

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

**DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN EN
POLÍMEROS Y MATERIALES**

**“Membranas electrohiladas de poliuretano
con hidroxapatita-vancomicina para posible
aplicación en ingeniería de tejidos óseos y
liberación de fármacos”**

**Que para obtener el título de:
DOCTORADO EN CIENCIA DE
MATERIALES**

1942

Presenta:

M.C. CLAUDIA VÁSQUEZ LÓPEZ

HERMOSILLO, SONORA.

DICIEMBRE DEL 2021

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



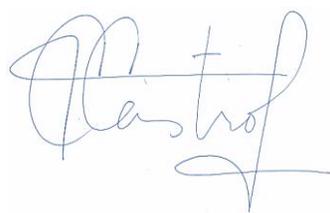
Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en esta tesis es propiedad intelectual de la Universidad de Sonora y del Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales (DIPM). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del director de tesis, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del director de la Tesis.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al DIPM, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director de tesis.

Dra. Teresa del Castillo Castro

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Castro', with a stylized flourish at the end.

Jefe del Departamento

APROBACIÓN DE TESIS

Los miembros del jurado designado para revisar la tesis de doctorado de CLAUDIA VÁSQUEZ LÓPEZ han dictaminado que el trabajo cumple satisfactoriamente como requisito parcial para obtener el grado de **Doctor en Ciencia de Materiales** otorgado por la Universidad de Sonora.



DRA. MARÍA MÓNICA CASTILLO ORTEGA

Presidente



DRA. LERMA HANATY CHAN CHAN

Secretario



DRA. DORA EVELIA RODRÍGUEZ FÉLIX

Sinodal



DR. JOSÉ CARMELO ENCINAS ENCINAS

Sinodal



DRA. MARÍA ELISA MARTINEZ BARBOSA

Sinodal Suplente



DR. PEDRO JESUS HERRERA FRANCO

Sinodal Externo

AGRADECIMIENTOS

Claudia Vásquez López agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca 637410, para desarrollar este proyecto.

A la Universidad de Sonora, al Departamento de investigación en polímeros y materiales.

A Dra. Mónica Castillo por todo el apoyo recibido durante mi doctorado.

A Dra. Lerma Chan por su paciencia y disposición.

A todos los sinodales.

Al Dr. Pedro Herrera y al Dr. Juan V. Cauich, por permitirme desarrollar una estancia en el Centro de Investigación Científica de Yucatán durante los años 2018 y 2019, para fortalecer mis conocimientos durante el doctorado.

Al Dr. Jesús Quiroz por el apoyo recibido en las correcciones de gramática y estructura de mi artículo.

A la Dra. Silvia Elena Burruel Ibarra colaboró en los análisis SEM.

A Damián Francisco Plascencia-Martínez, Dra. Irela Santos, que colaboraron con la caracterización térmica.

Javier Iván Cauich-Cupul, colaboró en las pruebas de ensayo mecánico.

Hugo Joel Carrillo-Escalante, preparó materiales adicionales por electrohilado.

Rossana Vargas-Coronado colaboró en las pruebas de viabilidad celular. durante las estancias de investigación en el Centro de Investigación Científica de Yucatán.

A mi familia, mis hijos y mi esposo.

A mis amigos.

INDICE

INDICE DE FIGURAS.....	IV
INDICE DE TABLAS	V
RESUMEN.....	VI
ABSTRACT	VII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1. General:	3
2.2. Particulares:.....	3
3. ANTECEDENTES	4
3.1. Polímeros y biomateriales.....	4
3.1.1. Materiales biodegradables	4
3.1.2. Cerámicos.....	6
3.1.3. Aplicaciones.....	6
3.2. Liberación de fármacos en andamios electrohilados	7
3.2.1. Vancomicina	7
3.2.2. Actividad antimicrobiana	8
3.3. Ingeniería de tejidos.....	8
3.3.1. Poliuretanos para Ingeniería de tejidos óseo	9
3.3.2. Biocompatibilidad	10

3.4. Biomateriales híbridos para aplicación en ingeniería de tejidos de hueso	10
3.4.1. Biomimetismo	10
3.4.2. Hidroxiapatita	11
3.4.3. Poliéster uretano	11
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
4.1. Materiales	13
4.2. Síntesis de poliuretano (PU2)	13
4.3. Preparación de membranas mediante la técnica de electrohilado...	13
4.4. Técnicas de caracterización.....	15
4.4.1. Espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FTIR)	15
4.4.2. Mediciones de difracción de rayos X (DRX).....	15
4.4.3. Peso molecular	15
4.4.4. Microscopía electrónica de barrido (SEM)	15
4.4.5. Análisis termogravimétrico (TGA)	16
4.4.6. Análisis mecánico dinámico (DMA).....	16
4.4.7. Calorímetro diferencial de barrido (DSC)	16
4.4.8. Ensayo de tensión mecánica	16
4.4.9. Estudios in vitro de liberación de fármacos.....	17
4.4.10. Pruebas citotóxicas in vitro.	17
4.4.11. Prueba de actividad antimicrobiana	18
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	19
5.1. Caracterización de poliuretanos prístinos	19
5.2. Caracterización de membranas electrohiladas	21
5.2.1. Análisis morfológico por SEM	21
5.2.2. Análisis químico por FTIR y estudios de difracción de rayos X... 23	
5.2.3. Caracterización térmica y mecánica	28

5.2.4. Liberación in vitro de fármaco en solución	32
5.2.5. Pruebas citotóxicas in vitro	37
5.2.6. Actividad antimicrobiana	38
6. CONCLUSIONES.....	40
7. REFERENCIAS.....	42
8. ANEXOS	47
8.1. Presentación en Congresos.....	47
8.2. Estancias de investigación.....	47
8.3. Artículos de investigación durante el doctorado.	48
8.3.1. Artículo de primer autor, como requisito de titulación.....	48
8.3.2. Artículo de colaboración.....	49

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. a) Espectros FTIR de PU1 y PU2., (b) patrones XRD de PU1 y PU2.	20
Figura 2. Imágenes SEM a 5000 X de las membranas electrohiladas de PU. (a) PU1 (b) PU1-nHA, (c) PU1-VA, (d) PU1-nHA-VA, (e) PU2, (f) PU2-nHA, (g) PU2-VA y, (h) PU2-nHA-VA.	22
Figura 3. Espectros FTIR de (a) PU1-nHA, (b) PU1-VA, (c) PU1-nHA-VA, (d) PU2-nHA, (e) PU2-VA, (f) PU2-nHA-VA, (g) nHA y (h) VA.	25
Figura 4. Los posibles enlaces de hidrógeno que se forman entre el PU1 o PU2 y VA se indican en sus estructuras químicas con puntos rojos.	26
Figura 5. Patrones de difracción de rayos X de las membranas compuestas electrohiladas de (a) PU1-nHA, (b) PU1-VA, (c) PU1-nHA-VA, (d) PU2-nHA, (e) PU2-VA, (f) PU2-nHA-VA, (g) nHA y (h) VA.	27
Figura 6. (a) termogramas de las membranas electrohiladas de PU1, PU1-nHA, PU1-VA y PU1-nHA-VA, (b) termogramas de las membranas electrohiladas de PU2, PU2-nHA, PU2-VA, PU2-nHA-VA.	29
Figura 7. Liberación de VA de las fibras electrohiladas de ■ (a) PU1-VA, ▲ (b) PU1-nHA-VA, ◆ (c) PU2-VA, ● (d) PU2-nHA-VA	34
Figura 8. Imagen SEM después de la liberación de las membranas: (a) PU1-VA, (b) PU1-nHA-VA. (c) PU2-VA y (d) PU2-nHA-VA.	35
Figura 9. Viabilidad celular de extractos de las membranas electrohiladas	38
Figura 10. Inhibición de <i>S. aureus</i> para membranas electrohiladas a las 24 h de exposición (a) PU1, (b) PU1-nHA, (c) PU1-VA, (d) PU1-nHA-VA, (e) PU2, (f) PU2-nHA, (g) PU2-VA, (h) PU2-nHA-VA	39

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Materiales biodegradables poliméricos usados en aplicaciones clínicas	5
Tabla 2. Parámetros utilizados para la preparación de membranas electrohiladas.	14
Tabla 3. Parámetros de composición de pesos moleculares medios, Mw, Mn y PDI.....	20
Tabla 4. Propiedades térmicas y mecánicas de las membranas electrohiladas. Medias ± Desviación estándar.	32
Tabla 5. Modelos de liberación de las fibras electrohiladas de PU1-VA, PU1-nHA-VA, PU2-VA y PU2-nHA-VA en un tiempo de equilibrio de 10 minutos.	37

RESUMEN

El propósito de este estudio es evaluar el comportamiento de liberación de fármacos y otras propiedades de las membranas compuestas electrohiladas para su uso potencial en ingeniería de tejidos. Se estudiaron dos tipos de poliuretano, Tecoflex® (PU1) y un poliuretano fabricado en laboratorio (PU2).

Se mezclaron con nano-hidroxiapatita (PU1-nHA y PU2-nHA) y vancomicina (PU1-VA y PU2-VA) o mezclados con ambos, nHA y VA (PU1-nHA-VA y PU2-nHA-VA). La microscopía electrónica de barrido mostró una estructura porosa en todas las membranas electrohiladas con fibras lisas en PU1 y sus compuestos, con tamaños en el rango de 0.6–0.9 μm . Se observó HA adherido o embebido sobre las fibras de PU. La nHA y VA afectaron el comportamiento térmico y mecánico de los compuestos.

El Módulo elástico, la citotoxicidad y la cinética de liberación se vieron afectadas por el PU y el nHA. La viabilidad celular mayor a 75% mostró que todos los extractos de los materiales no son citotóxicos, sin embargo, se observó actividad de inhibición microbiana en PU1-VA, PU1-nHA-VA y PU2-VA.

ABSTRACT

The purpose of this study is to evaluate the drug delivery behavior and other properties of electrospun composite membranes for potential use in tissue engineering. Tecoflex® (PU1), and a lab-made polyurethane (PU2) were studied.

They were mixed with nano-hydroxyapatite (PU1-nHA and PU2-nHA) and vancomycin (PU1-VA and PU2-VA) or mixed with both, nHA and VA (PU1-nHA-VA and PU2-nHA-VA). Scanning electron microscopy showed a porous structure in all the electrospun membranes with smooth fibers in PU1 and its composites with sizes in the range of 0.6–0.9 μm and nanoparticles of HA, both, adhered and embedded on the PU fibers were observed. nHA and VA affected the thermal and mechanical behavior of composites.

Elastic modulus, cytotoxicity, and kinetic release were affected by the PU and nHA. Cell viability up to 75% showed that all membrane extracts are not cytotoxic while microbial inhibition activity was observed in PU1-VA, PU1-nHA-VA, and PU2-VA.

1. INTRODUCCIÓN

Las membranas electrohiladas han mostrado un gran potencial para su aplicación en la ingeniería de tejidos debido a sus propiedades únicas, como su gran superficie de contacto y alta porosidad. Pueden extraerse de soluciones de diversos materiales biodegradables^{1,2} y no biodegradables,³ incluidos polímeros,⁴ materiales compuestos⁵ y materiales cerámicos.^{6,7} El poliuretano (PU) y la hidroxiapatita (HA) son ejemplos de un polímero y una cerámica que se pueden utilizar para obtener membranas y fibras porosas con morfologías ultrafinas mediante electrohilado.^{8,9,10,11,12,13,14,15} El rendimiento de las membranas de interés clínico puede mejorarse mediante la adición de nutrientes para tejidos en crecimiento u otras moléculas.^{9,16,17}

El poliuretano (PU)^{18,19,20} pertenece a una familia de polímeros aptos para diversas aplicaciones biomédicas por sus notables propiedades fisicoquímicas y mecánicas y su alta biocompatibilidad. Un andamio de PU y HA es un material biocompatible y representa una opción para el montaje de prótesis óseas.^{6,21} Debido a su composición sintonizable, los PU han sido opciones comunes para la preparación de dispositivos de administración de fármacos.²² La HA como biomaterial, se comporta como una estructura osteoconductora que puede ser invadida por tejido conectivo del hueso circundante para posteriormente osificarse, manteniendo en su interior las características de su origen⁷ y ha sido cargada de fármacos para ser liberado en el sitio de aplicación. Además, la vancomicina (VA) es un antibiótico soluble en agua que se usa para tratar infecciones óseas causadas por bacterias Gram positivas como *Staphylococcus aureus*.^{23,24,25}

Los principales avances en la ingeniería de tejidos se han centrado en temas como las células madre, los factores de crecimiento, la diferenciación celular y andamios que imiten la matriz extracelular con moléculas biológicamente activas.^{26,27} Los parámetros clave para la estructura y morfología de un andamio incluyen el tamaño de los poros y la porosidad y la compatibilidad entre células y tejidos.¹⁵

En este trabajo, un poliéteruretano de marca comercial Tecoflex® (PU1) y un poliésteruretano sintetizado en nuestro laboratorio (PU2) se utilizaron para preparar membranas compuestas electrohiladas mezcladas con nano HA y VA, con aplicación potencial en los campos de la ingeniería de tejido óseo y la liberación de fármacos.

2. OBJETIVOS

2.1. General:

Obtener andamios electrohilados a partir de poliuretano segmentado biodegradable (PU-PCL), para aplicación en liberación de fármacos e ingeniería de tejidos óseo.

2.2. Particulares:

- Sintetizar un polímero biodegradable PU a base de PCL, HMDI y BDO (PU-PCL).
- Encontrar las mejores condiciones para obtener membranas elaboradas a partir del PU-PCL mediante la técnica de electrohilado.
- Preparar diferentes membranas compuestas de PU-PCL, con y sin HA y VA (PU, PU-HA, PU-VA, PU-HA-VA).
- Caracterizar las membranas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), espectroscopía de infrarrojo (IR-ATR), calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis termogravimétrico (TGA), Análisis Mecánico-Dinámico (DMA).
- Evaluar la liberación de VA en las membranas.
- Realizar ensayos a tensión de las membranas de PU-PCL obtenidas para evaluar las propiedades de los materiales.
- Estudiar la cinética y los modelos de liberación de VA de las membranas.
- Realizar pruebas de biocompatibilidad, mediante experimentos de citotoxicidad, respuesta inmune y proliferación de osteoblastos de las membranas.
- Evaluar la actividad antimicrobiana de las membranas obtenidas.

3. ANTECEDENTES

3.1. Polímeros y biomateriales

Durante miles de años, se han estado utilizando diferentes materiales como sustancias de interés práctico para lograr funciones específicas. Tan pronto como estuvieron disponibles industrialmente, los polímeros sintéticos (a diferencia de los polímeros naturales) han sido probados para diversas aplicaciones clínicas y comerciales. Ejemplos de tales compuestos son polietileno de masa molar ultra alta (UHMWPE), poli (tetrafluoroetileno) (PTFE), poli (metacrilato de metilo) (PMMA), otros acrílicos y metacrílicos, siliconas, poliuretanos, etc.

3.1.1. Materiales biodegradables

Los polímeros biodegradables tienen un papel importante en la ingeniería de tejidos, por ejemplo, como andamios óseos en lesiones óseas.²⁸

Para la regeneración de tejidos, están involucrados muchos factores en el proceso de curación, tales como procesos celulares, presencia de moléculas de señalización, morfología de matrices tridimensionales (3D), etc.^{29,30,31} Cuando son implantados los andamios artificiales en los sitios de defectos óseos, se espera que los andamios generen el crecimiento de nuevas células óseas. El proceso de remodelación consta de dos etapas en las que: los osteoclastos son responsables de la descomposición y eliminación de las células en la superficie del hueso, y los osteoblastos sintetizan los precursores de colágenos para la formación de matriz ósea. En la tabla 1 se presentan algunos polímeros biodegradables utilizados en tales aplicaciones clínicas.²⁸

Tabla 1. Materiales poliméricos biodegradables usados en aplicaciones clínicas.

Tipo	Polímeros	Propiedades
Sintéticos	<ul style="list-style-type: none"> • Poli (ácido láctico) • Poli (p-dioxanona) • Copolímeros de ácido glicólico y ácido láctico • Copolímeros de trimetilencarbonato y ácido glicólico 	<ul style="list-style-type: none"> • diferente peso molecular • polidispersidad • cristalinidad • transición térmica • velocidad de degradación
Naturales	Derivados de proteínas: <ul style="list-style-type: none"> • colágeno, gelatina, albúmina. • polisacáridos celulosa, hialuronato, quitina, alginato. 	Cambios en las actividades celulares y desviación en las cargas de la superficie: <ul style="list-style-type: none"> • hidrofobicidad, • cristalinidad

De acuerdo con la literatura^{32,33,34} los andamios poliméricos han evolucionado para servir como soportes celulares y guías de crecimiento celular para la formación de nuevos tejidos. Para ello se requiere una caracterización completa para la fabricación de andamios 3D exitosos. La literatura^{35,32,36} destaca algunas características que son importantes a tener en cuenta cuando se aplican andamios para la reconstrucción de tejidos: la geometría externa, propiedades de superficie, porosidad y tamaño de poro, adherencia de interfaz y biocompatibilidad, tasas de degradación y propiedades mecánicas. Los andamios de ingeniería de tejidos consideran las propiedades de la superficie y el diseño de estructuras 3D como factores importantes para la unión celular y la proliferación. El análisis *in vivo* de la respuesta celular a los andamios de ingeniería de tejidos proporciona una mejor comprensión de la respuesta del huésped al implante en un entorno *in vivo*.³⁵

Comparativamente con los polímeros naturales, los polímeros sintéticos pueden proporcionar uniformidad, estar libres de problemas de inmunogenicidad y constituir

una fuente confiable de materias primas. El desarrollo en la estructura de andamios está directamente relacionado a diversos métodos, y pueden usarse para fabricar: andamios fibrosos, andamios funcionales, andamios cerámicos y órganos artificiales, también se han probado diversos métodos de automatización y esterilización de andamios.³² Además, las propiedades de la superficie del material y los factores ambientales también pueden influir en gran medida en la interacción entre las células y los andamios de biomateriales promoviendo o no la adhesión.³⁵

3.1.2. *Cerámicos*

Dentro de los biomateriales se encuentran los cerámicos, que son útiles para la reparación del esqueleto humano, así como también la reconstrucción parcial o total de los huesos, lo cual proporciona una mejor calidad de vida, principalmente para las personas de edad avanzada. Generalmente se requiere un injerto para sustituir o reparar el defecto óseo. Debido a esto, se han investigado cada vez más biomateriales cerámicos con el fin de que no sean dañinos a los tejidos sanos. En la actualidad lo más novedoso está centrado en el diseño y fabricación de materiales para medicina regenerativa, sistemas de cultivo, liberación controlada de fármacos y aplicaciones biónicas.²²

3.1.3. *Aplicaciones*

Los biomateriales sintéticos se utilizan con éxito en aplicaciones como prótesis total de cadera (UHMWPE), injertos vasculares (PTFE, siliconas), lentes intraoculares [PMMA y poli (metacrilato de 2-hidroxietilo) (PHEMA) y siliconas], odontología (PMMA y otros metacrilatos), etc. Estas aplicaciones requieren de un período de tiempo limitado, es decir, el período de curación. Para estas aplicaciones, idealmente, el biomaterial debe desaparecer del cuerpo después de la curación para evitar el almacenamiento de un material extraño innecesario. Por lo tanto, cualquier macromolécula o polímero de alta masa molar que se vaya a usar por vía parental (inyección, infusión, implantación), durante un período de tiempo limitado primero debe degradarse, en términos de disminución de la masa molar, y convertirse en compuestos solubles de baja masa molar para ser excretables, a menos que los

subproductos de degradación puedan procesarse bioquímicamente y transformarse en dióxido de carbono, agua y biomasa. La demanda de polímeros quirúrgicos se extendió progresivamente a dominios como la farmacología (sistemas de administración de fármacos, macromoléculas bioactivas) y la odontología (aumento óseo, membranas periodontales). Las investigaciones más recientes están orientadas a la ingeniería de tejidos y las prótesis temporales medicadas, es decir, las prótesis temporales que están asociadas con fármacos u otras sustancias bioactivas, incluidas las macromoléculas (como ADN, genes, proteínas y péptidos).³⁷

3.2. Liberación de fármacos en andamios electrohilados

La técnica del electrohilado permite una mayor flexibilidad en la selección de materiales para aplicación en la liberación de fármacos. Cualquiera de los materiales biodegradables o no degradables pueden ser usados para controlar si la liberación del fármaco se produce por difusión '*per se*', o a través de la difusión y la degradación del andamio. Además, gracias a la flexibilidad en la selección de material, un gran número de fármacos pueden ser atrapados: antibióticos, medicamentos contra el cáncer, proteínas y ADN. También se puede utilizar diferentes métodos de carga de fármaco por electrohilado, como: recubrimientos, incrustado y encapsulación (coaxial y electrohilado de emulsión). Estas técnicas pueden ser utilizadas para dar mayor control sobre la cinética de liberación del fármaco.¹²

3.2.1. Vancomicina

La vancomicina, cuya fórmula es $C_{66}H_{75}Cl_2N_9O_{24}$, es un antibiótico glicopéptido tricíclico que se sintetiza de modo natural por *Nocardia orientalis*. Su efecto bactericida inhibe la síntesis de la pared celular bacteriana. Su modo de acción se basa en alterar la acción de la transglucosidasa por impedimento estérico.

El tratamiento con VA es una terapia eficaz para tratar las infecciones causadas por bacterias Gram positivas tales como *Staphylococcus aureus*. La vancomicina tiene menos efectos negativos sobre los osteoblastos y células esqueléticas que otros antibióticos comúnmente usados *in vitro*,³⁸ y no impide el crecimiento óseo en fracturas *in vivo*.³⁹ Por ello, es un antibiótico de interés en la fabricación de sistemas cargados de fármaco, para implantes óseos o andamios para regeneración de hueso.

Se han desarrollado diferentes estrategias para la liberación de la vancomicina a partir de mezclas polímero-VA. Idealmente, el sistema de suministro debe liberar la vancomicina muy por encima de la concentración efectiva antibacteriana (es decir, la concentración mínima, CMI) de manera sostenida.⁴⁰ Durante el tratamiento de la osteomielitis, por infección presente en los huesos debida a *Staphylococcus aureus*, es conveniente que la liberación de vancomicina se realice a concentraciones superiores a la CMI durante 6-8 semanas.⁴¹

3.2.2. Actividad antimicrobiana

Este método se emplea para evaluar la sensibilidad de un agente microbiano frente a un fármaco, es una prueba de susceptibilidad frente a drogas específicas. Los resultados se expresan como sensible (S), intermedio (I) y resistente (R). Es importante evaluar la actividad antimicrobiana para polímeros híbridos cargados con fármacos para su liberación, para combatir infecciones y evitar de esta forma el desarrollo de resistencia a los antibióticos. Los nuevos materiales sintéticos deben poseer propiedades antimicrobianas para utilizarse en dispositivos médicos.⁴²

3.3. Ingeniería de tejidos

La ingeniería de tejidos es un campo interdisciplinario que combina el conocimiento y la tecnología de las células, los materiales de ingeniería y el factor bioquímico adecuados para crear órganos y tejidos artificiales, o para regenerar tejidos dañados.⁴³ Implica la siembra de células en un andamio o soporte, seguido de

cultivo *in vitro* antes de la implantación *in vivo*. Los andamios ideales proporcionan un marco y un soporte inicial para que las células se unan, proliferen y diferencien, y formen una matriz extracelular (ECM).⁴⁴ Cabe señalar que se ha demostrado que la topografía de la superficie del andamio y la química (humectabilidad, suavidad y rigidez, rugosidad); microestructura (porosidad, tamaño de poro, forma de poro, interconectividad, área de superficie específica)⁴⁵ y propiedades mecánicas^{46,47} influyen significativamente en los comportamientos celulares, como la adhesión, el crecimiento y la diferenciación, y que afectan la bioactividad de los andamios utilizados para aplicaciones de regeneración *in vivo* de diversos tejidos, como el cartílago, la piel y los nervios periféricos. Para fines de ingeniería de tejidos, comprender el comportamiento celular y las respuestas en andamios extracelulares dentro de una construcción 3D fisiológicamente relevante puede ayudar al diseño de andamios bioactivos óptimos. Controlar el comportamiento celular y la remodelación mediante la modulación del proceso del entorno extracelular mediante ingeniería local también es un paso crítico en el desarrollo de la próxima generación de andamios bioactivos para ingeniería de tejidos.³⁵

3.3.1. Poliuretanos para Ingeniería de tejidos óseo

Una de las grandes ventajas de los andamios de poliuretano elastomérico es el contacto íntimo entre el implante y el hueso nativo. Se ha encontrado que este contacto ayuda a eliminar las fuerzas de corte en la interfaz hueso-implante y facilita la proliferación de células osteogénicas, lo que promueve la regeneración ósea. Otras ventajas de los poliuretanos es la posibilidad de diseñarlos para obtener las propiedades deseadas, por ejemplo, el uso de segmentos alifáticos evita la toxicidad de los productos de degradación y el uso de péptidos o aminoácidos como extensores de cadena puede incluir grupos funcionales.^{48,49} Además, el carácter hidrofílico/hidrofóbico de los poliuretanos afecta su viabilidad celular.⁵⁰

3.3.2. *Biocompatibilidad*

La biocompatibilidad es la capacidad de un biomaterial para desempeñar una función sin provocar ningún efecto indeseable local o sistémico debido a un tratamiento médico y al mismo tiempo generar una buena respuesta celular o del tejido.

Existen muchos materiales utilizados en ingeniería de tejidos, los cuales se dividen en materiales naturales y materiales sintéticos. Dentro de los naturales se incluyen, por ejemplo, el colágeno, los glucosaminoglicanos, quitosano y alginato. Las ventajas de éstos es que poseen una baja toxicidad y respuesta inflamatoria crónica. Dentro de sus desventajas se encuentran las pobres propiedades mecánicas, así como estructuras complejas, que pueden dificultar su manipulación. Por lo que tienen la posibilidad de combinarse con otros materiales naturales o sintéticos, con el fin de mejorar las propiedades mecánicas manteniendo su biocompatibilidad.⁵¹

3.4. Biomateriales híbridos para aplicación en ingeniería de tejidos de hueso

3.4.1. *Biomimetismo*

Puede ser beneficioso para un andamio emular ciertas características de la matriz extracelular (MEC) para promover el crecimiento de las células regenerativas. Aunque, una MEC natural o sus derivados en realidad pueden no ser el andamio ideal para aplicaciones de ingeniería de tejidos porque la ingeniería de tejidos debería ser un proceso de regeneración acelerado en comparación con el programa de desarrollo natural. Además, ciertas características de andamio artificial (como porosidad, tamaño de poro, conectividad inter-poro, etc.) que son necesarias, pueden ser diseñadas para aplicaciones óptimas en ingeniería tisular (regeneración tisular acelerada). Adicionalmente, siempre hay preocupaciones sobre el posible rechazo inmune y la transmisión de patógenos cuando se usa una MEC de origen natural.⁵²

3.4.2. *Hidroxiapatita*

La HA está formada por fosfato de calcio cristalino ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$). Representa el 99% de calcio corporal y el 80% del fósforo total. Constituye el 70 % del peso seco del tejido óseo, siendo muy resistente a la compresión. Forma parte de los biocerámicos, es un material biocompatible y representa una opción para la fabricación de prótesis de hueso.⁷

La HA se comporta como una estructura oseoconductiva que permite ser invadida por tejido conectivo proveniente del hueso circundante para posteriormente osificarse, manteniendo en su interior las características de su origen.

La HA se ha utilizado para inducir la formación de apatita más ampliamente. Se ha informado recientemente que la adición de nanopartículas de HA mejora significativamente el comportamiento de la mineralización. Además, que se prefiere utilizar en este tamaño, debido a su alta relación superficie-volumen, lo que produce una suspensión uniforme durante el proceso de mezclado con polímeros.⁵³

Por otra parte, la nano HA tiene mejor bioactividad que los cristales más gruesos y representan claramente una clase única y prometedora de formulaciones de implantes ortopédico/dental con propiedades oseointegrativas mejoradas.

3.4.3. *Poliéster uretano*

Recientemente, el interés en el diseño de nuevos poliuretanos biodegradables está aumentando debido a su posible aplicación como matriz extracelular artificial en la ingeniería de tejidos. La selección correcta de segmentos blandos y duros y su relación molar influye en las propiedades físicas, mecánicas y biológicas requeridas para una aplicación específica.^{54,55} La incorporación de enlaces éster lábiles en el segmento blando mediante el uso de policaprolactonas o polilactidas mejora la degradabilidad del material.⁵⁶ Por otra parte, la composición química de los segmentos duros puede afectar las propiedades mecánicas y biológicas de los materiales.⁵⁷ En los poliuretanos biodegradables, los segmentos duros suelen estar

compuestos por diisocianatos alifáticos seleccionados, los cuales han demostrado que generan productos de degradación no citotóxicos.⁵⁸

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Materiales

El poliuretano Tecoflex® (PU1, EG-85A, grado médico) se obtuvo de Lubrizol Co. Nano hidroxapatita (nHA, Mw = 502.31 g/mol, partícula <200 nm), clorhidrato de vancomicina, (VA, Mw = 1.485,71 g/mol), dimetilformamida (DMF, 99,8%) y tetrahidrofurano (THF, 99.9%), se adquirieron de Sigma-Aldrich, EE. UU. La solución salina tamponada con fosfato (PBS, pH = 7.4 ± 0.2) se adquirió de DiaSorin Co, EE. UU.

Se utilizaron policaprolactona diol (PCL, Mw = 2000), 4,4-metilen bis (ciclohexil isocianato) (HMDI), butanodiol (BD), octoato de estaño y dimetilformamida (DMF, 99,8%) para sintetizar poliuretano PU2. Se adquirieron en Sigma-Aldrich, EE. UU.

4.2. Síntesis de poliuretano (PU2)

PU2 se sintetizó en una solución 70:30 de DMF mediante una reacción de dos pasos, con una relación molar de 1:4.05:3.05 de PCL: HMDI:BD.⁵⁹ En el primer paso, el diol de PCL se mezcló con un exceso de HMDI, en un reactor a 60 °C, atmósfera de N₂ y octoato de estaño al 0.3% como catalizador. En el segundo paso, el BD se utilizó como extensor de cadena. El tiempo de reacción en el primer paso fue de 4 horas mientras que en el segundo paso fue de 2 horas. Pasado este tiempo, el PU2 se precipitó en agua destilada y se lavó exhaustivamente para eliminar el disolvente y los residuos.

4.3. Preparación de membranas mediante la técnica de electrohilado.

Se utilizó una mezcla de disolventes de DMF y THF (70/30% v/v) para disolver PU1 y PU2 a concentraciones de 10% y 50% (p/p) respectivamente. Las membranas compuestas se prepararon mediante dispersión de nHA utilizando un baño ultrasónico durante 30 minutos en la mezcla de disolventes de DMF y THF, para obtener una suspensión al 10% p/p con respecto a PU1 y PU2. Se disolvió VA

al 7% en peso con respecto a PU1 y PU2. De esta forma, VA se dispersó en las fibras PU1 o PU2 obtenidas. La solución de polímero se colocó en una jeringa de plástico de 6 mL y se controló mediante una bomba de flujo (KDS200, KD Scientific Inc., EE. UU.). Se utilizó una aguja de 0.8 mm de diámetro. En la tabla 2 se muestran los parámetros utilizados para la elaboración de cada membrana. Para encontrar los parámetros informados en la Tabla 2, se probaron diferentes valores para velocidad de flujo, distancia y voltaje. La velocidad de flujo se evaluó en intervalos de 0.5 mL h⁻¹, de 0.5 a 4 mL h⁻¹. La distancia se evaluó de 10 a 20 cm, utilizando intervalos de 5 cm. Se probó voltaje de 7 a 20 kV, evaluando a 7, 10, 13, 15, 16 y 20 kV.

Tabla 2. Parámetros utilizados para la preparación de membranas electrohiladas.

Composición y nombre de la muestra	Parámetros		
	Flujo (mL/h)	Distancia (cm)	Voltaje (kV)
PU1	2	15	15
PU1-nHA	2	15	15
PU1-VA	1	15	16
PU1-nHA-VA	1	15	16
PU2	1	15	10
PU2-nHA	1	15	10
PU2-VA	1	15	10
PU2-nHA-VA	1	15	10

4.4. Técnicas de caracterización

4.4.1. Espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FTIR)

La composición química de los poliuretanos y las membranas compuestas se determinó mediante espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FTIR, modelo Perkin Elmer Frontier) y la técnica de reflectancia total atenuada. Los barridos de escaneo se llevaron a cabo en el rango de número de onda de 4000 a 500 cm^{-1} y promediaron 50 escaneos y resoluciones de 4 cm^{-1} .

4.4.2. Mediciones de difracción de rayos X (DRX)

La estructura de los poliuretanos y las membranas compuestas se determinó mediante difracción de rayos X (DRX). Los patrones de DRX se obtuvieron en un equipo Rigaku SmartLab operando a 40 kV y 20 mA, usando radiación CuK α ($\lambda = 1.54 \text{ \AA}$). Las mediciones de DRX se adquirieron en un rango de 2θ de 5 a 60° con un tamaño de paso de 0.02°.

4.4.3. Peso molecular

El peso molecular por peso (Mw), el número molecular (Mn) y el índice de polidispersidad (IPD) se determinaron usando Cromatografía de Permeación en Gel (CPG) inyectando las soluciones de muestra en un equipo Alliance 2695 GPC a 30 °C. Se pesaron muestras de 10 mg y se disolvieron en 10 mL de cloroformo, luego se filtró una corriente de solución de 100 mL en filtros de teflón (0.45 μm) para eliminar el material insoluble. La determinación de los diferentes promedios de peso molecular se basa en la curva de calibración relativa a los patrones de poliestireno (PS).

4.4.4. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Las membranas se caracterizaron mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), utilizando un microscopio electrónico de barrido JEOL 5410LV antes

y después de la liberación del fármaco. Se utilizó un haz de electrones de 20 kV de intensidad a alto vacío y todas las muestras se recubrieron con una película de oro.

4.4.5. Análisis termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico (TGA) se realizó en un equipo Perkin Elmer Pyris. Las muestras se mantuvieron a 25 °C durante un minuto seguido de calentamiento hasta 600 °C a una velocidad de 10 °C min⁻¹ en una atmósfera inerte.

4.4.6. Análisis mecánico dinámico (DMA)

El análisis mecánico dinámico se realizó utilizando un Perkin Elmer DMA 8000 utilizado en modo de tensión. Se calentaron muestras de 28.84 mm de longitud, 0.61 mm de espesor y 8.96 mm de ancho de -50 °C a 100 °C a una velocidad de 2 °C/min.

4.4.7. Calorímetro diferencial de barrido (DSC)

Para la calorimetría diferencial de barrido se utilizó un equipo Perkin Elmer DSC 8500. Se encapsuló una muestra de 10 mg en una bandeja de aluminio y se analizó. Se mantuvo una temperatura de -70 °C durante un minuto, seguido de un calentamiento hasta 230 °C, un enfriamiento hasta -70 °C y un recalentamiento hasta 230 °C, a una velocidad de 10 °C min⁻¹.

4.4.8. Ensayo de tensión mecánica

La prueba de tensión mecánica se llevó a cabo de acuerdo con la norma ASTM D882, utilizando una máquina de pruebas universales de precisión Shimadzu (Modelo Autograph AGS-X). Se probaron muestras de 5 x 24 x 0.1 mm con una celda de carga de 100 N, una velocidad de cabezal de 100 mm min⁻¹ y una longitud de prueba de 12 mm. Se reportan el módulo elástico, la resistencia a la tensión y la deformación por ruptura.

4.4.9. Estudios *in vitro* de liberación de fármacos

Las membranas cargadas con VA se colocaron en una celda de cuarzo que contenía PBS como medio de liberación. La absorbancia de las soluciones a 280 nm se midió con un espectrofotómetro UV-visible (Perkin Elmer modelo Lambda 20). La cinética de liberación se obtuvo a partir de gráficos de la absorbancia contra el tiempo. Se obtiene una curva de calibración interpolando los datos del fármaco en el rango de 7 a 14 mg dL⁻¹. Todas las medidas se realizaron por triplicado a 37° C.

El mecanismo de la liberación de VA de las diferentes membranas se estimó utilizando los datos obtenidos de los ensayos de liberación. Se utilizó el método de mínimos cuadrados para encajar en tres modelos de liberación: Korsmeyer y Peppas, Higuchi y orden cero después de calcular los parámetros de cada modelo. También se calculó el criterio de información de Akaike (AIC), una medida de la excelencia de ajuste, para cada conjunto de datos, y se informó su valor promedio para cada modelo.

4.4.10. Pruebas citotóxicas *in vitro*.

La citotoxicidad se evaluó utilizando la línea celular de osteoblastos SAOS-2 (ATCC HTB-85). Las células se cultivaron en medio de cultivo celular RPMI-1640 (Sigma Aldrich) suplementado con suero bovino fetal al 10% (Biowest) y solución de estreptomycin/penicilina al 1% (Sigma Aldrich), a 37°C y CO₂ al 5%.

Se obtuvieron extractos de las membranas para pruebas de citotoxicidad indirecta. Se esterilizaron discos de muestra de 6 mm de diámetro mediante lámpara UV, se introdujeron en tubos y se sumergieron en medio de cultivo suplementado siguiendo una proporción de 1 disco mL⁻¹. Después de 24 horas de incubación, los extractos se probaron con el cultivo celular.

El efecto de los extractos se evaluó sembrando SAOS-2 en una placa de 96 pocillos hasta una densidad de 1 x 10⁴ células por pocillo en 100 µl de medio de cultivo suplementado. Se utilizaron 3 pocillos como control positivo. Después de 24 horas, teniendo en cuenta las instrucciones del fabricante, se retiró el medio y se agregaron los extractos a las células, seguido de incubación durante otras 24 horas.

En consecuencia, se evaluó su viabilidad midiendo la reducción de resazurina, utilizando reactivo celular Titer-Blue® (Promega Co.). La absorbancia de las muestras se midió utilizando una placa Cytation 3 reader (Biotek) a 570 nm y 600 nm. Los datos se expresan como porcentajes de viabilidad.

4.4.11. Prueba de actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana de las membranas electrohiladas se probó contra *Staphylococcus aureus*, empleando la técnica de difusión en agar según el método de Gonzalez-Pérez et al., 28 *S. aureus* (American Type Culture Collection, ATCC 29213) se activó por primera vez en caldo de infusión cerebro-corazón (BHI, DIFCO, EE. UU.) a 37°C durante 24 horas. Se preparó un inóculo añadiendo las bacterias a 10 mL de PBS hasta una densidad óptica (600 nm) de 0.01 equivalente a una concentración de aproximadamente 1×10^5 UFC mL⁻¹. Este inóculo se añadió a medio de agar BHI al 1% en proporción 1:10 y se colocó en placas de Petri. Después de 24 horas de incubación, tres muestras de cada membrana de 6 mm de diámetro conteniendo vancomicina: 0.4 microgramos en membranas PU1 y 2.0 microgramos en membranas PU2, se colocaron en cada placa de BHI-Agar. Las placas se incubaron a 37 ° C durante 24 horas, luego se midió la zona de inhibición alrededor de cada membrana. Se realizó un análisis estadístico de los resultados del halo de inhibición, considerando las tres muestras.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Caracterización de poliuretanos prístinos

El poliuretano comercial (Tecoflex®) (PU1) y el poliuretano sintetizado (PU2) se caracterizaron antes de la preparación de las membranas. Ambos polímeros tienen el mismo segmento rígido (HMDI-BD) pero diferentes segmentos blandos, politetrametilén éter glicol (PTMEG) o PCL. El análisis FTIR confirmó la presencia de enlaces uretano tanto en PU2 como en PU1, como se puede ver en la Figura 1a. Las diferentes bandas correspondientes a PU1 incluyen señales a 3451 y 3326 cm^{-1} originadas a partir de la vibración de estiramiento superpuesta de NH libres y enlazadas y OH, la vibración de estiramiento del carbonilo de los uretanos a 1716 y 1696 cm^{-1} , estos picos característicos generalmente emergen a 1600-1750 cm^{-1} , estiramiento β del poliéter CH_2 a 2924 cm^{-1} , estiramiento del poliéter α y β CH_2 a 2854 cm^{-1} , estiramiento de CN y flexión de NH a 1527 cm^{-1} , estiramiento de CN amida III en una banda a 1227 cm^{-1} , y la absorbancia de éter de PTMEG alrededor de 1110 cm^{-1} .²⁹

Para PU2, los picos característicos correspondientes a la vibración de estiramiento N-H de los grupos amina libre y enlazados a 3454 y 3328 cm^{-1} en el segmento rígido, se originaron a partir de la vibración de estiramiento superpuesta de N-H y O-H. A 1552 cm^{-1} las bandas de amida III (estiramiento C-N y flexión N-H), y 1233 cm^{-1} las bandas de amida II (estiramiento C-N). La banda de carbonilo a 1722 cm^{-1} corresponde al segmento blando de éster, pero el hombro a 1692 y 1664 cm^{-1} puede atribuirse al estiramiento del carbonilo de los enlaces uretano. La presencia de grupos éster de PCL debido al estiramiento de los enlaces C-O se observa a 1040 y 1151 cm^{-1} . ¿Estos resultados concuerdan con la literatura? (incluir referencias)

Los patrones XRD en la Figura 1b muestran que PU1 tiene una estructura predominantemente amorfa según otros informes,³⁰ y el PU2 sintetizado tiene una estructura semicristalina con los picos asociados con el segmento blando PCL alrededor de $2\theta = 21.3^\circ$ y 23.7° .

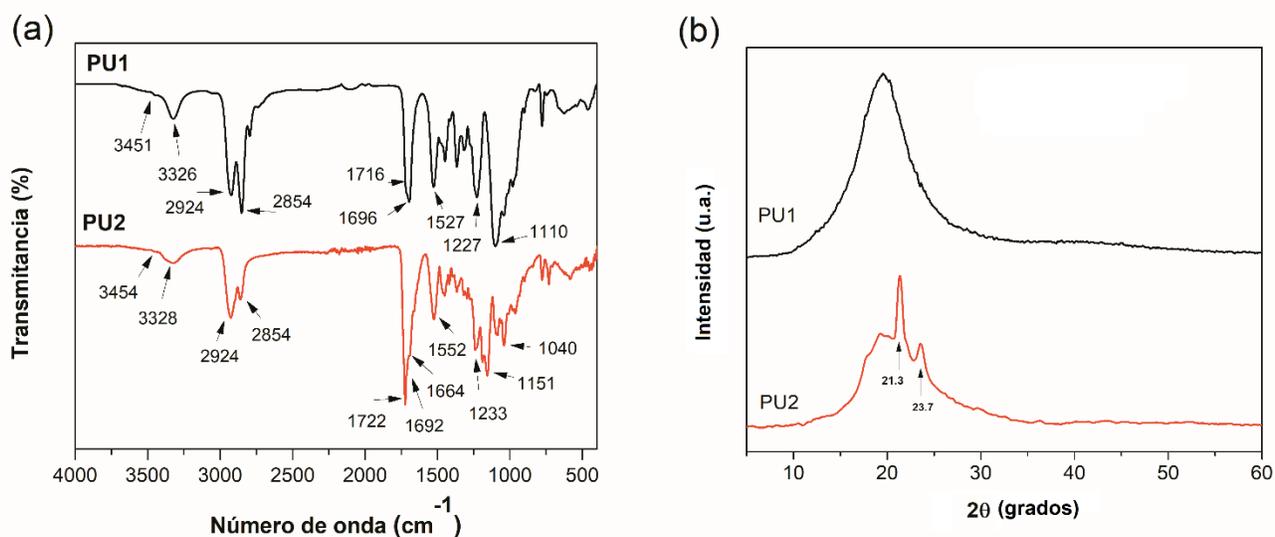


Figura 1. (a) Espectros FTIR de PU1 y PU2. (b) patrones XRD de PU1 y PU2.

El Mn, Mw y el índice de polidispersidad (PDI) que se muestran en la tabla 3 se determinaron usando análisis GPC. Los pesos moleculares se encontraron diferentes entre PU1 y PU2. El peso molecular fue menor y la distribución del peso molecular fue más amplia en PU2 (según el índice de polidispersidad, IPD, más alto). Esto es importante porque, en la técnica de electrohilado, es aconsejable utilizar polímeros con pesos moleculares más altos.⁶⁰ El aumento del peso molecular reduce el número de perlas y gotas.¹⁰

Tabla 3. Parámetros de composición de pesos moleculares medios, Mw, Mn y PDI.

Samples	Mw (Da)	Mn (Da)	PDI
PU1	163859	68248	2.400922
PU2	14762	2578	5.727260

5.2. Caracterización de membranas electrohiladas

5.2.1. Análisis morfológico por SEM

La morfología de las membranas se examinó mediante SEM. Las figuras 2a-2d corresponden a membranas con PU1. Se observan fibras lisas con un diámetro medio de $0.88 \pm 0.059 \mu\text{m}$ en las membranas PU1 y PU1-nHA. Se observó que el diámetro medio de las fibras disminuyó considerablemente a $0.64 \pm 0.018 \mu\text{m}$ en fibras con VA. En formulaciones de PU1 con nHA (Figuras 2b y 2d), podemos observar partículas de nHA adheridas a la superficie de las fibras e incrustadas en las fibras, por lo que podrían facilitar la osificación en posibles aplicaciones ortopédicas y dentales. Además, todas las membranas con PU1 mostraron una estructura porosa con fibras orientadas al azar. Otras investigaciones aseguran que la morfología de estas arquitecturas en membranas favorece la adhesión y el crecimiento celular.⁶¹

La morfología de las membranas fabricadas con PU2 es porosa como puede verse en las figuras 2e-2h. Presenta algunos segmentos de fibra con diámetros de $1.07 \mu\text{m}$ en PU2, $1.32 \mu\text{m}$ en PU2-HA, $0.47 \mu\text{m}$ para PU2-VA y $0.68 \mu\text{m}$ para PU2-HA-VA. Sin embargo, todas las membranas que contienen PU2 no tenían morfologías de fibra definidas y bien formadas como las membranas que contienen PU1. Esto es consistente con la diferencia de peso molecular de PU1 y PU2, como se muestra en la tabla 3.

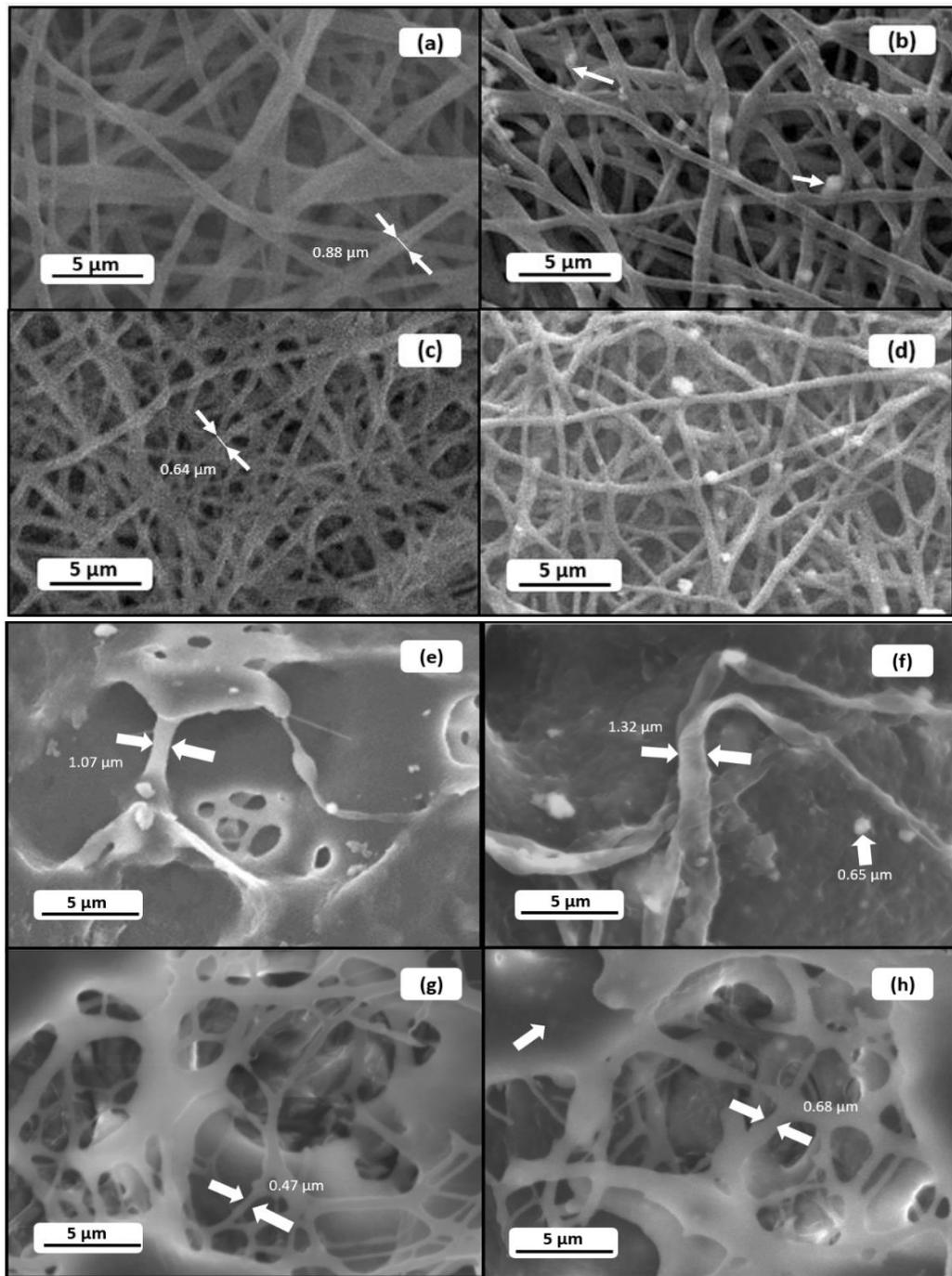


Figura 2. Imágenes SEM a 5000 X de las membranas electrohiladas de PU. (a) PU1 (b) PU1-nHA, (c) PU1-VA, (d) PU1-nHA-VA, (e) PU2, (f) PU2-nHA, (g) PU2-VA y, (h) PU2-nHA-VA.

5.2.2. Análisis químico por FTIR y estudios de difracción de rayos X

Los espectros de las membranas electrohiladas de PU1-nHA, PU1-VA y PU1-nHA-VA se pueden observar en las figuras 3a, 3b, y 3c, respectivamente. Las señales PU1 prevalecen por su mayor proporción. En el espectro, las bandas 3a y 3c a 1024, 601 y 562 cm^{-1} corresponden a enlaces fosfato de nHA que confirman su incorporación en la membrana.⁶² Sin embargo, las bandas de VA no se observaron en los espectros de las figuras 3b y 3c porque la concentración más baja en la mezcla y las bandas más intensas de VA estaban enmascaradas por las bandas de PU.

Pueden formarse múltiples enlaces de hidrógeno debido a la presencia de grupos donantes de protones (grupos N-H uretano) y grupos aceptores de protones carbonilo (C=O uretano y éter de oxígeno) en el PU1 prístino.^{63,64} Se observa que las bandas a 3452 y 3322 cm^{-1} correspondientes a NH (libre y enlazado), y las bandas a 1716 y 1693 cm^{-1} correspondientes a C=O (libre y enlazado) en PU1 no se ven afectadas por la presencia de nHA y VA en los compuestos, ya que dichos compuestos tienen múltiples grupos donantes y aceptores de protones como se puede ver en el esquema de la figura 4. Las interacciones en estos grupos sugeridas por los espectros contribuyen a la compatibilidad química en los compuestos.

Como se muestra en la figura 4, se observa un mayor número de grupos donantes y aceptores de protones por unidad repetitiva en la estructura química de PU2, en comparación con PU1. Esta situación afecta las propiedades de liberación de la vancomicina, como se verá más adelante. Los espectros de las membranas electrohiladas de PU2-nHA, PU2-VA y PU2-nHA-VA se pueden observar en las figuras 3d, 3e, y 3f. En el espectro, las bandas 3d y 3f a 1024 cm^{-1} atribuidas al estiramiento de PO correspondiente a enlaces fosfato fueron enmascaradas por las bandas PU2, pero las bandas a 601 y 562 cm^{-1} referidas a enlaces fosfato

vibracionales, se pueden apreciar claramente como evidencia de la presencia de nHA. Además, las bandas de vibración de estiramiento N-H y C=O correspondientes a los grupos libres y con enlaces de hidrógeno en PU2 no se ven afectadas por la presencia de nHA y VA en los materiales compuestos.

Se obtuvieron espectros nHA y VA, como grupo de control. El espectro para nHA, figura 3g, muestra dos bandas a 562 cm^{-1} y 601 cm^{-1} , que son el resultado de las vibraciones producidas por O-P-O. La banda de 880 cm^{-1} está asociada con la presencia de grupos carbonato. Las bandas muy fuertes ubicadas a 1024 cm^{-1} indican la presencia de grupos funcionales PO_4^{3-} (P-O) y las bandas más débiles a 1415 cm^{-1} y 1460 cm^{-1} corresponden a los grupos funcionales CO_3^{2-} . El último pico, ubicado a 3569 cm^{-1} corresponde a las vibraciones OH.⁶²

Para VA, figura 3h, una banda a 1683 cm^{-1} está asociada con anillos aromáticos y el estiramiento de la amida I. Las bandas fuertes a 1503 cm^{-1} corresponden a la amida II y el estiramiento C-C, C-N y C-O se observa a 1232 cm^{-1} .⁶⁵ Las bandas de 2993 cm^{-1} y 3326 cm^{-1} corresponden a los grupos C-H y O-H, respectivamente.

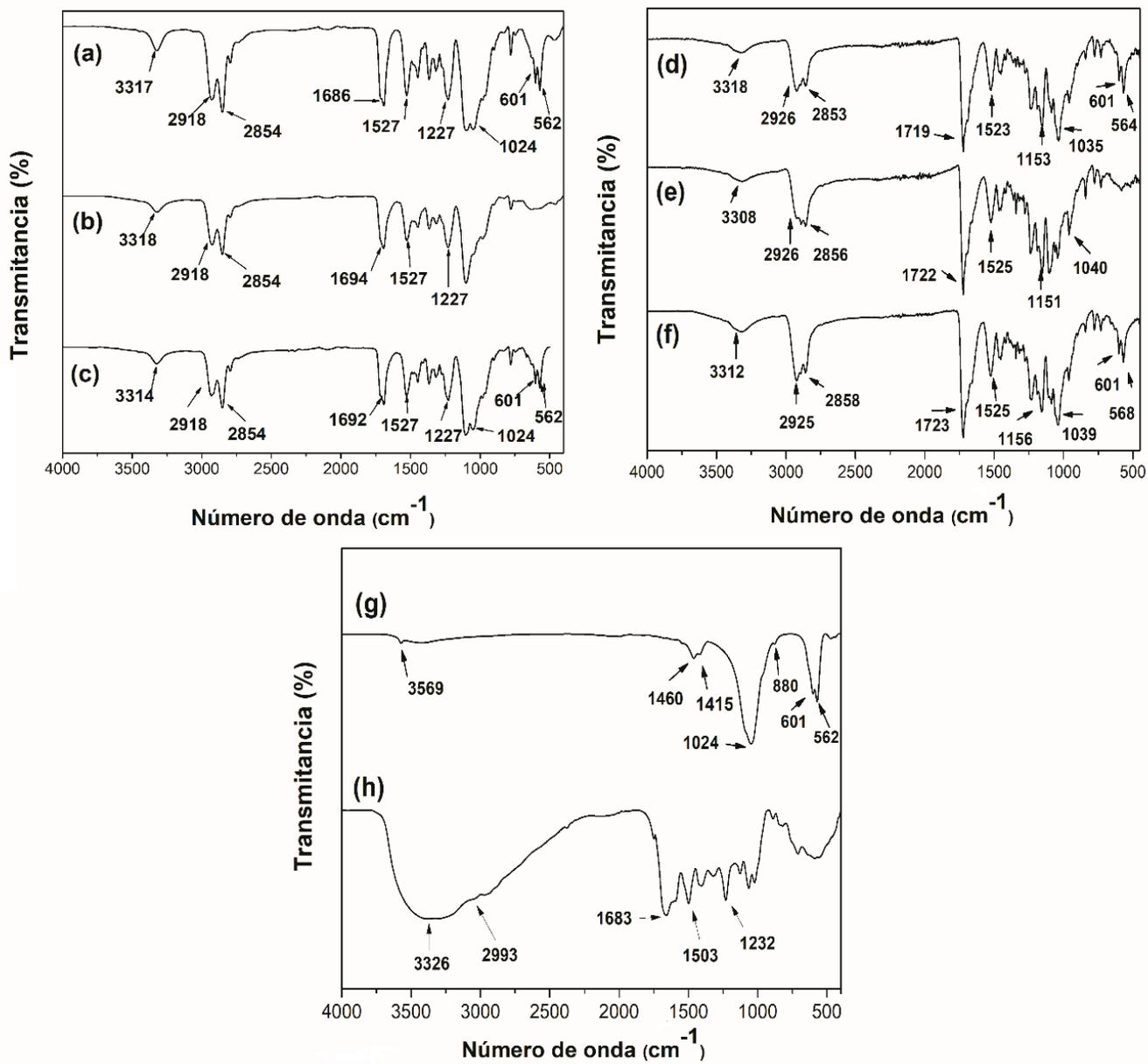


Figura 3. Espectros FTIR de (a) PU1-nHA, (b) PU1-VA, (c) PU1-nHA-VA, (d) PU2-nHA, (e) PU2-VA, (f) PU2-nHA-VA, (g) nHA y (h) VA.

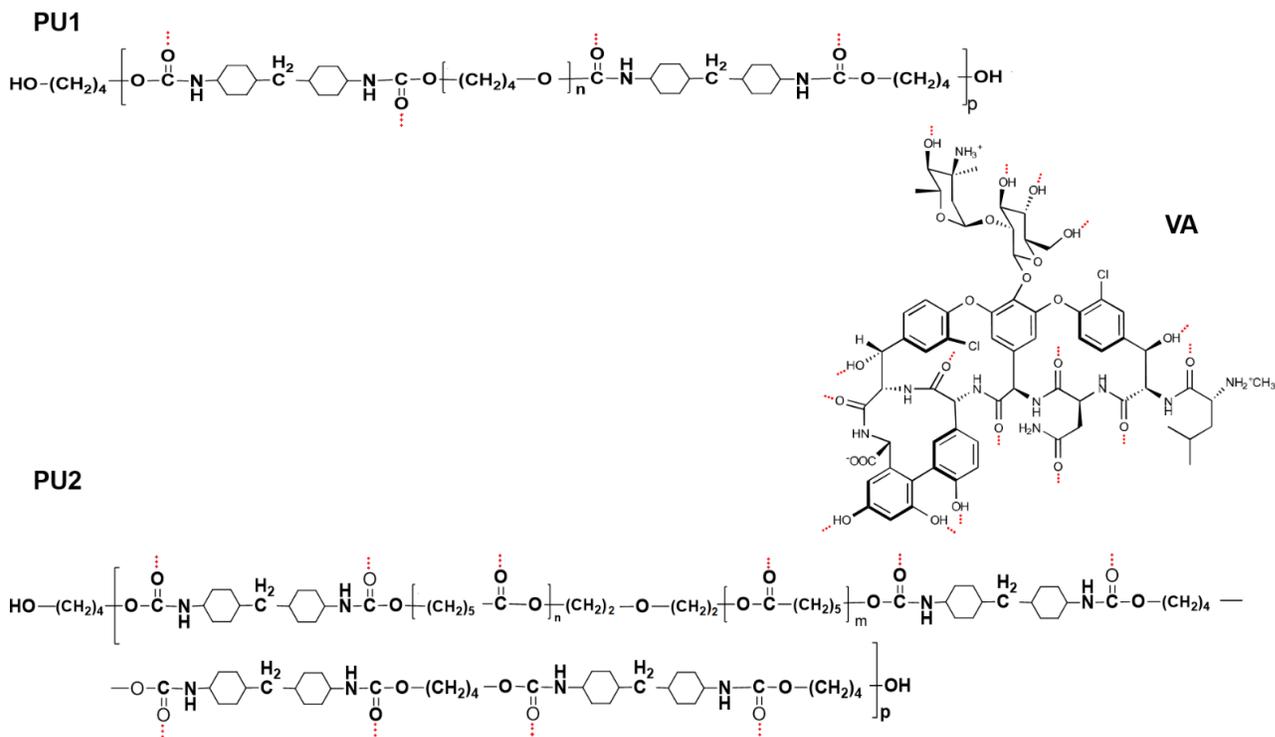


Figura 4. Posibles enlaces de hidrógeno que se forman entre el PU1 o PU2 y VA, indicados en sus estructuras químicas con puntos rojos. (Corregir el título también en la lista de figuras)

La figura 5 muestra los patrones de difracción de rayos X de las membranas compuestas electrohiladas. En la figura 5a la estructura amorfa de PU1 es predominante en sus compuestos, solo se observan picos a $2\theta = 32^\circ$ y 39.5° en P1-nHA-VA. Los picos característicos de la hidroxiapatita se observaron en PU2-nHA y PU2-nHA-VA a $2\theta = 32^\circ$ y 33° , acompañados de algunos picos de menor intensidad ubicados en $2\theta = 26^\circ$, 46.5° y 49° , y otros que corroboran la presencia de hidroxiapatita se ubican en $2\theta = 34^\circ$ y 39.5° . Los picos característicos de VA desaparecieron en los compuestos mostrando que el fármaco perdió su cristalinidad durante el desarrollo de la formulación y permaneció en forma amorfa dentro de las membranas como puede verse en otras formulaciones de polímero VA.⁶⁶

Se obtuvieron patrones de difracción de rayos X para nHA y VA, como grupo de control. Se identificaron los picos característicos de nHA en los espectros XRD. La intensidad de pico más fuerte de la muestra de nHA se encontraron en $2\theta = 31.76^\circ$ y $2\theta = 25.85^\circ$, que eran los dos picos más característicos de nHA, los otros picos característicos con menor intensidad se encontraron en $2\theta = 32.85^\circ$ y $2\theta = 34.08^\circ$.¹⁰

Los resultados de los datos de XRD indican que la VA es amorfa.⁶⁷

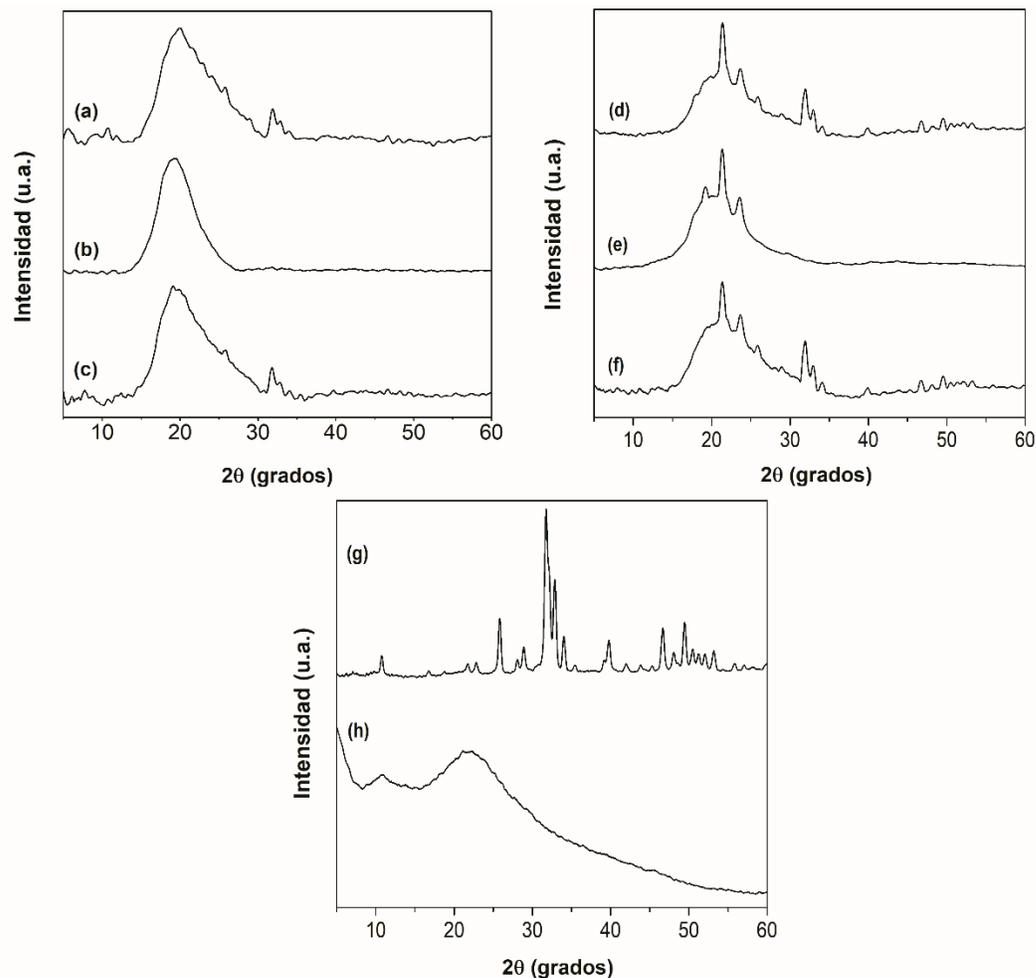


Figura 5. Patrones de difracción de rayos X de las membranas compuestas electrohiladas de (a) PU1-nHA, (b) PU1-VA, (c) PU1-nHA-VA, (d) PU2-nHA, (e) PU2-VA, (f) PU2-nHA-VA, (g) nHA y (h) VA.

5.2.3. Caracterización térmica y mecánica

5.2.3.1. Análisis termogravimétrico por TGA

La TGA es una técnica importante para la caracterización de polímeros y sus compuestos, ya que cada componente contribuye al comportamiento termogravimétrico.⁵¹ Tanto los polímeros PU1 como PU2 son térmicamente estables hasta 200 °C, lo que permite el procesamiento por debajo de estas temperaturas. Muchos autores sugieren que el grupo uretano es inestable a altas temperaturas, por lo que pueden ocurrir reacciones de degradación térmica durante el calentamiento.⁶⁸ La degradación de cada compuesto se describe a continuación. Los termogramas de la figura 6a muestran dos etapas de degradación en PU1. La primera etapa se atribuye a la descomposición de los enlaces uretano. La segunda está relacionada con la descomposición del grupo éter.⁶⁹ En la primera etapa, el 38.3% de la pérdida de peso ocurre entre 230 °C y 360 °C y en la segunda etapa, el 59.3% de la pérdida de peso ocurre entre 360 °C y 460 °C como se esperaba.⁷⁰ En la figura 6b, podemos observar la primera etapa de degradación en PU2 con una pérdida de peso del 90.8% que ocurre entre 260 °C y 360 °C donde se rompen la mayoría de los enlaces uretano y los enlaces éster PCL, y la segunda etapa de 6.6 % de pérdida de peso se produce entre 410 °C y 470 °C debido a la descomposición del segmento rígido remanente, como también se ha informado con poliuretanos similares.⁵⁹

En materiales compuestos con nHA el peso final es cercano al 10%, relacionado con la concentración inicial de nHA en la membrana que no se degrada por debajo de 600 °C,¹⁸ por tratarse de un compuesto cerámico. VA también afectó el comportamiento térmico de los composites. Este compuesto solo tiene tres temperaturas de descomposición alrededor de 42 °C, 284 °C, y 478 °C; y una masa residual de alrededor del 40%.⁷¹ Por eso los compuestos pierden moléculas de agua por debajo de 100 °C en proporción al contenido de VA en el compuesto. Después de eso, la degradación de PU1 y PU2 se desplaza a una temperatura más alta cuando se agrega VA a las membranas. La estabilidad térmica de los materiales compuestos es importante para una posible aplicación en la liberación de fármacos

y la ingeniería de tejidos, ya que la temperatura fisiológica es de 37 °C. Además, la caracterización TGA nos proporciona información sobre la composición de los materiales y sus posibles interacciones. El comportamiento térmico de los compuestos mostró evidencia de la presencia de nHA y VA y las cantidades utilizadas en las formulaciones de la muestra, en contraste con los resultados obtenidos por FTIR donde VA estaba enmascarado. El comportamiento térmico de cada compuesto está regido por la composición química de cada uno, y de ahí las posibles interacciones químicas que se puedan producir, derivadas de su estructura química, como la cantidad de grupos carbonilo presentes. El PU2 tiene en su estructura un mayor número de grupos carbonilo, como se puede ver en la figura 6.

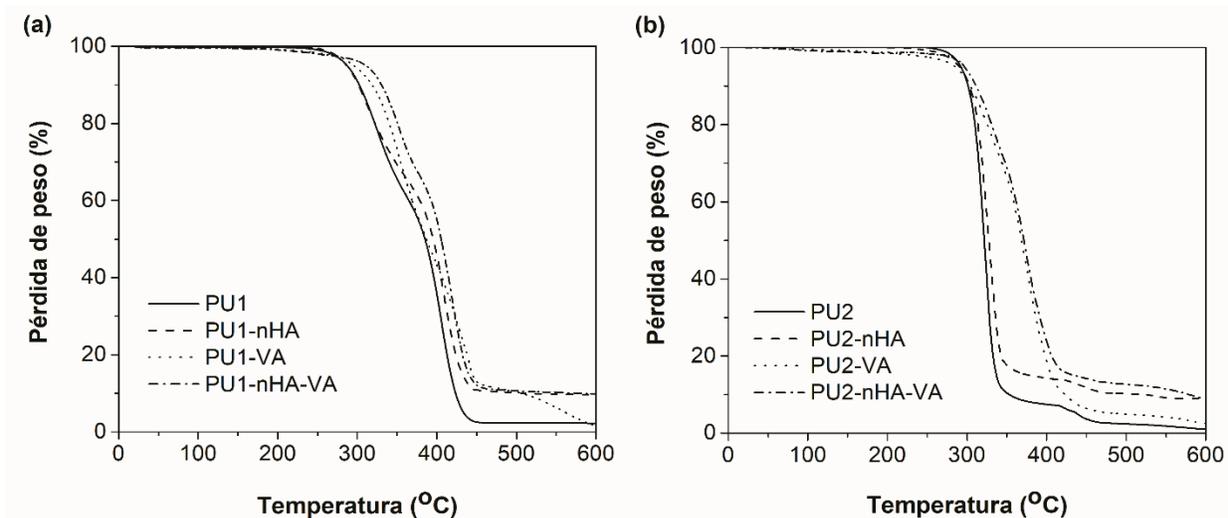


Figura 6. (a) termogramas de las membranas electrohiladas de PU1, PU1-nHA, PU1-VA y PU1-nHA-VA, (b) termogramas de las membranas electrohiladas de PU2, PU2-nHA, PU2-VA, PU2- nHA-VA.

5.2.3.2. Calorimetría diferencial de barrido (DSC) y análisis mecánico dinámico (DMA)

Se utilizaron DSC y DMA para la determinación de transiciones en los poliuretanos y sus compuestos, como se muestra en la tabla 4. Las transiciones están asociadas con segmentos amorfos en un rango de baja temperatura y segmentos cristalinos a altas temperaturas. La interacción entre los segmentos cristalino y amorfo aumenta la miscibilidad entre los dominios y depende en gran medida de la composición química de los dominios.^{72,73}

Los resultados de DSC están de acuerdo con los difractogramas de rayos X. Debido a la estructura amorfa de PU1, no presenta picos de fusión en las curvas de calentamiento y sus compuestos.⁵⁹ Como se encontró que PU2 tiene una estructura semicristalina en XRD, tiene un punto de fusión a 54.9 °C, el punto de fusión cambia a una temperatura más baja en sus compuestos, como una indicación de un grado de miscibilidad en sus fases.⁷⁴

La T_g obtenida del DMA corresponde a la temperatura en el pico $\tan \delta$ (valor máximo de $\tan \delta$) que normalmente corresponde a la temperatura de transición vítrea (T_g).⁷⁵ La adición de nHA y VA a las membranas cambia la T_g de -50 °C a -39 °C cuando se agregan por separado, pero en PU1-nHA-VA la T_g es de -48 °C, que está más cerca de la transición de PU1. La incorporación de nHA y VA por separado a las membranas con PU2 no afectó su T_g . Solo PU2-nHA-VA cambió su T_g de -38 °C a -35 °C. Este cambio en las propiedades térmicas indica un grado de miscibilidad en este material compuesto. Como se ha informado para materiales híbridos.⁷⁴

5.2.3.3. Caracterización mecánica

Las propiedades mecánicas se muestran en la tabla 4. Estos resultados están influenciados por dos fenómenos diferentes: la estructura química, es decir, las propiedades de los segmentos amorfos y la arquitectura resultante de cada material.

Además, una mejor distribución de las partículas de nHA en las fibras de PU proporciona un efecto de refuerzo. El módulo de elasticidad de PU1-nHA aumentó casi un 95% en comparación con el módulo de elasticidad de PU1. Nuevamente, la adición de nHA se refleja en un aumento de la rigidez del material. Sin embargo, la deformación a la ruptura en el momento de la falla solo disminuyó aproximadamente un 17%. Esto significa que la capacidad de deformación de la membrana no se ve afectada. En el caso de la adición de VA, disminuyó el módulo elástico en aproximadamente un 15%, y la deformación a la ruptura, considerando el error experimental, puede considerarse no afectado. Cuando se agrega VA a PU1-nHA, el módulo elástico disminuye en un 29%. La resistencia a la tensión no se ve afectada por la adición de VA. En cuanto a la deformación a la ruptura, fue menor para PU1-nHA en comparación con las membranas de PU debido a un aumento en la rigidez.

El PU2 y sus compuestos mostraron mayor módulo de elasticidad, menor resistencia a la tensión y menor deformación a la rotura de acuerdo con su contenido de segmento rígido y bajo peso molecular. Sin embargo, la influencia de nHA y VA fue similar a las que contienen PU1 como se puede ver en la tabla 3.

El efecto favorable de nHA sobre las propiedades mecánicas fue similar a los reportados para otras formulaciones.⁷⁷ Además, el nHA es importante debido a sus excelentes atributos como la capacidad de inducir la formación de apatita de manera más amplia *in vivo*. Recientemente se ha informado que la adición de nanopartículas de nHA mejora significativamente la mineralización de biomateriales. Por otro lado, nHA tiene mejor bioactividad que los cristales más gruesos y representa una clase única y prometedora de formulaciones de implantes ortopédicos / dentales con propiedades de osteointegración mejoradas.^{78,53}

Tabla 4. Propiedades térmicas y mecánicas de las membranas electrohiladas. Medias \pm Desviación estándar.

Parámetros	Propiedades térmicas		Propiedades mecánicas		
	DSC	DMA	Módulo elástico (MPa)	Resistencia a la tensión (MPa)	Deformación a la ruptura (%)
PU1	---	-50	5.49 \pm 0.65	14.39 \pm 1.79	264.57 \pm 31.80
PU1-nHA	---	-39	10.72 \pm 1.93	20.83 \pm 3.83	220.21 \pm 20.93
PU1-VA	---	-39	4.72 \pm 0.50	9.95 \pm 1.43	247.13 \pm 47.86
PU1-nHA-VA	---	-48	7.63 \pm 0.95	18.55 \pm 1.96	233.82 \pm 15.37
PU2	54.9	-38	31.35 \pm 2.6	3.34 \pm 1.2	76.3 \pm 51.0
PU2-nHA	49.6	-38	36.60 \pm 1.6	5.37 \pm 0.04	217 \pm 6.5
PU2-VA	49.7	-38	44.9 \pm 1.6	4.18 \pm 0.80	90.6 \pm 59
PU2-nHA-VA	50	-35	36.7 \pm 4.4	2.12 \pm 0.12	17.4 \pm 3.74
HUESO			1.058 - 20	8 - 50	2 - 4
TRABECULAR ⁷⁹					

5.2.4. Liberación *in vitro* de fármaco en solución

Tecoflex[®] (PU1) es parte de un grupo de polímeros no degradables, mientras que PU2 se considera degradable debido a sus enlaces éster en el segmento PCL. Se ha encontrado que ambos grupos, los polímeros no degradables y los polímeros degradables, son importantes para amplias aplicaciones en el campo de la administración controlada.⁷⁸ El rendimiento de liberación de VA en un corto período de tiempo se puede observar en las figuras 7a y 7b. A los 10 minutos, la liberación de VA alcanza el 36% en las membranas PU1-VA y el 26% en las membranas PU1-nHA-VA. Por otra parte, la liberación de VA alcanza el 19.5% en las membranas PU2-VA y el 4.9% en las membranas PU2-nHA-VA. Esta liberación en poco tiempo

es importante para inhibir una adhesión inicial de bacterias durante la cirugía de implantación, mientras que el antibiótico restante es importante para evitar ciertas cepas de bacterias adheridas que serían capaces de formar biopelículas en la interfase implante-tejido.⁷⁸ No se realizaron experimentos de liberación prolongada para este estudio.

Según la caracterización ya comentada en este trabajo, existen varios factores que pueden afectar la liberación del fármaco en poco tiempo. Como las interacciones de los enlaces de hidrógeno, cristalinidad, área superficial, entre otros.⁸⁰ Entre las propiedades de PU1 se puede mencionar que es hidrófobo y no degradable⁷, tiene comportamiento elastomérico y una Tg más baja. Una Tg más baja en los polímeros es un factor clave que determina la velocidad de difusión del fármaco, como han informado Qian y Berkland.⁸⁰

Por otra parte, PU2 tiene más grupos carbonilo en su estructura que PU1, como se representa en la figura 4. Cuanto mayor sea el número de grupos carbonilo, mayor será el número de interacciones de puentes de hidrógeno con vancomicina que serán posibles. Esto da como resultado una liberación menor y más lenta de VA en el medio.

La evaluación de la liberación del fármaco en este estudio se realizó en un tiempo de 10 minutos. Por lo tanto, no existe una relación directa entre las tasas y cantidades de liberación del fármaco con las diferencias en la degradación entre PU1 y PU2.

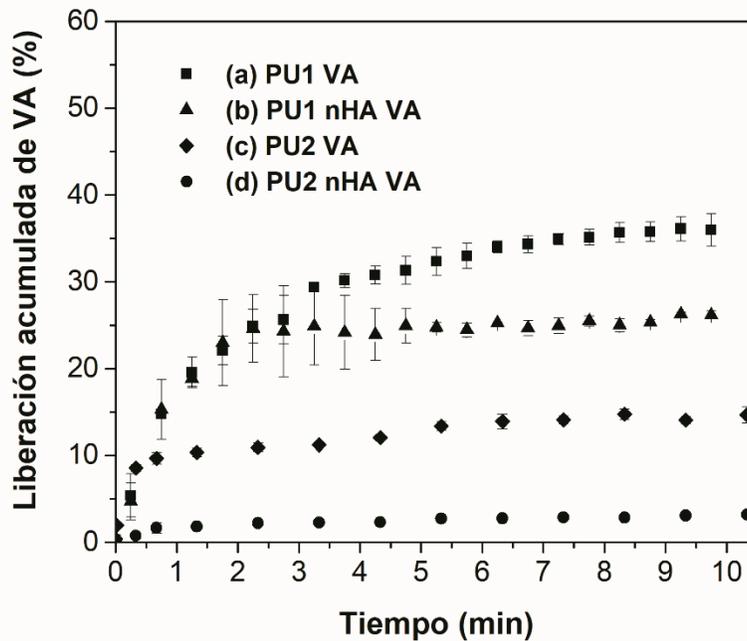


Figura 7. Liberación de VA de las fibras electrohiladas de ■ (a) PU1-VA, ▲ (b) PU1-nHA-VA, ◆ (c) PU2-VA, ● (d) PU2-nHA-VA

La morfología de las membranas después de la liberación de VA se observó mediante SEM, en la Figura 8. La morfología es similar antes y después del experimento de liberación, pero las fibras se encontraron más delgadas después de la liberación de VA.

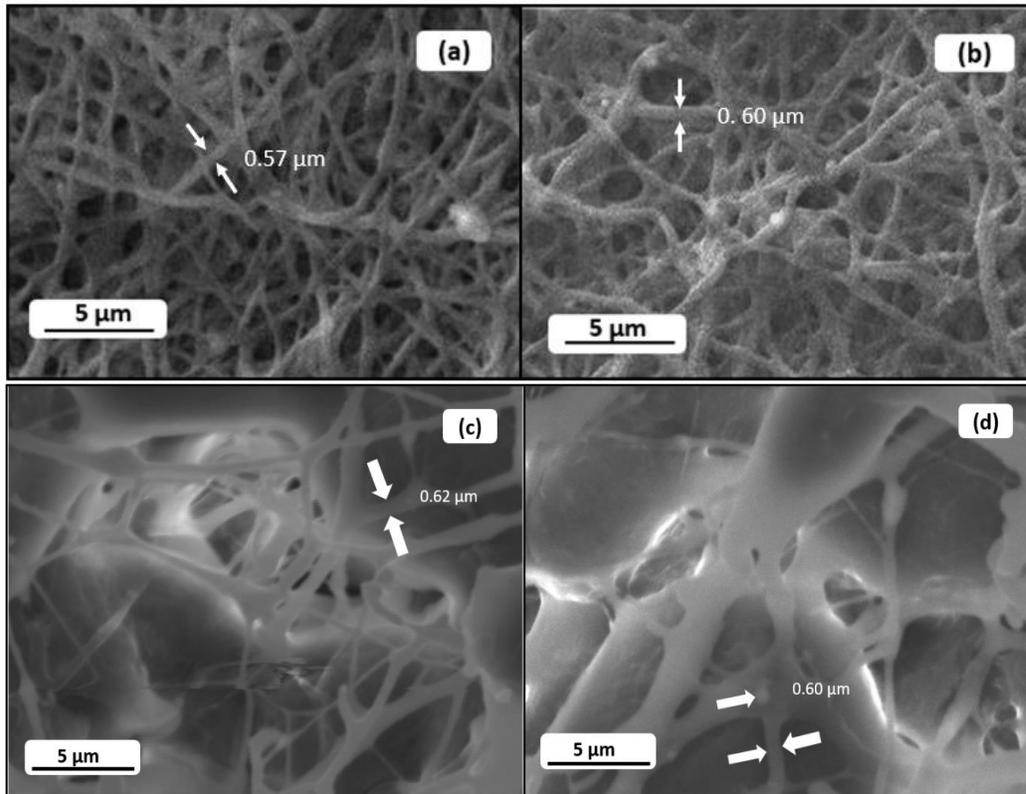


Figura 8. Imagen SEM después de la liberación de las membranas: (a) PU1-VA, (b) PU1-nHA-VA. (c) PU2-VA y (d) PU2-nHA-VA

La Tabla 5 analiza los modelos de liberación cinética para las membranas electrohiladas. Los valores obtenidos en la liberación de VA en todas las membranas se ajustaron a tres modelos: Korsmeyer y Peppas, Higuchi 0.3, Higuchi 0.5 y orden cero. Además, se obtuvieron el error cuadrático medio (RMSE)⁸¹ y el criterio de información de Akaike (AIC).⁸²

El modelo que resultó con un R^2 más cercano a 1 fue el modelo de Korsmeyer y Peppas en PU1-VA, PU1-nHA-VA y PU2-nHA-VA, este modelo describe un fenómeno de liberación que involucra difusión, es decir, por relajación de las fibras de la membrana que ocurre cuando el tampón fosfato penetra la membrana, durante la liberación.⁷ En PU2-VA el valor de R^2 indica que la cinética de liberación es de orden cero, este modelo describe un sistema que libera su contenido por erosión

con una constante de velocidad independientemente de su concentración, y la liberación es sólo una función del tiempo.⁷

Los valores de R^2 y RMSE se utilizaron para evaluar la idoneidad de los modelos, donde cuanto mayor R^2 y valores más bajos de RMSE, mejor es la aplicabilidad de los modelos.⁸¹ El valor RMSE más bajo de cada componente en todos los casos fue el modelo de Higuchi.

El AIC es una medida de la excelencia de ajuste, también se calculó con Excel Microsoft 365 para cada conjunto de datos y se informó su valor promedio para cada modelo. Para los valores de AIC, los cuatro componentes mostraron valores más bajos para el modelo de Higuchi. Este modelo describe que la disolución y el hinchamiento de la matriz son insignificantes, lo que está de acuerdo con las características hidrofóbicas de PU1 y PU2. Además, que la difusión del fármaco se produce en una única dimensión; que la difusividad del fármaco es constante y que, en el medio de disolución, siempre están presentes condiciones perfectas de inmersión^{83,84} lo que concuerda con las condiciones experimentales de liberación de VA en este trabajo. Todo esto describe la liberación de fármacos solubles y poco solubles en medios acuosos, lo que concuerda con las características de la vancomicina.

Tabla 5. Modelos de liberación de las fibras electrohiladas de PU1-VA, PU1-nHA-VA, PU2-VA y PU2-nHA-VA en un tiempo de equilibrio de 10 minutos.

Componentes	Liberación (%)	Modelo	Parámetros	R ²	RMSE	AIC	Mecanismo de liberación
PU1-VA	36.0	Korsmeyer and Peppas	n=0.999 Kp=0.6482	0.958	0.0544	6.19	Difusión
		Higuchi 0.3	K=0.9378	0.892	0.0219	4.07	
		Higuchi 0.5	K=0.6696	0.8681	0.0249	4.14	
		Zero order	K=0.3919	0.7846	0.7359	26.55	
PU1-nHA-VA	26.0	Korsmeyer and Peppas	n=1.035 Kp=0.9223	0.8158	0.1280	7.05	Difusión
		Higuchi 0.3	K=1.4855	0.7801	0.1429	4.49	
		Higuchi 0.5	K=1.081	0.7517	0.0716	4.64	
		Zero-order	K=0.6763	0.6616	1.0043	23.53	
PU2-VA	19.5	Korsmeyer and Peppas	n=0.878 Kp=0.6482	0.8354	0.4847	21.04	Difusión
		Higuchi 0.3	K=0.2161	0.8936	0.1291	6.08	
		Higuchi 0.5	K=0.1403	0.9031	0.1503	6.82	
		Zero-order	K=0.0634	0.9234	0.4224	21.85	
PU2-nHA-VA	4.9	Korsmeyer and Peppas	n=0.5867 Kp=0.6482	0.8175	0.4349	24.92	Difusión
		Higuchi 0.3	K=0.7263	0.7826	0.0282	4.10	
		Higuchi 0.5	K=0.5077	0.7642	0.0279	4.10	
		Zero-order	K=0.2825	0.7051	0.5697	36.46	

5.2.5. Pruebas citotóxicas *in vitro*

La Figura 9 muestra el efecto citotóxico de los extractos de membranas electrohiladas. La viabilidad de las células fue superior al 75% en contacto con los extractos obtenidos de los diferentes compositos. Se puede concluir que los extractos no son citotóxicos para las células SAOS-2.^{7,85} en la concentración

utilizada de las formulaciones de las membranas compuestas inmersas en medio de cultivo por 24 horas. La menor viabilidad de los extractos de composites con VA nos lleva a pensar que el fármaco influye en el metabolismo de las células. En el caso del extracto de PU2-nHA-VA se obtiene una viabilidad cercana al 100%, esto se puede relacionar con estudios de liberación donde PU2-nHA-VA mostró una menor tasa de liberación.

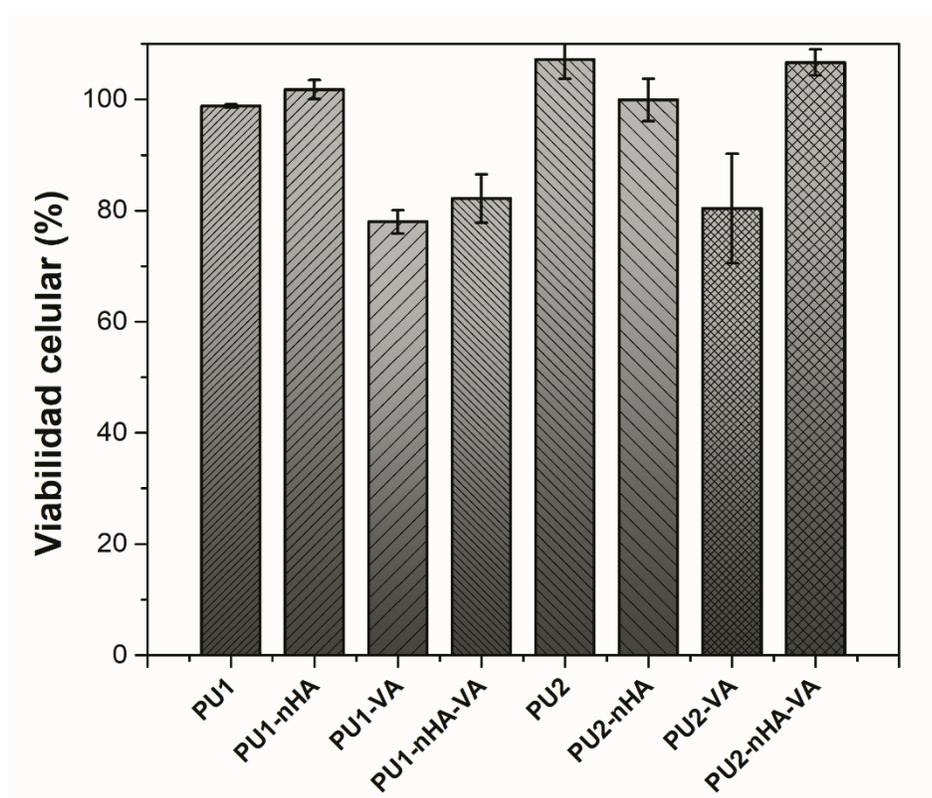


Figura 9. Viabilidad celular de extractos de las membranas electrohiladas.

5.2.6. Actividad antimicrobiana

El efecto antibacteriano de VA fue confirmado por la inhibición de *S. aureus* cultivado en medio de agar BHI (figura 10). No se observaron zonas de inhibición con las membranas de control (PU1, PU1-nHA, PU2, PU2-nHA). Los compuestos cargados con VA produjeron un halo de inhibición característico del efecto

antibiótico. Estos resultados fueron comparables a la liberación de VA en solución, en la que se muestra la liberación en poco tiempo, como se observa en la figura 7.

Para muestras de PU1-VA, PU1-nHA-VA y PU2-VA de tamaño circular de 6 mm de diámetro, se observaron halos de inhibición de 15.8 ± 0.27 mm. Los halos de inhibición menores de 12 mm para VA en cepas de *Staphylococcus aureus* se consideran una prueba de sensibilidad al antibiótico⁴² pero no suficiente para inhibir las bacterias.

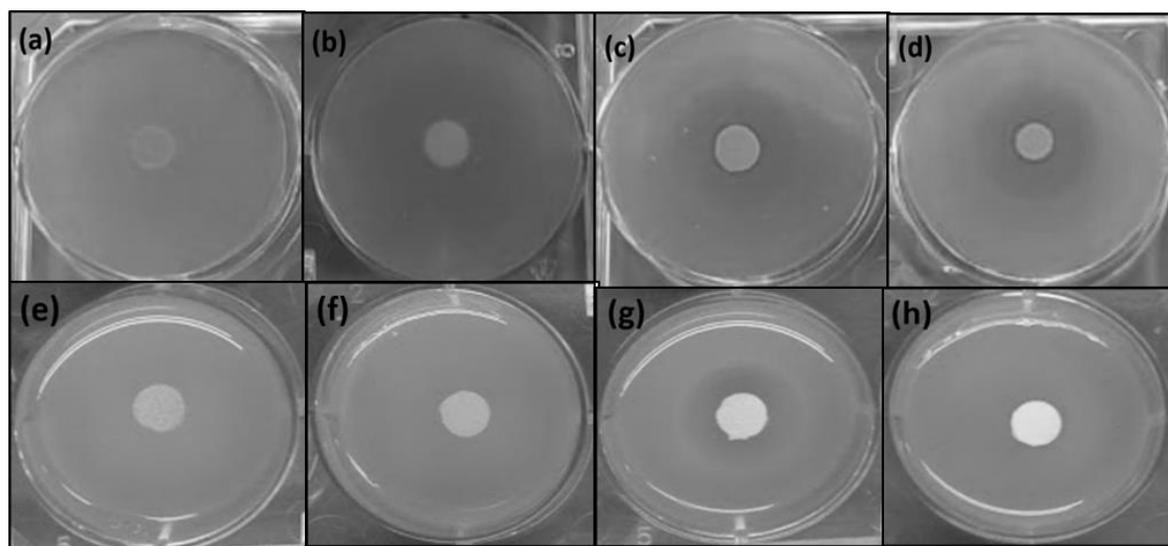


Figura 10. Inhibición de *S. aureus* para membranas electrohiladas a las 24 h de exposición (a) PU1, (b) PU1-nHA, (c) PU1-VA, (d) PU1-nHA-VA, (e) PU2, (f) PU2-nHA, (g) PU2-VA, (h) PU2-nHA-VA.

6. CONCLUSIONES

Se prepararon membranas porosas de poliuretano PU con nHA y VA mediante técnica de electrohilado. La morfología microscópica de la membrana de PU1 y sus compuestos presentó una arquitectura porosa con nanofibras lisas orientadas aleatoriamente. La morfología microscópica de la membrana de PU2 y sus compuestos fueron porosos con fibras no definidas y bien formadas. La incorporación de nHA y VA y su efecto, fueron bien establecidos por diferentes técnicas. El análisis FTIR confirmó los grupos funcionales característicos de los poliuretanos tanto en PU2 como en PU1. El análisis FTIR confirmó la presencia de nHA en los compuestos conteniendo este cerámico tanto en PU1 como en PU2. No fue posible observar las bandas correspondientes a VA debido a que la concentración de VA es baja, 7% p / p con respecto al peso de PU1 o PU2, además de que sus bandas se superponen con las bandas de los otros componentes. Los patrones XRD muestran que PU1 tiene una estructura predominantemente amorfa y PU2 sintetizado tiene una estructura semicristalina, observándose los picos predominantes de la HA en las formulaciones con este cerámico. El peso molecular determinado por GPC fue mayor en PU1 y la distribución del peso molecular fue más amplia en PU2. El comportamiento térmico de los compuestos mostró evidencia de la presencia de nHA y VA, en las cantidades utilizadas en las formulaciones de la muestra, en contraste con los resultados obtenidos por FTIR, donde VA estaba enmascarado. Los resultados por DSC y DMA indican cierto grado de miscibilidad. Los valores obtenidos mediante la caracterización mecánica reflejan que el compuesto PU1-nHA-VA presenta valores en el rango de los valores reportados para el hueso trabecular. La liberación de VA alcanza el 19.5% en las membranas PU2-VA y el 4.9% en las membranas PU2-nHA-VA. La liberación de VA alcanza el 36% en las membranas PU1-VA y el 26% en las membranas PU1-nHA-VA. La morfología es similar antes y después del experimento de liberación, pero las fibras se encontraron más delgadas después de la liberación de VA. A partir del estudio de los modelos de liberación y considerando los valores de AIC, se puede sugerir que la liberación de vancomicina en los materiales sigue el modelo de Higuchi. Para todas las membranas, la viabilidad es superior al 75%. Se puede

concluir que los extractos de las membranas no son citotóxicos para las células SAOS-2, en la concentración analizada. Para muestras de PU1-VA, PU1-nHA-VA y PU2-VA de tamaño circular de 6 mm de diámetro, se observaron halos de inhibición de 15.8 ± 0.27 mm. Para la membrana PU2-nHA-VA, el halo de inhibición no es observable. Las membranas electrohiladas presentaron propiedades mecánicas y biológicas deseadas para su uso en la aplicación de implantes óseos. La liberación cinética de VA cargada en las membranas compuestas y la prueba de actividad microbiológica mostraron potencial para inhibir infecciones bacterianas en implantes médicos.

La potencial aplicación propuesta es utilizar un material bicapa, formado por las membranas PU1 y PU2, complementando así las propiedades de cada membrana.

7. REFERENCIAS

1. McBane, J. E.; Sharifpoor, S.; Cai, K.; Labow, R. S.; Santerre, J. P. *Biomaterials* **2011**, *32*, 6034.
2. Niu, Y.; Chen, K. C.; He, T.; Yu, W.; Huang, S.; Xu, K. *Biomaterials* **2014**, *35*, 4266.
3. Gregorí, B. S.; Alba, L.; Brown, A.; Fernández, M.; Bordado, J. M.; de la Hoz, Y.; Alvarez, A. *Inst. Cuba. Investig. los Deriv. la Caña Azúcar* **2007**, *XLI*, 3.
4. Langer, R. *Science (80-)*. **1995**, *50*.
5. Hench, L. L. *Biomaterials* **1998**, *19*, 1419.
6. Hench, L. L. *AN INTRODUCTION TO BIOCERAMICS*; IMPERIAL COLLEGE PRESS: Cambridge, **2013**; Vol. 19.
7. Mi, H.-Y.; Jing, X.; Salick, M. R.; Cordie, T. M.; Peng, X.-F.; Turng, L.-S. *J. Mater. Sci.* **2014**, *49*, 2324.
8. Agarwal, S.; Wendorff, J. H.; Greiner, A. *Polymer (Guildf)*. **2008**, *49*, 5603.
9. Mitchell, G. R.; Davis, F. In *Computational Methods in Applied Sciences*; **2011**; Vol. 20, pp 111.
10. Pham, Q. P.; Sharma, U.; Mikos, A. G. *Tissue Eng.* **2006**, *12*, 1197.
11. Demir, M. M.; Yilgor, I.; Yilgor, E.; Erman, B. *Polymer (Guildf)*. **2002**, *43*, 3303.
12. Sill, T. J.; von Recum, H. A. *Biomaterials* **2008**, *29*, 1989.
13. Meechaisue, C.; Dubin, R.; Supaphol, P.; Hoven, V. P.; Kohn, J. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2006**, *17*, 1039.
14. Kucinska-Lipka, J.; Gubanska, I.; Janik, H.; Sienkiewicz, M. *Mater. Sci. Eng. C* **2015**, *46*, 166.
15. Liang, D.; Hsiao, B. S.; Chu, B. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2007**, *59*, 1392.
16. Yoshimoto, H.; Shin, Y. M.; Terai, H.; Vacanti, J. P. *Biomaterials* **2003**, *24*, 2077.
17. Chan, J. P.; Battiston, K. G.; Santerre, J. P. *Acta Biomater.* **2019**, *1*.
18. Zheng, Z.; Cui, Z.; Si, J.; Yu, S.; Wang, Q.; Chen, W.; Turng, L. S. *ACS Omega* **2019**, *4*, 6382.

19. Jeon, H. J.; Kim, J. S.; Kim, T. G.; Kim, J. H.; Yu, W. R.; Youk, J. H. *Appl. Surf. Sci.* **2008**, *254*, 5886.
20. L., H. R. *Nature* **1938**, *142*, 853.
21. Jiang, L.; Jiang, Y.; Stiadle, J.; Wang, X.; Wang, L.; Li, Q.; Shen, C.; Thibeault, S. L.; Turng, L. S. *Mater. Sci. Eng. C* **2019**, *94*, 740.
22. Wendels, S.; Avérous, L. *Bioact. Mater.* **2021**, *6*, 1083.
23. Szycher, M. *J. Biomater. Appl.* **1988**, *3*, 297.
24. Li, B.; Brown, K. V.; Wenke, J. C.; Guelcher, S. A. *J. Control. Release* **2010**, *145*, 221.
25. Rathbone, C. R.; Cross, J. D.; Brown, K. V.; Murray, C. K.; Wenke, J. C. **2011**, 1070.
26. Liao, S.; Chan, C. K.; Ramakrishna, S. *Mater. Sci. Eng. C* **2008**, *28*, 1189.
27. Liu, C.; Xia, Z.; Czernuszka, J. T. *Chem. Eng. Res. Des.* **2007**, *85*, 1051.
28. Ioan, S.; Buruiana, L. I. In *Handbook of Composites from Renewable Materials*; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, **2017**; pp 145.
29. Mrunal, S. C. *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, *53*, 617.
30. Cheung, H. Y.; Lau, K. T.; Lu, T. P.; Hui, D. *Compos. Part B Eng.* **2007**, *38*, 291.
31. Sabir, M. I.; Xu, X.; Li, L. *J. Mater. Sci.* **2009**, *44*, 5713.
32. Dhandayuthapani, B.; Yoshida, Y.; Maekawa, T.; Kumar, D. S. *Int. J. Polym. Sci.* **2011**, *2011*.
33. Sokolsky-Papkov, M.; Agashi, K.; Olaye, A.; Shakesheff, K.; Domb, A. J. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2007**, *59*, 187.
34. Vasita, R.; Katti, D. S. *Int. J. Nanomedicine* **2006**, *1*, 15.
35. Chang, H.-I.; Wang, Y. *Regen. Med. Tissue Eng. - Cells Biomater.* **2011**.
36. Welle, A.; Kröger, M.; Döring, M.; Niederer, K.; Pindel, E.; Chronakis, I. S. *Biomaterials* **2007**, *28*, 2211.
37. Vert, M.; Doi, Y.; Hellwich, K. H.; Hess, M.; Hodge, P.; Kubisa, P.; Rinaudo, M.; Schué, F. *Pure Appl. Chem.* **2012**.

38. Burke, A.; Hasirci, N. *Adv. Exp. Med. Biol.* **2004**, 553, 83.
39. Haleem, A. a; Rouse, M. S.; Lewallen, D. G.; Hanssen, A. D.; Steckelberg, J. M.; Patel, R. *Clin. Orthop. Relat. Res.* **2004**, 22.
40. ZILBERMAN, M.; ELSNER, J. J. *J. Control. Release* **2008**, 130, 202.
41. Ambrose, C. G.; Gogola, G. R.; Clyburn, T. A.; Raymond, A. K.; Peng, A. S.; Mikos, A. G. *Clin. Orthop. Relat. Res.* **2003**, 279.
42. Bernal R., M.; Guzmán, M. *Biomédica* **1984**, 4, 112.
43. Langner, R.; Vaccaro, A. R. *Science (80-.)*. **1993**, 260, 920.
44. Agrawal, C. M.; Ray, R. B. *J. Biomed. Mater. Res.* **2001**, 55, 141.
45. O'Brien, F. J.; Harley, B. A.; Yannas, I. V.; Gibson, L. J. *Biomaterials* **2005**, 26, 433.
46. Engler, A. J.; Sen, S.; Sweeney, H. L.; Discher, D. E. *Cell* **2006**, 126, 677.
47. Peyton, S. R.; Putnam, A. J. *J. Cell. Physiol.* **2005**, 204, 198.
48. Guelcher, S. A. *Tissue Eng. - Part B Rev.* **2008**, 14, 3.
49. Sobczak, M. *Polym. - Plast. Technol. Eng.* **2015**, 54, 155.
50. Gogolewski, S.; Gorna, K.; Turner, A. S. *J. Biomed. Mater. Res. Part A* **2006**, 77A, 802.
51. Kishan, A. P.; Wilems, T.; Mohiuddin, S.; Cosgriff-Hernandez, E. M. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2017**, 3, 3493.
52. Ma, P. X. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2008**, 60, 184.
53. Mobasherpour, I.; Heshajin, M. S.; Kazemzadeh, A.; Zakeri, M. *J. Alloys Compd.* **2007**, 430, 330.
54. Fernández-D'Arlas, B.; Alonso-Varona, A.; Palomares, T.; Corcuera, M. A.; Eceiza, A. *Polym. Degrad. Stab.* **2015**, 122, 153.
55. Zieleniewska, M.; Auguścik, M.; Prociak, A.; Rojek, P.; Ryszkowska, J. *Polym. Degrad. Stab.* **2014**, 108, 241.
56. Abraham, G. A.; Marcos-Fernández, A.; San Román, J. *J. Biomed. Mater. Res. - Part A* **2006**, 76, 729.
57. Kavlock, K. D.; Pechar, T. W.; Hollinger, J. O.; Guelcher, S. A.; Goldstein, A.

- S. *Acta Biomater.* **2007**, 3, 475.
58. Król, P. *Prog. Mater. Sci.* **2007**, 52, 915.
59. Chan-Chan, L. H.; Solis-Correa, R.; Vargas-Coronado, R. F.; Cervantes-Uc, J. M.; Cauich-Rodríguez, J. V.; Quintana, P.; Bartolo-Pérez, P. *Acta Biomater.* **2010**, 6, 2035.
60. Colmenares-Roldán, G. J.; Quintero-Martínez, Y.; Agudelo-Gómez, L. M.; Rodríguez- Vinasco, L. F.; Hoyos-Palacio, L. M. *Rev. Fac. Ing.* **2017**, 2017, 35.
61. Bogdanov, B.; Toncheva, V.; Schacht, E. Thermal properties and morphology of poly(ester-urethanes) prepared from polycaprolactone-diol. *J. Therm. Anal. Calorim.* **1999**, 56, 1115–1121.
62. Brundavanam, S.; Jai Poinern, G. E.; Fawcett, D. *Nanosci. Nanoeng.* **2015**, 3, 1.
63. Guignot, C.; Betz, N.; Legendre, B.; Le Moel, A.; Yagoubi, N. *Nucl. Instruments Methods Phys. Res. Sect. B Beam Interact. with Mater. Atoms* **2001**, 185, 100.
64. Roohpour, N.; Wasikiewicz, J. M.; Moshaverinia, A.; Paul, D.; Rehman, I. U.; Vadgama, P. *Materials (Basel)*. **2009**, 2, 719.
65. Perelman, L. A.; Pacholski, C.; Li, Y. Y.; VanNieuwenhze, M. S.; Vannieuwenhz, M. S.; Sailor, M. J. *Nanomedicine* **2008**, 3, 31.
66. jahan, F.; Zaman, S. uz; Arshad, R.; Tabish, T. A.; Naseem, A. A.; Shahnaz, G. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **2021**, 61, 102220.
67. Kaduk, J. A.; Crowder, C. E.; Zhong, K.; Fawcett, T. G.; Suchomel, M. R. *Powder Diffr.* **2014**, 29, 199.
68. Chan-Chan, L. H.; Tkaczyk, C.; Vargas-Coronado, R. F.; Cervantes-Uc, J. M.; Tabrizian, M.; Cauich-Rodríguez, J. V. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2013**, 24, 1733.
69. Tang, Z.; Maroto-Valer, M. M.; Andrésen, J. M.; Miller, J. W.; Listemann, M. L.; McDaniel, P. L.; Morita, D. K.; Furlan, W. R. *Polymer (Guildf)*. **2002**, 43, 6471.
70. Graziella Trovati, 1 Edgar Ap Sanches, 2 Salvador Claro Neto, 1 Yvonne P.

- Mascarenhas, 2 Gilberto O. Chierice¹ *Polym. Polym. Compos.* **2009**, 21, 449.
71. Zarif, M. S.; Afidah, A. R.; Abdullah, J. M.; Shariza, A. R. *Biomed. Res.* **2012**, 23, 513.
72. Eceiza, A.; Martin, M. D.; de la Caba, K.; Kortaberria, G.; Gabilondo, N.; Corcuera, M. A.; Mondragon, I. *Polym. Eng. Sci.* **2008**, 48, 297.
73. He, Y.; Xie, D.; Zhang, X. The structure, microphase-separated morphology, and property of polyurethanes and polyureas. *J. Mater. Sci.* **2014**.
74. Saveleva, M. S.; Eftekhari, K.; Abalymov, A.; Douglas, T. E. L.; Volodkin, D.; Parakhonskiy, B. V.; Skirtach, A. G. *Front. Chem.* **2019**, 7.
75. Zheng, Z.; Cui, Z.; Si, J.; Yu, S.; Wang, Q.; Chen, W.; Turng, L. S. *ACS Omega* **2019**, 4, 6382.
76. Utracki, L. A.; Wilkie, C. A. *Polymer Blends Handbook*; Utracki, L. A.; Wilkie, C. A., Eds.; Springer Netherlands: Dordrecht, **2014**.
77. Verma, N.; Zafar, S.; Talha, M. *Mater. Res. Express* **2019**, 6.
78. Structure, M. M.; Mechanical, H.; Kim, J.; Shin, K.; Koh, Y.; Hah, M. J.; Moon, J.; Kim, H. .
79. Oftadeh, R.; Perez-viloria, M.; Villa-camacho, J. C.; Vaziri, A.; Nazarian, A. **2015**, 1.
80. Qian, J.; Berkland, C. *Adv. Healthc. Mater.* **2021**, 2100015, 1.
81. Wang, P.; Li, Y.; Zhang, C.; Feng, F.; Zhang, H. *Food Chem.* **2020**, 308, 125599.
82. Pourtalebi Jahromi, L.; Ghazali, M.; Ashrafi, H.; Azadi, A. *Heliyon* **2020**, 6.
83. Andreetta, H. A. *Acta Farm. Bonaer.* **2003**, 22, 355.
84. Tahara, K.; Yamamoto, K.; Nishihata, T. *Int. J. Pharm.* **1996**, 133, 17.
85. Heil, T. L.; Volkmann, K. R.; Wataha, J. C.; Lockwood, P. E. *J. Oral Rehabil.* **2002**, 29, 401.

8. ANEXOS

8.1. Presentación en Congresos.

- XIII Coloquio Bienal y II Coloquio Internacional en Ciencia de materiales: desafíos en salud y ambiente. Universidad de Sonora. Del 3 al 5 de abril de 2019.
- XXIII Reunión Universitaria de Investigación en Materiales. Cartel: "Síntesis de poliuretano, electrohilado y caracterización para aplicación potencial en liberación de fármacos". UNISON. Del 28 al 30 de noviembre del 2018.
- 5°. Congreso Internacional de la Red Biot. Cartel: "Síntesis de poliuretano, electrohilado y caracterización para aplicación potencial en liberación de fármacos". Centro de Investigación Científica de Yucatán. Mérida, Yucatán. Del 24 al 26 de octubre del 2018.
- XXX Congreso Nacional de la Sociedad Polimérica de México. A.C. Cartel: Synthesis and electrospun fibers of biodegradable polyurethane, characterization for potential application in drugs release. Los Cabos, B.C.S. México. Del 3 al 7 de diciembre de 2017.
- XXII Reunión universitaria de Investigación en materiales. Cartel "Síntesis de poliuretano degradable, elaboración de fibras electrohiladas y caracterización para una aplicación potencial en liberación de fármacos". Universidad de Sonora. 24 de noviembre del 2017.
- XII Coloquio Bienal en Ciencia de materiales: "Síntesis de poliuretano biodegradable y preparación de membranas mediante la técnica de electrohilado, caracterización para aplicación potencial en liberación de fármacos". Universidad de Sonora. Del 8 al 10 de marzo del 2017.
- XXI Reunión universitaria de investigación en materiales. Cartel "Membranas electrohiladas de poliuretano, caracterización y aplicación potencial en prótesis de hueso". Universidad de Sonora. Del 30 de noviembre al 2 de diciembre de 2016.

8.2. Estancias de investigación

- En el Centro de Investigación Científica de Yucatán durante octubre del 2018, recibida por el Dr. Pedro Jesús Herrera Franco.
- En el Centro de Investigación Científica de Yucatán durante octubre y noviembre del 2019, recibida por el Dr. Juan Valerio Cauich Rodríguez.

8.3. Artículos de investigación durante el doctorado.

8.3.1. Artículo de primer autor, como requisito de titulación.



Received: 5 July 2021 | Revised: 30 September 2021 | Accepted: 20 October 2021
DOI: 10.1002/app.5893

Applied Polymer WILEY
SCIENCE

ARTICLE

Polyurethane electrospun membranes with hydroxyapatite-vancomycin for potential application in bone tissue engineering and drug delivery

Claudia Vásquez-López¹ | Maria Monica Castillo-Ortega¹  |
Lerma Hanay Chan-Chan² | Irlanda Lagarda-Díaz² |
Astrid Lorena Giraldo-Betancur³ | Dora Evelia Rodríguez-Félix¹ |
Jose Carmelo Encinas-Encinas¹ | Maria Elisa Martínez-Barbosa¹ |
Gregorio Cadenas-Pliego⁴ | Juan Valerio Cauich-Rodríguez⁵ |
Pedro Jesus Herrera-Franco⁵

¹Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales, Universidad de Sonora, Rosales and Blvd. Luis Encinas, Hermosillo, México
²Departamento de Física, CONACYT-Universidad de Sonora, Hermosillo, México
³Departamento de Materiales, CONACYT-Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Querétaro, México
⁴Departamento de Química, Centro de Investigación en Química Aplicada, Saltillo, México
⁵Unidad de Materiales, Centro de Investigación Científica de Yucatán, Mérida, México

Correspondence
Monica Castillo-Ortega, Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales, Universidad de Sonora, Rosales y Blvd. Luis Encinas, C.P. 83000, Hermosillo, Sonora, México.
Email: monicac@qsosymas.uson.mx

Funding information
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Grant/Award Number: 613410

Abstract
The purpose of this study is to evaluate the drug delivery behavior and other properties of electrospun composite membranes for potential use in tissue engineering. Tecoflex[®] (PU1), and a lab-made polyurethane (PU2) were studied. They were mixed with nano-hydroxyapatite (PU1-nHA and PU2-nHA) and vancomycin (PU1-VA and PU2-VA) or mixed with both, nHA and VA (PU1-nHA-VA and PU2-nHA-VA). Scanning electron microscopy showed a porous structure in all the electrospun membranes with smooth fibers in PU1 and its composites with sizes in the range of 0.6–0.9 μm and nanoparticles of HA, both, adhered and embedded on the PU fibers were observed. nHA and VA affected the thermal and mechanical behavior of composites. Elastic modulus, cytotoxicity, and kinetic release were affected by the PU and nHA. Cell viability up to 75% showed that all membrane extracts are not cytotoxic while microbial inhibition activity was observed in PU1-VA, PU1-nHA-VA, and PU2-VA.

KEYWORDS
drug delivery systems, fibers, polyurethane

1 | INTRODUCTION

Electrospun membranes have shown great potential for their application in tissue engineering because of their unique properties, such as their large contact surface and high porosity. They can be drawn from solutions of

various biodegradable^{1,2} and nonbiodegradable materials,³ including polymers,⁴ composite materials,⁵ and ceramic materials.^{6,7} Polyurethane (PU), and hydroxyapatite (HA), are examples of a polymer and a ceramic that can be used to obtain porous membranes and fibers with ultrafine morphologies by

8.3.2. Artículo de colaboración



Research Article

Elaboration and characterization of P3HT-PEO-SWCNT fibers by electrospinning technique



D. Hernández-Martínez¹ · M. E. Nicho² · G. Alvarado-Tenorio² · S. García-Carvajal² · M. M. Castillo-Ortega¹ · C. Vásquez-López¹

Received: 29 October 2019 / Accepted: 17 February 2020 / Published online: 21 February 2020
© Springer Nature Switzerland AG 2020

Abstract

In the present work, we report the preparation by the electrospinning technique and the characterization of poly(3-hexylthiophene)-polyethylene oxide-single wall carbon nanotubes (P3HT-PEO-SWCNT) fibers. The SWCNT concentration into the P3HT-PEO matrix is varied from 0.2 to 1%. Optical, electrical, thermal, and morphological properties of the P3HT-PEO-SWCNT fibers are determined. The incorporation of the SWCNT into the P3HT-PEO polymer matrix is determined by SEM, EDS analysis, TEM, FTIR, and Raman. The optical properties are analyzed by the determination of photoluminescence and photoresponse. The stability and degradation temperature of the fibers are determined by TGA. The morphology of the P3HT-PEO-SWCNT fibers depends on the SWCNT concentration, in all cases non-beaded fibers are obtained. It is found that the SWCNT incorporating into the P3HT-PEO fibers increases the conjugation length of P3HT chains. Charge transfer from P3HT to SWCNT is corroborated by photoluminescence and Raman. The P3HT-PEO-SWCNT fibers obtained in this work exhibit interesting optoelectronic properties that could be useful for device applications.

Keywords Composite · Poly(3-hexylthiophene) · Single wall carbon nanotubes · Electrospinning · Conductance

1 Introduction

Conjugated polymers have been extensively researched over several decades due to their enormous potential for several applications, including corrosion inhibitors, energy storages, optoelectronic devices and sensors [1]. The poly(3-alkylthiophenes) (P3AT) belonging to the conductive polymers are composed of monomer units of thiophene rings substituted in the 3-position with alkyl groups. Within the P3AT, the poly(3-hexylthiophene) (P3HT) has become one of the most widely studied conjugated polymers for applications in polymeric transistors and photovoltaic devices due to its high optoelectronic performance and easy processability.

The electrospinning technique is based on electrostatic forces forming microfibers to nanofibers. The force induces stretching and alignment of the polymer chains, as well as coalignment of carbon nanotubes (CNT) [2]. There are several reported techniques for fiber alignment; Cai et al. [3], used a collector of different geometry (U) to produce long, aligned fibers. Katta et al. [4], used copper wires in the form of a circular drum as collector which allows to obtain aligned fibers widely manipulated. Lei et al. [5], used a collector with parallel plates connected negatively, this collector allows to obtain well aligned fibers of great length. Recently, works on the molecular orientation along the fiber have been carried out. Kakade et al. [6], have investigated that the molecular orientation induced by an electric field can be performed, which produces a high

✉ D. Hernández-Martínez, diego.hernandez@unison.mx | ¹Departamento de Investigación en Polímeros Y Materiales, Universidad de Sonora, 83000 Hermosillo, Sonora, Mexico. ²Centro de Investigación en Ingeniería y Ciencias Aplicadas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, C.P. 62210 Cuernavaca, Morelos, Mexico.



SN Applied Sciences (2020) 2:462 | <https://doi.org/10.1007/s42452-020-2278-2>

SN Applied Sciences
A SPRINGER NATURE JOURNAL