para pruebas mecánicas (tensión)

La Tabla No. 10 muestra las dimensiones de las películas obtenidas para **PU-2** y **PU-3** que se utilizaron para la prueba de tensión.

Dimensiones de las películas de poliuretano			
	Ancho (mm)	Largo (mm)	Espesor (mm)
PU-2	1.92	14.02	1.80
PU-3	5.8	22.14	1.56

Tabla 10.- Dimensiones de las películas de poliuretano (PU-2 y PU-3)

Los resultados se muestran en la Tabla No. 11 en la fila 1 y 2, así mismo se pueden observar en las Figuras 31 y 32. También en la Tabla, en la fila 3 se incluyeron las propiedades de algunos poliuretanos reportados en literatura.

Resultados de Pruebas Mecánicas Tensión			
	Límite de Tensión (MPa)	% Elasticidad (1)	% Elasticidad(2)
PU-2	0.58	108	185
PU-3	0.24	174	257
PU*	2.57-62.7	130-1000	

Tabla 11.- Resultados de pruebas mecánicas de poliuretanos (Tensión).
Donde: *Reportado; (1) primera prueba y (2) segunda prueba

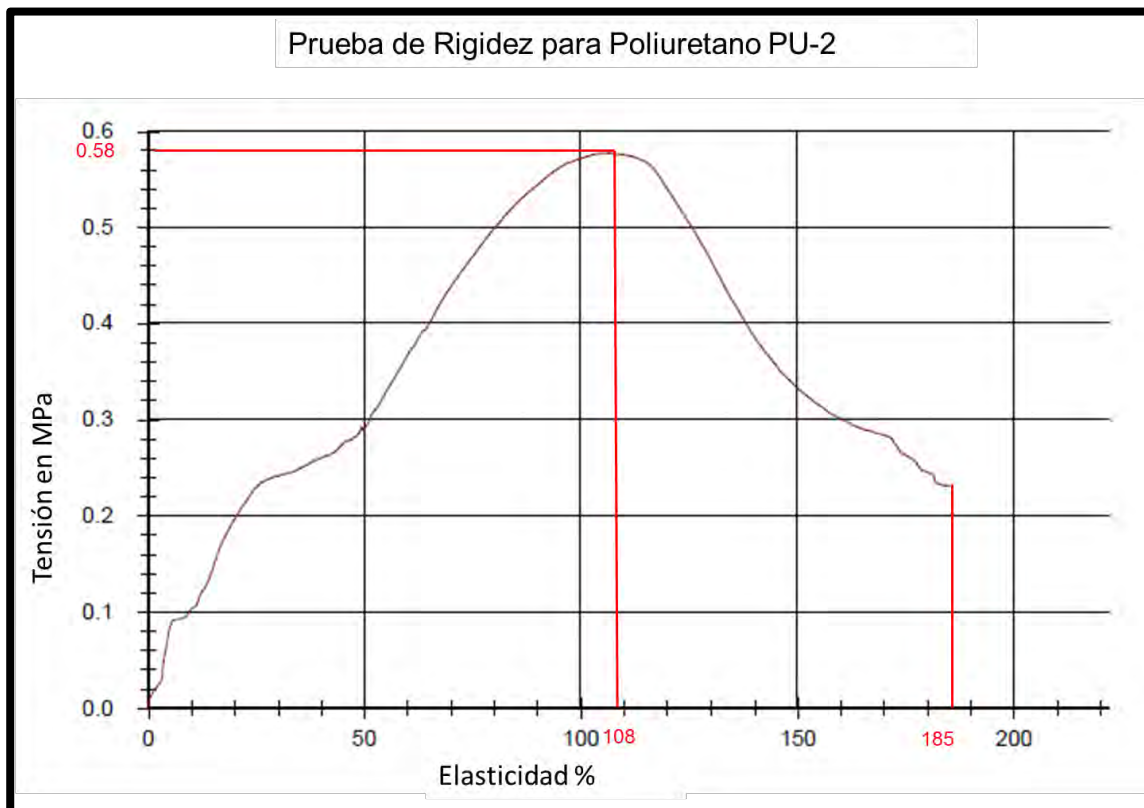


Figura 31.- Prueba de tensión de poliuretano PU-2

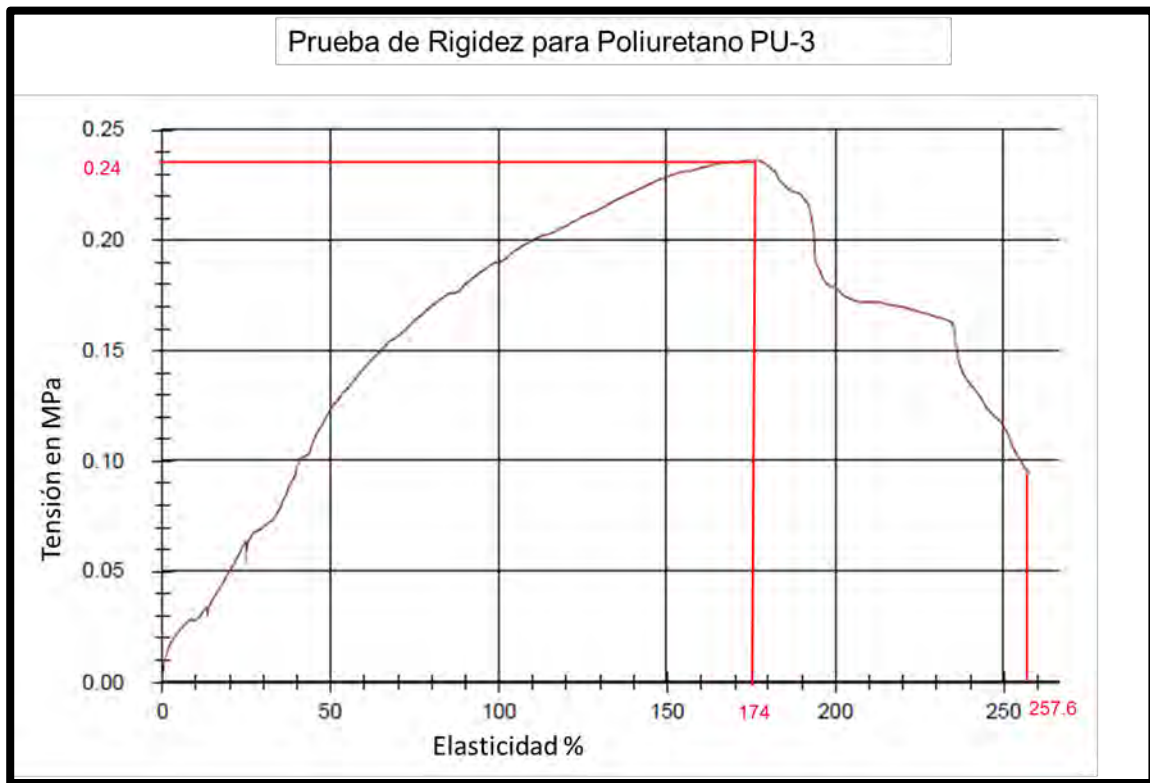


Figura 32.- Prueba de tensión de poliuretano PU-3

4.1.4.2 Pruebas mecánicas de compresión

Para esta prueba, el requerimiento fue obtener las muestras en forma de pastillas, las cuales son colocadas entre dos platos de compresión. Para esta técnica se realizaron varios ensayos, y finalmente se obtuvieron pastillas en las tres formulaciones.

El procedimiento fue el siguiente: La muestra se colocó entre los dos platos, el esfuerzo fue aplicado en una dirección uniaxial a una velocidad constante de 1 mm/min, como se muestra en la Figura No. 33. La prueba se finalizó cuando se observó una fractura en la muestra o cuando se llegó a una compresión cercana al 100% del espesor original de la muestra.

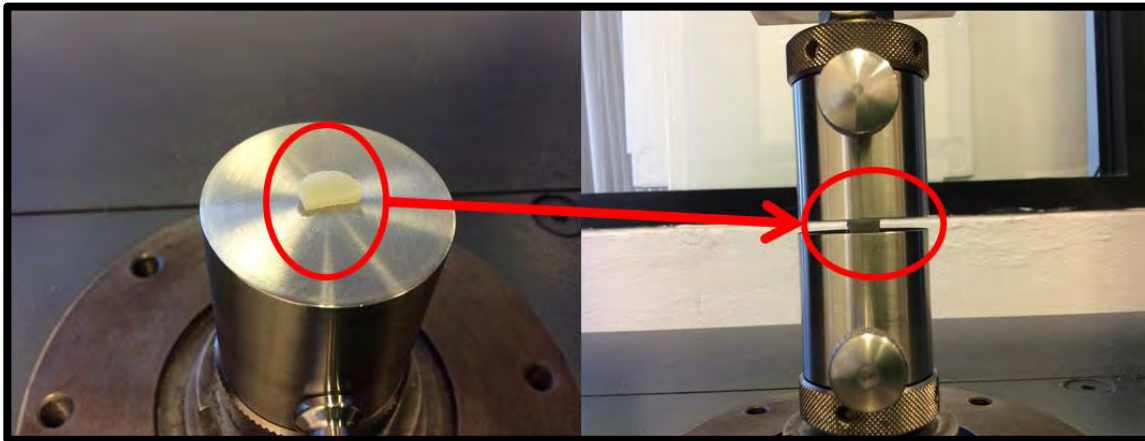


Figura 33.- Equipo de pruebas mecánicas (compresión).

En la Tabla 12, se registraron las dimensiones de cada una de las muestras obtenidas.

Dimensiones de muestras para prueba de compresión			
	Ancho (mm)	Largo (mm)	Espesor (mm)
PU-1 a	4.23	9.34	1.55
PU-1 b	4.23	8.08	1.55
PU-2 a	9.37	10.09	1.49
PU-2 b	9.37	10.09	1.27
PU-3 a	4.61	9.22	1.57
PU-3 b	5.19	9.22	1.23

Tabla 12.- Dimensiones de muestras de poliuretano (PU-1, PU-2 y PU-3)

Dónde:

a: Dimensiones de la pastilla antes de la prueba

b: Dimensiones de la pastilla después de la primera prueba o ensayo correspondiente al 70% del espesor a).

Los resultados de las pruebas de compresión se muestran en la Tabla No. 13 de la fila 1 hasta la 6, y también se pueden visualizar en la Figuras 34, 35 y 36. En literatura se han encontrado resultados de pruebas de compresión en poliuretanos y cuyos valores se encuentren entre 257-504 MPa. [138], los cuales se agregaron en la fila 7 de la Tabla 13.

Resultados de Pruebas Mecánicas Compresión			
	Limite de Tensión (MPa)	Desplazamiento (mm)	Desplazamiento (%)
PU-1 a	23.72	1.15	74%
PU-1 b	88.23	1.2	77%
PU-2 a	26.1	1.11	74%
PU-2 b	96	1.27	100%
PU-3 a	107.7	1.2	76%
PU-3 b	363.6	1.18	96%
PU *	257-504	N/D	

Tabla 13.- Resultados de pruebas mecánicas de compresión. En la serie de poliuretanos.

Dónde:

a: Primera prueba desplazamiento \approx 70% del espesor original

b: Segunda prueba desplazamiento del espesor de la muestra

N/D: No disponible * Reportado en literatura

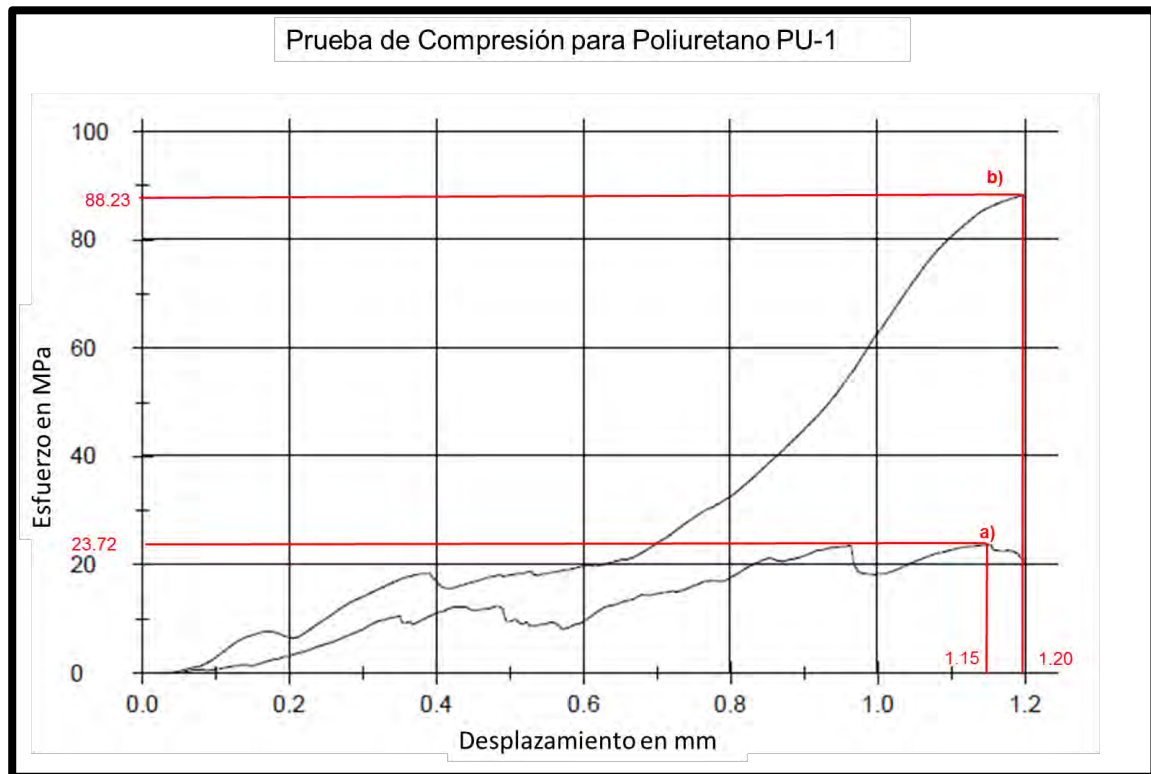


Figura 34.- Prueba de compresión en PU-1

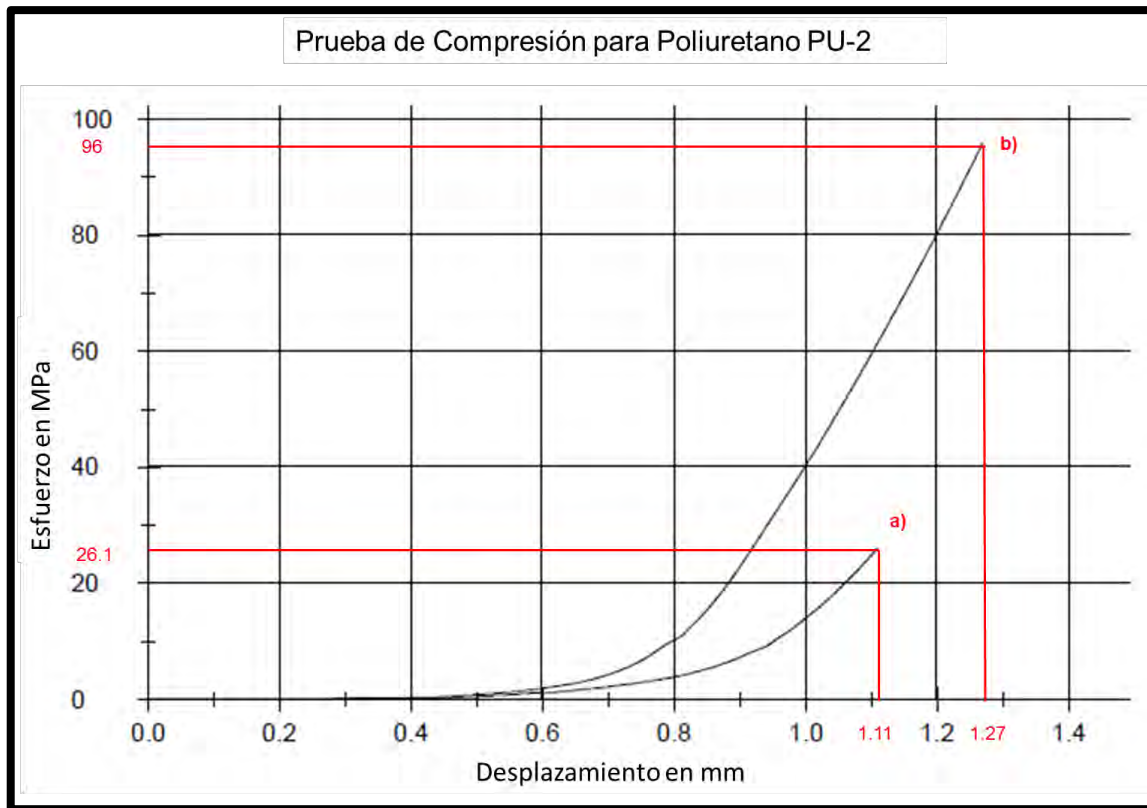


Figura 35.- Prueba de compresión en PU-2

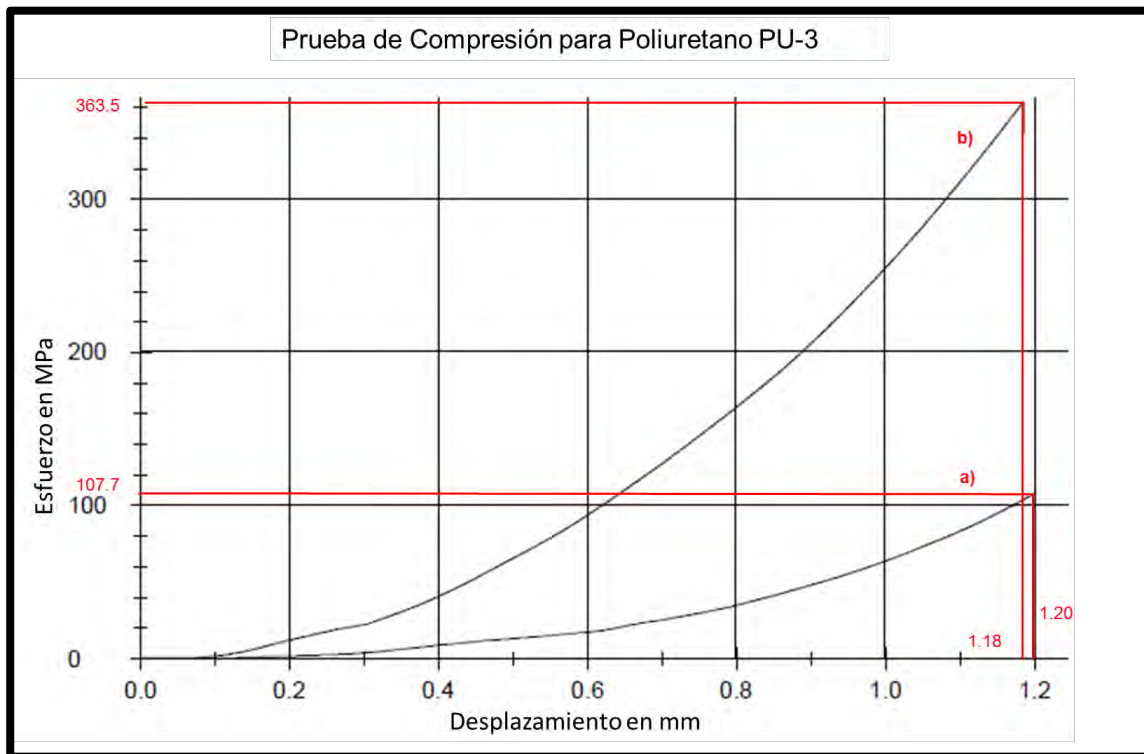


Figura 36.- Prueba de compresión en PU-3

Como se mencionó anteriormente, para estas técnicas de caracterización se procesaron los polímeros hasta obtener películas y/o pastillas. El proceso de evaporación, secado y control de temperatura fue la etapa compleja y extensa del proyecto. En algunas pruebas, el tiempo de formación de algunas formulaciones fue de hasta 4 semanas. Además, se realizaron varias pruebas y ensayos para identificar la forma y el tipo de materiales para la deposición y vaciado del poliuretano en el proceso de evaporación, debido a que generalmente se adherían al contenedor. Finalmente, el polipropileno fue la mejor opción para la generación de las muestras.

Para la prueba de compresión se pudieron obtener pastillas de las tres formulaciones **PU-1**, **PU-2** y **PU-3**, pero para la formación de películas, solo se pudieron procesar con las formulaciones **PU-2** y **PU-3**.

Debido a que el contenido de **INU** es menor en **PU-1**, comparado con las otras dos formulaciones, puede existir un menor grado de entrecruzamientos o peso molecular, así como un reducido contenido de grupos funcionales **OH** y por ende disminuir las interacciones por los enlaces de hidrógeno, que pueden ser factores que afectan la posibilidad de generar películas.

Otro factor importante a considerar en la síntesis es la formación de poros o cavidades presentes en los polímeros, debido a la presencia de agua. En bibliografía se recomienda eliminar lo más posible el agua [129], sin embargo, también los poros permiten la absorción de agua para bioaplicaciones, así como una adecuada vascularización del compuesto en el cuerpo, por lo que se diseñó con un posible enfoque para usos biomédicos, y no se consideró eliminar la presencia de agua.

Como se puede observar, hubo dos ensayos en cada una de las muestras para la técnica de compresión identificadas con las letras **a** y **b**. Previamente se determinaron las condiciones de las pruebas de compresión, que estaban relacionadas con el espesor de la muestra. Se observó que después de retirar la carga en el primer ensayo, la muestra recuperaba cierto porcentaje en las dimensiones del espesor, característica que puede proporcionarnos información de la presencia de enlaces de hidrógeno. Finalmente, se designó a la letra **a**, para una prueba cuyo desplazamiento del 70% del espesor de la muestra previo a la prueba, y la letra **b** para un valor de compresión muy cercano al espesor de la muestra después del primer ensayo.

Durante el primer ensayo puede existir un reajuste en las cadenas del polímero o eliminación de poros, cavidades o grietas. En el segundo ensayo se observó que existía un aumento en el esfuerzo de carga aplicado a las muestras, que puede ser por el reajuste en las cadenas del polímero. Es importante mencionar que nunca se observó una fractura física en las muestras, simplemente se deformaban hasta convertirse casi en una película.

Los valores obtenidos para la primera prueba se encuentran entre 23.72-107.7 MPa (mega pascales) con un valor de desplazamiento del 74 al 76% con respecto al espesor. Como se puede observar, el valor es mucho menor a lo reportado de 257 MPa, característica debida a la presencia de poros o grietas, o a un reajuste en la cadena. Sin embargo, en el segundo ensayo, para **PU-3** se tiene un valor de 363.6 MPa. Este valor se encuentra dentro del rango de valores en poliuretanos reportados [138]. Esta formulación tiene un mayor grado de proporción de **INU**, que puede presentar un mayor contenido de entrecruzamientos en su estructura con referencia a las otras dos formulaciones.

Finalmente, analizando y complementando los resultados se realizó la técnica de caracterización de pruebas mecánicas por tensión, donde se observó que el poliuretano identificado como **PU-2** presenta un esfuerzo de tensión de 0.58 MPa y un valor de elongación de 108%, contra 0.24 MPa y 174% para **PU-3**. Estos valores son mucho menores a lo reportado en literatura que son 2.57-62.7 MPa y de 130-1000% respectivamente [incluir la referencia]. Recordemos que el uso de estos poliuretanos es para bioaplicaciones en el sistema cardiovascular, cuyo objetivo es una alta resistencia a la fractura o daño mecánico, además de no ser degradables, por lo que sus propiedades mecánicas deben soportar estas condiciones, sin olvidar que los precursores que los conforman son sintéticos.

Anteriormente se había discutido que la presencia de **INU** en la estructura de los nuevos poliuretanos pueden promover la formación de entrecruzamientos, y que serían los responsables de modificar algunas propiedades mecánicas en las pruebas de tensión, debido a que los valores son menores a los reportados en literatura [129]. Sin embargo, una propiedad que se busca en este proyecto para los nuevos poliuretanos, es que sean biodegradables y con la posibilidad de una aplicación con un esfuerzo mecánico mucho menor a las bioaplicaciones en el área de cardiología. De inicio puede considerarse su potencial para uso como marcador de biopsia. Si aumentamos el número de entrecruzamientos en la estructura, puede reducir las propiedades de elasticidad en este nuevo poliuretano.

La microfase suave en un poliuretano, en este caso proporcionada por la **PCL** presente en la estructura de los poliuretanos, puede ser responsable de las propiedades de elasticidad en el poliuretano; el aumentar la proporción de **PCL**, pudiera incrementar las propiedades de elongación. Sin embargo, el límite de elasticidad es mayor en **PU-3** de 174% contra 108% en **PU-2**, aunque el contenido de **PCL** es menor en **PU-3**, puede compensarse por la presencia de enlaces de hidrógeno, que como se había comentado es mayor en **PU-3** que en **PU-2**.

Los resultados de las pruebas mecánicas de tensión son menores en nuestros polímeros comparado con los reportados [129] [138]. Esto puede deberse al procesamiento, la cantidad de agua en la síntesis, la velocidad de evaporación de los solventes y temperatura en el tratamiento de las películas, generando la presencia de poros, fracturas internas, cavidades y no homogeneidad en la matriz polimérica. Sin embargo, el diseño y la formulación de un nuevo polímero cuya base sea un polímero natural con presencia de poros o imperfecciones puede ser la causa de la reducción de propiedades mecánicas, pero puede ser responsable de proporcionar las propiedades de biodegradabilidad.

4.1.5 Microscopía electrónica de barrido(SEM) en poliuretano

Esta técnica se utilizó para observar las diferentes topografías superficiales de los polímeros sintetizados en aumentos de X1000 y X5000.

En las Figuras 37, 38 y 39 se muestran las micrografías de los poliuretanos **PU-1**, **PU-2** y **PU-3**, donde se puede observar lo siguiente:

PU-1 se observa una superficie rugosa o granulosa con presencia de cavidades entre 4-5 μm ver Figura 37.

PU-2 se observa una superficie más homogénea con menor número de cavidades en Figura 38.

PU-3 se muestra una superficie formada por placas y presencia de grietas entre 15-20 μm ver Figura 39.

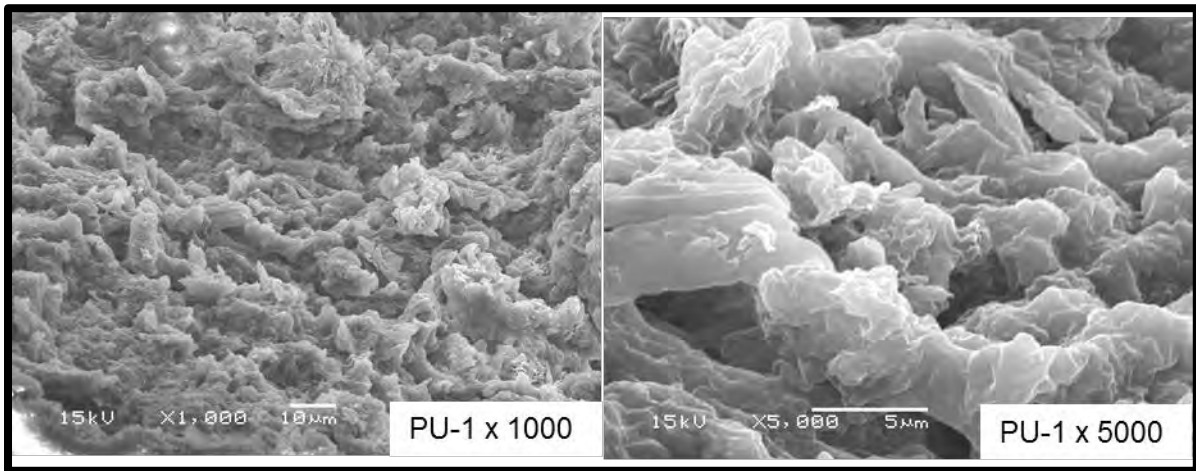


Figura 37.- Microscopía electrónica de barrido en muestra PU-1, con aumentos de 1000 y 5000

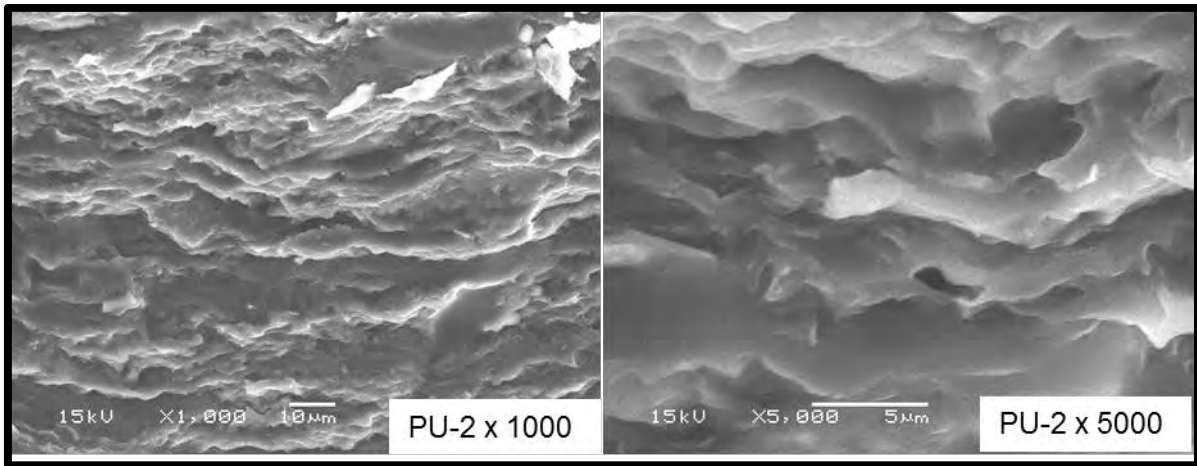


Figura 38.- Microscopía electrónica de barrido en muestra PU-2, con aumentos de 1000 y 5000

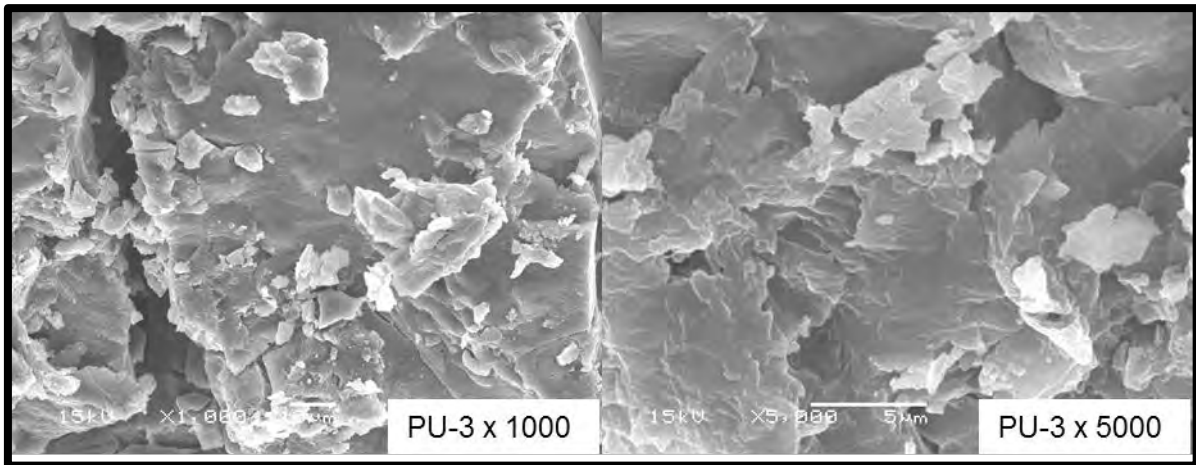


Figura 39.- Microscopia electrónica de barrido en muestra PU-3, con aumentos de 1000 y 5000

Se puede concluir lo siguiente: Las tres formulaciones presentan algún tipo de grietas, porosidades o cavidades, como se había discutido en la sección anterior, éstas podrían ser las responsables de las propiedades mecánicas. Por otro lado, podrán aportar otras características o propiedades en poliuretanos como permeabilidad y absorción de agua relacionados con la biodegradación. Desafortunadamente, no se pudieron observar la presencia de microfases de nuestros polímeros, en otros artículos se han podido distinguir las microfases de la estructura de poliuretanos. Sin embargo, puede distinguir que es una fase homogénea de poliuretano, no se observa la presencia de una matriz o redes de inulina inmersa en el poliuretano.

4.2 Síntesis de nanopartículas de óxido de hierro

Las nanopartículas fueron sintetizadas por dos métodos: una vía química y una vía síntesis verde, ambas fueron caracterizadas para identificar las tres fases principales que son hematita, maghemita y magnetita. [115]

El método vía química es una síntesis de nanopartículas de óxido de hierro por la técnica de co-precipitación y se identificó como **IONPC**.

En el segundo método de síntesis vía verde se utilizó la capacidad oxidante o poder reductor y posible capacidad surfactante de los metabolitos presentes en el Aranto (**KD**) [127], y se identificó como **IONPG**. Por este método se obtuvieron dos formulaciones **IONPG1** y **IONPG2** (ver metodología de la sección 3.2.2).

4.2.1 Caracterización de IONPC

4.2.1.1 Difracción de Rayos X

En la Figura 40, se observa el difractograma de **IONPC**, y se compara con los estándares de magnetita (Fe_3O_4), hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) y maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) que corresponden a las cartas reportadas en literatura, los cuales son 82-1533, 79-0416 y 25-1402 respectivamente. Se observa una mezcla de las tres fases del óxido de hierro presentes en la síntesis.

Sin embargo, se observa la presencia de citrato de sodio dihidratado ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 16-1170, que se utilizó en el método de síntesis.

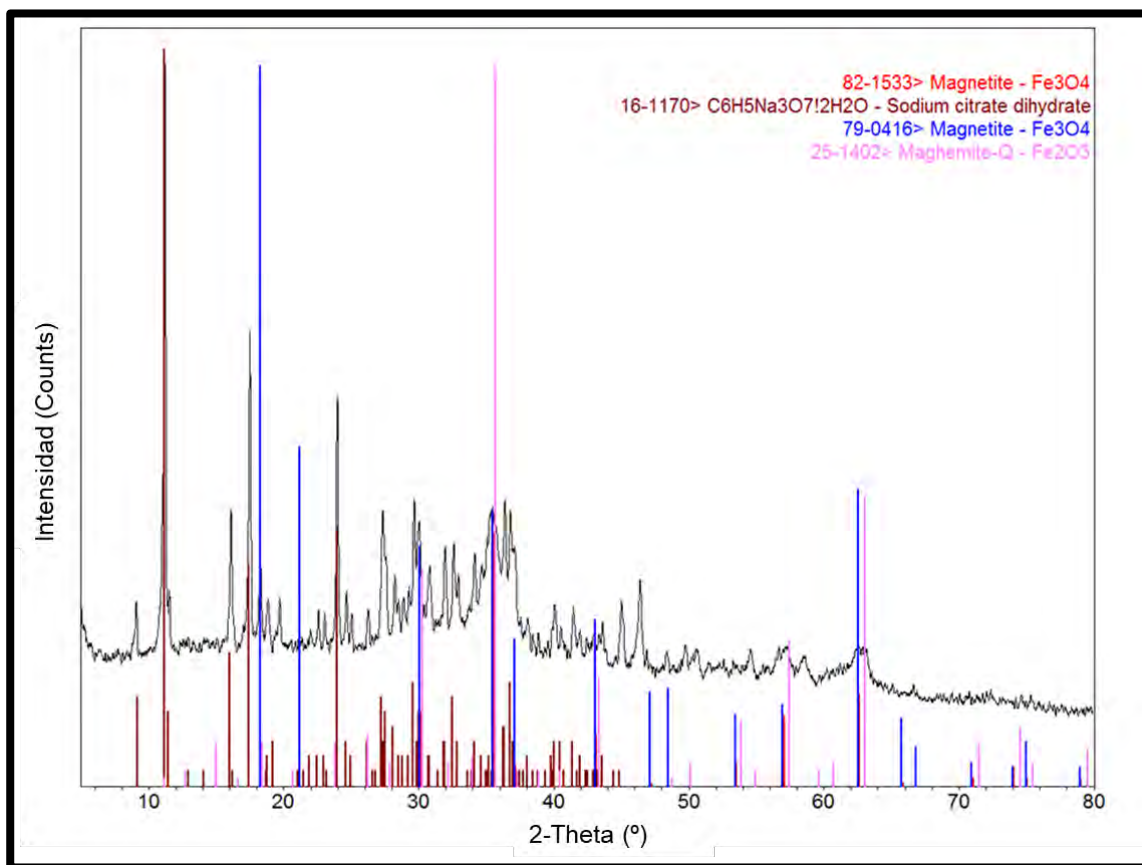


Figura 40 .- Difractograma de comparación de IONPC con estándares de magnetita, maghemita, hematita.

Los resultados de DRX muestran que se formaron las nanopartículas magnetita, usando el método de co-precipitación. No obstante, también se identificaron las otras dos fases de óxido de hierro; hematita $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ y maghemita $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, incluyendo citrato de sodio dihidratado.

La presencia de hematita $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ y maghemita $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, nos indica que la magnetita $\gamma\text{-Fe}_3\text{O}_4$ se está oxidando y es inestable. En la metodología se observó que, al colocar el imán de neodimio poseía propiedades magnéticas. Por otro lado, aunque se realizaron una serie de lavados, para eliminar el exceso de citrato de sodio dihidratado **CSO**, con metanol **MET**, no se pudo eliminar totalmente. Se ha reportado que la función del citrato de sodio durante la síntesis actúa como secuestrante de Fe^{+2} , en la síntesis de nanopartículas de magnetita. Sin embargo, de acuerdo a nuestras observaciones también actúa como estabilizador o surfactante de las partículas obtenidas.

4.2.1.2 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Las nanopartículas también se caracterizaron por microscopía electrónica de transmisión. En las Figuras 41 a) y b) se observa que el tamaño de las nanopartículas es menor de 20 nm. En la misma Figura inciso c) y d) se puede observar la morfología en forma de rombos, triángulos, esferas y rectángulos.

Una desventaja de la técnica de coprecipitación es que no existe un control en la distribución de tamaño de nanopartícula, ni tampoco en la morfología. Esto se puede observar en la Figura 41, donde se aparecen tamaños de partículas entre 15-20 nm representadas por color negro, además se observan al menos cuatro diferentes morfologías. Como se había mencionado, es una técnica para sintetizar magnetita, que generalmente se tienden a aglomerar con mucha facilidad, que también se puede observar en las Figuras 41 b), c) y d).

De los resultados de **DRX** se identificó la presencia de citrato de sodio **CSO**, que puede estar actuando como estabilizador o surfactante de las nanopartículas de **IONPC**. Esto se puede observar en la Figura 41, representado con un color gris tenue, alrededor de los puntos negros.

Existen dos puntos importantes a tratar, las nanopartículas obtenidas por el método de coprecipitación no tienen la morfología, ni el diámetro recomendado para bioaplicaciones. Sin embargo, se seleccionó esta técnica de síntesis, para poder servir de referencia con las obtenidas por la técnica vía síntesis verde. También puede utilizarse para evaluar su viabilidad de poder incorporarse a las fórmulas de los poliuretanos y lo más importante es poder evaluar si tiene propiedades de radiopacidad.

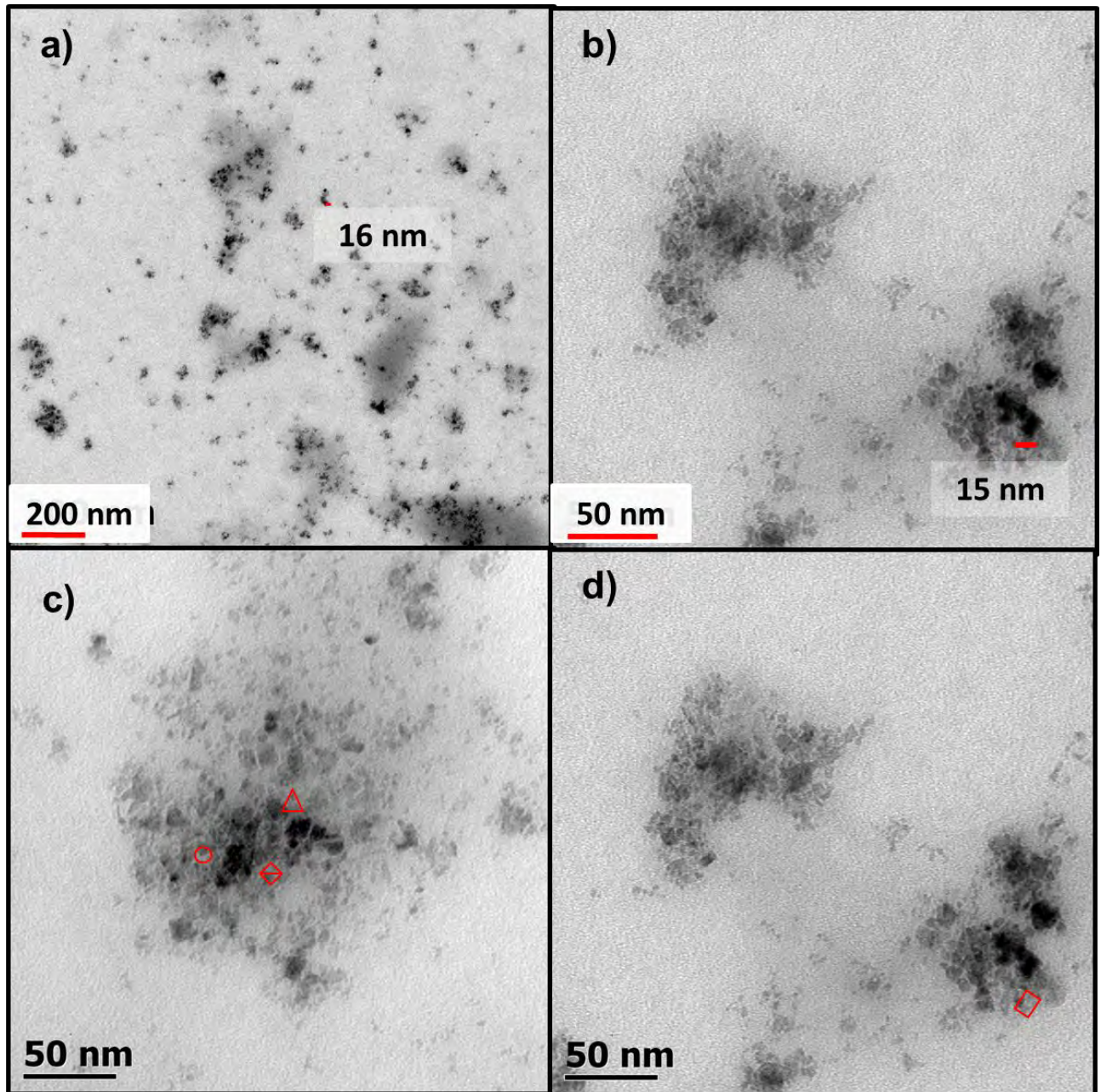


Figura 41.- TEM de nanopartículas de óxido de hierro (IONPC) síntesis por co-precipitación

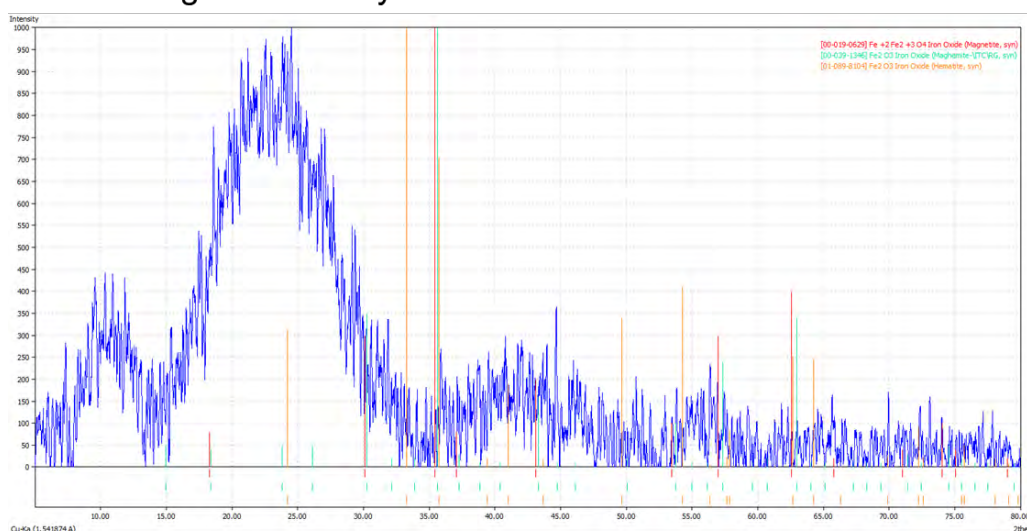
4.2.2 Caracterización de IONPG

4.2.2.1 Difracción de Rayos X (DRX) de IONPG

Por otro lado, como se había mencionado para la síntesis verde se realizaron dos propuestas, que se identificaron como **IONPG1** y **IONPG2**, las cuales se caracterizaron por DRX; los difractogramas obtenidos se muestran en la Figura 42.

Sin embargo, si comparamos las muestras **IONPG1** y **IONPG2** con los estándares de las fases de óxido de hierro que corresponde a magnetita, hematita y maghemita, como lo hicimos con las nanopartículas obtenidas en la síntesis química, no existe un patrón de comparación con los estándares.

Difractograma de Rayos X de IONPG1



Difractograma de Rayos X de IONPG2

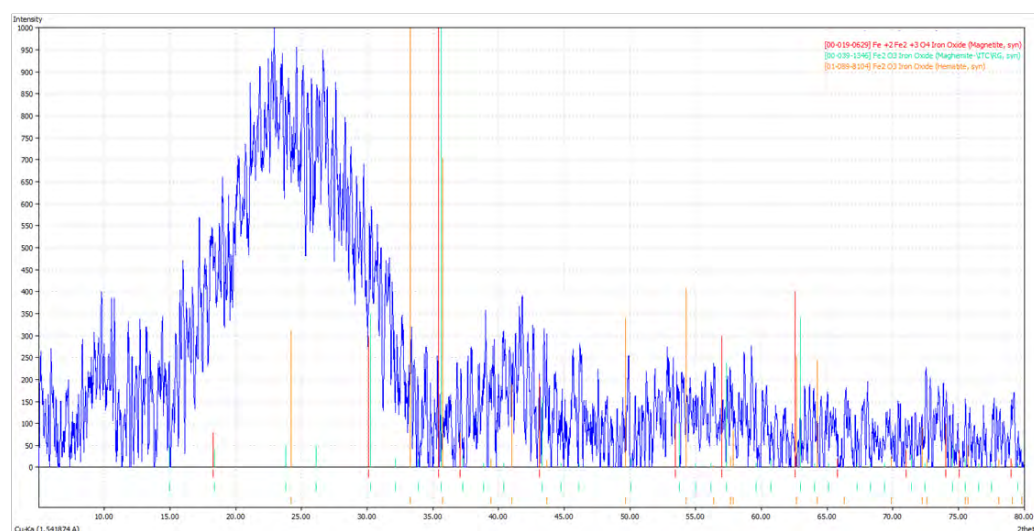


Figura 42.- Difractograma de rayos X para nanopartículas de óxido de hierro sintetizados por vía verde, para las fórmulas IONPG1 y IONPG2. 96

En la Figura 42, las señales de respuesta de las muestras en los difractogramas, indicadas con líneas en color azul presentan mucho ruido.

Es importante mencionar que, para ambos métodos de síntesis tanto vía química, como vía verde, se utilizaron los mismos precursores, soluciones de FeCl_3 y FeCl_2 y la única diferencia fue el contenido del extracto de **KD**.

Por lo que la parte orgánica podría ser la responsable de la generación del ruido en los difractogramas, generando un enmascaramiento de la parte metálica. En la literatura [125] se han reportado propuestas para el tratamiento de eliminación de la parte orgánica, en un sistema nanopartículas, una es por tratamiento térmico a 100°C , o utilizando otros solventes como acetona o hexano, una vez eliminada la parte orgánica, se debe repetir la caracterización por DRX.

Sin embargo, aunque no se identifica la presencia de nanopartículas de óxido de hierro por esta caracterización, en la metodología se colocó un imán de neodimio, y se observaron ligeras propiedades magnéticas que se le atribuyen a la presencia de la magnetita y maghemita, aunque en esta última son mucho menores; la prueba nos indica que existen al menos estas dos fases en la síntesis.

También se encontró en literatura que existen otras técnicas para caracterizar nanopartículas de óxido de hierro [139]. Una de ellas es la espectroscopia RAMAN, que identifica los enlaces Fe-O presente en las tres fases. Por lo que se propuso esta técnica como complemento para caracterizar las nanopartículas sintetizadas por vía verde, evitando realizar un post-tratamiento a las muestras para eliminar la posible presencia de compuestos orgánicos.

4.2.3 Espectroscopia RAMAN

En la sección anterior se indicó que la espectroscopía RAMAN puede identificar la presencia de magnetita, maghemita y hematita en las muestras **IONPG1** y **IONPG2**. A continuación, se mencionan los modos vibraciones reportados:

Para magnetita Fe_3O_4 las bandas están identificadas en 193, 306, 558, 668 cm^{-1} .

Para hematita $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ las bandas se encuentran en 229,245, 295, 300, 410-420 496, 612 y 1320 cm^{-1} . [139]

Finalmente, para maghemita $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ se localizan en 382,520 y 726 cm^{-1} . [140]

En la Figura 43, se muestra el espectro RAMAN en un intervalo de 0 a 1000 cm^{-1} para las dos muestras **IONPG1** y **IONPG2** obtenidas vía síntesis verde, donde se pueden observar los modos vibracionales de los enlaces de Fe-O presentes en las tres fases del óxido de hierro. Los corrimientos RAMAN en 538 y 668 cm^{-1} marcados con las líneas color magenta identifican la presencia de magnetita, en 612 cm^{-1} que corresponde a hematita mostrada en la Figura 42 con una línea color verde, y por último con una línea color azul maghemita en el número de onda 520 cm^{-1} .

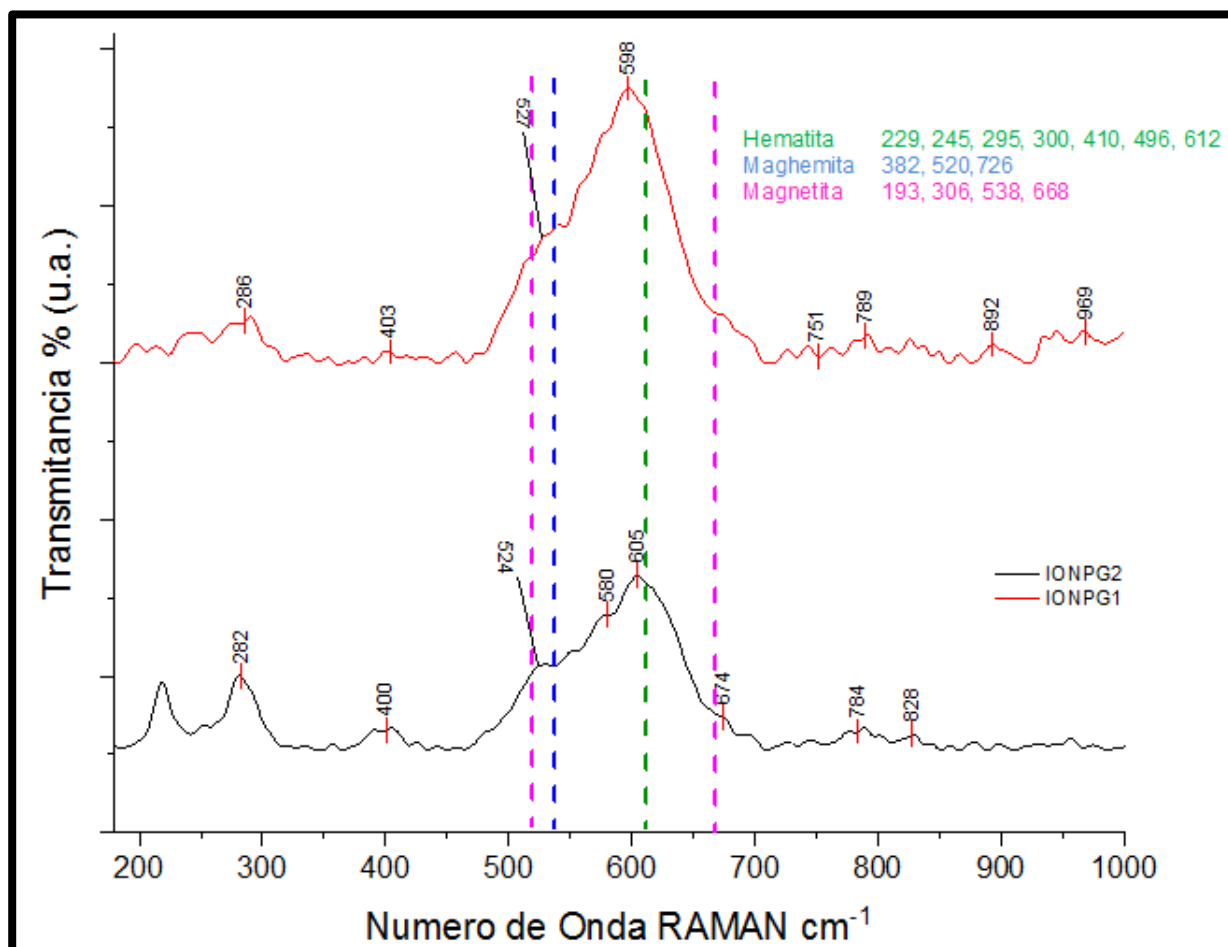


Figura 43.- Espectrometría RAMAN para nanopartículas de óxido de hierro por el método de síntesis verde, para muestras IONPG1 & IONPG2.

La Figura 43 muestra la presencia hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), maghemita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) y magnetita ($\gamma\text{-Fe}_3\text{O}_4$) en las muestras **IONPG1** y **IONPG2**. Por otro lado, en literatura se ha reportado que la hematita y maghemita son la forma reducida de la magnetita, y los compuestos orgánicos o metabolitos de **KD** presentes en el extracto pueden funcionar como surfactante o estabilizante, e inclusive como agentes reductores, y continuar reduciendo la magnetita hasta la reducción del hierro a valencia cero. [141]

En la bibliografía [141] se reporta la obtención de nanopartículas de hierro con valencia cero, a través de la síntesis verde. Es importante mencionar que el hierro valencia cero es muy reactivo y no tiene propiedades de biocompatibilidad, por lo que no puede tener bioaplicaciones.

Por otro lado, si se pudieran generar nanopartículas de hierro vía síntesis verde y con posibles propiedades de bioactividad superficial, podrían abrir una nueva línea de investigación con bioaplicaciones y capacidades terapéuticas o para otras bioaplicaciones, no sólo como marcador de biopsia, sino también como biosensores o antibiótico. Sin embargo, la posible presencia de hierro valencia cero, descarta su uso para este proyecto, debido a que tiene finalmente como objetivo el utilizarlo en el área médica como marcador de biopsia.

Finalmente, se tomó la decisión de utilizar las nanopartículas obtenidas por el método de co-precipitación, que como se mencionó se ha reportado que son biocompatibles; además, en los resultados de la sección **4.2.1** se determinó la presencia de nanopartículas de óxido de hierro. Se procedió a evaluar sus propiedades de radiopacidad, al incorporarlas a la matriz de los poliuretanos obtenidos.

4.2.4 Espectrofotometría (UV-VIS)

Las caracterizaciones de la bioactividad de los metabolitos presentes en **KD**, se realizaron primero en el extracto de *K. Daigremontiana* **KD** y posteriori al proceso de síntesis de nanopartículas. [126] En la Figura 43, se observan cambios en el espectro en el rango de longitud de onda, posterior a la síntesis de nanopartículas, principalmente entre 231-271 nm y 664 nm. De acuerdo a la Tabla 13 pueden ser la interacción o modificación en la región correspondiente a Flavonas, Esteroides, Bufadienólidos, Ácidos Grasos, Esteroles, Triterpenoides y Clorofila. La Tabla No. 14 y en la Figura No. 44, se muestran el fitocontenido reportado de la extracción aqua-etánolica de *K. Daigremontiana* **KD**, [126] [142]

Fitocomposición	Banda de absorción UV VIS (nm)	Banda de absorción UV VIS (nm)
Flavonas	250-280	300-390
Flavonoles	310-350	330-360
Bufadienólidos	296-300	
Ácidos Grasos	260-280	
Esteroles	230-290	
Triterpenoides (Glutinol-Friedelin)	500-600	

Tabla 14.- Fitocomposición de extracción aqua-etánolica de *K. Daigremontiana*, bandas de absorción en espectro UV VIS

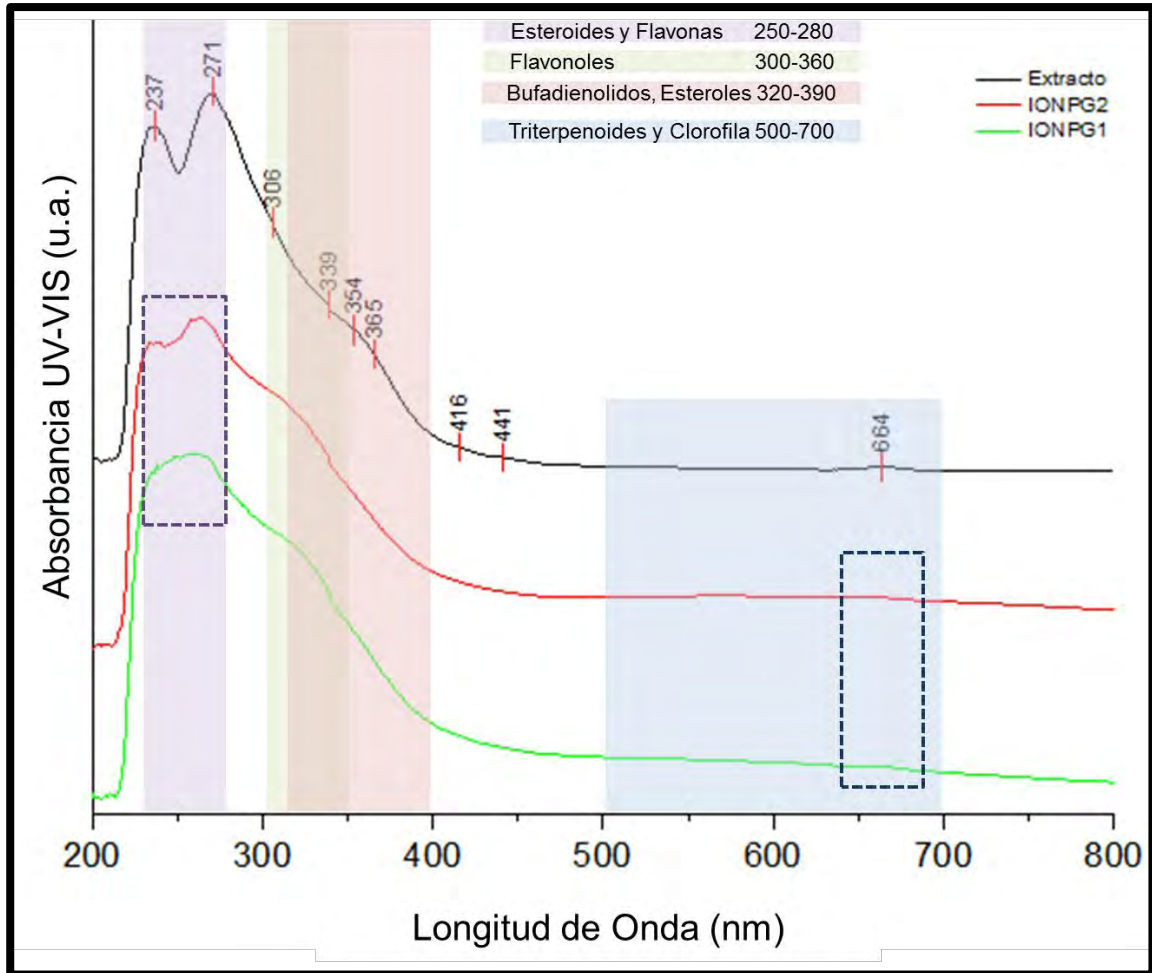


Figura 44.- Espectrofotometría UV VIS de la extracción aqua-etánolica de *K. Daigremontiana*, y bandas de absorción en espectro UVVIS

Las bandas de absorbancia que se modificaron se encuentran en los rangos correspondientes entre 236-271 nm y 664 nm que identifican la posible presencia de flavonas, esteroides, triterpenoides y clorofila. Si estos compuestos están interactuando con las nanopartículas, existe la posibilidad de que tengan bioactividad.

Estos resultados previos pueden abrir un tema de investigación, para identificar los parámetros, condiciones y procesos a controlar para la generación de nanopartículas de óxido de hierro.

4.3 Composito Poliuretano-Nanopartículas de Óxido de Hierro

En la etapa de desarrollo del composito se realizaron previamente varias pruebas y ensayos con las diferentes formulaciones de poliuretanos **PU-1**, **PU-2** y **PU-3**, no obstante, la formulación PU-3 fue la que se obtuvieron mejores propiedades mecánicas.

En la sección **3.3** que corresponde a la metodología para la síntesis del composito, se realizaron tres propuestas de relaciones de poliuretano-nanopartículas que se observa en la Tabla 4. Sin embargo, solo en la formula **PUNP-3**, se pudo obtener un monolito de poliuretano en forma sólida, cuyo contenido de nanopartículas de óxido de hierro fue **1.188 mg**. La formulación que se utilizó para sintetizar **PUNP-3**, fueron **210.5 mg** de **PU-3**.

Esta fórmula tiene una relación nanopartícula : polímero de **0.56%**.

4.3.1 Caracterización del composito

Los compositos obtenidos se caracterizaron por microscopia electrónica de barrido para observar las nanopartículas dentro de la matriz del poliuretano. En la Figura 45 inciso a) se puede observar la topografía superficial del polímero **PU-3** formada por placas con presencia de grietas, comparada con el composito inciso b) la muestra **PUNP-3** se observan modificaciones donde presenta una superficie lisa, homogénea sin grietas o poros.

En la Figura 45 incisos c) y d) se pueden observar las nanopartículas en la superficie del polímero con un diámetro de 20 nm aproximadamente.

De las diferentes propuestas de formulación respecto al contenido de nanopartículas **IONPC**, se tomaron en cuenta dos factores importantes. Primero, se diseñó con una dosis menor al límite máximo utilizado, por ejemplo, como agente contrastante se utilizan hasta 286 mg nanopartículas de magnetita para una persona de aproximadamente 70 Kg., y la segunda consideración, fue la solubilidad de las nanopartículas en el solvente **DMF**, debido a que durante la formulación fue utilizado en la síntesis de poliuretano y de acuerdo a los resultados se obtuvo una solubilidad de aproximadamente 396 µg/mL.

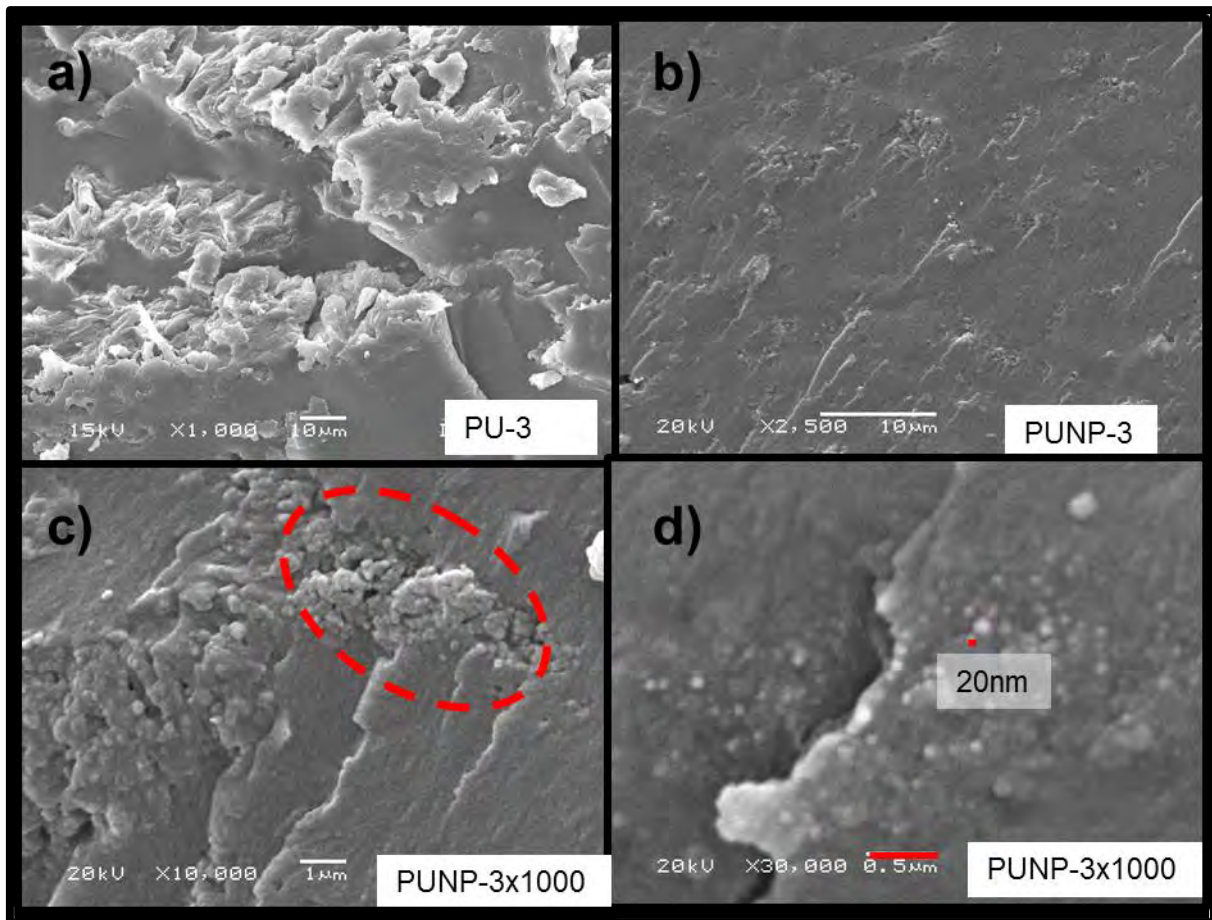


Figura 45.- Microscopía electrónica de barrido topografía superficial en poliuretano PU-3 y compuesto PUNP-3.

Otra de las consideraciones que se evaluaron para la selección de la formulación **PU-3**, fue la resistencia a la fractura en las pruebas de degradación que se estaban realizando en ensayos paralelos, además de su adecuada procesabilidad para obtener películas y pastillas.

Analizando los resultados por microscopía electrónica de barrido, se pueden tener dos observaciones. En la Figura 44 inciso c) se observa que algunas partículas fueron cubiertas con el polímero y posteriormente integradas en la matriz. Por otro lado, en el inciso d) se observa que las partículas están inmersas la matriz del polímero. Debido a que el proceso fue en un solo paso, existe la probabilidad que sucedan estos dos eventos, pero con el objetivo de evaluar la radiopacidad, cualquiera de las dos propuestas puede funcionar.

Sin embargo, en bibliografía se sugieren que para fines de bioaplicación, las nanopartículas se deben funcionalizar o estabilizarse con surfactantes, donde se afectará el diámetro hidrodinámico, que finalmente es importante en las características de biocompatibilidad, inclusive se reduce la toxicidad. [113] Como ejemplo, la marca Feridex®, se encuentra en el mercado como agente contrastante, y contiene nanopartículas de magnetita estabilizadas con un polisacárido en este caso es dextran.

En el diseño de este protocolo, no se consideró la estabilización previa de las nanopartículas, pero para líneas de investigación futuras se recomienda funcionalizar las nanopartículas antes de integrarlas a un polímero o cualquier otra matriz de un polisacárido y como se mencionó anteriormente en este proyecto se integraron en el polímero en un sólo paso.

La escasa solubilidad de las **IONPC** en el solvente **DMF** y la restricción de utilizar agitación magnética, fueron las principales desventajas de obtener una fase no homogénea **PU-3 / IONPC** en el composito, inclusive no se pudo controlar de una forma eficiente la evaporación del solvente. Las características finales del biomaterial poseían diferentes densidades en el contenido de **IONPC**. Sin embargo, como se mencionó al principio la dosis es mucho menor a la recomendada, que contenía 1.188 mg, comparada con 286 mg como límite máximo.

Por lo que se sugiere utilizar otros métodos para procesar el biomaterial, como la extrusión o electrohilado. Para cada uno de ellos existen nuevos parámetros o solventes que se deben de considerar en el diseño de la propuesta. Es importante tomar en cuenta que los nuevos poliuretanos posiblemente se clasifiquen como termofijos y pudieran no presentar punto de fusión, característica importante a considerar en la selección del método de procesamiento, que estaría limitado en el manejo de procesos térmicos.

También se observó que al integrar las nanopartículas en el poliuretano este pierde sus propiedades de flexibilidad o elasticidad, volviéndose un material más quebradizo. En la figura 44 inciso a) se muestra la superficie heterogénea del poliuretano **PU-3** formada por placas sobrepuestas, con presencia de grietas y cavidades. También en la sección de resultados 4.1.4 las pruebas mecánicas presentaban elasticidad de hasta 174% de elongación, que se propuso pueden ser por la presencia de los enlaces de hidrógeno y la presencia de una microfase suave de la **PCL** en la estructura.

En la figura 44 b), se observan modificaciones en la topografía superficial del composito **PUNP-3**, desaparecen las cavidades o placas, y se tiene una superficie homogénea lisa. Se cree que las nanopartículas intervienen rompiendo o bloqueando los enlaces de hidrógeno de las cadenas principales de los poliuretanos, perdiendo la propiedad de elasticidad.

4.4 Resultados y Discusión de Degradación en Solución Fisiológica

4.4.1 Pruebas de Degradación del Poliuretano

Recapitulando, en la sección **3.1** se obtuvieron 3 formulaciones de poliuretanos que fueron procesados en forma de películas y pastillas como se describió en la sección **4.1.4**, las cuales fueron designadas como **PU-1**, **PU-2** y **PU-3**. También en la metodología para las pruebas de degradación de la sección **3.4**, se mencionaron las pruebas en soluciones fisiológicas **pH-6.8** y **pH-7.4**, que fueron identificadas como **HS-6** y **HS-7**, respectivamente.

Durante el desarrollo y análisis de estas pruebas las muestras se identificaron de acuerdo a la siguiente forma **PU-X-Y-Z**.

Dónde:

X: Puede ser 1,2 o 3, y se refiere al tipo de formulación de poliuretano **PU-1**, **PU-2** o **PU-3**

Y: Indica la solución fisiológica **HS-6** o **HS-7**, donde se realiza la prueba, con valores de **6** o **7**, que corresponden a pH 6.8 y 7.4, respectivamente.

Z: Se refiere al número de ensayos o pruebas realizadas, debido a que durante el desarrollo las muestras se fracturaban. Ver Figura 46.

Si durante la prueba existe una fractura, puede deberse por daño mecánico en la manipulación o por el proceso de evaporación de solvente, por lo que se decidió repetir las pruebas.

El porcentaje de humectabilidad y degradación se determinó de acuerdo a las secciones **3.4.1.2** y **3.4.1.3**.

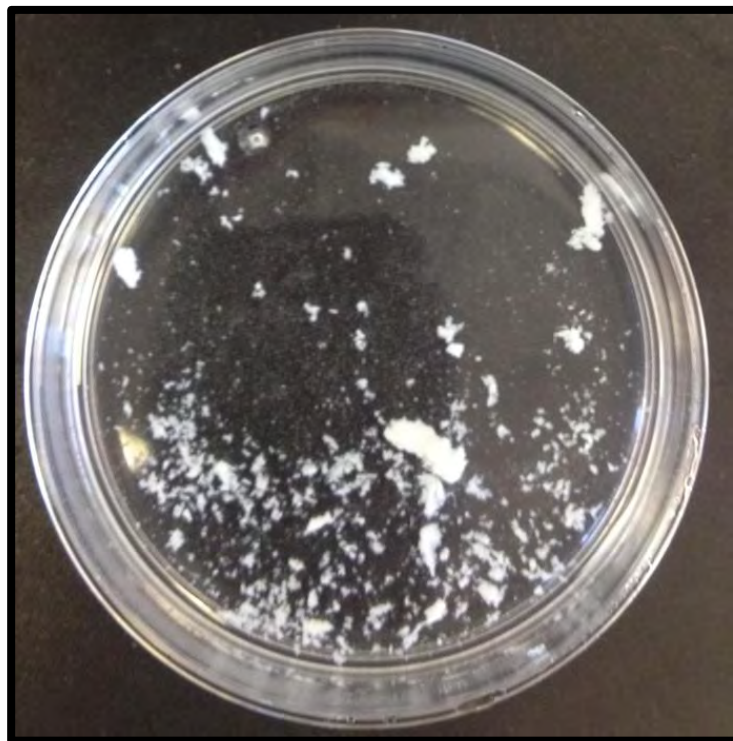


Figura 46.- Fractura de películas en pruebas de degradación.

4.4.1.1 Resultados de degradación de poliuretano PU-1

Para esta prueba se realizó con la formulación de poliuretano **PU-1**, se pudieron obtener resultados de las siguientes propuestas:

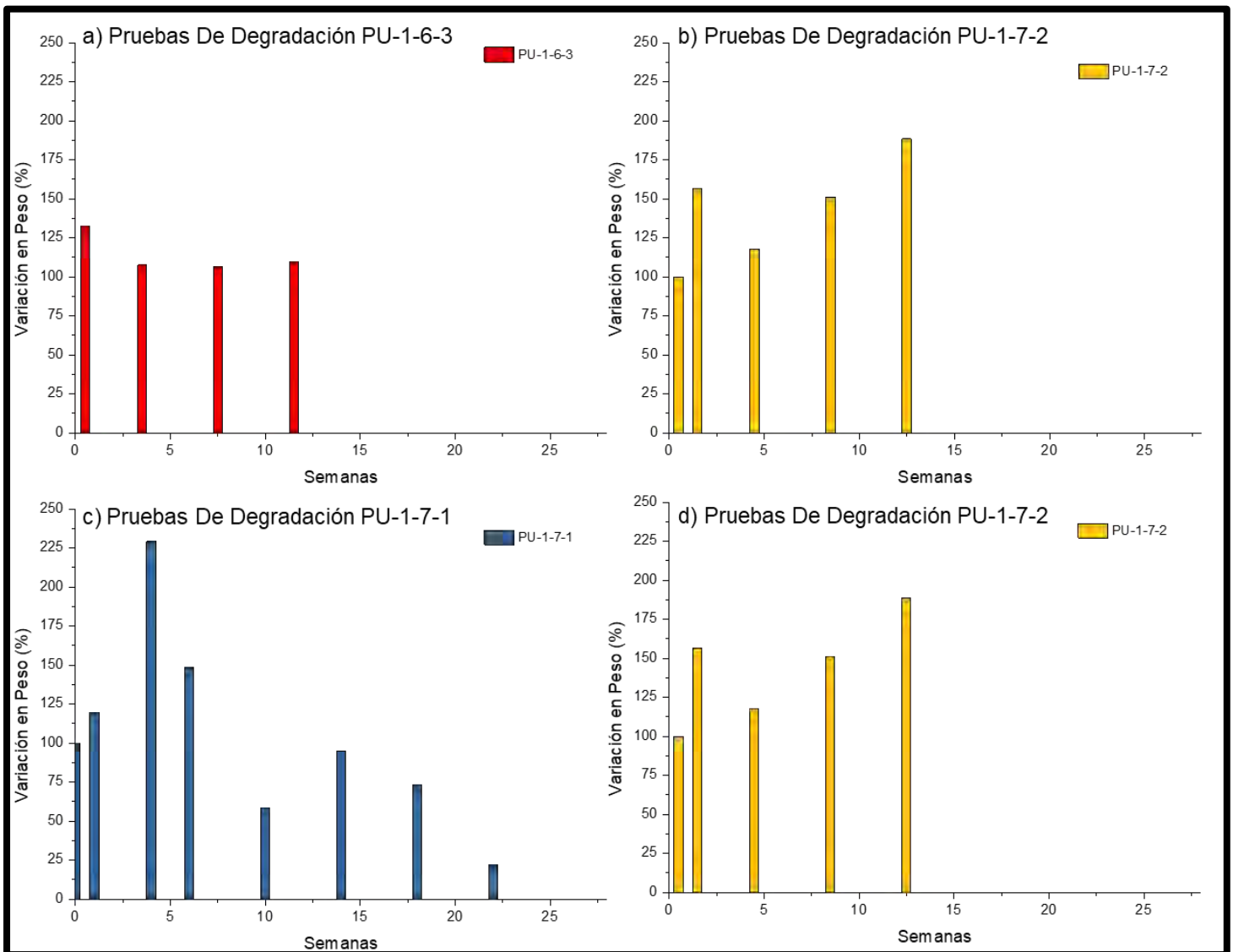
PU-1-6-3.- Presentación en pastilla ver gráfica 1 inciso a)

PU-1-7-2.- Presentación en pastilla ver gráfica 1 inciso b) y d)

PU-1-7-1.- Presentación en película ver gráfica 1 inciso c)

Se analizarán las propuestas de las presentaciones en forma de pastilla, ver Gráfica 1 incisos a) y b) que corresponden a **PU-1-6-3** y **PU-1-7-2**. Se tuvo una máxima absorción de agua de 126% y 188% respectivamente. Por otro lado, el tiempo de inicio de degradación en el inciso a) en medio ácido no se observó pérdida de peso, sin embargo, se muestra un límite en la capacidad de absorción de agua. Mientras que en un pH neutro inciso b), durante el periodo de 14 semanas no se observó que iniciara con la pérdida de peso, seguía el proceso de absorción de agua.

En la misma Gráfica los incisos c) y d) representan la degradación de las muestras en pH neutro; sólo existe cambio en la presentación de las muestras, el inciso c) se encuentra en forma de película donde la muestra se identificó como **PU-1-7-1**, el porcentaje de absorción agua fue de 229%, la degradación inició en la semana 6 hasta la semana 24 aún conservaba el 25% del peso original. Por otro lado, la fórmula **PU-7-2** en el inciso d), se encuentra procesada como pastilla aún continua con la absorción de agua de 188% hasta la semana 14, no se observó pérdida de peso debido a la degradación del material en ese periodo.



Gráfica 1.- Pruebas de degradación de PU-1

4.4.1.2 Degradación de poliuretano PU-2

Para la formulación de poliuretano **PU-2**, se obtuvieron resultados de las siguientes propuestas:

PU-2-6-3.- Presentación en pastilla ver gráfica 2 inciso a) y d)

PU-2-7-2.- Presentación en pastilla ver gráfica 2 inciso b)

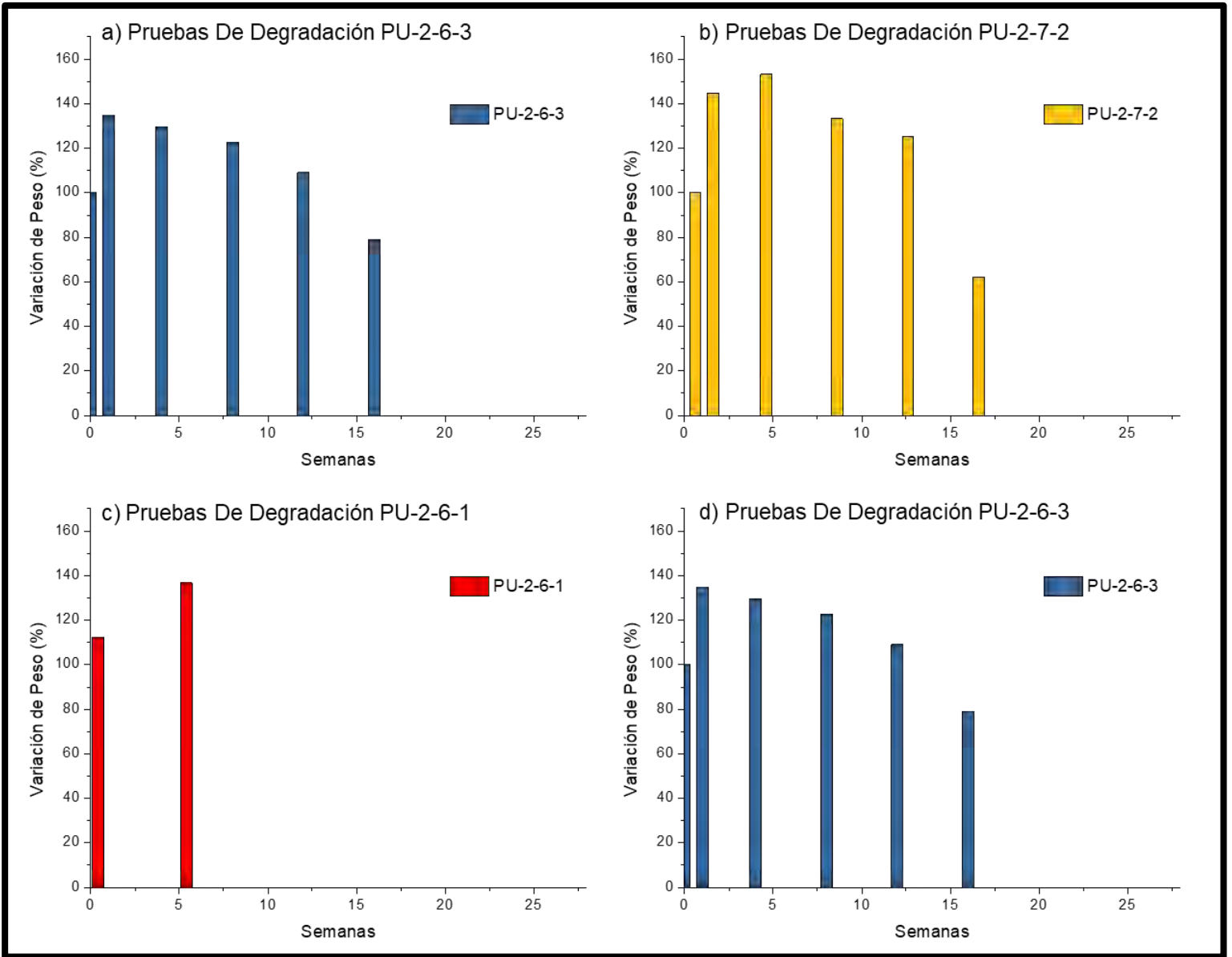
PU-1-6-1.- Presentación en película ver gráfica 2 inciso c)

En la Gráfica 2 inciso a) se observa que para la muestra identificada como **PU-2-6-3** el porcentaje de absorción de agua fue de 130%; en la semana 4 se observó el inicio de la degradación y en la semana 16 aún conservaba el 80% del peso original. Mientras que en el inciso b), para la **PU-2-7-2** se observó un porcentaje de absorción de agua de 153%; en la semana 8 se observó el inicio de la pérdida de peso, y en la semana 16 aún conservaba el 60% del peso original.

En la Gráfica 2 incisos c) y d) se compara la prueba para el mismo medio ligeramente ácido, pero sólo hay cambios en la presentación de la muestra.

En el inciso c) la muestra se encuentra en película; el porcentaje de absorción de agua fue de 137%, sin embargo, en la semana 6, la muestra se desintegró.

Los resultados del inciso d) la muestra se encuentra en forma de pastilla, el porcentaje de absorción de agua es 130% muy cercano al inciso c), la pérdida de peso inició la segunda semana, y en la semana 16 se tenía el 80% del peso original.



Gráfica 2.- Pruebas de degradación de PU-2

4.4.1.3 Degradación de poliuretano PU-3

Finalmente, en esta sección se realizó las pruebas de degradación para la formulación de poliuretano **PU-3**, que se muestran los resultados de las siguientes propuestas:

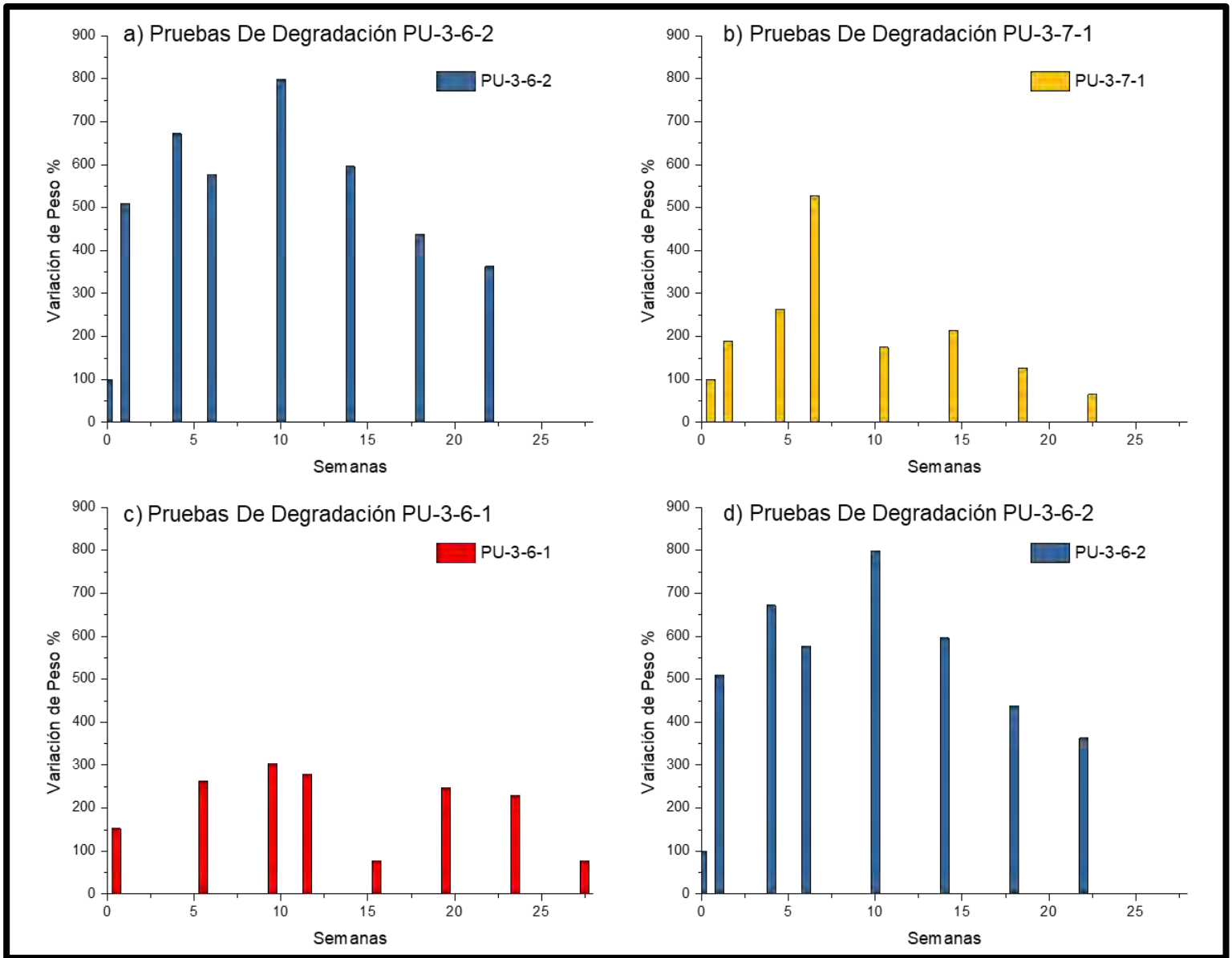
PU-3-6-2.- Presentación en pastilla ver gráfica 3 inciso a) y d)

PU-3-7-1.- Presentación en pastilla ver gráfica 3 inciso b)

PU-3-6-1.- Presentación en película ver gráfica 3 inciso c)

De acuerdo a la Gráfica 3 inciso a) la prueba fue para la muestra **PU-3-6-2**, en un medio ligeramente ácido, el porcentaje de absorción de agua fue de 799%, en la semana 14 se observó la pérdida de peso y aún en la semana 22 tenía un porcentaje en el contenido de agua de arriba del 300%. En el inciso b) la prueba se realizó en un medio neutro, la muestra **PU-3-7-1** tuvo un porcentaje de absorción de agua de 527%, aproximadamente en la semana 14 se observó pérdida de peso, en la semana 22 se pudo observar el inicio de la degradación del peso original.

En los incisos c) y d) la prueba se realizó en el mismo medio fisiológico pH 6.8. Sólo existían diferencias en la presentación de las muestras, en el inciso c) la muestra se encontraba en forma de película, la absorción de agua fue de 300%, el inicio de la degradación fue la semana 12, en la semana 26 un tenía un 90% del peso original de la muestra. Por otro lado, en el inciso d) de la Gráfica 3, cuya presentación en forma de pastilla, tuvo un porcentaje de absorción de agua de 799%, en la semana 14 muestra un indicio de la degradación, y en la semana 22, aún no se un cambio con el peso original.



Gráfica 3.- Pruebas de degradación de PU-3

4.4.1.4 Resultados de prueba de degradación de la serie de poliuretanos sintetizados

De acuerdo a los resultados de las Gráficas 1, 2 y 3, se elaboró la Tabla 14, donde se muestran las tres formulaciones de poliuretanos principalmente en la presentación de pastillas. Donde se observa la máxima cantidad de absorción de agua (humectabilidad) y el inicio en el tiempo de la degradación, para medios fisiológicos **HS-6** y **HS-7**.

	HS-6		HS-7	
	Absorción de agua (%)	Tiempo de inicio de degradación (semanas)	Absorción de agua (%)	Tiempo de inicio de degradación (semanas)
PU-1 (14 sem.)	128	4	188	-
PU-2 (16 sem.)	130	2	153	6
PU-3 (22 sem.)	800	14	527	10

Tabla 15.- Absorción de agua y tiempo de inicio de degradación para poliuretanos

Dónde:

PU-1, PU-2 y PU-3: Poliuretanos obtenidos

HS-6: Solución fisiológica pH 6.8

HS-7: Solución fisiológica pH 7.4

La Tabla 15 nos muestra las diferentes capacidades para absorber agua, la degradación para algunos inicia en la semana 2, otros tienen un periodo de hasta 10 semanas para iniciar la degradación y otros en 14 semanas no se observó indicios de degradación. Desde un inicio el experimento fue diseñado para un periodo de 25 semanas y sólo la formulación **PU-3** presentó y conservó adecuadas propiedades mecánicas donde finalmente se pudieron observar los resultados en ese periodo, sin embargo, las otras fórmulas presentaron fracturas y se tuvo que repetir las pruebas.

Los resultados obtenidos muestran que la absorción de agua es proporcional al contenido de **INU** en la estructura del poliuretano, como se había mencionado es mayor en **PU-3>PU-2>PU-1**. Puede deberse a la presencia de los grupos **[OH]**, que presenta un carácter hidrofílico, pero también depende de las características superficiales y morfológicas de la superficie, como la presencia de cavidades o grietas que permitan el acceso del agua en la parte interior del polímero.

El procesamiento de evaporación de los poliuretanos influye en el proceso de absorción de agua. En este proyecto se desarrollaron en forma de pastilla o película. En las Gráfica 1 incisos c) y d) o en la Gráfica 3 incisos c) y d), los polímeros **PU-1** y **PU-3** que están en forma de pastilla, siguen absorbiendo agua hasta la semana 12, probablemente puede ser por la penetración del agua en el interior de la matriz del polímero a través de las microcavidades o grietas, la mayor concentración de los grupos hidroxilo presentes en el polímero, que se puede medir u observar por el peso de agua absorbido.

Este polímero es también dependiente del pH; se observaron variaciones en el porcentaje de absorción de agua, el tiempo de inicio de la degradación y la velocidad de degradación. Aunque esta aplicación no fue considerada en un inicio, es una propiedad importante con posibles enfoques en otros usos biomédicos, como liberador de fármacos.

Los tiempos de inicio de degradación también varían en las tres formulaciones, aunque no existe un patrón o forma dependiente del contenido de **INU**. Por ejemplo, para **PU-1** se tiene un inicio de la degradación en la semana 4 en un pH ácido, sin embargo, en 14 semanas no existe una pérdida de peso considerable, mientras que en un pH neutro en 14 semanas no muestra un indicio de degradación. Los dos casos presentan un intervalo en el contenido de absorción de agua entre el 130% al 190%. Se piensa que el mayor proceso de degradación es por erosión, sin olvidar que también se tiene un contenido alto de absorción de agua en la matriz, por lo que puede existir degradación en bulto.

Por otro lado, la formulación **PU-2** presenta un contenido de absorción de agua promedio de entre 130% y 140% en los dos medios fisiológicos. Debido a que existieron fracturas en las películas, para descartar la posibilidad de un posible daño mecánico durante el procesamiento, se decidió elaborar pastillas. El periodo de pruebas fue de 16 semanas, mediante el cual se pudo observar pérdidas de peso del 50 al 60% del peso original. Debido a las características de su superficie observadas por microscopía electrónica, con una menor presencia de huecos, es menor la cantidad de agua que ingresa al interior, por lo que se estima que la degradación pueda ser superficial.

Finalmente, la formulación **PU-3**, presentó una de las mejores propiedades de integridad mecánica en las dos soluciones; fue la única muestra que no tuvo fractura o daño mecánico. En la semana 25, la muestra en forma de película aún conservó el 77% de peso en un medio de pH 6.8. Con estos resultados y extrapolando en forma cualitativa existe la posibilidad de que pueda mantenerse hasta un periodo de un año.

Al aumentar el contenido de **INU**, aumenta el contenido de grupos **[OH]**. Probablemente estos grupos reduzcan la susceptibilidad del ataque de las moléculas de agua, al carbonilo del grupo uretano. Esto puede estar relacionado con las interacciones, con el peso molecular y grado de entrecruzamientos; a mayor peso molecular y mayor grado de entrecruzamientos, la velocidad de degradación se reduce.

El intervalo de absorción de agua o humectabilidad se encuentran entre 108% y 800%. Esta capacidad o propiedad es muy útil en los polímeros cuyas aplicaciones son para regeneración de tejidos o liberación de fármacos, características adicionales e interesantes para esta formulación.

También es importante mencionar que la capacidad de absorber agua o humectabilidad, se relaciona con el grado de cristalinidad. Al aumentar la humectabilidad, menos cristalino es el polímero.

Si el contenido de **INU** es menor, la cristalinidad es mayor en el polímero y menor la propiedad de absorción de agua, lo que se puede observar en los resultados para **PU-1 < PU-2 < PU-3**. Pero no sólo depende del grado de cristalinidad, también se complementa con los resultados obtenidos de la topografía superficial con microscopía electrónica de barrido, por la presencia de huecos o cavidades.

Otra característica importante es que al variar el pH se modifican las propiedades como humectabilidad, tiempo de inicio de degradación y velocidad de degradación, por lo que se tiene un polímero con respuesta a cambios de pH entre pH 6.8 y 7.4. Esta información se puede observar en la Tabla 15.

Se puede observar que existe dependencia de la velocidad y el tiempo de inicio de la degradación en función del contenido de inulina para estos nuevos poliuretanos. Con una herramienta de modelado se podría llegar a calcular las proporciones adecuadas para tener un tiempo específico de degradación.

4.5 Degradación de composito

Como se mencionó en la sección **4.3**, se obtuvo una fórmula final de un material compuesto de nanopartículas-poliuretano, que se designó como **PUNP-3**. Una vez obtenidas las muestras, se realizó el análisis de datos de acuerdo a la sección anterior **4.4.1**. También es importante mencionar que el método de identificación de las muestras en los diferentes medios se realizó de la siguiente manera:

Se realizaron pruebas en los dos medios fisiológicos, la identificación general de las 2 muestras fue de acuerdo a la siguiente forma **PUNP-3-Y**.

Donde:

PUNP-3: Composito poliuretano **PU-3** y nanopartículas **IONPC** obtenido en la sección **3.3**

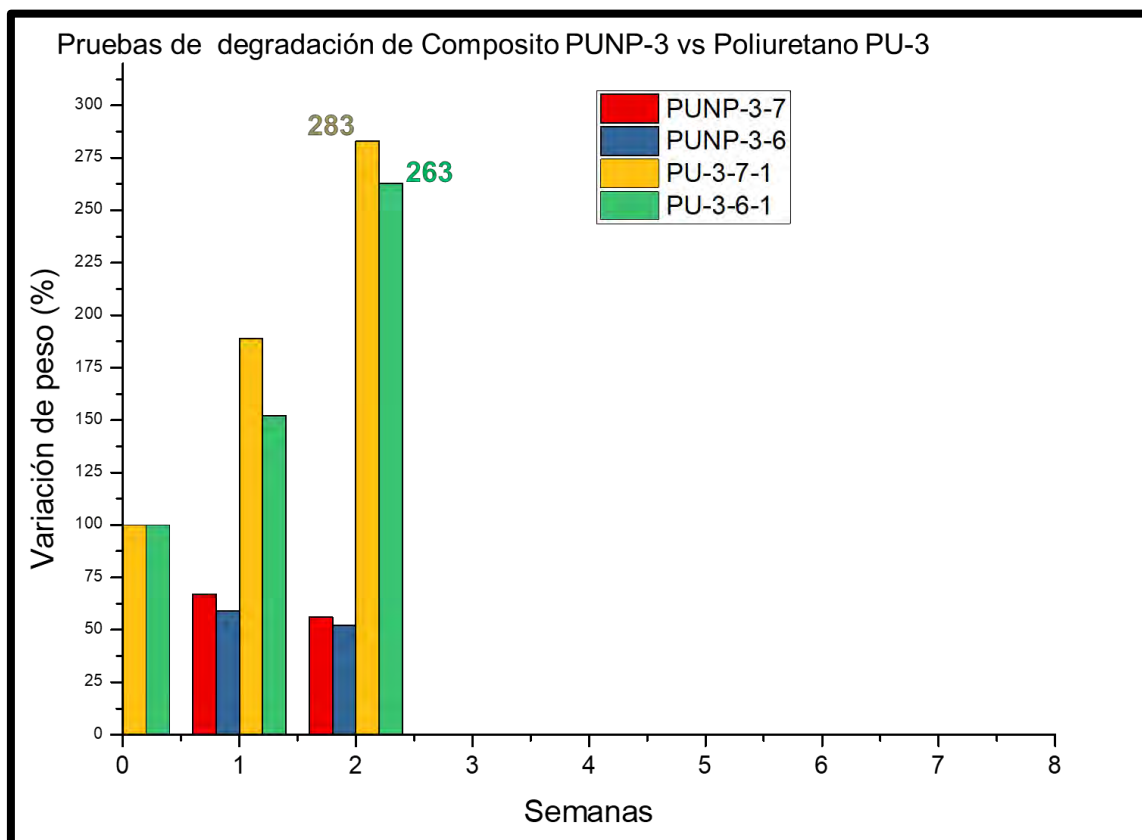
Y: Indica el medio donde se realizó la prueba de degradación, **Y=6** en **HS-6**, y **Y=7** en **HS-7**.

La gráfica 4 muestra los resultados de la prueba de degradación del composito en los dos medios; también se compararon con los resultados de poliuretanos obtenidos en la sección 4.4.1. Las fórmulas con las que se compararon fueron **PU-3-7-1**, en solución **HS-7** y que se muestra en la Gráfica 4 identificada con las barras en color amarillo; por otro lado la fórmula **PU-3-6-1** en solución **HS-6**, identificadas en la misma gráfica con barras en color verde.

4.5.1 Degradación de composito PUNP-3 vs polímero PU-3

Para esta técnica se realizaron las pruebas para un periodo de dos semanas. En la Gráfica 4 se pueden observar los resultados, el nuevo composito en medio ácido y neutro identificados como **PUNP-3-6** y **PUNP-3-7**, respectivamente, no presentan absorción de agua o humectabilidad, e inclusive se observa el inicio de la degradación.

Para la muestra identificada como **PUNP-3-6**, en medio ácido en la gráfica 4 con las barras en color azul, se observa que en la segunda semana tiene una pérdida de peso cerca del 50%, mientras que la muestra **PUNP-3-7** identificada en la gráfica con las barras color rojo presentan una pérdida de peso del 45%.



Gráfica 4.- Pruebas de degradación de composito PUNP-3 vs poliuretano PU-3 en solución fisiológica

En la gráfica 4, también se pueden observar los cambios que sufre los poliuretanos al incorporar las nanopartículas a su estructura o matriz, el tiempo de inicio de la degradación disminuye, al igual que la propiedad de absorción de agua.

Existen varias razones por las que se reduce la humectabilidad. Una de ellas puede ser el cambio en la topografía superficiales de **PU-3** (poliuretano) vs **PUNP-3** (composito) que se observó en la sección 4.3.1 por medio de la técnica de microscopia electrónica de barrido. La superficie de la primera muestra una estructura heterogénea con cavidades en el polímero, mientras que la segunda es una superficie casi homogénea sin la presencia de huecos o grietas, lo que permite el ingreso del agua en la matriz polimérica.

También las nanopartículas pueden interferir en los enlaces de hidrógeno y grupos **[OH]** presentes en **PU-3**. De la sección 4.3 se realizaron varias propuestas de relaciones nanopartícula-poliuretano. En esta sección queremos mostrar una posible propuesta de como las nanopartículas podrían interferir en los enlaces de hidrógeno, la cual aparece en la Figura 47, dónde a) muestran las interacciones por enlaces de hidrógeno presentes en los poliuretanos en este caso **PU-3**; en el inciso b) se muestra el composito **PUNP-3** (poliuretano-nanopartícula), se propone como las nanopartículas interfieren en los enlaces hidrógeno y por lo tanto cambian las propiedades del polímero, que se discutieron en las secciones 4.3.1 y 4.5.1.

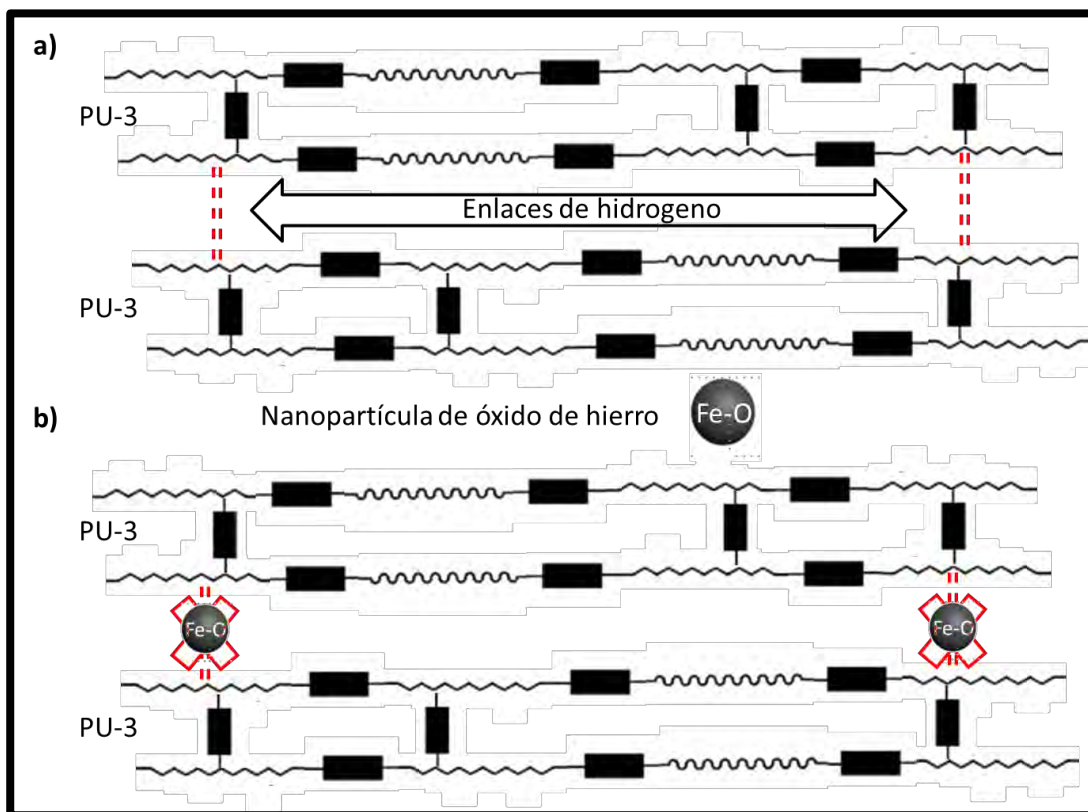


Figura 47.- Propuesta de interacción nanopartículas con poliuretano, durante la formación del composito PUNP-3

Se ha reportado [143] que un polímero con un grado de cristalinidad alto, posee un bajo contenido de absorción de agua y una baja tasa de degradación, que generalmente es por erosión. Al reducir los enlaces de hidrógeno u otras interacciones durante el procesamiento, puede aumentar la cristalinidad del poliuretano y, por lo tanto, incrementar el grado de cristalinidad. Por otro lado, al reducir la disponibilidad de los grupos hidrofílicos principalmente por el grupo funcional **[OH]** se reducen las características hidrofílicas del polímero, que finalmente se traduce en una reducción en la capacidad de absorción de agua.

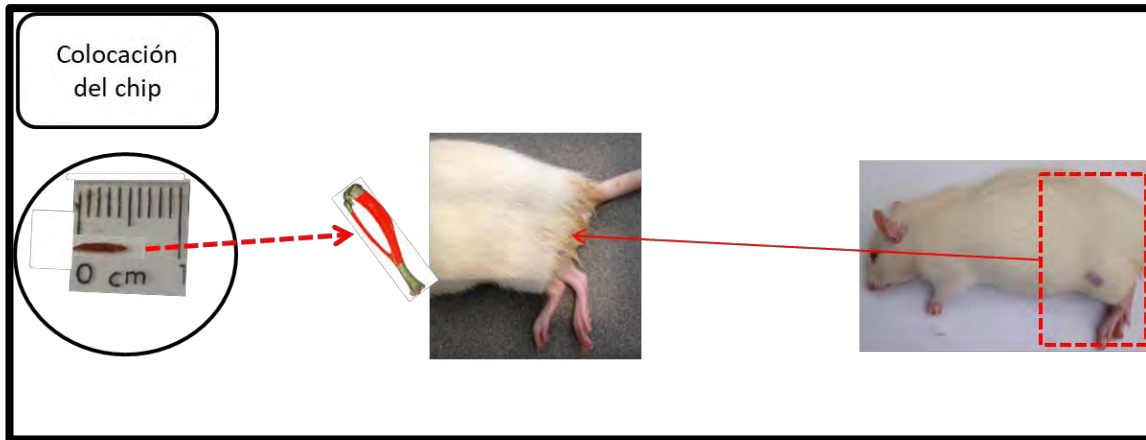
Un punto importante a considerar para la selección del nuevo método de procesamiento, es tratar de mantener el mayor número de enlaces de hidrógeno en la estructura del polímero. Una técnica alternativa que pudiera realizarse es funcionalizando las nanopartículas. En literatura se ha reportado que se puede realizar con polisacáridos naturales, proteínas y macromoléculas polihidroxiladas [144]. Una vez logrado este proceso, se podrán integrar al poliuretano.

Aunque los precursores utilizados en este proyecto, se ha reportado que son biocompatibles [89], y han tenido usos y bioaplicaciones, existe la posibilidad de que sean tóxicos o no biocompatibles. Para verificarlo se requieren pruebas de viabilidad y toxicidad celular, análisis y pruebas *in vivo*.

4.6 Radiopacidad

Uno de los objetivos importantes del proyecto fue evaluar las propiedades de radiopacidad del material compuesto. Para ello se utilizaron herramientas como el procesamiento de imágenes y algoritmos matemáticos, con los que finalmente se pudo cuantificar esta propiedad.

En la Figura 48, se muestra una imagen del chip, donde se describen las dimensiones y su tonalidad cromática; también se realizó un análisis para su colocación. Se propuso el muslo posterior izquierdo, debido a que se pudo tener una referencia de posición y diferenciar entre el tejido blando y el hueso, por lo tanto, el chip se colocó entre la fíbula y tibia. Para poder fijarlo se colocó en el bíceps femoral izquierdo.



El proceso de digitalización permite determinar de manera cuantitativa la radiopacidad con respecto al tejido óseo. En la Figura 49 se ilustra el procesamiento digital y la magnificación del área de interés. También esta área se eligió, debido a que se pudo tener una referencia de opacidad entre el tejido óseo y el implante o chip.

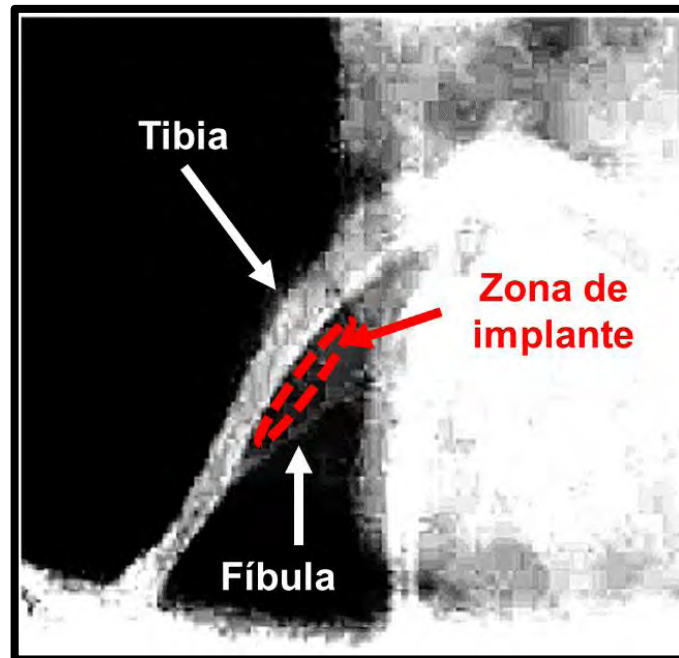


Figura 49.- Imagen de radiografía digitalizada, en original procesada a escala de grises con alto contraste.

La determinación de la radiopacidad relativa en función de una escala de grises, también puede ser representada mediante un histograma (ver Figura 50), en donde de acuerdo a una binarización en escala de grises en 8 bits (donde blanco=0 y negro 255), puede apreciarse en base a la referencia la colocación del implante y este se encuentra en un intervalo de gris en 248 ± 2 .

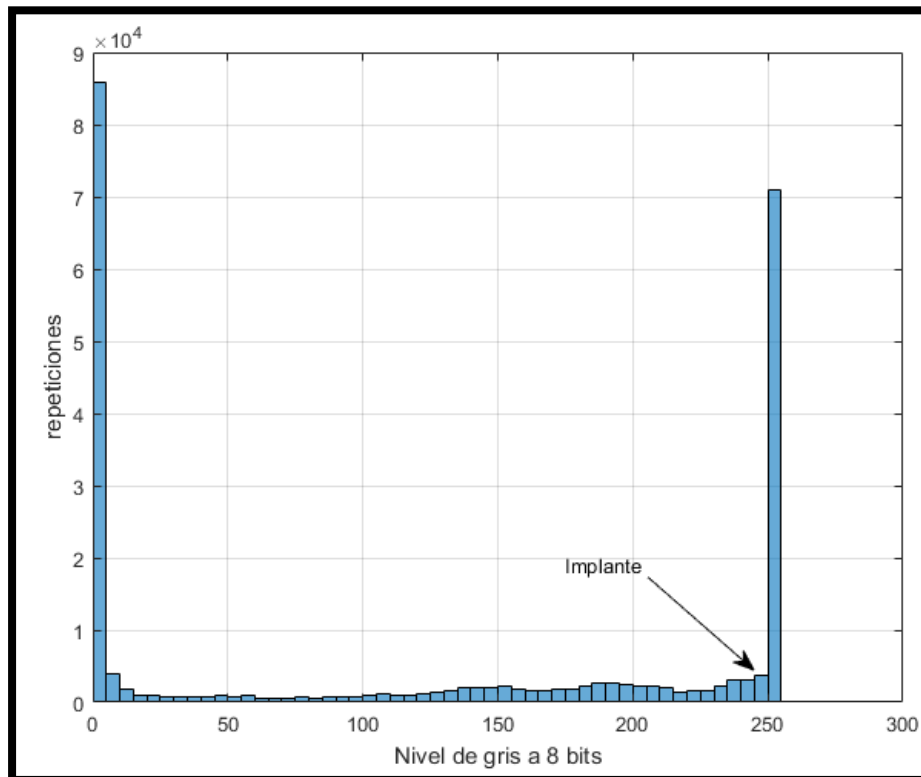


Figura 50 .- Histograma de escala de grises en 8 bits

Por otro lado, debido a la similitud de radiopacidad con el tejido blando, fue necesario otorgar una ganancia a la banda de 248; se redujeron los factores alternos a ésta con el fin de tener mayor contraste en la imagen. Para esto se seleccionó una región donde se colocó, y se amplificó el chip de acuerdo a un nivel de gris claro. Además, toda la imagen a excepción de la región de interés fue umbralizada a una escala de 190 en gris, tal como aparece en la imagen de la Figura 51, para tener un implante con alto contraste.

Cabe mencionar que se utilizó un algoritmo de colocación, en pixeles aleatoria inferior a 190 en gris, con el fin de maximizar el contraste.

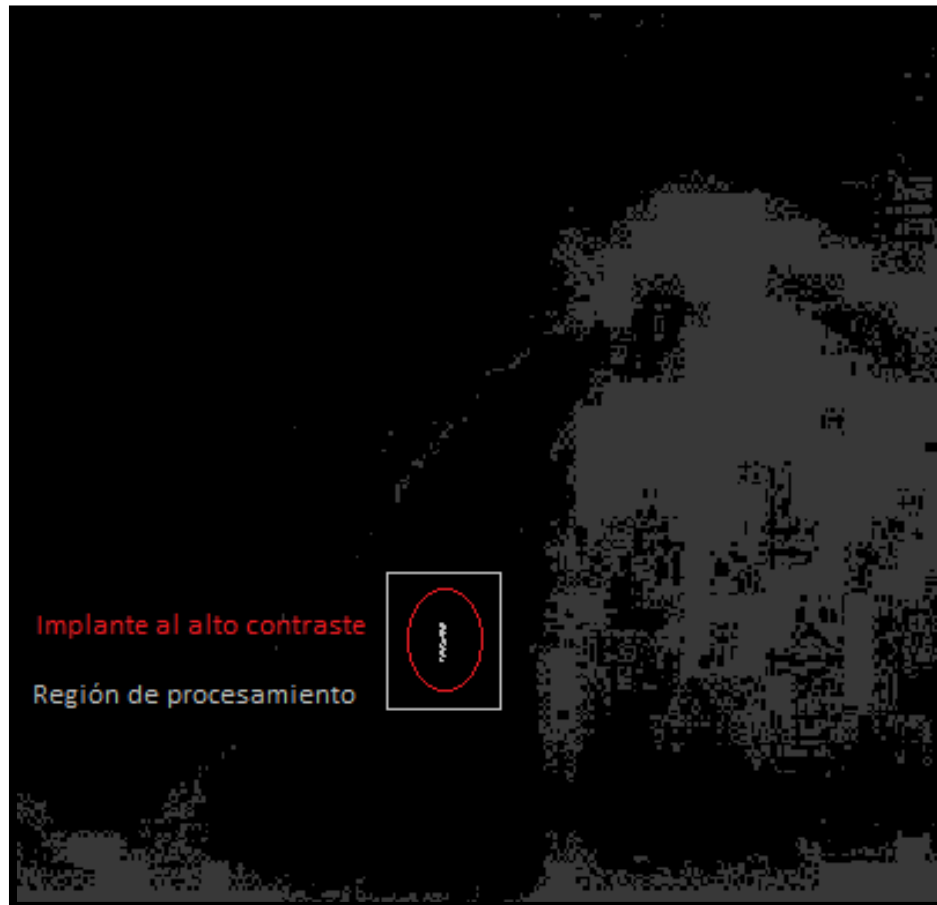


Figura 51.- Imagen procesada con alto contraste en la región de procesamiento

En la Figura 52 se identifica el implante en color azul sin el procesamiento digital en la escala de grises. Es evidente que sin el procesamiento la posibilidad de encontrar el chip es técnicamente nula, debido a que puede confundirse con el tejido blando, o en su defecto pudo ser enmascarado por un tejido con mayor densidad como el tejido óseo. En estas pruebas basadas en la imagen se encuentra que la radiopacidad relativa al tejido ósea, se encuentra cercano a 1%.



Figura 52.- Identificación del implante con medición de opacidad en escala de 8 bits.

Los resultados nos ayudaron a evaluar la factibilidad de poder incorporar las nanopartículas dentro polímero y cuantificar la radiopacidad.

En este caso se realizó con un marcador de 5 mm de largo en forma de arroz con un peso de 3.1 mg y un contenido de nanopartículas 17.49 μg , cuya proporción de peso nanopartícula es 0.56%, dosis muy por debajo de la concentración que han usado en pruebas de contraste.

El procesamiento para generar el compuesto fue una parte muy complicada. No se pudo aumentar la concentración de nanopartículas y debido a las características del polímero no se pudo obtener una forma no biológica. Por estas razones se utilizaron herramientas de imagen para poder caracterizar e identificar el implante en la zona donde se colocó. Es necesario tomar en cuenta estas recomendaciones si se pretende utilizar como marcador de biopsia o para líneas futuras de este proyecto.

Aunque se observa la opacidad del chip de 1% relativo al hueso, para poder tener un contraste relativo a un tejido óseo, se debe de aumentar la concentración de nanopartículas. Aún existe un margen grande para modificar la proporción nanopartícula-poliuretano, no obstante, se debe contemplar que pueden afectar nuevamente las propiedades mecánicas, degradación, etc. que inclusive puede interferir con la estructura del polímero y reducir la posibilidad de procesamiento.

4.7 Discusiones generales

4.7.1 Propuesta de reacción para poliuretanos

Para este proyecto fue necesario conocer los requerimientos para la síntesis de los nuevos poliuretanos, los compuestos a utilizar debían contener grupos funcionales hidroxilo [-OH] y el grupo ciano [OCN-].

Uno de los objetivos de este proyecto fue tratar de reducir el uso de productos sintéticos, o substituirlos por precursores naturales y biocompatibles. Las propuestas fueron quitosano [QUI] y/o inulina [INU], porque han sido utilizados en diversas bioaplicaciones, son biodegradables, biocompatibles y contienen los grupos funcionales [-OH].

Sin embargo, se requiere un precursor sintético, para poder controlar la velocidad de degradación del nuevo material. [44] Una propuesta es un diol sintético, que además esté aprobado por entidades internacionales como la FDA, que tenga uso en bioaplicaciones y que sea biocompatible. La policaprolactona [PCL] cumplió con las características mencionadas anteriormente, y además es un precursor de bajo costo, que presenta excelente compatibilidad al mezclarse con otros polímeros. [74]

Los marcadores de biopsia, tiene la función de servir de referencia de hasta 2 años. Por lo que se busca un polímero con una tasa de degradación baja. Dentro de la gama de dioles utilizados, la [PCL] presenta la menor tasa de degradación. [74]

Por otro lado, en la búsqueda del grupo funcional ciano, se tiene el diisocianato de hexametileno [**HMD**], que se ha empleado en síntesis de poliuretanos sintéticos, aprobados por la FDA, con bioaplicaciones en el mercado como Biomer ® desde hace más dos décadas.

En resumen, los precursores utilizados fueron **INU**, **QUI**, **PCL** y **HMD**. Para ello se realizaron dos formulaciones generales en la síntesis de poliuretanos “vía verde”:

Fórmula 1) QUI+PCL+HMD

Es importante mencionar que el quitosano es un agente hemostático, lo cual es una propiedad muy útil para biopolicaciones. Durante la realización de proyecto se realizaron varias pruebas en la síntesis del poliuretano. En diferentes proporciones de peso o molares y soluciones entre [**QUI:HMD**]. Sin embargo, el **QUI** presentaba problemas para disolverse con la dimetilformamida **DMF**, solvente propuesto para la síntesis de poliuretanos. [64]

Además de los problemas de solubilidad, se presentó el inconveniente con el tiempo de la síntesis que superaba las 80 horas, tiempo necesario para solubilizar el quitosano. Finalmente, se obtuvieron polvos, que no se pudieron procesar para formar una película, o comprimirse para formar pastillas. La alternativa era utilizar plastificantes, sin embargo, este compuesto también debería tener propiedades de biocompatibilidad y aprobación por alguna entidad regulatoria como la FDA.

Debido a las propiedades de insolubilidad del quitosano, el bajo rendimiento que se obtenía en la síntesis, la baja solubilidad en el solvente, la escasa propiedad de formar película y el tiempo de síntesis de más de 80 horas, se descartó el uso de este polímero natural, por lo que se realizó la propuesta de utilizar la fórmula 2.

Fórmula 2) INU+PCL+HMD

La ventaja principal es que la **INU** se disolvió en **DMF**; durante las pruebas preliminares se realizaron con propuestas de diferentes relaciones molares [**INU/HMD**] y solubilidad en **DMF**. El resultado fue la obtención de un sólido y un tiempo de síntesis de aproximadamente 7 horas.

Inicialmente se trabajó con los precipitados formados, posteriormente se desarrollaron un gran número de propuestas de procesamiento para desarrollar películas o pastillas. Por todo lo anterior se decidió trabajar con este polímero natural como precursor para la síntesis del nuevo poliuretano. La propuesta de reacción general para la síntesis de poliuretano aparece en la Figura 53.

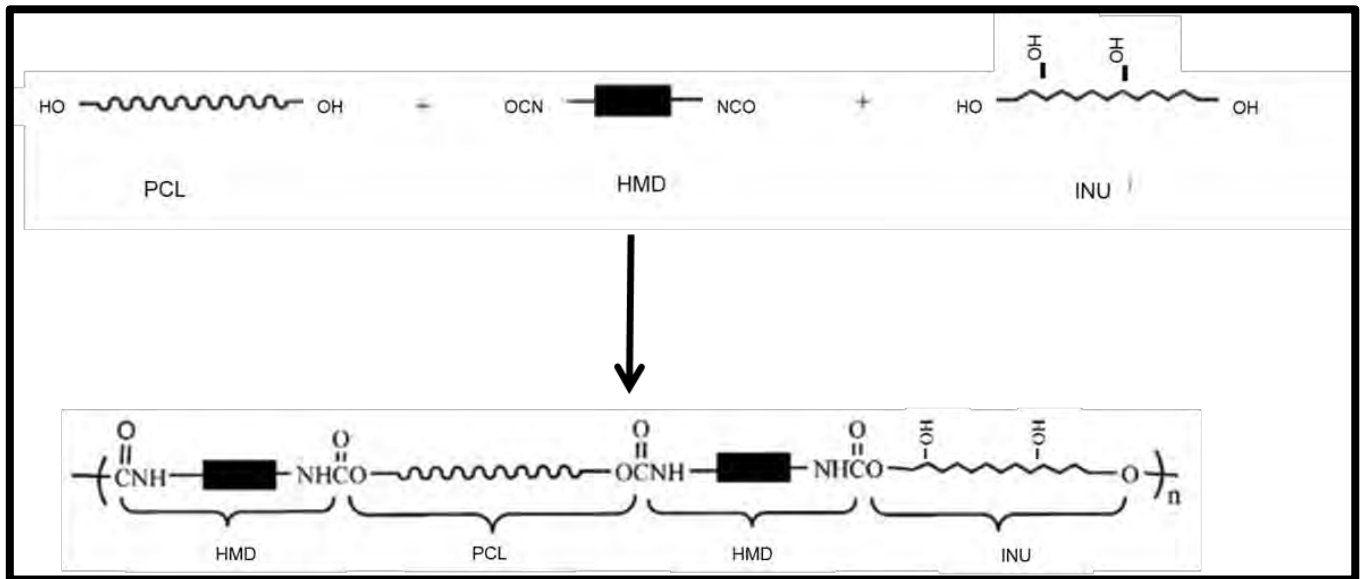


Figura 53.- Propuesta general de reacción general de la síntesis de poliuretano base inulina y policaprolactona.

Al aumentar la proporción de **INU** en la formulación, se incrementan el número de grupos funcionales **[-OH]**, lo que conlleva a tener mayores posibilidades de incrementar el grado de entrecruzamientos. En la Figura 54, se presentan una propuesta general de las posibles estructuras y entrecruzamientos para las tres formulaciones de nuevos poliuretanos. Encerrado en círculo rojo los entrecruzamientos, que posiblemente funcionan como conectores entre cadenas principales, debido a que la **INU** es polihidroxilada; el entrecruzamiento se realiza entre estos compuestos.

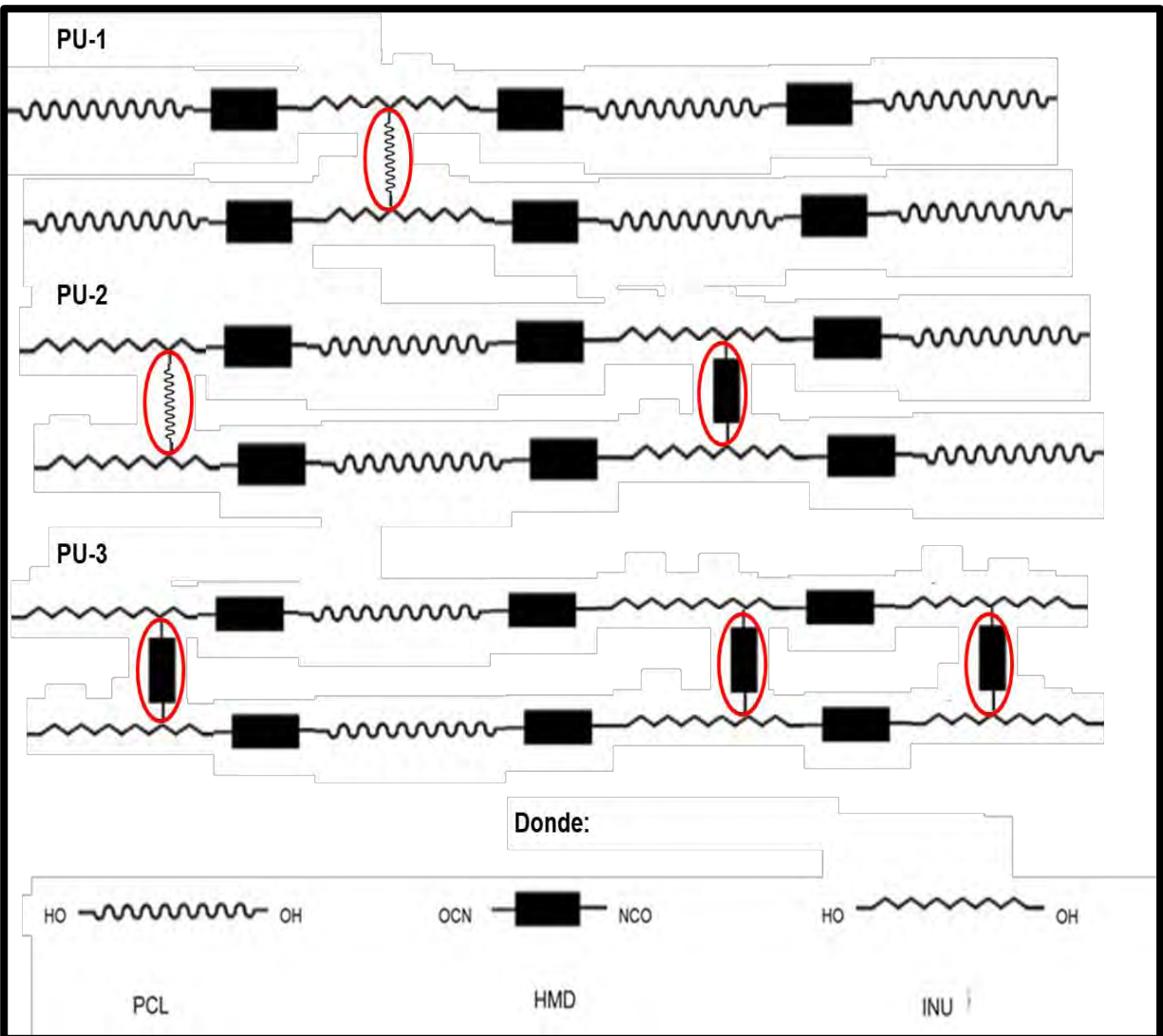


Figura 54 .- Propuesta de entrecruzamientos en poliuretano. PU-1, PU-2 y PU-3.

4.7.2 Nanopartículas de óxido de hierro

En la búsqueda de nanopartículas biocompatibles, se encontraron reportados productos como Feridex® y Endorem™, que utilizan nanopartículas de magnetita estabilizadas con dextran. Como se mencionó, son biocompatibles en aplicaciones como agente contrastante, en dosis de hasta 286 mg para una persona de 70 Kg. [113], tienen aprobación de la FDA, su costo de producción es muy bajo y se han utilizado durante más de una década. Pero no sólo la magnetita es biocompatible, también las otras dos fases de óxido de hierro la maghemita y hematita [145]; por estas razones se seleccionaron las nanopartículas de óxido de hierro.

La técnica de síntesis verde se utilizó con la finalidad de obtener un método más amigable con el medio ambiente, aprovechando la capacidad antioxidante de la planta conocida como Aranto **KD**, que se ha encontrado en literatura que tiene bioactividad en usos medicinales [incluir referencia]. La reducción de compuestos químicos en proceso de síntesis de nanopartículas, abre una nueva posibilidad de incorporarlos en el proceso e inclusive la probabilidad de tener una bioactividad superficial, debido a la presencia de metabolitos de las plantas presentes en la superficie de la nanopartícula, propiedades interesantes como método alternativo para síntesis de nanopartículas.

4.7.3 Pruebas de degradación

El protocolo de biodegradación de este nuevo polímero se diseñó para realizar la prueba de degradación hidrolítica *in vitro*, en una solución fisiológica. En un inicio se consideró la prueba en pH de 7.4, pero durante el avance del proyecto se encontró en la literatura [133], que existen cambios en los entornos de las células con presencia de cáncer, donde una de ellas es cambio en el pH, el cual se acidifica. Por esta razón se realizó en una solución ligeramente ácida en un pH de 6.8.

También se ha reportado que los poliuretanos actuales sintéticos tienen una tasa de degradación muy baja que inclusive, pueden llegar a durar hasta 20 años. De los resultados de las pruebas realizadas se observa que cualquiera de las formulaciones **PU-1, PU-2 o PU-3**, muestran que nuestro nuevo poliuretano es degradable, por lo menos en prueba de degradación hidrolítica.

CAPÍTULO V

5 Conclusiones

Se obtuvo un nuevo poliuretano base inulina, policaprolactona y diisocianato de hexametileno, por síntesis “vía verde” llamado así, debido a que se están reduciendo o substituyendo precursores sintéticos por polímeros naturales, en este caso inulina. Mediante las técnicas de espectroscopia RAMAN y FTIR, se pudieron identificar los grupos uretanos en la estructura del nuevo polímero.

Este nuevo poliuretano se puede clasificar como termofijo, también posee propiedades mecánicas adecuadas, como elasticidad y compresión. Tiene una gran posibilidad de poder utilizarse en bioaplicaciones, debido a que conserva algunas propiedades reportadas para los poliuretanos que se encuentran dentro del rango de productos comerciales o en algunas investigaciones de polímeros que ya se han usado en tratamientos médicos.

Las nanopartículas de óxido de hierro sintetizadas por el método de coprecipitación, nos ofrecen las tres fases de óxido de hierro hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), maghemita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) y magnetita ($\gamma\text{-Fe}_3\text{O}_4$), que fueron identificadas por la caracterización de DRX; cualquiera de estas tres fases tiene bioaplicaciones y son biocompatibles. Sin embargo, se recomienda utilizar otro método amigable con el medio ambiente, para reducir el uso de productos sintéticos o solventes orgánicos. Una propuesta es utilizar precursores naturales, que además puedan otorgar una bioactividad.

Se pudo obtener un compuesto, mediante la incorporación de nanopartículas de óxido de hierro en un poliuretano base inulina, llamado así por la incorporación de la inulina en la estructura del poliuretano. El procesamiento para la obtención del compuesto fue por el método de precipitación y evaporación; contiene una relación de nanopartículas/poliuretano del 0.56%, donde el contenido de nanopartículas es de 1.188 mg, dosis muy por debajo de la que se aplica como agente de contraste que es de 286 mg. Se identificaron las nanopartículas dentro del poliuretano, en un primer caso las nanopartículas embebidas en la matriz del polímero y en un segundo caso las nanopartículas están funcionalizadas o cubiertas con el polímero, y posteriormente se incorporan dentro de la matriz del polímero.

Sin embargo, una vez combinadas las nanopartículas con el poliuretano se modificaron totalmente las propiedades mecánicas originales del polímero; se obtuvo un material más quebradizo y difícil de manipular.

Este nuevo poliuretano tiene la característica de ser degradable en soluciones fisiológicas pH 7.4 y pH 6.8. Si se modifica las proporciones de precursores de inulina y policaprolactona, se puede variar la velocidad de degradación, el porcentaje de absorción de agua y el tiempo de inicio en la degradación. Este polímero puede presentar un periodo de degradación mayor de 25 semanas en cualquiera de los medios. Las propiedades del nuevo poliuretano de presentar cambios en respuesta al pH, capacidad de variar la absorción de agua y controlar el tiempo de degradación, abre nuevas líneas de investigación para aplicaciones como regeneración de tejidos o liberador de fármacos en medicina. Se puede considerar colocar otro tipo de nanopartículas como plata, oro, el cual puede otorgarle otro tipo de aplicaciones en otras áreas como tratamientos de aguas, agricultura, etc.

El proceso de incorporar las nanopartículas de óxido de hierro en la estructura polimérica, le otorga otra nueva propiedad de ser radiopaco, con potenciales aplicaciones de poder aplicarse como marcador de biopsia.

La procesabilidad de este compuesto enfrenta dos grandes retos, uno es integrar homogéneamente las nanopartículas, y generar un método de procesamiento que pueda ser flexible para diseñar una forma no-biológica del biomaterial. Una propuesta podría ser el uso de electrohilado, que se ha reportado más factible de poder integrar las nanopartículas en un polímero y finalmente poder controlar la forma del biomaterial.

Referencias

- [1] W. Callister, *Introducción a la Ciencia e Ingeniería de los Materiales*, Reverté. Novena Edición, 2016.
- [2] D. R. Askeland, *Ciencia e Ingeniería de los Materiales*, Editorial Paraninfo-Thomson Learning, 2001.
- [3] C. y. L. V. Baillie, *Navigating the Materials World: A Guide to Understanding Materials Behavior*, San Diego, CA: Academic Press, 2003.
- [4] A. S. H. F. J. S. a. J. E. L. B. D. Ratner, «Introduction - Biomaterials Science: An Evolving,» *Introduction - Biomaterials Science: An Evolving*, pp. 15-30, Multidisciplinary Endeavor, Third Edit. Elsevier, 2013..
- [5] H. A. H. Buddy D. R., *Biomaterials Science*, Academic Press, Third Edition, 2013.
- [6] D. F. Williams, *Definitions in Biomaterials. Proceedings of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials (Vol. 4)*, New York: Elsevier, 1987.
- [7] L. S. N. a. C. T. L. B. D. Ulery, «Biomedical applications of biodegradable polymers,» *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, vol. 49, no. 12, pp. 832-864, 2011.
- [8] A. W. Lloyd, «Interfacial bioengineering to enhance surface biocompatibility,» *Med Device Technol.*, pp. 13(1):18-21., 2002 Jan-Feb.
- [9] K. C. H. Y. Y. L. C. H. S. H. Y. Y. U. S. J. C. Y. L. S. H. A. D. W. E. F. a. J. C. L. S. H. Hsu, «Water-based synthesis and processing of novel biodegradable elastomers for medical applications,» *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 2, nº 31, pp. 5083-5092, 2014.
- [10] G. A. A. B. J. S. a. R. L. Y. Wang, «A tough biodegradable elastomer,» *Nat. Biotechnol.*, vol. 20, nº 6, pp. 602-606, 2002.
- [11] N. M. H. H. a. C. B. R. Belibel, «Poly((R,S)-3,3-dimethylmalic acid) derivatives as a promising cardiovascular metallic stent coating: Biodegradation and biocompatibility of the hydrolysis products in human endothelial cells,» *Polymer Degradation and Stability*, vol. 130, pp. 288-299, 2016.
- [12] G. M. M. S. a. A. S. M. Shahrousvand, «Artificial extracellular matrix for biomedical applications: biocompatible and biodegradable poly (tetramethylene ether) glycol/poly (ϵ -caprolactone diol)-based polyurethanes,» *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, vol. 27, nº 17, pp. 1712-1728, 2016.
- [13] D. E. H. a. S. L. Cooper, «Polyurethanes,» *Biomater. Sci.*, nº 1986, pp. 79-82, 2013.

- [14] T. M. Chapman, «Models for polyurethane hydrolysis under moderately acidic conditions: A comparative study of hydrolysis rates of urethanes, ureas, and amides,» *Polymer Chemistry*, vol. 27, n° 6, p. 1993–2005, 1989.
- [15] A. P. D. M. D. T. H. C. a. J. L. H. Haritz Sardon, «Synthesis of polyurethanes using organocatalysis: A perspective,» *Macromolecules*, vol. 48, n° 10, pp. 3153-3165, 2015.
- [16] B. D. Ratner, «A History of Biomaterials,» de *Biomaterials Science An Introduction to Materials in Medicine*, vol. Third Ed, WA, USA, Academic Press , 2013, pp. xli-liii.
- [17] C. E. B. M. A. H. S. A. W. a. T. L. C. C. C. Genson, «Effects on breast MRI of artifacts caused by metallic tissue marker clips,» *Am. J. Roentgenol*, vol. 188, n° 2, p. pp. 372–376, 2007.
- [18] J. D. E. D. S. U. a. I. T. I. T. L. Lalonde, «A plea for the biopsy marker : how , why and why not clipping after breast biopsy ?,» *Breast Cancer Res Treat*, p. pp. 881–893, 2012.
- [19] B. R. F. R. S. R. C. D. H. B. C. D. C. M. M. B. E. T. T. G. K. T. K. P. M. R. W. J. M. P. C. S. S. L. a. J. Y. P. M. Ignatiadis, «A plea for the biopsy marker : how , why and why not clipping after breast biopsy ?,» *European Journal of Cancer*, vol. 63, pp. 97-104, 2016.
- [20] L. S. A. S. D. B. R. A. M. N. M. T. M. B. a. D. F. F. Corsi, «Localization of nonpalpable breast lesions with sonographically visible clip: optimizing tailored resection and clear margins,» *The American Journal of Surgery*, vol. 209, n° 6, pp. 950-958, 2015.
- [21] J. A. B. a. M. S. S. E. L. Rosen, «Accuracy of a Collagen-Plug Biopsy,» *American Roentgen Ray Society*, n° 181, pp. 1295-1299, 2003.
- [22] M. A. K. C. J. M. D. B. T. a. E. J. W. C. R. Madeley, «Radiographer technique: Does it contribute to the question of clip migration?,» *J. Med. Imaging Radiat. Oncol*, vol. 49, n° 5, p. 564–570, 2015.
- [23] S. C. A. M. M. K. F. A. H. K. H. C. S. B. S. G. K. v. S. a. R. A. K.-H. G. W. Goerres, «Follow-up of women with breast cancer: Comparison between MRI and FDG PET,» *Eur. Radiol*, vol. 13, n° 7, pp. 1635-1644, 2003.
- [24] A. G. a. R. J. B. K. Calhoun, «Intraoperative loss of core biopsy clips: clinical implications,» *AJR. Am J. Roentgenol*, vol. 190, n° 3, pp. 196-200, 2008.
- [25] R. J. Brenner, «Percutaneous Removal of Postbiopsy Marking Clip in the Breast Using Stereotactic Technique,» *American Roentgen Ray Society*, n° February, pp. 417-419, 2001.
- [26] H. E. R. a. P. M. D. R. Baker, «Percutaneous extraction of a biopsy-site marker clip using a vacuum-assisted biopsy device,» *AJR. Am J. Roentgenol*, vol. 175, n° 4, pp. 1051-1052, 2000.

- [27] L. C. J.-F. B. C. G. Y. R. a. Z. M. Bassam Nohra, «From petrochemical polyurethanes to biobased polyhydroxyurethanes,» *Macromolecules*, vol. 46, n° 10, pp. 3771-3792, 2013.
- [28] L. Sperling, «Introduction to polymer science,» de *Introduction to Physical Polymer Science*, John Wiley & Sons, Inc., 2006, pp. 1-25.
- [29] Krzysztof Matyjaszewski, «Macromolecular engineering: From rational design through precise macromolecular synthesis and processing to targeted macroscopic material properties,» *Progress in Polymer Science*, vol. 30, n° 8-9, pp. 858-875, 2005.
- [30] K. Matyjaszewski, «Architecturally Complex Polymers with Controlled Heterogeneity,» *Science*, vol. 333, n° 6046, pp. 1104-1105, 2011.
- [31] J. Z. G. Z. H. S. Shuangyan Hua, «Macromolecular architectures through organocatalysis,» *Progress in Polymer Science j*, vol. 74, pp. 34-77, 2017.
- [32] P. J. Flory, *Principles of Polymer Chemistry*, Ithaca and London: Cornell University Press, 1953.
- [33] R. Young, *Introduction to Polymers*, USA: Chapman & Hall, 1987.
- [34] . J. C. M. K. J. Ivin, *Olefin Metathesis and Metathesis Polymerization*, New York: Academic, 1996.
- [35] Y. G. a. L. L. Krzysztof Matyjaszewski, «Macromolecular Engineering,» de *Macromolecular Engineering. Precise Synthesis, Materials Properties, Applications.*, vol. 74, Weinheim, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2007, pp. 1-6.
- [36] A. A. K. ,. R. R. K. Mahadevappa Y. Kariduraganavar, «Polymer Synthesis and Processing,» de *Natural and Synthetic Biomedical Polymers Copyright*, USA, Elsevier Inc., 2014, pp. 1-31.
- [37] E. V. L. Enrique Saldivar Guerra, *Handbook of Polymer Synthesis, Characterization, and Processing*, Hoboken, New Jersey : John Wiley & Sons, Inc., 2013.
- [38] L. J. L. L. Peter Atkins, *Chemical Principles The quest for insight*, New York: W:H. Freeman and Company, 2013.
- [39] R. P. B. a. A. P. Dove, «Synthesis, properties and biomedical applications of hydrolytically degradable materials based on aliphatic polyesters and polycarbonates,» *Biomaterials Science*, vol. 5, n° 1, pp. 9-21, 2017.
- [40] M. Szycher, *Szycher's Handbook of Polyurethanes*, Florida: CRC Press LLC, 1999.
- [41] D. E. H. a. S. L. Cooper, «Polyurethanes,» de *Biomaterials Science An Introduction to Materials in Medicine*, Columbus, OH, USA, Academic Press , 2013, pp. 79-82.

- [42] D. E. H. a. S. L. Cooper, «Polyurethanes,» de *Biomaterials Science*, OH, USA, Academic Press , 2013, pp. 79-82.
- [43] K. H. M. O. Sirinat Wibullucksanakul, «Hydrolysis and release behavior of hydrolyzable poly(ether urethane) gels derived from saccharide-, lysine-derivates, and poly(proline glycol).,» *Macromol*, vol. 198, pp. 305-319, 1997.
- [44] S. A. Guelcher, «Biodegradable Polyurethanes: Synthesis and Applications in Regenerative Medicine,» *Tissue Engineering Part B: Reviews*, vol. 14, n° 1, pp. 3-17, 2008.
- [45] M. Unescu, Chemistry and technology of polyols for polyurethanes, Shawbury, UK: Rapra technology Limited, 2005.
- [46] S.-I. I. Kazunori Kizuka, «Synthesis and Properties of Polyurethane Elastomers Containing Sucrose as a Cross-Linker,» *Organic Polymer Materials*, vol. 5, pp. 103-112, 2015.
- [47] D. a. R. K. Chattopadhyay, «Structural engineering of polyurethane coatings for high performance applications,» *Progress in Polymer Science*, vol. 32, n° 3, pp. 352-418, 2007.
- [48] T. M. Chap, «Models for polyurethane hydrolysis under moderately acidic conditions: A comparative study of hydrolysis rates of urethanes, ureas, and amides,» *Polymer Chemistry*, vol. 27, n° 6, pp. 1993-2005, 1989.
- [49] .. F. B. J.-P. C. Y. M. M. T. C. B. L. Poussarda, «Hemocompatibility of new ionic polyurethanes: influence of carboxylic group insertion modes,» *Biomaterials*, vol. 25, pp. 3473-3483, 2004.
- [50] M. Ionescu, Chemistry and Technology of Polyols for Polyurethanes, Shawbury, UK: Rapra Technology, 2005.
- [51] Z. S. Petrović, «Polyurethanes from Vegetable Oils,» *Polymer Reviews*, vol. 48, n° 1, pp. 109-155, 2008.
- [52] O. T. Oğuz Türünç, «Fatty Acid Derived Monomers and Related Polymers Via Thiol-ene (Click) Additions,» *Macromolecular Rapid communication*, vol. 31, n° 20, pp. 1822-1826, 2010.
- [53] Y. S. Y. L. X. Y. M. Z. Y. Z. X. T. a. Q. Z. Jing Guan, «Progress in Study of Non-Isocyanate Polyurethane,» *Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol. 50, pp. 6517-6527, 2011.
- [54] H. U. K. t. N. W. M. M. Ilavsky, «Network formation in polyurethanes based on triisocyanate and dithanolamine derivates,» *European Polymer Journal* , vol. 37, pp. 887-896, 2000.
- [55] H.-S. K. C.-S. H. D.-W. P. J.-K. L. MI-RA KIM, «Syntheses and Thermal Properties of Poly(hydroxy)urethanes by Polyaddition Reaction of Bis(cyclic carbonate) and Diamines,» *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 81, n° 11, pp. 2735-2743, 2001.

- [56] R. H. a. K. Hock, *Flexible Polyurethane Foams*, Midland, MI, USA: Dow Chemical Company, 1997.
- [57] Y. D. Albert Lee, «Green polyurethane from lignin and soybean oil through non-isocyanate reactions,» *European Polymer Journal journal*, vol. 63, pp. 67-73, 2015.
- [58] N. v. d. A. a. A. Bardow, «Life cycle assessment of polyols for polyurethane production using CO₂ as feedstock: insights from an industrial case study,» *Green Chemistry*, vol. 16, pp. 3272-3280, 2014.
- [59] M. Desroches, M. Escouvois, R. Auvergne, S. Caillol y B. P. R. Boutevin, «From Vegetable Oils to Polyurethanes: Synthetic,» *Polymer Reviews*, vol. 52, n° 1, p. 38–79, 2012.
- [60] N. H. T. K. J. Y. H. O. KAZUHIKO HASHIMOTO, «Synthesis and Properties of Bio-Based Polyurethanes Bearing HydroxyGroups Derived from Alditols,» *Polymer Science*, vol. 49, pp. 976-985, 2010.
- [61] M. D. S. T. Archana Solanki, «A review on carbohydrate embedded polyurethanes: An emerging area in the scope of biomedical applications,» *Carbohydrate Polymers*, vol. 181, pp. 1003-1016, 2018.
- [62] M. W. G. Ruiqing Xiaoa, «Chemical synthesis of polysaccharides and polysaccharide mimetics,» *Progress in Polymer Science*, vol. 74, pp. 78-116, 2017.
- [63] N. R. T. S. RansiDevendra, «Computational and experimental investigations of the urethane formation mechanism in the presence of organotin(IV) carboxylate catalysts,» *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, vol. 366, pp. 126-139, 2013.
- [64] J.-P. P. B. B. a. F. G. Etienne Delebecq, «On the Versatility of Urethane/Urea Bonds: Reversibility, Blocked Isocyanate, and Non-isocyanate Polyurethane,» *Chem. Rev*, vol. 113, pp. 80-118, 2013.
- [65] V. Gutmann, «Empirical parameters for donor and acceptor properties of solvents,» *Electrochimica Acta*, vol. 21, n° 9, pp. 661-670, 1976.
- [66] M.-C. C. A. S.-A. Chen, «Kinetics and Mechanism of Urethane Reactions: Phenyl Isocyanate-Alcohol Systems,» *Polymer Chemistry*, vol. 25, pp. 2543-2559, 1987.
- [67] P. F. Y. J. Y. L. C. D. Q. T. D. L. Yong De Han, «The reaction of o-hydroxybenzyl alcohol with phenyl isocyanate in polar solvents,» *Reac Kinet Mech Cat*, vol. 101, pp. 41-48, 2010.
- [68] M. P. Bruin J. Smedinga A. J. Pennings, «Biodegradable lysine diisocyanate-based poly(glycolide-co-ε-caprolactone)-urethane network in artificial skin,» *Biomaterials*, vol. 11, n° 4, pp. 291-295, 1990.
- [69] D. F. Williams, *The Williams Dictionary of Biomaterials*, Liverpool: Liverpool University Press, 1999.

- [70] J. Jagur-Grodzinski, «Biomedical application of functional polymers,» *Reactive & Functional Polymers*, vol. 39, n° 2, pp. 99-138, 1999.
- [71] R. P. B. a. A. P. Dove, «Synthesis, properties and biomedical applications of hydrolytically degradable materials based on aliphatic polyesters and polycarbonates,» *Biomaterials Science*, vol. 5, pp. 9-21, 2017.
- [72] F. D. C. J. T. C. R. L. H. J. C. H. L. R. D. L. K. Gregory HAltman, «Silk-based biomaterials,» *Biomaterials*, vol. 24, n° 3, pp. 401-416, 2003.
- [73] F. M. G. R. L. R. Helena S. Azevedo, «In Vitro Assessment of the Enzymatic Degradation of Several Starch Based Biomaterials,» *Biomacromolecules*, vol. 4, n° 6, pp. 1703-1712, 2003.
- [74] S. A. R. L. Matthew Treiser, «Degradable and Resorbable Biomaterials,» de *Biomaterials Science: An Introduction to Materials*, New Jersey, Academic Press, 2008, pp. 179-195.
- [75] W. R. G. a. D. K. Pettit, «Biodegradable Polymers for Protein and Peptide Drug Delivery,» *Bioconjugate Chem.*, vol. 6, n° 4, pp. 332-351, 1995.
- [76] P. A. a. R. Adhikari, «Biodegradabl synthetic polymers for tissue engineering,» *Gunatillake & R Adhikari European Cells and Materials*, vol. 5, pp. 1-16, 2003.
- [77] C. T. Lakshmi S.Nair, «Biodegradable polymers as biomaterials,» *Progress in Polymer Science*, vol. 32, n° 8-9, pp. 762-798, 2007.
- [78] P. A. a. R. Adhikari, «BIODEGRADABLE SYNTHETIC POLYMERS FOR TISSUE ENGINEERING,» *European Cells and Materials*, vol. 5, pp. 1-16, 2003.
- [79] X. W. H. L. X. L. J. L. Xian Jun Loh, «Compositional study and cytotoxicity of biodegradable poly(ester urethane)s consisting of poly[(R)-3-hydroxybutyrate] and poly(ethylene glycol),» *Materials Science and Engineering*, vol. 27, n° 2, pp. 267-273, 2007.
- [80] F. G. I. H. E. N. S. Sultan Butun, «One-step fabrication of biocompatible carboxymethyl cellulose polymeric,» *Carbohydrate Polymers*, vol. 86, pp. 636-643, 2011.
- [81] I. T. B. S. S. D. Sonal Desai, «Efect of polyols and diisocyanates on thermo-mechanical and morphological properties of polyurethanes,» *European Polymer Journal*, vol. 36, pp. 711-725, 2000.
- [82] J. A. A. M. & J. A. G. M. Violante de Paz Báñez, «Versatile Sugar Derivatives for the Synthesis of Potential Degradable Hydrophilic-Hydrophobic Polyurethanes and Polyureas,» *Journal of Carbohydrate Chemistry*, vol. 27, pp. 120-140, 2008.
- [83] M. T. R. Z. J. Z. C. Wanqing Han, «Preparation, characterization and cytocompatibility of polyurethane/cellulose based liquid crystal composite membranes,» *Carbohydrate Polymers*, vol. 90, n° 3, pp. 1353-1361, 2012.

- [84] S. D. Renuka Lalwani, «Sorption Behavior of Biodegradable Polyurethanes with,» *Applied Polymer Science*, vol. 115, pp. 1296-1305, 2010.
- [85] L. O. L. A. Mitsuka Matsui, «Chitin/polyurethane networks and blends: Evaluation of biological application,» *Polymer Testing*, vol. 31, n° 1, pp. 191-196, 2012.
- [86] K. A. M. R. F. S. J. S. W. Mohammad K. Hassan, «Biodegradable aliphatic thermoplastic polyurethane based on poly(ϵ -caprolactone) and L-lysine diisocyanate,» *Polymer Chemistry*, vol. 44, n° 9, pp. 2990-3000, 2006.
- [87] E. Piskin, «Biodegradable Polymers in Medicine,» de *Degradable polymers: Principles and applications*, Beytepe, Turkey, G. Scott , 1996, pp. 321-377.
- [88] K. R. R. A. V.R.Sinha, «Sinha, V. R., Bansal, K., Kaushik, R., Kumria, R., & Trehan, A. (2004). Poly-epsilon-caprolactone microspheres and nanospheres: An overview. *Int. J. Pharm.*, 278(1), 1–23.,» *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 278, n° 1, pp. 1-23, 2004.
- [89] K. G. B. E. H. B. P. F. A. N. A. L. L. P. Elisabeth Liljensten, «Studies of polyurethane urea bands for ACL reconstruction,» *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 13, n° 4, pp. 351-359, 2002.
- [90] M. S. E. J. W. R. Jianjun Guan, «Biodegradable poly(ether ester urethane)urea elastomers based on poly(ether ester) triblock copolymers and putrescine: synthesis, characterization and cytocompatibility,» *Biomaterials*, vol. 25, n° 1, pp. 85-86, 2004.
- [91] Y. T. T. O. M. F. Atsushi Watanabe, «Dependence of biodegradation and release behavior on physical properties of poly(caprolactone)-based polyurethanes,» *Applied polymers*, vol. 114, n° 1, pp. 246-253, 2009.
- [92] L. H. B. Pankaj R. Rege, «Chitosan processing: influence of process parameters during acidic and alkaline hydrolysis and effect of the processing sequence on the resultant chitosan's properties,» *Carbohydrate Research* , vol. 321, pp. 235-245, 1999.
- [93] W. Tiyaonchai, «Chitosan Nanoparticles : A Promising System for Drug Delivery,» *Naresuan University Journal*, vol. 3, n° 51-66, p. 11, 2003.
- [94] S. B. M. W. T. S. a. I. P. Caroline Schneider-Bartholda, «Hydrogels based on collagen and fibrin – frontiers and applications,» *BioNanoMat* , vol. 17, pp. 3-12, 2016.
- [95] A. R. S. A.-H. A. K. N. Alaa Jabbar Al-Manhel, «Extraction of chitosan, characterisation and its use for water purification,» *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, vol. 17, n° 2, pp. 186-190, 2018.
- [96] E. S. A. Maher Z. Elsabee, «Chitosan based edible films and coatings: A review Maher,» *Materials Science and Engineering C*, vol. 33, n° 4, pp. 1819-1841, 2013.

- [97] A. M. K. B. Christian V. Stevens, «Chemical Modification of Inulin, a Valuable Renewable Resource, and Its Industrial Applications,» *Biomacromolecules*, vol. 2, n° 1, pp. 1-16, 2001.
- [98] J. P. H. C. F. T. J. T. D. d. W. I. André, «Single crystals of inulin,» *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 18, pp. 195-204, 1996.
- [99] A. GHeyeraBSchroeeeraSRadostabDWolffcSCzaplacJSpringerc, «Structure of the enzymatically synthesized fructan inulin,» *Carbohydrate Research*, vol. 313, n° 3-4, pp. 165-174, 1998.
- [100] C. V. S. A. V. K. B. B. L. C. D. B. H. C. Tina M. Rogge, «Application of Ethoxylated Inulin in Water-Blown Polyurethane Foams,» *Biomacromolecules*, vol. 6, n° 4, pp. 1992-1997, 2005.
- [101] G. Kelly, «Inulin-type prebiotics: A review (Part 2),» *Alternative Medicine Review.*, vol. 14, n° 1, pp. 36-55, 2009.
- [102] H. H. L. De Leenheer, «Progress in the elucidation of the composition of chicory inulin,» *Starch*, vol. 46, p. 193, 1994.
- [103] M. B. V. L. A. J. A. D. Frank T. Moerman, «Enrichment of Higher Molecular Weight Fractions in Inulin FRANK,» *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 52, n° 12, pp. 3780-3783, 2004.
- [104] K. F. P. T. C. V. K. K. Kiyoshi Kawai, «Effects of moisture content, molecular weight, and crystallinity on the glass transition temperature of inulin,» *Carbohydrate Polymers*, vol. 83, n° 2, pp. 934-939, 2011.
- [105] H. W. F. K. v. d. V. M. W. L. H. Maarten A. Mensink, «Inulin, a flexible oligosaccharide I: Review of its physicochemical characteristics,» *Carbohydrate Polymers*, vol. 130, pp. 405-419, 2015.
- [106] S. A. E. D.Meyer, «Inulin as texture modifier in dairy products,» *Food Hydrocolloids*, vol. 25, n° 8, pp. 1881-1890, 2011.
- [107] G. R. K. M. H. S. A. G. Imran S., «Application and use of inulin as a tool for therapeutic drug delivery,» *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, vol. 28, pp. 33-45, 2012.
- [108] F. M. P. R. P. P. Orlando R., «Determination of inulin clearance by bolus intravenous injection in healthy subjects and ascitic patients: equivalence of systemic and renal clearances as glomerular filtration markers,» *British Pharmacological Society*, vol. 46, n° 6, pp. 605-609, 2002.
- [109] A. K. G. Narinder Kaur, «Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition,» *Journal of Biosciences*, vol. 27, n° 7, pp. 703-714, 2002.
- [110] A. G. M. T. M. P. Jose Domingos Fontana, «Fructo-Oligosaccharide Production from Inulin Through Partial Citric or Phosphoric Acid HydrolysesJOURNAL OF MEDICINAL FOOD,» *Journal of Medicinal Food*, vol. 14, n° 11, pp. 1425-1430, 2011.

- [111] N. K. M.-F. F. D. M. D. F. M. G. M. B. R. Nathalie M Delzenne, «Dietary fructooligosaccharides modify lipid metabolism in rats,» *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 57, n° 5, p. 820S, 1993.
- [112] H. R. R. C. Reddy B.S., «Effect of dietary oligofructose and inulin on colonic preneoplastic aberrant crypt foci inhibition,» *Carcinogenesis*, vol. 7, pp. 1371-1374, 1997.
- [113] A. L. C. A. F. R. D. Joao Paulo Mattos Almeida, «In vivo biodistribution of nanoparticles,» *Nanomedicine (London, England)*, vol. 6, n° 5, pp. 815-835, 2011.
- [114] Z. W. T. Y. C. J. W.-S. K. Wei Wu, «Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, surface functional strategies and biomedical applications,» *Science and Technology of Advanced Materials*, vol. 16, p. 43pp, 2015.
- [115] U. S. Rochelle M. Cornell, *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses*, Weinheim: Wiley-VCH, 2003.
- [116] D. F. M. P. A. R. C. R. L. V. E. a. R. N. M. Sophie Laurent, «Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications,» *Chemical Reviews*, vol. 108, n° 6, pp. 2064-2110, 2008.
- [117] D. S. B. E. B. B. C. C. D. W. P. J. J. L. S. R Weissleder, «Superparamagnetic iron oxide: pharmacokinetics and toxicity,» *American Journal of Roentgenology*, vol. 152, n° 1, pp. 167-173, 1989.
- [118] S. S. B. W. S. L. T. S. Morteza Mahmoudi, «Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): Development, surface modification and applications in chemotherapy,» *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 63, pp. 24-46, 2011.
- [119] S. T. A. T. V. L. P. B. S. L. J. M. L. P. V. P. R. R. E. Wei Li, «First-Pass Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Angiography in Humans Using Ferumoxytol, a Novel Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide(USPIO)-Based Blood Pool Agent,» *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, vol. 21, pp. 46-52, 2005.
- [120] L. M. N. C. A. M. R. A. M. Prathna T.C., «Biomimetic Synthesis of Nanoparticles: Science, Technology & Applicability,» de *Biomimetics Learning from Nature*, Rijeka: InTech, Amitava Mukherjee, 2010, p. 20.
- [121] K. S. M. M. N. K. N. B. B. A. K. S. E. B. M. K. X. L. Yen Pin Yew, «Green Synthesis of Magnetite (Fe₃O₄) Nanoparticles Using Seaweed (*Kappaphycus alvarezii*) Extract,» *Nanoscale Research Letters*, vol. 11, n° 1, p. 276, 2016.

- [122] J. L. Z. C. M. M. R. N. Ting Wang, «Green synthesized iron nanoparticles by green tea and eucalyptus leaves extracts used for removal of nitrate in aqueous solution,» *Journal of Cleaner Production journal*, vol. 83, pp. 413-419, 2014.
- [123] G. Y. P. V. Cheera Prasad, «Biogenic synthesis of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles using Pisum sativum peels extract and its effect on magnetic and Methyl orange dye degradation,» *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, vol. 424, pp. 376-381, 2016.
- [124] M. E. A. M. B. S. S. S. C. Fatma Hadrich, «Valorization of the Peel of Pea: Pisum sativum by Evaluation of Its Antioxidant and Antimicrobial Activities,» *Journal of Oleo Science*, vol. 63, n° 11, pp. 1177-1183, 2014.
- [125] Y. T. D. W. Luqman Agung Wicaksono, «Anthocyanin Extraction from Purple Sweet Potato Cultivar Antin-3 (Ipomoea batatas L .) using Maceration , Microwave Assisted Extraction , Ultrasonic Assisted Extraction and Their Application as Anti-Hyperglycemic Agents in Alloxan-Induced Wistar Rats,» *International Journal of PharmTech Research*, vol. 9, n° 3, pp. 181-192, 2016.
- [126] E. S. M.-M. C. G.-G. C. E.-. G. R. C.-P. Q.G. Alvarado-Palacios, «Nanoencapsulation of the Aranto (Kalanchoe daigremontiana) Aquoethanolic Extract by Nanospray Dryer and its Selective Effect on Breast Cancer Cell Line,» *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical*, vol. 7, n° 5, pp. 888-895, 2015.
- [127] M. S. B. M.-S. P. M. B. P. P. N. A. S. Joanna Kolodziejczyk-Czepas, «Bufadienolides from Kalanchoe daigremontiana as thrombin inhibitors—In vitro and in silico study,» *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 99, pp. 141-150, 2017.
- [128] L. A. M. Guarda y T.-A. M. Tran, «The Pathology of Breast Biopsy Site Marking Devices,» *The American Journal of Surgical Pathology*, vol. 29, n° 6, pp. 814-819, 2005.
- [129] K. A. S. L. C. Nina M. K. Lamba, «Buok Characterization and Structure - Property Relationships of Polyurethanes,» de *Polyurethanes in Biomedical Applications*, New York, CRC Press, 1998, pp. 43-86.
- [130] S. G. S. P. M. Abhijit Dan, «Physicochemical studies on the biopolymer inulin: A critical evaluation of its self-aggregation, aggregate-morphology, interaction with water, and thermal stability,» *Biopolymers*, vol. 91, n° 9, pp. 687-699, 2009.
- [131] R. J. F. Rubinson Kenneth A., Análisis Instrumental, Madrid: Pearson Educación S.A., 2001.
- [132] F. J. H. S. R. C. Douglas A. Skoog, Principios de Análisis Instrumental, Reino Unido: Cengage Learning, 2007.

- [133] Y.-Y. Y. S. W. S. Z. W. F. Ning Han, «Polymer-Based Cancer Nanotheranostics: Retrospectives of Multi-Functionalities and Pharmacokinetics,» *Current Drug Metabolism*, vol. 14, nº 6, pp. 661-674, 2013.
- [134] B. P. Z. S. P. Helena Janik, «Multiphase-separated polyurethanes studied by micro-Raman spectroscopy,» *Macromolecular Rapid Communications*, vol. 24, nº 3, pp. 265-268, 2003.
- [135] P. D. V. J. L. K. J. Blackwell, «Infrared and Raman Spectra of the Cellulose from the Cell Wall of *Valonia ventricosa*,» *Journal of Applied Physics*, vol. 41, nº 11, pp. 4375-4379, 1970.
- [136] A. L. Samy A. Madbouly, «Degradable Polyurethane/Soy Protein Shape-Memory Polymer Blends Prepared Via Environmentally-Friendly Aqueous Dispersions,» *Macromolecular Materials and Engineering*, vol. 297, nº 12, pp. 1213-1224, 2012.
- [137] L. K. G. M. F. V. Juan S. Páez, «Síntesis y caracterización térmica de poliuretanos obtenidos a partir de polioles derivados del aceite de higuera y diferentes aditivos retardantes de llama,» *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales*, vol. 36, pp. 225-234, 2016.
- [138] C. M. C. Slater, «Compression set of thermoplastic polyurethane under different thermal–mechanical–moisture conditions,» *Polymer Degradation and Stability*, vol. 96, nº 12, pp. 2139-2144, 2011.
- [139] P. L. Olga N. Shebanova, «Raman spectroscopic study of magnetite (Fe₃O₄): A new assignment for the vibrational spectrum,» *Journal of Solid State Chemistry*, vol. 174, nº 2, pp. 424-430, 2003.
- [140] A. S. A. M.-N. E. U.-G. A. d. C. J. F. M. A. A.-S. L. P. Belén Cortés-Llanos, «Thermal Route for the Synthesis of Maghemite/Hematite Core/Shell Nanowires,» *Journal of Physical Chemistry C*, vol. 121, nº 41, pp. 23158-23165, 2017.
- [141] X. W. Z. C. M. M. R. N. Lanlan Huang, «Green synthesis of iron nanoparticles by various tea extracts: Comparative study of reactivity,» *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 130, pp. 295-301, 2014.
- [142] A. P. Q. Gloria, Evaluación Citotóxica en Cáncer de Mama con Nanocápsulas de Extracto de Arato (*Kalanchoe daigremontiana*), elaboradas por Nanospray Dryer., México: Instituto Politécnico Nacional, 2015.
- [143] M. N. H. L. E. G. T. H. S. Robert J. Kroeze, «Biodegradable polymers in bone tissue engineering,» *Materials*, vol. 2, pp. 833-856, 2009.
- [144] D. F. M. P. A. R. C. R. L. V. E. R. N. M. Sophie Laurent, «Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical

- characterization, and biological applications.,» *Chemical Reviews*, vol. 108, n° 6, pp. 2064-2110, 2008.
- [145] A. S. K. K. F. C. S. A. J. G. Amel Hanini, «Evaluation of iron oxide nanoparticle biocompatibility,» *Int J Nanomedicine*, vol. 6, pp. 187-794, 2011.
- [146] O. V. Romina V. Gómez, «Synthesis of Polyhydroxy [n]-Polyurethanes Derived from a Carbohydrate Precursor,» *Macromolecules*, vol. 42, n° 21, pp. 8112-8117, 2009.
- [147] O. V. Romina V. Gómez, «Synthesis of Polyhydroxy [n]-Polyurethanes Derived from a Carbohydrate,» *Macromolecules*, vol. 42, pp. 8112-8117, 2009.
- [148] P. G. G. J. W. Britain, «Catalysis of the isocyanate-hydroxyl reaction,» *Applied polymer Science*, vol. 4, n° 11, pp. 207-211, 1960.
- [149] L. RW, *Organic chemistry of synthetic high polymers*, New York: Interscience, 1967.
- [150] G. L. A. S. S. G. A. L. Daniel Cohn, «PEO–PPO–PEO-based poly(ether ester urethane)s as degradable reverse thermo-responsive multiblock copolymers,» *Biomaterials*, vol. 27, n° 9, pp. 1718-1727, 2006.
- [151] L. C. C. D. M. S. N. a. R. L. Vittorio Crescenzi, «Novel Hydrogels via Click Chemistry: Synthesis and Potential Biomedical Applications,» *Biomacromolecules*, vol. 8, pp. 1844-1850, 2007.
- [152] T. R. C. R. H. V. V. F. K. B. S. a. M. G. F. Qian Wang, «Bioconjugation by Copper(I)-Catalyzed Azide-Alkyne [3 + 2] Cycloaddition,» *American Chemical Society*, vol. 125, n° 11, pp. 2596-2599, 3192-3193.
- [153] Q. Z. Z. L. S. D. Z. Z. Q. L. C. Y. C. D. Y. L. a. J. Q. Zhong'an Li, «An Attempt To Modify Nonlinear Optical Effects of Polyurethanes by Adjusting the Structure of the Chromophore Moieties at the Molecular Level,» *Macromolecules*, vol. 39, pp. 8544-8546, 2006.
- [154] D. F. a. F. D. Prez, «“Click” Chemistry as a Promising Tool for Side-Chain Functionalization of Polyurethanes,» *Macromolecules*, vol. 41, pp. 4622-4630, 2008.
- [155] S. Y. L. J. W. C. Sravendra Rana, «Synthesis and characterization of biocompatible poly(ethylene glycol)-functionalized polyurethane using click chemistry,» *Polym. Bull.*, vol. 64, pp. 401-411, 2010.
- [156] A. P. Vogt, *Macromolecular design via combinations of controlled radical polymerization techniques and click chemistry*, Texas: ProQuest Dissertations Publishing, 2009.
- [157] R. S. Wolfgang H. Binder, «Click' Chemistry in Polymer and Materials Science,» *Macromolecular*, vol. 28, n° 1, pp. 15-54, 2007.

- [158] R. N. a. K. V. R. Sasidhar Kantheti, «Click Chemistry Engineered Hyperbranched Polyurethane-Urea for Functional Coating Applications,» *Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol. 53, pp. 8357-8365, 2014.
- [159] R. N. K. V. S. N. R. Sasidhar Kantheti, «Development of moisture cure polyurethane-urea coatings using 1,2,3-triazole core hyperbranched polyesters,» *Coat. Technol. Res.*, vol. 10, n° 5, p. 609-619, 2013.
- [160] S. S. W. H. K. W. S. Y. Hsiue GH, «Novel phosphorus-containing dicyclopentadiene-modified phenolic resins for flame-retardancy applications,» *J Appl Polym Sci* 2001;79:342-9., vol. 79, pp. 342-349, 2001.
- [161] S. W. Zhu S, «Synthesis, characterization and flame retardancy of methacrylated phosphate/diphosphate,» *Polym Int* , vol. 53, pp. 266-271, 2004.
- [162] Y. J. C. K. C. K. Huang WK, «Flame retardation improvement of aqueous-based polyurethane with aziridiny phosphazene curing system,» *J Appl Polym Sci*, vol. 79, pp. 662-673, 2001.
- [163] N. A. Kotov, «Materials science: Carbon sheet solutions,» *Nature International Journal of Science*, vol. 442, pp. 254-255, 2006.
- [164] B. P. a. M. M. A. Nikje, «Preparation and Characterization of Novel Poly(Urethane-Imide),» *POLYMER-PLASTICS TECHNOLOGY AND ENGINEERING*, pp. 1526-1611, 2018.
- [165] D. L. X. H. ., J. L. H. T. ., J. L. Q. F. Q. G. Lijuan Zhou, «The degradation and biocompatibility of pH-sensitive biodegradable polyurethanes for intracellular multifunctional antitumor drug delivery,» *Biomaterials*, vol. 33, pp. 2734-2745, 2012.
- [166] J. H. a. A. Heise, «Stimuli responsive synthetic polypeptides derived from N-carboxyanhydride (NCA) polymerisation,» *Chem Soc Rev*, vol. 42, n° 17, pp. 7373-7390, 2013.
- [167] H. G. G. W. Y. W. Y. F. J. M. Xianke Sun, «Biodegradable and temperature-responsive polyurethanes for dexamethasone delivery,» *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 412, pp. 52-58, 2011.
- [168] J. M. R. ., P. C. I. ., a. G. G. W. Mohammad Ziabari Seyedin, « Strain-Responsive Polyurethane/PEDOT:PSS Elastomeric,» *Adv. Funct. Mater*, vol. 24, pp. 2957-2966, 2014.
- [169] Y. J. ., J. P. F. S. L. X. S. Weining Du, «Thermal induced shape-memory and self-healing of segmented polyurethane containing diselenide bonds,» *Applied POLYMER Science*, vol. 135, n° 22, 2018.
- [170] M. K. E. M. Aleksander Prociak, «Porous polyurethane plastics synthesized using bio-polyols,» *POLYMER*, vol. 62, n° 5, pp. 353-363, 2017.

- [171] Y. J. T. S. R. Q. H. L. W. F. Xinfeng Cheng, «An injectable, dual pH and oxidation-responsive supramolecular hydrogel for controlled dual drug delivery,» *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 141, pp. 44-52, 2016.
- [172] M. B. V. L. J. A. D. Frank T. Moerman, «Enrichment of Higher Molecular Weight Fractions in Inulin,» *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, pp. 3780-3, 2004.