



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL



ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERÍA QUÍMICA E
INDUSTRIAS EXTRACTIVAS

SECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

*“Estudio de la degradación del poli (ácido-l-láctico-co-
glicólico) para la dosificación de Everolimus en medio
dinámico”*

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA METALÚRGICA

PRESENTA:

Inq. María José Valarezo Ulloa

DIRECTORES:

Dra. Mónica de la Luz Corea Téllez

Dr. Jorge Issaac Chairez Oria

México D.F. diciembre, 2015

*“Estudio de la degradación del polí
(ácido-l-láctico-co-glicólico) para la
dosificación de Everolimus en medio
dinámico”*



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de México, D. F., siendo las 12:00 horas del día 15 del mes de diciembre del 2015 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de: ESIQUIE

para examinar la tesis titulada:
"Estudio de la degradación del poliácido (L-láctico-co-glicólico) en la dosificación de everolimus en medio dinámico"

Presentada por el alumno:
VALAREZO ULLOA MARÍA JOSÉ
Apellido paterno Apellido materno Nombre(s)

Con registro:

B	1	3	1	1	2	3
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA METALÚRGICA

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis

 _____ DRA. MONICA DE LA LUZ COREA TÉLLEZ	 _____ DR. JORGE ISSAC CHÁVEZ ORIA
 _____ DR. CARLOS GÓMEZ YAÑEZ	 _____ DRA. LUCÍA TÉLLEZ JURADO
 _____ DRA. ELIA GUADALUPE PALACIOS BEAS	 _____ DRA. MARGA DE LOS ANGELES HERNÁNDEZ PÉREZ



ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERÍA QUÍMICA E INDUSTRIAS EXTRACTIVAS
PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



DR. ELÍAS RAMOS SALINAS




INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de México, D.F. el día 18 del mes de enero del año 2016, la que suscribe María José Valarezo Ulloa alumna del Programa de Maestría en Ciencias en Ingeniería Metalúrgica, con número de registro B131123, adscrito a la Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas ESIQIE, manifiesta que es la autora intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la Dra. Mónica de la Luz Corea Téllez y el Dr. Jorge Issaac Chairez Oria y cede los derechos del trabajo titulado “Estudio del proceso de degradación del poli (ácido-L-láctido-co-glicólico) PLGA para la dosificación de Everolimus en medio dinámico, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso de la autora y/o directores del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a las siguientes direcciones marijoe_88@hotmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.



Ing. María José Valarezo Ulloa

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivos principales el estudio del proceso de degradación estática de los copolímeros de poli (ácido-L-láctico-co-glicólico) PLGA 50:50%p, 60:40%p, 70:30%p, 80:20%p y 90:10%p (ácido L-láctico %p : ácido glicólico %p) y el estudio del proceso de degradación dinámica del copolímero de PLGA 90:10%p para su futura aplicación como dosificador de fármacos. Los copolímeros de PLGA se sintetizaron por polimerización de apertura de anillo (ROP) empleando como iniciador el 2-etilhexanoato de estaño $\text{Sn}(\text{Oct})_2$, la reacción se llevó a cabo en dos etapas la primera comprendió la condensación de los monómeros de bajo peso molecular y formación de los dímeros cíclicos de L-lactida y glicolido durante 6 horas a 145°C y la segunda etapa comprendió el rompimiento de los dímeros por mecanismos de coordinación-inserción por parte del iniciador ($\text{Sn}(\text{Oct})_2$) durante 10 horas a 165°C . El proceso de degradación estática in vitro del PLGA, se llevó a cabo en viales de 30mm x 50mm llenos de 30 mL de solución salina (0.9%NaCl) a 37°C y un pH de 7.4 ± 0.4 ; el periodo de estudio establecido fue de dos meses dividido en lapsos de 0.25 horas, 0.5 horas, 1 horas, 2 horas, 5 horas, 10 horas, 24 horas, 48 horas, 336 horas, 720 horas y 1444 horas. Para semejar la plataforma de soporte de un stent se utilizaron placas de vidrio pulido con carburo de silicio en polvo de 10 x 15mm, estas fueron recubiertas por los copolímeros de PLGA (500μ) mediante el método de inmersión Dip Coating. Por su parte el sistema para la degradación dinámica se elaboró en base a las propiedades fisicoquímicas de la sangre y dimensión y flujo volumétrico de las arterias; en base a esto se diseñó un tubo de 100 mm de largo por 15mm de diámetro en cual la placa de vidrio recubierta por el copolímero de PLGA 90:10%p se colocó en la parte central; se tomaron en cuenta los mismo lapsos de control que para el proceso de degradación estática. Los copolímeros degradados se analizaron mediante Difracción de rayos X (DRX), Calorimetría diferencial de barrido (DSC), Espectrometría de masa MALDI-TOF y Espectroscopía infrarroja (FT-IR). A partir del presente estudio se pudo observar que a medida que el porcentaje de ácido L-láctico aumentaba, el tiempo de degradación fue mayor, así el copolímero 50:50%p y 60:40%p tuvieron un tiempo de degradación de 720h (30 días), el copolímero 70:30%p se degradó a las 936 H (39 días), el copolímero 80:20%p lo hizo a

las 1440 horas (60 días) y el tiempo de degradación del copolímero 90:10%p fue de (75 días). Todos los copolímeros presentaron una estructura amorfa con una ligera tendencia al ordenamiento interplanar, una temperatura de transición vítrea entre los 42.75°C y 32.13°C, valor que se encontró por debajo de las temperaturas de transición vítrea teóricas obtenidas para todos los copolímeros de PLGA, asumiendo este hecho al tipo de polimerización empleada y al bajo peso molecular promedio obtenido. Mediante los análisis FT-IR se pudo observar que la degradación del material va desde los extremos de la cadena de PLGA hacia el interior, existiendo una variación en las bandas de transmitancia correspondientes a los enlaces OH, CH, CH₃, CH₂, C-COO, observándose que al inicio del proceso el PLGA sufre una degradación tipo básica en los extremos terminales de las cadenas; y al cabo de los 30 minutos de inmersión es de tipo ácida acelerada por la autocatálisis de las cadenas éster que han sido cortadas y liberadas en el medio. Se pudo concluir que los copolímeros de PLGA presentan un perfil de degradación estática múltiple los copolímeros con composiciones de 90:10%p y 80:20%p presentaron cuatro fases, la primera que se dió durante las primeras horas de inmersión en las cuales se pierde muy poca masa, la segunda que abarca las siguientes 48 horas de degradación en las cuales el material presenta un rompimiento de las cadenas al azar y muy rápido sin notarse un cambio en la superficie del material ni una pérdida de masa significativa, la tercera fase durante las siguientes 2 semanas (336 horas) en la que se evidencia el inicio de la erosión del material y la velocidad de degradación se vuelve lineal y una cuarta fase final en la que la velocidad de degradación se vuelve más rápida y el material empieza a perder mayor cantidad de masa debido a la erosión. Por su parte los copolímeros 70:30%p, 60:40%p y 50:50%p obtuvieron un perfil de degradación estática variado. La degradación dinámica del copolímero 90:10%p presentó un perfil similar que su degradación estática, más su pérdida de masa fue mayor y más rápida por lo que su tiempo de degradación se aceleró 720 horas (30 días). Además se observó un tipo de degradación heterogénea para el copolímero degradado estáticamente observándose que el perfil de peso molecular promedio difería del porcentaje de pérdida de peso. Mientras que el copolímero que fue degradado dinámicamente fue de tipo homogéneo con una disminución a la par del peso molecular promedio y porcentaje de pérdida de peso.

ABSTRACT

The main objective of this research was to study the static degradation of the copolymers of poly (acid L - lactic -co - glycolic acid) PLGA 50:50 wt%, 60:40 wt%, 70:30 wt%, 80:20 % wt 90:10 wt% (acid L - lactic %wt : glycolic acid %wt) and the study of the dynamic degradation of PLGA copolymer 90:10 %wt for a future application as drug dosifer . PLGA copolymers were synthesized by ring opening polymerization (ROP) using 2-ethylhexanoate $\text{TiSn}(\text{Oct})_2$ as initiator, the reaction took place in two stages, the first stage involved the condensation of monomers of low molecular weight and the formation of the cyclic dimers, glycolide and L-Lactida for 6 hours at 145°C . The second stage included the breaking of the dimers by mechanisms of coordinating - insertion generated by the initiator ($\text{Sn}(\text{Oct})_2$) for 10 hour at 165°C . The process of in-vitro PLGA static degradation took place on vials of 30 mL filled with saline solution (0.9 % NaCl) at 37°C and a pH of 7.4 ± 0.4 , the study period set was two months divided into lapses of 0.25 hour, 0.5 hours, 1 hour, 2 hours, 5 hours, 10 hours, 24 hours, 48 hours. 336 hours, 720 hours and 1444 hours. To mimic a stent platform glass plates polished with silicon carbide 10 x 15mm were used, the plates were coated with PLGA copolymers by the method of immersion. The dynamic degradation process was developed trying to mimic physicochemical properties of the blood and the dimension and volumetric flow of the arteries. In order to do that, a glass plate coated by the copolymer PLGA 9010% wt was placed on the central of a tube of 100mm long and 15mm diameter; it took into account the same periods of time for control of the degradation process that were established for static process. The copolymers were analyzed by X-ray diffraction (XRD), differential scanning calorimetry (DSC), mass spectrometry MALDI-TOF and the infrared Fourier transform (FT- IR) spectroscopy. It was observed that as the percentage of L-lactic acid increased, the degradation time of the copolymer was higher. The copolymers 50:50%wt and 60:40%wt had a degradation time of 720 h (30 Days), the copolymer 70:30%wt was degraded at 936 h (39 days), the copolymer 80:20%wt made it at 1440 hours (60 days) and the time of degradation of the copolymer 90:10%wt was (75 days). All copolymers had an amorphous structure with a glass transition temperature between 42.75°C and 32.13°C , values that were below than the theoretical glass transition temperatures for all

PLGA copolymers, probably because to the type of polymerization employed and low average molecular weight. By FT-IR analysis it was observed that the material degradation was from the surface inwards, having a variation in transmittance bands corresponding to OH CH, CH₃, CH₂, C-COO. It was observed that in the early stage of the process a basic degradation of the terminal ends of the chains and on their structure ruled and after 30 minutes of immersion. The degradation changed to an acid type, accelerated by autocatalysis of the ester chains that have been cut and discharged into the environment Concluded that PLGA 90:10% wt and 80:20% wt copolymers have a profile of static degradation divided into four phases, the first occurring during the initial first hour of degradation in which the material has not a significant mass loss. A second stage in which the material has a quick and random fracture of the chains without any sign in the material surface or a significant mass loss. The third stage occurs during the next 2 weeks (336 hours) in which the erosion and degradation rate of the material becomes linear. A fourth final phase is evidenced in which the degradation rate becomes fast and the material begins to lose mass due to erosion. Copolymers of 70:30% wt, 60:40% wt and 50:50% wt had a random profile of degradation process Dynamic degradation of the copolymer 90:10% wt presented a very similar profile, but the mass loss was higher and faster so the degradation time was shorter, 720 hours (30 days). A heterogeneous degradation type was observed for the static degradation of the material, observed that the profile of average molecular weight differed from the percentage of weight loss, while the copolymer that was degraded dynamically presented an homogeneous degradation type noticed that the molecular weight and average percentage of weight loss had a same profile.

INTRODUCCIÓN

Los stents dosificadores de fármacos llegaron al campo de la cardiología intervencionista hace un poco más de diez años y desde entonces hasta la actualidad han existido una serie de investigaciones para mejorar tanto el diseño del stent, materiales de soporte, recubrimiento polimérico y principios farmacológicos activos. Los primeros stents dosificadores que se diseñaron presentaban una plataforma de metal elaborada generalmente de acero inoxidable 316L y otras aleaciones como: cromo-cobalto y níquel-titáneo, estos se encontraban recubiertos por matrices poliméricas no biodegradable [1]. Posteriormente, el uso de estos polímeros fue reemplazado, al notarse que contribuían a la generación de trombos como resultado de una retrasada regeneración de la capa neointimal al permanecer en la arteria, luego de que el fármaco había sido liberado [2], debido a ello, los polímeros biodegradables son los materiales que han tomado su lugar, a fin de eliminar todos los posibles efectos colaterales y disminuir el riesgo de una futura intervención para la remoción del stent.

El poli (ácido láctico-co-glicólico) PLGA es uno de los polímeros mayormente utilizados para este fin, debido a que su degradación se realiza por la ruptura de las cadenas éster de ácido láctico y glicólico que lo conforman al ser sometido a un ataque hidrolítico

Para que un polímero pueda ser considerado como dosificador de fármacos debe poseer características que puedan ser controladas; entre ellas se encuentra, la cinética de degradación, módulo de tensión, biocompatibilidad, productos de degradación no tóxicos y mecanismos de liberación del fármaco. Estos aspectos se encuentran regulados a su vez por el tipo y cantidad de monómero inicial; y condiciones de síntesis que repercuten en otras propiedades como temperatura de transición vítrea, cristalinidad, peso molecular, etc [5,6];

En la actualidad la mayor parte de las investigaciones se enfocan en una de las propiedades que afectan al proceso de degradación y generalmente se realizan en medio estático; una vez

pasada esta etapa los análisis de degradación se llevan a cabo en animales y finalmente en seres humanos. Razón por la cual esta investigación tuvo como objetivo, el estudio del proceso de degradación dinámica del poli (ácido-L-láctico-co-glicólico) y analizar con el flujo afecta en sus propiedades como peso molecular, estructura y composición química, para una futura aplicación como matriz polimérica para dosificación de fármacos.

OBJETIVOS

Objetivo General

Estudiar el proceso de degradación dinámica del poli (ácido L-láctico-co-glicólico); y analizar los métodos de adsorción y desorción del fármaco en el copolímero.

Objetivos Específicos

- Sintetizar y caracterizar el poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA en distintas proporciones de sus monómeros poli(L-láctico) y poli(glicólico) a condiciones ambientales.
- Determinar las velocidades de degradación del copolímero poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA en placas de vidrio en un sistema estático y dinámico.
- Identificar los subproductos de degradación del poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA en un sistema dinámico
- Determinar velocidades de adsorción y desorción del fármaco en el copolímero poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

PORTADA	1
TEMA	2
ACTA DE REVISIÓN DE TESIS	3
CESIÓN DE DERECHOS	4
RESUMEN	5
ABSTRACT	7
INTRODUCCIÓN	9
OBJETIVOS	10
Objetivo General	11
Objetivos Específicos	11
CAPÍTULO UNO	
ANTECEDENTES	16
1.1 Degradación del poli (ácido láctico-co-glicólico) PLGA	21
1.1.1 Factores que influyen en la degradación del poli (ácido láctico-co-glicólico) PLGA	24
1.2 Poli (ácido láctico-co-glicólico) PLGA en dispositivos dosificadores de fármacos	28
CAPÍTULO DOS	
MATERIALES Y MÉTODOS	32
2.1 Materiales	33
2.2 Métodos	34
2.2.1 Síntesis del poli (ácido L-láctico-co-glicólico), PLGA	34
2.2.2 Estudio in vitro del proceso de degradación estática del poli (ácido láctico-co-glicólico), PLGA	36
2.2.3 Estudio in vitro del proceso de degradación dinámica del poli (ácido láctico-co-glicólico), PLGA	38
2.2.4 Estudio del proceso de adsorción y desorción de la Prednisona en PLGA	40
2.3 Técnicas de caracterización del poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA	42
2.3.1 Difracción de rayos X, DRX	42
2.3.2 Calorimetría diferencial de barrido, DSC	43
2.3.3 Espectrometría de masas MALDI-TOF	44
2.3.4 Espectrometría de masas por Electrospray	45
2.3.5 Espectroscopia infrarroja con la transformada de Fourier, FT-IR	46
2.3.6 Espectrofotometría ultravioleta visible, UV-vis	46
2.3.7 Pérdida de masa	46
2.3.8 Variación de pH	47
CAPÍTULO III	
ANÁLISIS DE RESULTADOS	48
3.1 Síntesis del poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA	49
3.2 Resultados de la caracterización de los copolímeros de poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA	51
3.2.1 Estructura de los copolímeros de poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA ...	51
3.2.2 Medición de los enlaces característicos de los copolímeros de poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA	52

3.2.3 Temperatura de transición vítrea (Tg) de los copolímeros de poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA.....	55
3.2.4 Peso molecular promedio de los copolímeros de poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA.....	58
3.3 Degradación estática de los copolímeros de poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA.....	61
3.3.1 Variación del peso molecular promedio de los copolímeros de poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA.....	61
3.3.2 Variación de los enlaces característicos de los copolímeros de poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA.....	67
3.3.3 Pérdida de masa y variación de pH del poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA durante el proceso de degradación estática.....	75
3.3.4 Cambios de superficie del poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA durante el proceso de degradación estática	80
3.4 Degradación dinámica del poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA.....	88
3.4.1 Variación del peso molecular promedio del poli (ácido L-láctico-co-glicólico) 90:10%p durante el proceso de degradación dinámica.....	88
3.4.2 Variación de los enlaces característicos del poli (ácido L-láctico-co-glicólico) 90:10%p durante el proceso de degradación dinámica.....	93
3.4.3 Pérdida de masa y variación de pH del poli (ácido L-láctico-co-glicólico) 90:10%p durante el proceso de degradación dinámica.....	94
3.4.4 Cambios de superficie del poli (ácido L-láctico-co-glicólico) 90:10%p durante el proceso de degradación dinámica	97
CAPÍTULO IV	
CONCLUSIONES	101
BIBLIOGRFÍA	104
ANEXOS	113

ÍNDICE DE TABLAS	
CAPÍTULO II	
MATERIALES Y MÉTODOS	
Tabla 2.1 Proporciones teóricas de los ácidos L-láctico y glicólico.....	35
Tabla 2.1 Proporciones teóricas de los ácidos L-láctico y glicólico.....	35
Tabla 2.3 Propiedades fisicoquímicas de la sangre.....	38
CAPÍTULO III	
ANÁLISIS DE RESULTADOS	
Tabla 3.1 Bandas de transmitancia designadas para los copolímeros de PLGA.....	52
Tabla 3.2 Valores teóricos y experimentales para la Tg de las relaciones de PLGA, en flujo de aire.....	55
Tabla 3.3 Peso molecular promedio, Índice de polidispersidad y Grado de polimerización de los segmentos de PLGA de los copolímeros de poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA.....	58
Tabla 3.4 Peso molecular promedio, Índice de polidispersidad y Grado de polimerización de los segmentos de PGA de los copolímeros de poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA.....	60

Tabla 3.5 Peso molecular promedio, Índice de polidispersidad y Grado de polimerización de los segmentos de PLLA de los copolímeros de poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA.....	60
Tabla 3.6 Variación del promedio de peso molecular (Mn) e índice de polidispersidad de las cadenas de PLGA 90:10%p degradado dinámicamente.....	89
Tabla 3.7 Variación del promedio de peso molecular (Mn) e índice de polidispersidad de las cadenas de PLLA del copolímero 90:10%p degradado dinámicamente.....	90
Tabla 3.8 Variación del promedio de peso molecular (Mn) e índice de polidispersidad de las cadenas de PGA del copolímero 90:10%p degradado dinámicamente.....	92

ÍNDICE DE GRÁFICAS

CAPÍTULO UNO

ANTECEDENTES

Figura 1.1. Polimerización por apertura de anillo del poli (ácido-L-láctico-co-glicólico), PLGA.....	20
Figura 1.2. Degradación hidrolítica del poli (ácido-L-láctico-co-glicólico), PLGA...	23
Figura 1.3. Erosión de la superficie y erosión de masa del del poli (ácido-L-láctico-co-glicólico), PLGA.....	24

CAPÍTULO DOS

MATERIALES Y MÉTODOS

Figura 2.1. Esquema del proceso de síntesis del poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA, por polimerización de apertura de anillo, ROP.....	34
Figura 2.2 Diseño del vial empleado para el proceso de degradación estática del PLGA.....	36
Figura 2.3 a) Placas de vidrio para soporte de la matriz polimérica, b) Equipo de inmersión Dip-Coater.....	36
Figura 2.4 a) Placa de vidrio recubierta con PLGA 90:10%p vista de frente y b) Placa de vidrio recubierta con PLGA 90:10%p vista de frente.....	37
Figura 2.5 Diseño del sistema empleado para la degradación dinámica del copolímero de PLGA 90:10%p.....	39
Figura 2.6. Curva de calibración de adsorción de Prednisona.....	41

CAPÍTULO TRES

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Figura 3.1. Polimerización por apertura de anillo (ROP) del PLGA.....	50
Figura 3.2. Difractogramas DRX de los copolímeros de PLGA 50:50%p, 60:40%p, 70:30%p, 80:20 y 90:10%p.....	51
Figura 3.3. Espectros FT-IR de a) 4000 a 1600 cm^{-1} y b) 1559 a 600 cm^{-1} de los copolímeros de PLGA 50:50, 60:40, 70:30, 80:20 y 90:10%p.....	53
Figura 3.4 Termogramas DSC de los copolímeros de PLGA a) 50:50%p, b) 60:40%p, c) 70:30%p, d) 80:20%p y e) 90:10%p.....	58
Figura 3.5 Porcentaje de Ácido L-láctico vs. Peso molecular promedio e Índice de polidispersidad.....	59

Figura 3.6 Porcentaje de ácido L-láctico vs. Índice de polidispersidad y Grado de polimerización.....	59
Figura 3.7 Variación del peso molecular promedio e índice de polidispersidad del copolímero 90:10%p para las cadenas de (a) PLGA, (b) PLLA y (c) PGA.....	62
Figura 3.8 Variación del peso molecular promedio e índice de polidispersidad del copolímero 80:20%p para las cadenas de (a) PLGA, (b) PLLA y (c) PGA.....	63
Figura 3.9 Variación del peso molecular promedio e índice de polidispersidad del copolímero 70:30%p para las cadenas de (a) PLGA, (b) PLLA y (c) PGA.....	64
Figura 3.10 Variación del peso molecular promedio e índice de polidispersidad del copolímero 60:40%p para las cadenas de (a) PLGA, (b) PLLA y (c) PGA.....	65
Figura 3.11 Variación del peso molecular promedio e índice de polidispersidad del copolímero 50:50%p para las cadenas de (a) PLGA, (b) PLLA y (c) PGA.....	66
Figura 3.12 Espectros FT-IR a) 4000 a 1600 cm^{-1} y b) 1559 a 600 cm^{-1} del proceso de degradación estática del copolímero 90:10%p de PLGA.....	71
Figura 3.13 Espectros FT-IR a) 4000 a 1600 cm^{-1} y b) 1559 a 600 cm^{-1} del proceso de degradación estática del copolímero 80:20%p de PLGA.....	72
Figura 3.14 Espectros FT-IR a) 4000 a 1600 cm^{-1} y b) 1559 a 600 cm^{-1} del proceso de degradación estática del copolímero 70:30%p de PLGA.....	73
Figura 3.15 Espectros FT-IR a) 4000 a 1600 cm^{-1} y b) 1559 a 600 cm^{-1} del proceso de degradación estática del copolímero 60:40%p de PLGA.....	74
Figura 3.16 Espectros FT-IR a) 4000 a 1600 cm^{-1} y b) 1559 a 600 cm^{-1} del proceso de degradación estática del copolímero 50:50%p de PLGA.....	75
Figura 3.17 Variación del pH durante el proceso de degradación estática de los copolímeros 50:50%p, 60:40%p, 70:30%p, 80:20%p y 90:10%p PLGA, desde el tiempo $t=0\text{h}$ hasta $t=1440\text{h}$	76
Figura 3.18 Variación del pH durante el proceso de degradación estática de los copolímeros 50:50%p, 60:40%p, 70:30%p, 80:20%p y 90:10%p PLGA, desde el tiempo $t=0\text{h}$ hasta $t=10\text{h}$	76
Figura 3.19 Porcentaje de pérdida de masa durante el proceso de degradación dinámica de los copolímeros 50:50%p, 60:40%p, 70:30%p, 80:20%p y 90:10%p PLGA, desde el tiempo $t=0.25\text{h}$ hasta $t=1440\text{h}$	78
Figura 3.20 Tablas del peso molecular promedio vs. Porcentaje de pérdida de peso de los copolímeros de PLGA a) 90:10%p y b) 50:50%p.....	80
Figura 3.21 Micrografías del copolímero (20x) 50:50%p PLGA luego de a) 0.25 h, b) 0.5 h, c) 1h, d) 2h, e) 5h, f) 10h, g) 24h, h) 48h, i) 168h, j) 336h y k) 720h de degradación estática.....	81
Figura 3.22 Micrografías del copolímero (20x) 60:40%p PLGA luego de a) 0.25 h, b) 0.5 h, c) 1h, d) 2h, e) 5h, f) 10h, g) 24h, h) 48h, i) 168h, j) 336h y k) 720h de degradación estática.....	82
Figura 3.23 Micrografías del copolímero (20x) 70:30%p PLGA luego de a) 0.25 h, b) 0.5 h, c) 1h, d) 2h, e) 5h, f) 10h, g) 24h, h) 48h, i) 168h, j) 336h y k) 720h de degradación estática.....	84
Figura 3.24 Micrografías del copolímero (20x) 80:20%p PLGA luego de a) 0.25 h, b) 0.5 h, c) 1h, d) 2h, e) 5h, f) 10h, g) 24h, h) 48h, i) 168h, j) 336h y k) 720h de degradación estática.....	85

Figura 3.25 Micrografías del copolímero (20x) 90:10%p PLGA luego de a) 0.25 h, b) 0.5 h, c) 1h, d) 2h, e) 5h, f) 10h, g) 24h, h) 48h, i) 168h, j) 336h y k) 720h de degradación estática.....	86
Figura 3.26 Micrografías (20x) del copolímeros de PLGA a) 50:50%p y b) 60:40%p luego de 336h y 720h de degradación estática.....	87
Figura 3.27 Variación del peso molecular promedio de las cadenas del copolímero de PLGA 90:10%p degradado estática y dinámicamente.....	89
Figura 3.28 Variación del peso molecular promedio de las cadenas del copolímero de PLLA 90:10%p degradado estática y dinámicamente.....	91
Figura 3.29 Variación del peso molecular promedio de las cadenas del copolímero de PGA 90:10%p degradado estática y dinámicamente.....	92
Figura 3.30 Espectros FTIR a) 4000 a 1600 cm^{-1} y b) 1559 a 600 cm^{-1} del proceso de degradación dinámica de copolímero 90:10 %p de PLGA.....	94
Figura 3.31 Variación de pH del proceso de degradación estática en comparación al proceso de degradación dinámico del copolímero de PLGA 90:10%p durante los tiempos de 0 horas, 0.25 horas, 0.5h, 1h, 2h, 5h, 10h, 24h, 48h, 168h, 336h, 720h....	95
Figura 3.32 Comparación entre el porcentaje de pérdida de masa del copolímero de PLGA 90:10%p degradado estática y dinámicamente, durante los tiempos de 0 horas, 0.25 horas, 0.5h, 1h, 2h, 5h, 10h, 24h, 48h, 168h, 336h, 720h.....	96
Figura 3.33 Micrografías del copolímero (20x) PLGA 90:10%p luego de a) 0.25 h, b) 0.5 h, c) 1h, d) 2h, e) 3h, f) 4h, g) 5h, h) 10h, i) 24h, j) 48h, k) 168h, l) 336h y k) 730h de degradación.....	98
Figura 3.34 Degradación básica de los copolímeros de PLGA	99
Figura 3.35 Degradación ácida de los copolímeros de PLGA	100

CAPITULO UNO
ANTECEDENTES

Con el objetivo de obtener un tratamiento médico más eficaz y generar una calidad de vida buena a los pacientes, ha surgido desde hace varios años atrás, el creciente desarrollo de nuevos fármacos y medios de administración de los mismos, la meta general a alcanzar por parte de los investigadores, es la entrega focalizada del fármaco al órgano o tejido dañado, evitando efectos secundarios, eliminando la necesidad de una intervención futura y disminuyendo su dosificación.

La tecnología de control de liberación de fármacos envuelve conocimientos científicos multidisciplinarios, que permiten llevar a cabo dispositivos capaces de lograr la entrega sistematizada de un agente farmacéutico, y mantenerlo en un nivel terapéutico en el cuerpo durante un periodo de tiempo determinado [1,2].

Los principales materiales utilizados dentro de la industria de los dosificadores farmacéuticos son los polímeros biodegradables, los cuales, al mismo tiempo que son adsorbidos en el cuerpo, liberan agentes biológicos que llevan consigo en su interior como péptidos, vacunas, hormonas, inmunosupresores, agentes antitumorales, antibióticos, proteínas, genes y virus [3,4].

Una de las características más interesantes que tienen los polímeros biodegradables es su biocompatibilidad, al degradarse en productos no tóxicos, por lo que, además de ser utilizados para este fin [5,6,7], se emplean como andamios en ingeniería de tejidos [8,9] y materiales compuestos para la regeneración de tejido óseo al ser mezclados con hidroxihapatita, bioglass, fosfato tricálcico o TCP y fibras de carbono [10,11].

Existen una serie de polímeros biodegradables que son candidatos a ser empleados como portadores de fármacos pero solo pocos han sido aprobados por la FDA (Food and Drug Administration, EEUU), haciendo hincapié en el tema de la biocompatibilidad de sus productos de degradación [12].

Los poliésteres han demostrado ser extremadamente útiles como materiales para el diseño de sistemas dosificadores de fármacos, debido a su nula toxicidad, buena permeabilidad para ciertos fármacos, en especial hidrofílicos; y biosorción [13,14]. Los homopolímeros y

copolímeros de ácido láctico y glicólico junto a la caprolactona se encuentran dentro del grupo de los poliésteres fundamentales para este fin [15,16].

El poli (ácido láctico) PLA se puede obtener mediante la condensación directa del ácido láctico (polimerización por etapas) o mediante polimerización de apertura de anillo ROP de la lactida (polimerización por adición), es un compuesto quiral, presenta dos enantiómeros, uno del tipo levógiro, poliácido L-láctico (PLLA) y uno tipo dextrógiro, PDLA poliácido D-láctico. La mezcla recémica de sus enantiómeros PDLLA es muy utilizada como matriz dosificadora de fármacos. Al igual que el PLA, el poli (ácido glicólico) PGA se sintetiza por condensación directa del ácido glicólico o por ROP del diéster cíclico del ácido glicólico o glicólido [17,18].

Estos poliésteres presentan propiedades específicas que los diferencian entre sí. El PGA presenta un punto de fusión mayor (220°C) al del PLLA (170°C), además es un compuesto altamente cristalino (45-55%), posee muy poca solubilidad en solventes orgánicos y su temperatura de transición vítrea (T_g) se encuentra entre los 35 y 40°C. Por su parte el poli (ácido D-láctico) PDLA es un polímero amorfo y el poli (ácido L-láctico) PLLA es un polímero semicristalino (37%); aunque esta propiedad depende del peso molecular y parámetros de elaboración. El PLLA presenta una temperatura de transición vítrea (T_g) entre 60 y 65°C, mientras que su pareja enantiomérica D una (T_g) de 55 a 60 °C [17,18,19,20].

En la actualidad el PGA además de ser utilizado como dosificador de fármacos, se lo emplea para la elaboración de fibras para suturas quirúrgicas, en andamios para regeneración de tejidos y está siendo investigado como dispositivo de fijación interna de huesos [20,21]. La degradación del PGA se da por la escisión al azar de la cadena éster, ya en el organismo el PGA se hidroliza y se degrada por medio de mecanismos de difusión/erosión, se descompone en glicina que puede ser excretada en la orina o convertido en CO₂ y H₂O por vía del ácido cítrico. Se conoce que el polímero pierde su fuerza de uno a dos meses cuando se hidroliza y su masa de seis a doce meses. [17,21,22]. Debido a sus buenas propiedades, la aplicación del PGA en biomedicina, se ha expandido copolimerizándolo con otros monómeros [22,23].

La velocidad de degradación del PLLA es más lenta en comparación a la del PGA, al presentar en su cadena un grupo metilo adicional, por ende el ingreso de las moléculas de H₂O se torna más difícil, volviéndolo menos susceptible a hidrolizarse; además forma cristales durante el proceso de degradación [24]. Pierde su resistencia mecánica a los seis meses de lo que se hidroliza, más no existen cambios significativos en su masa durante un largo periodo de tiempo; algunos polímeros de PLLA que presentan un peso molecular muy elevado pueden degradarse in vivo en un periodo de dos a cinco años y medio [25]. Es considerado un biomaterial ideal para aplicaciones de carga como dispositivos ortopédicos de fijación, al tener una buena resistencia a la tracción y baja extensión, además, puede formar fibras altamente resistentes, por lo que se ha investigado como material de andamiaje para el desarrollo de dispositivos de reemplazo de ligamentos o de aumento para reemplazar fibras no degradables; algunas fibras de PLLA están siendo utilizadas para conductos de vasos sanguíneos a largo plazo [25,26,27]. Al igual que el poli (ácido glicólico) se degrada hidrolíticamente y se elimina del cuerpo en forma de CO₂ y H₂O por medio del ciclo del ácido cítrico [22].

Debido a las singulares propiedades que cada uno de los polímeros mencionados presenta se han elaborado una serie de dispositivos liberadores de fármacos; y como una estrategia para aumentar el rango de aplicaciones dentro de este campo, se ha llevado a cabo su copolimerización, el poli (ácido láctico-co-glicólico) se ha convertido en el copolímero más empleado dentro de esta industria medica [25,28,29].

El PLGA o poli (ácido láctico-co-glicólico) está constituido por bloques de monómeros de poli (ácido láctico) y poli (ácido glicólico), a partir de estos se pueden obtener tres tipos de PLGA, el L-PLGA, D-PLGA y el DL-PLGA, al presentar cualquier de los enantiómeros de PLA o combinación de los mismos L,D o D-L respectivamente. Para el diseño de dispositivos liberadores de fármacos el tipo (D-PLGA) no es muy usual, sin embargo, los tipo L y D-L han sido ampliamente utilizados [30,31,32].

La síntesis del poli (ácido láctico-co-glicólico) se puede llevar a cabo mediante ROP de los dímeros de ácido láctico y ácido glicólico, lactida y glicólido respectivamente [30,31,33],

este tipo de síntesis permite obtener polímeros de elevado peso molecular y llevar un mayor control de las condiciones y tiempos de reacción, sin dejar productos secundarios [33,34]. Existe otro método de síntesis que consiste en la policondensación lineal de los hidroxilácidos láctico y glicólico, más se ha reportado que se obtienen pesos moleculares muy bajos para ser utilizados como dosificadores de fármacos y sus condiciones de reacción son difíciles de mantener [34]. En la Figura 1.1, se muestra el proceso de polimerización por apertura de anillo del PLGA.

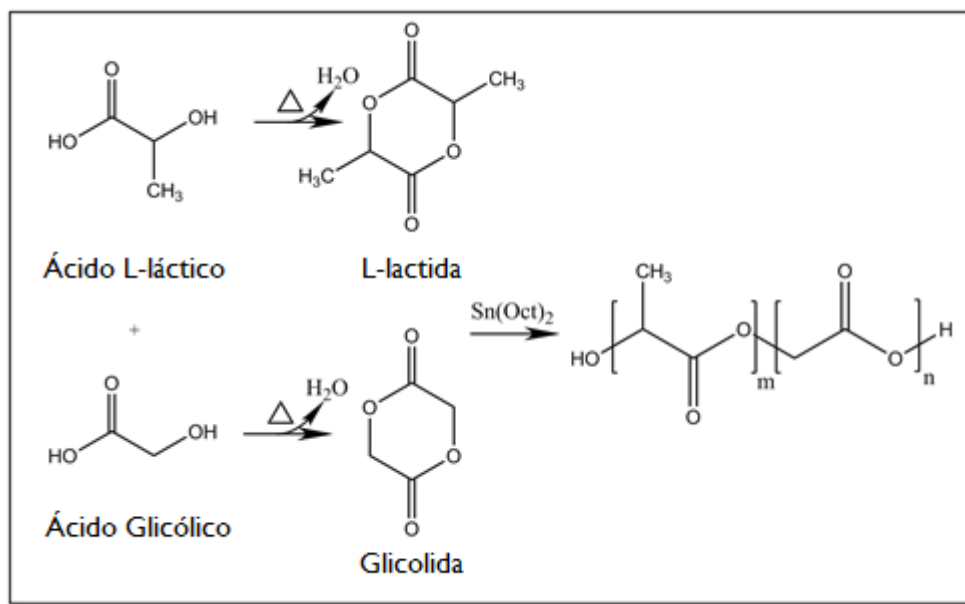


Figura 1.1. Polimerización por apertura de anillo del poli (ácido-L-láctico-co-glicólico), PLGA.

El PLGA ha sido aprobado por la FDA para su uso en humanos desde 1960 [21,22], puede ser procesado en muchas formas y dimensiones; y encapsular moléculas de prácticamente cualquier tamaño, es soluble en una amplia gama de solventes, incluyendo clorados, tetrahidrofurano, acetona o acetato de etilo [35]. Su temperatura de transición vítrea (T_g) se reporta sobre los 37°C; por lo tanto son vítreos al ambiente, exhibiendo así su estructura de cadena bastante rígida; se ha reportado que la (T_g) de los copolímeros de PLGA decrece, al disminuir el contenido de L-lactida y su peso molecular. [36,37]. La fuerza mecánica, la hinchazón, la capacidad de hidrolizarse y subsecuentemente la velocidad de degradación son influenciados directamente por su la cristalinidad, la cual depende de las proporciones

individuales de los monómeros iniciadores de ácido láctico y ácido glicólico (*LA/GA*); el PGA reduce el grado de cristalinidad del PLGA [24,37,38].

Su velocidad de degradación es controlable, por esta razón, se estudia para el uso como dispositivo liberador de fármacos, si bien es cierto, casi todas las aplicaciones del PLGA son para la elaboración de este tipo de dispositivos (dosificadores de fármacos, proteínas, ADN, ARN y péptidos), gracias a su buena adhesión celular, se emplea también como guía y soporte para la regeneración de tejidos [38,39].

Debido a su complejidad y a su amplia gama de propiedades y aplicaciones, no existe una proporción de (*LA/GA*) única que se pueda considerar como ideal, sino que las proporciones se establecen en base a los requerimientos específicos para cada tratamiento médico [25,28,39]. Cabe mencionar que a pesar del continuo crecimiento en el uso de este tipo de copolímeros, aún quedan muchos vacíos por llenar, sobre todo en su proceso de degradación, solo de esta manera se podrá obtener la máxima ventaja en el uso de este copolímero en la elaboración de dispositivos liberadores de fármacos.

1.1 Degradación del PLGA poli (ácido láctico-co-glicólico)

Existen diferentes tipos de degradación de polímeros, como fotónica, termal, mecánica y química [39,40]; para polímeros cuya aplicación es en el cuerpo humano la degradación termal no presenta mayor influencia, por su parte, la degradación mecánica afecta a aquellos dispositivos que se encuentran sujetos a un estrés mecánico como implantes y suturas [41,42], pero todos los polímeros biodegradables que contienen enlaces hidrolizables en su cadena son más propensos a una degradación química ya sea por hidrólisis o enzimática, sin embargo la degradación enzimática no desempeña un rol importante en los polímeros provenientes del PLA o PGA [43,63].

El PLGA presenta un proceso de degradación complejo al estar relacionado con factores fisicoquímicos del mismo material y el medio de degradación como la proporción de sus monómeros iniciales (*LA/GA*), tamaño de partícula, cristalinidad, peso molecular,

autocatálisis, temperatura de transición vítrea (T_g), pH y temperatura del medio de degradación [22,23,38,39]. Un aumento en los contenidos de GA de 15 a 50%p reduce su tiempo de degradación de 5 a 6 meses, a 1 o 2 meses, demás los copolímeros que presentan de 25-79%p de ácido glicólico son materiales amorfos y se degradan más rápido [41,42], el primer copolímero de PLGA que se sintetizó fue en una proporción de 90:10 (LA/GA) %p y se degradaba de 3 a 4 meses. Los productos de degradación del PLGA no son tóxicos, y al igual que sus monómeros iniciales son eliminados del cuerpo por medio del sistema renal [40].

La degradación del (PLGA) se realiza mediante dos fenómenos: el primero de ellos de tipo químico y el segundo de tipo físico, sin existir una separación delimitada entre ambos, en especial al final del proceso. El primer fenómeno por el que se lleva a cabo la degradación del (PLGA) es la hidrólisis, que consiste en el rompimiento hidrolítico de las cadenas éster para generar productos de degradación solubles en agua. Esto conlleva a la generación del segundo fenómeno, la erosión [43,44]. La hidrólisis del material es la ruta clave para la erosión del mismo, la primera conlleva a la generación de la segunda [45].

La degradación hidrolítica de los miembros de la familia de los PLA/PGA se lleva a cabo mediante cuatro etapas. La primera etapa conlleva la difusión de H_2O dentro de la matriz polimérica o hidratación, durante la segunda etapa el incremento de agua es menor y la hidrólisis continua mediante la autocatálisis que generan los grupos terminales ácidos de los oligómeros que se forman, durante esta etapa no existe pérdida de masa, sin embargo, su peso molecular disminuye notablemente al mismo tiempo que su índice de polidispersidad aumenta [4,45]. Al inicio de la tercera etapa el PLGA alcanza un peso molecular crítico, Park T.G. [46] ha reportado que se encuentra alrededor de los 1100 Da, a partir de este los oligómeros empiezan a difundirse entre la matriz y salen al medio acuoso, al mismo tiempo las moléculas de H_2O empiezan a difundirse dentro del polímero a través de los espacios libres que dejaron los oligómeros y generan que más oligómeros dejen la matriz, esta etapa es además característica por su incremento de la masa de agua dentro del polímero y pérdida de masa del mismo. Al inicio de la cuarta etapa, el material se vuelve altamente poroso y el

proceso de degradación se torna lento y homogéneo [4,46]. En la Figura 1.2 se muestra la degradación hidrolítica del PLGA.

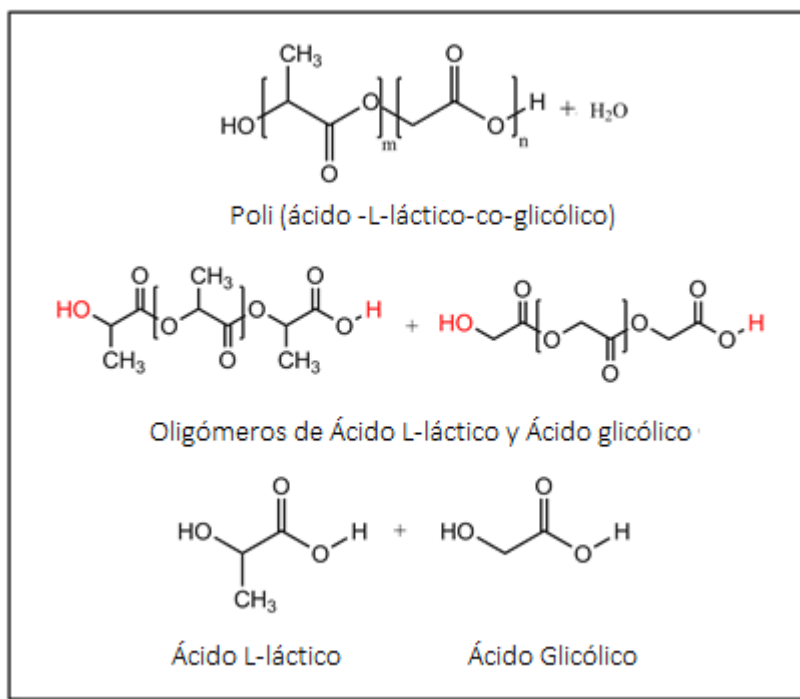


Figura 1.2. Degradación hidrolítica del poli (ácido-L-láctico-co-glicólico), PLGA.

Por su parte, la erosión de la matriz polimérica es un poco más complicada que el proceso químico de la degradación hidrolítica, ya que depende del conjunto de procesos mencionados anteriormente, hidratación, disolución, difusión y cambios en la morfología del PLGA. La erosión puede llevarse a cabo por medio de dos fenómenos físicos, ya sea erosión de la superficie o erosión de la masa como se muestra en la Figura 1.3, para el caso de erosión de la masa el proceso se inicia en el interior del material mediante la autocatálisis generada por acción de los grupos terminales ácidos de los oligómeros originando el efecto “bursts” que consiste en la expulsión rápida de los productos de degradación al medio, pérdida de masa y erosión del material, mientras que en la erosión de la superficie la velocidad de erosión es constante y proporcional al área externa del polímero, es decir no se manifiesta ninguna epata inicial o efecto “bursts”, sino que la degradación se va dando bajo un tiempo controlado [47,48]; es decir, la erosión de la masa conlleva la fragmentación del material de manera heterogénea, sin existir una disminución de peso molecular contemporáneo a la pérdida de masa, mientras que la erosión de la superficie va desgastando el material de forma

homogénea por todos sus lados; a medida que disminuye su peso molecular, se pierde la masa [49,50].

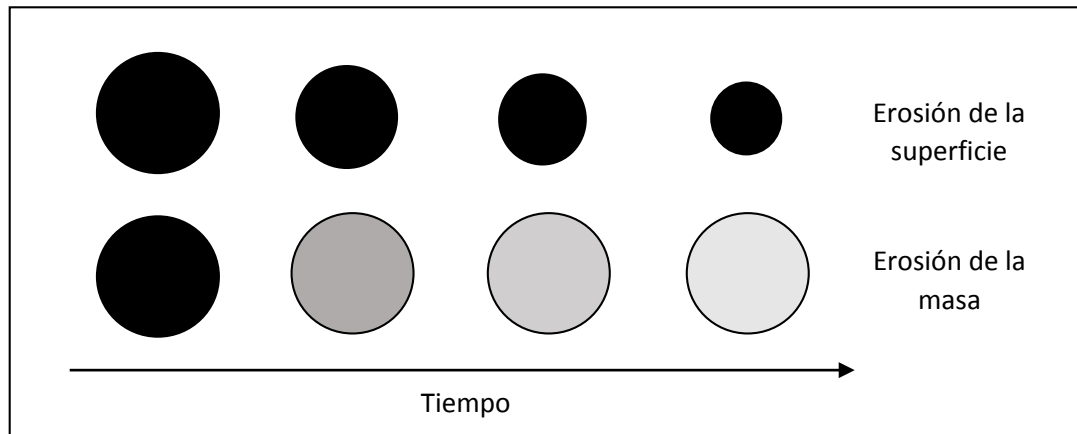


Figura 1.3. Erosión de la superficie y erosión de masa del del poli (ácido-L-láctico-co-glicólico), PLGA.

1.1.1 Factores que influyen la degradación del PLGA poli (ácido láctico-co-glicólico).

Tae Gwan Park estudió como afecta la composición del copolímero en el proceso de degradación en base a cambios de morfología, peso molecular y temperatura de transición vítrea (T_g) de dos tipos de partículas de PLGA, D-L PLGA y L-PLGA ($M_w=26-2$ KDa) en un periodo de observación de 53 días, a 37°C y 7.4 pH, en la misma encontró que el PLGA amorfo exhibe un comportamiento transitorio de cristalización múltiple de los oligómeros de tipo L de ácido láctico durante la degradación, esto se debe a la escisión de las cadenas durante todo el proceso, las mismas que se encuentran continuamente reorganizándose adoptando nuevos arreglos cristalinos inclusive helicoidales, este fenómeno contribuye a la etapa final de la degradación, desacelerando el proceso ya que las zonas cristalinas requieren de un tiempo mayor para degradarse. Pudo observar además que las escisiones hidrolíticas de los enlaces éster se dan en primera instancia entre los enlaces de ácido glicólico y posteriormente con los del el D o L-láctico, esto se debe a la alta reactividad que presenta los grupos terminales ácidos del ácido glicólico. También pudo notar la presencia de dos temperaturas de transición vítrea (T_g) que aparecen durante la reorganización de las cadenas,

sugiriendo que fenómenos rápidos y lentos de erosión gobiernan el proceso de degradación, proponiendo un tipo de degradación heterogénea para las partículas de PLGA [51].

Young y colaboradores llevaron a cabo el estudio de cómo cambia la microestructura del material al mezclar PLGA con fosfato tricálcico (TCP). Ellos observaron una hidrólisis más rápida de los enlaces Glicólico-Glicólico que en los enlaces Glicólico-Láctico y Láctico-Láctico, este hecho también fue observado por Tea Gwan Park. Young propuso que la pérdida de masa de su material disminuía como resultado de la disolución de los productos de degradación ricos en ácido glicólico y sobre todo la disolución del aditivo TCP. Además observó que el peso molecular decrecía durante el periodo de incubación, sin embargo la polidispersidad aumentaba y al final disminuía, debido a que durante la primera etapa de la degradación se generan cadenas de PLGA con pesos moleculares pequeños y muy variados; y la reducción en la etapa final se debe por un lado, a la reorganización de cadenas más largas y a que las cadenas de pesos molecular más elevados son las que se degradan hasta el final del proceso [52].

La relación del área superficial a volumen ha demostrado ser un factor significativo para la degradación de los dispositivos grandes, mayor relación de la superficie del material con el medio de degradación conduce a una degradación homogénea de la matriz polimérica. Para el caso de partículas de PLGA se ha reportado, una degradación heterogénea, presentando una hidrólisis más rápida en el interior del material que en su superficie [53,54,55]. M. Dunne y colaboradores encontraron una relación directa entre el tamaño de partícula y la velocidad de degradación, observaron que las partículas de tamaño más grande se degradaban más rápido, este hecho, lo atribuyen a que en las partículas pequeñas los productos de degradación deben atravesar un camino más corto y se difunden fácilmente hacia la superficie, pero en las partículas más grandes los productos de degradación permanecen mayor tiempo en la matriz polimérica generando la autocatálisis del material, acelerando el proceso de degradación, además pudieron observar que a temperaturas muy bajas alrededor de los 5°C el PLGA no presenta un cambio en su forma, más al aumentar la temperatura, la velocidad de degradación del copolímero aumenta y se manifiestan dos fases, la primera que se muestra

dependiente del tamaño del dispositivo y la segunda que lo desprecia debido a que el material al final del proceso se encuentra altamente poroso [56].

Hakan Keles y colaboradores estudiaron como afecta la proporción de los monómeros iniciales y porosidad en la degradación hidrolítica de las partículas de PLGA, visto desde el núcleo y la coraza de las partículas; estudiaron tres proporciones 50:50, 75:25 y 100:0 (LA/GA)%p, y el efecto que tiene en las partículas el procesamiento de las mismas con dióxido de carbono supercrítico ($scCO_2$), observando que los copolímeros elaborados mediante ($scCO_2$) aumentan la porosidad del PLGA aumentando su velocidad de hidrólisis, la proporción 50:50%p resultó ser más porosa que la 75:25%p por ende su velocidad de degradación resultó un poco mayor. La constante de velocidad de degradación para las unidades de láctico y glicólico mostraron decrecer al aumentar el contenido inicial de ácido láctico en el copolímero, sugiriendo que la disminución en la habilidad que tiene una molécula de agua a difundirse en la muestra se debe al aumento del carácter hidrofóbico de la matriz y tiene un impacto importante en la cinética de degradación del PLGA. Además pudieron constatar que el aumento de temperatura en el medio aumenta la velocidad de degradación del PLGA, este fenómeno se observó en las tres proporciones al pasar de una temperatura de 50°C a 70°C [57].

Se ha demostrado que el PLGA presenta diferentes comportamientos de degradación con respecto a su peso molecular, esto se debe a un cambio en su morfología cuando entra en estado de hidratación, las partículas de PLGA que presentan pesos molecular bajos se vuelven gomosas durante su hidratación y se pierden masa más rápido que aquellas con pesos moleculares grandes que durante esta misma etapa aún permanecen en estado vítreo y [58]. Este hecho fue estudiado por Grijpma y colaboradores, ellos observaron que la pérdida de masa no era simultánea a la pérdida de peso molecular y fuerza mecánica, indicando una degradación en masa del material, la velocidad de pérdida de peso disminuye a medida que lo hace el porcentaje de ácido glicólico en el copolímero y el aumento de la cristalinidad. La difusión del agua en el interior de la matriz hace que se rompan las cadenas éster que conectan las zonas cristalinas, pudieron observar que luego de un periodo largo de degradación,

alrededor del 50% de la masa inicial permanecía en una estructura altamente cristalina y que la fuerza tensil casi se pierde por completo sin presentar ninguna pérdida de masa [59].

Zolnik y colaboradores, también analizaron la influencia del peso molecular, indagaron el efecto de la temperatura y flujo del medio en el proceso de degradación, observando que compuestos de PLGA 50:50%p con un peso molecular de alrededor de 5000Da exhibieron una degradación basada en fenómenos de difusión, mientras que en compuestos de PLGA con pesos moleculares mayores entre 25000 y 70000 Da el proceso de degradación fue gobernado por fenómenos de difusión/erosión; pudieron notar que los copolímeros con pesos moleculares altos no se ven afectados por un flujo, más aquellos con bajo peso molecular sí, acelerando el proceso de degradación, al incrementar la velocidad de difusión. En cuanto a la temperatura del medio, a medida que esta aumenta se acelera la velocidad de degradación, corroborando lo observado por Hakan Keles, más la influencia que esta tiene sobre la etapa inicial o “burst” aún no se interpreta con claridad ya que intervienen dos fenómenos, o bien la aglomeración de las partículas y cerramiento de poros que disminuye al efecto “burst” o que al aumentar la temperatura se incrementa la velocidad de degradación. Mediante el análisis del efecto de la temperatura sobre la etapa “post-burts” pudieron notar que copolímeros con pesos moleculares altos presentaron el mismo mecanismo que copolímeros con pesos moleculares bajos más a diferentes velocidades, pudiendo concluir que en el PLGA con pesos moleculares bajos el proceso de degradación se ve afectado por el flujo, más a pesos moleculares altos el proceso se ve influenciado por la temperatura del medio y además que no es aconsejable analizar polímeros con pesos moleculares bajos a altas temperaturas ya que estos tienden a fundirse [60].

Li-Guo Sun y colaboradores tomaron ventaja de las propiedades ópticas de las partículas de ópalo inverso para la observación del cambio de estructura del polímero durante la degradación; y como se relaciona su pérdida de masa, peso molecular y temperatura de transición vítrea (T_g) con el cambio monótono de la posición de su pico de reflexión. Los investigadores fabricaron láminas de ópalo inverso de PLGA 80:20%p, mediante plantillas de ópalo de SiO_2 que fueron infiltradas en una proporción de 10% en peso del PLGA, se basaron en el hecho de que es bien conocido el pico de reflexión del cristal fotónico de ópalo

inverso originado por la difracción de luz en una estructura periódica, por lo que la posición de reflexión normal del ópalo inverso de PLGA fue predicho por la ley de Bragg $= 2d(f_{PLGA}n_{PLGA}^2 + f_{aire}n_{aire}^2)^{1/2}$. Pudieron observar que la morfología de la lámina de ópalo inverso del PLGA era una réplica de la lámina de ópalo inverso compuesto por SiO₂ pero con un diámetro de espera menor de 410nm, esta presentaba un empaquetamiento hexagonal uniforme al inicio de la degradación, y mediante microscopías SEM pudieron observar que durante la primera semana de degradación pequeñas grietas se fueron generando más el orden de la malla se mantenía, durante la segunda semana la destrucción de la malla se propagó, más aun así la regularidad de los huecos se mantenían, ya para la cuarta semana el orden de la estructura de la malla solo se evidenciaba en pequeñas áreas y al llegar a la sexta semana la estructura hexagonal había desaparecido por completo. Mediante su investigación pudieron aportar que no existe una pérdida de masa significativa por parte del material incluso después de las cinco semanas de degradación, esto implica que pequeños o nulos productos de degradación u oligómeros se forman durante el proceso. [61].

Kenley y colaboradores analizaron la influencia del pH y cinética de descomposición del PLGA in vitro e in vivo empleando una proporción de PLGA 50:50%p, pudieron observar en los perfiles de peso molecular como el peso total se superponían para todas las muestras, demostrando que el proceso de hidrólisis era independiente del pH en las pruebas in vitro y que existía una equivalencia en base a las velocidades de degradación con las pruebas realizadas in vivo, observando que los procesos son equiparables La insensibilidad de la velocidad de degradación en base al pH que presenta el medio se debe a que durante el proceso de autocatálisis un microambiente ácido es generado [62].

1.2 Poli (ácido láctico-co-glicólico) PLGA en dispositivos dosificadores de fármacos.

El poli (ácido láctico-co-glicólico) ha ganado un exponencial interés en el campo de los dispositivos liberadores de fármacos, una forma prometedora de llevar a cabo el control de la liberación del fármaco, es mediante la incorporación del mismo dentro del polímero biodegradable, ya sea por inmersión o pulverización, y este se va liberando a medida que la matriz polimérica se degrada [63,64].

El PLGA con diferentes proporciones de sus monómeros iniciales (*LA/GA*) ha sido investigado y puesto a la venta como Luprol Depot® (Abbot) que está compuesto por PLGA + leuprolid acetato y es usado para tratamientos de cáncer de próstata y endometriosis [65]. Cytoplast® Resorb (Osteogénesis Biomédica), la cual es una membrana diseñada para el tratamiento de defectos óseos, en donde una segunda operación para la remoción del dispositivo no es requerida [66] o VicryMesh® (Ethicon) elaborado con PLGA y utilizado como soporte durante suturas quirúrgicas [67].

La liberación del fármaco de la matriz polimérica está controlada por mecanismo de difusión/erosión [68,69], para polímeros no erosionables el fenómeno está controlado por mecanismo de difusión solamente, la cual genera un efecto “burst” del fármaco que puede ser inevitable en algunos casos; para el PLGA tanto fenómenos de difusión como erosión controlan el proceso de liberación [70].

Se ha observado que la liberación del fármaco se puede llevar a cabo mediante tres etapas [71]: una etapa inicial en la cual se observa el efecto “burst”, debido a la disolución o difusión del fármaco que se encuentra adsorbido en la superficie, seguido de una etapa estacionaria en la cual la liberación es muy lenta y se realiza mediante fenómenos de difusión, para finalmente una tercera etapa en la que el proceso de liberación está regido por procesos de erosión al aumentar la porosidad del material [72].

Las propiedades fisicoquímicas del fármaco incorporado así como la interacción de este con la matriz polimérica son factores críticos que afectan tanto a la liberación del fármaco como a la degradación del PLGA [73]. Por ejemplo los fármacos hidrofílicos facilitan la penetración del agua en la matriz y permiten la formación de una red altamente porosa permitiendo la lixiviación del fármaco a través de ella, lo que conlleva un aceleramiento de la degradación del polímero, en cambio un fármaco lipofílico, inhibe la difusión del mismo a través de la matriz y por lo tanto retrasa el proceso de degradación del polímero [74]. Del mismo modo en fármacos ácidos ocurre una hidrólisis más rápida de sus enlaces éster, acelerando el tiempo la degradación de la matriz polimérica [75], por su parte los fármacos básicos pueden presentar dos efectos; o bien inducir una catálisis básica del rompimiento de

los enlaces éster o neutralizar los grupos carboxilos terminales lo cual minimiza o llega a eliminar la autocatálisis [76,77,78].

Debido a las diferentes propiedades físico-químicas que presenta el fármaco y el polímero usados en dispositivos liberadores, las reacciones químicas predominantes y procesos físicos de transferencia de masa pueden diferir mucho de un sistema polímero-fármaco a otro, por lo que se debe tratar de que el estudio del proceso de degradación y liberación del fármaco sea focalizado para cada tratamiento médico.

Steven y colaboradores compararon la diferencia de velocidad de liberación del fármaco en una matriz polimérica de PLGA 50:50%p de seis tipos de drogas diferentes (Tiotixeno, Haloperidol, Hidroclorotiozido, Corticosterona, Ibuprofeno y Aspirina), pudieron observar que la velocidad de degradación del polímero y liberación de la droga difiere entre cada tipo de fármaco, la presencia del fármaco puede cambiar el tipo de erosión del polímero cambiándola de masa a la superficie como es el caso del Haloperidol (0.3mg/mL). Por su parte el Tiotixeno acelera el proceso de degradación del polímero mientras que Haloperidol, Hidroclorotiozido, Corticosterona e Ibuprofeno lo retrasan; la Aspirina no mostró una influencia significativa durante el proceso, a pesar de que sus productos de degradación sean el ácido acético y salicílico, su variación de pH al parecer no afectó en la degradación. Además indagaron en el hecho de que la degradación del polímero se realiza por hidrólisis, por lo que el proceso está determinado por la cantidad de agua que se difunde dentro de la matriz (hinchamiento) y la velocidad de la reacción de hidrólisis, obteniendo los coeficientes efectivos de difusión del agua en la matriz polimérica pudieron analizar como influencia la presencia del fármaco en estos dos eventos; para el caso de la Aspirina la droga más hidrofílica la difusión del agua en la matriz y la velocidad de reacción de hidrólisis aumentó, mientras que para el Haloperidol, fármaco relativamente hidrofóbico, disminuyeron; para fármacos como el Tiotixeno e Ibuprofeno los datos que obtuvieron no fueron muy reveladores al requerir un mayor conocimiento de estas moléculas con el agua que solo la solubilidad [79].

Xintong Wang y colaboradores estudiaron la liberación de Sirolimus de un stent multicapa, la capa de soporte consistió de PLLA mientras que la matriz dosificadora estuvo hecha de PLGA (53/47%p), como agente acelerador empleó polietilenglicol PEG (plastificante) y como agente retardante PLGA (50:50%p) con un grupo terminal éster láurico; pudo observar que la liberación de Sirolimus se realiza mediante mecanismos de difusión/degradación al igual que lo encontrado por Steven y colaboradores, tras su investigación llegó a la conclusión de que la liberación de Sirolimus podía darse en dos etapas, la primera de ellas lenta con la liberación alrededor del 10% hasta el día 16, seguida de una etapa rápida, no observó ningún efecto “burts” sobre las muestras, esto se debe a que el Sirolimus es un fármaco hidrofóbico por lo que se disuelve homogéneamente con la matriz polimérica sin presentar ninguna segregación superficial, esto indicó también que la concentración del fármaco se encontraba por debajo de punto de saturación. El proceso de liberación del fármaco se superpone al proceso de degradación del polímero, el cual durante las dos primeras semanas disminuye su peso molecular sin presentar pérdida de masa coincidiendo con la etapa lenta de liberación del fármaco, a partir de la segunda semana el polímero se fragmenta y empieza a liberar masa permitiendo la salida rápida del fármaco; así el Sirolimus se libera en primera instancia por difusión, y a partir de las dos semanas al proceso lo controla la degradación del polímero. Además la cantidad de fármaco incorporada al polímero no afecta la cinética de liberación, por su parte, al agregar un plastificante la velocidad de liberación se acelera al disminuir su (Tg), pasando de un 15% a un 45% de fármaco liberado durante los 16 primeros días y en caso de que el objetivo sea retrasar el proceso el investigador sugiere adicionar recubrimiento altamente hidrofóbico [80].

CAPÍTULO DOS

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudió el proceso de degradación estática de los copolímeros 50:50%p, 60:40%p, 70:30%p, 80:20%p y 90:10%p (*LA:GA*) de poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA y la degradación dinámica del copolímero 90:10%p PLGA para su futura aplicación como dosificador de fármaco. La síntesis de los copolímeros se realizó mediante polimerización de apertura de anillo (ROP) de sus monómeros precursores L-lactida y glicólido; la caracterización de los copolímeros se llevó a cabo mediante: Difracción de rayos X (DRX), Calorimetría diferencial de barrido (DSC), Espectrometría de masa MALDI-TOF y Espectroscopía infrarroja con la transformada de Fourier (FT-IR).

Los estudios in vitro de los procesos de degradación estática y dinámica de los copolímeros de PLGA consistieron en la simulación de las condiciones del proceso in vivo de degradación de una matriz polimérica de un stent dosificador de fármaco, para ello el material se sumergió en solución salina (0.9% NaCl) con y sin flujo durante un tiempo determinado. El control del proceso de degradación se llevó a cabo mediante: Espectroscopía infrarroja con la transformada de Fourier (FT-IR), Espectrometría de masas MALDI-TOF, Difracción de rayos X (DRX), pérdida de masa y cambios de pH.

Para el estudio de la adsorción y desorción del fármaco se empleó como matriz polimérica el copolímero de PLGA 90:10%p y como droga la Prednisona, fármaco genérico corticosteroide inmunosupresor, poco soluble en agua; los análisis de adsorción y desorción se llevaron a cabo mediante Espectrofotometría de absorción ultravioleta visible y control de pH.

2.1 Materiales

Para llevar a cabo la síntesis del poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA, se empleó ácido L-láctico (88% *LA* y 12% *H₂O*) obtenido de Laboratorios Alquimia y ácido glicólido (70% *GA* y 30% *H₂O*) y 2-etil-hexanoato de estaño [*Sn(Oct)₂*] de Sigma-Aldrich; de esta misma casa farmacéutica se obtuvieron la Prednisona y el dimetilsulfóxido DMSO. Como medio acuoso para los estudios in vitro de degradación estática y dinámica del copolímero; y adsorción/desorción del fármaco se empleó solución salina (0.9%NaCl) de la marca PiSA.

Se empleó una malla de calentamiento con agitación marca Thermo Scientific, un termómetro de -10°C a 400°C , un matraz aforo de tres picos esmerilado 19/20 de 250mL, un agitador magnético y un condensador acoplado a un codo para la recolección del H_2O que se generó durante el proceso de deshidratación.

2.2 Métodos

2.2.1 Síntesis del material del poli (ácido L-láctico-co-glicólico), PLGA.

Los ácidos L-láctico y glicólico se colocaron en el matraz de aforo conjunto al agitador magnético y se acopló al codo y este al condensador, sellándose todo el sistema, tal como se ilustra en la Figura 2.1.

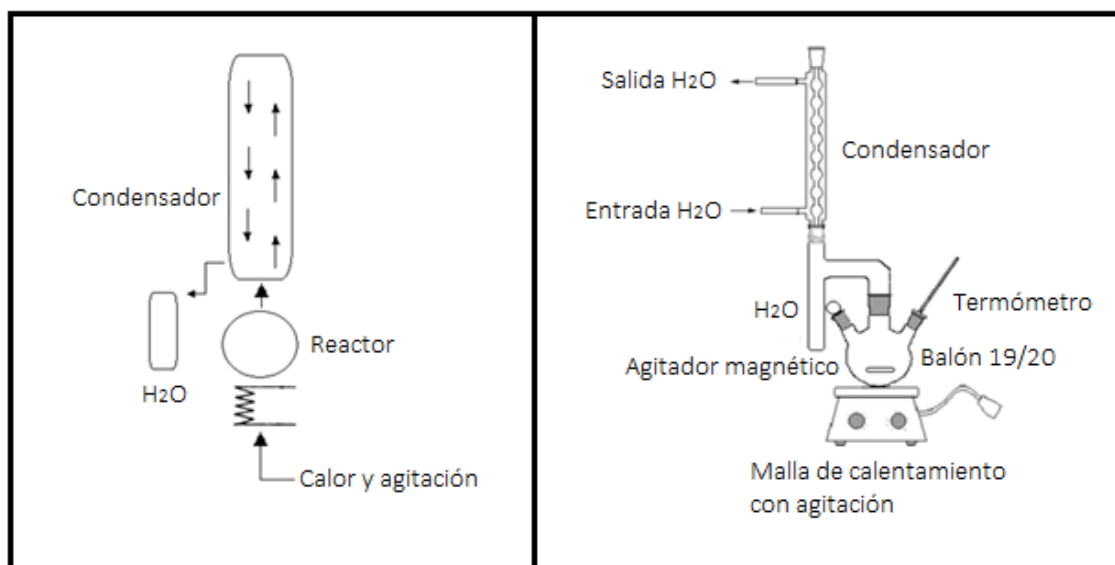


Figura 2.1. Esquema del proceso de síntesis del poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA, por polimerización de apertura de anillo, ROP.

La mezcla se calentó y agitó hasta alcanzar los 140°C , que corresponde a la temperatura de deshidratación. Una vez que se alcanzó la temperatura, ésta se mantuvo constante durante 6 horas hasta que finalizó el proceso de deshidratación, durante el cual se formaron los dímeros cíclicos de los monómero iniciadores L-lactida y glicólido. La agitación se llevó a cabo a

40rpm y el peso inicial teórico de mezcla de los ácidos L-láctico y glicólico fue de 50g, las proporciones de síntesis de los ácidos iniciadores se encuentran descritos en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1 Proporciones teóricas de los ácidos L-láctico y glicólico.

Proporciones (LA:GA)%p	Ácido L-láctico (g)	Ácido glicólico (g)	Mezcla total (g)
90:10	45	5	50
80:20	40	10	
70:30	35	15	
60:40	30	20	
50:50	25	25	

Para la obtención de los copolímeros de PLGA, se agregó 2-etil-hexanoato de estaño (SnOct₂) como iniciador en un porcentaje de 0.05%p de la mezcla de monómeros deshidratada, se empleó este tipo de iniciador al ser aprobado por la Food and Drug Administration (FDA, EEUU) para materiales de uso humano, las concentraciones de 2-etil-hexanoato de estaño se presentan en la Tabla 2.2. Una vez colocado el iniciador la temperatura se incrementó hasta alcanzar los 165°C, a la cual el proceso de polimerización por apertura de anillo (ROP) se llevó a cabo durante 10 horas [65,81,82].

Tabla 2.2 Proporciones de 2-etil-hexanoato de estaño (SnOct₂) para cada mezcla de monómero deshidratado.

Proporciones (LA:GA)%p	Peso LA (g)	Peso GA (g)	Peso de mezcla inicial (g)	Peso de mezcla deshidratada (g)	Peso de iniciador (SnOct₂) (g)
90:10	45.0550	5.0652	50.2202	39.9942	0.1997
80:20	40.0413	10.1097	50.1510	39.8109	0.1990
70:30	35.0955	15.0289	50.1244	39.6486	0.1982
60:40	30.0251	20.2146	50.2397	39.5853	0.1970
50:50	25.0010	25.1734	50.1744	39.6223	0.1981

La polimerización por apertura de anillo del PLGA se llevó a cabo por diez horas a 165°C, ya que a un tiempo y temperatura mayor se ha reportado que inicia su degradación termal y oxidación [65].

2.2.2 Estudio in vitro del proceso de degradación estática del poli (ácido-L-láctico-co-glicólico), PLGA

El estudio de la degradación estática del PLGA se realizó con las cinco composiciones sintetizadas 50:50%, 60:40%, 70:30%, 80:20% y 90:10%p (LA:GA), y se observó el cambio de los perfiles de degradación en función de la variación en la concentración de ácido L-láctico; se emplearon estas proporciones ya que se ha demostrado que a concentraciones mayores al 50%p de ácido glicólico, los copolímeros de PLGA presentan una velocidad de degradación muy rápida, debido a la alta reactividad de las cadenas de ácido glicólico, no siendo un material recomendable para ser utilizado como dispositivo liberador de fármaco [4,44].

Se diseñaron viales de 30mm de alto por 50mm de diámetro, con una capacidad de 30mL para ser utilizados como contenedores o incubadoras para la degradación (Figura 2.2). Por otro lado se cortaron placas de vidrio de 10mm de ancho por 15mm de largo como soporte para el copolímero, estas fueron pulidas con carburo de silicio en polvo para adquirir una superficie porosa que brindó mayor anclaje del PLGA a la misma, una vez que las placas fueron pulidas se limpiaron siguiendo la secuencia de acetona-etanol-agua. Las placas para soporte se muestran en la Figura 2.3, (a).

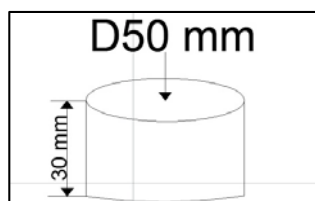


Figura 2.2 Diseño del vial empleado para el proceso de degradación estática del PLGA.

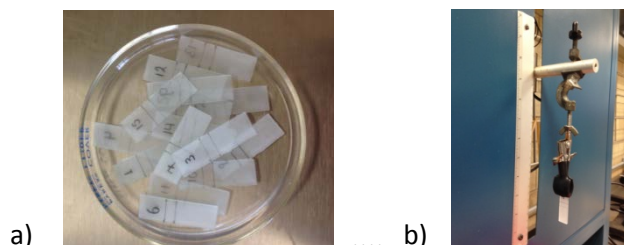


Figura 2.3 a) Placas de vidrio para soporte de la matriz polimérica, b) Equipo de inmersión Dip-Coater.

Las placas fueron recubiertas con el copolímero mediante la técnica de inmersión, empleando el método Dip-coating (Figura 2.3, (b)) con una velocidad de inmersión, de 2cm/min y un tiempo de inmersión de 10s. Para la velocidad de inmersión se seleccionó la más baja que presenta el equipo Dip-coater de manufactura casera, para garantizar el recubrimiento homogéneo de la placa; y para la selección del tiempo de inmersión se probaron diferentes tiempos de $t_1:5s$, $t_2:10s$ y $t_3:20$, seleccionándose el tiempo t_2 en el que se obtuvo el espesor buscado de $500\mu m$; la selección del espesor del recubrimiento se basó en trabajos previos que se han realizado sobre degradación de matrices poliméricas en stents liberadores de fármacos. La temperatura a la cual se llevó a cabo el recubrimiento correspondió a la transición vítrea (T_g) de cada copolímero de PLGA sintetizado. El calentamiento se llevó a cabo mediante una malla de calefacción y el control de temperatura con un termómetro. Se elaboraron pequeños viales de 2cm de alto por 2cm de diámetro en los que se colocó el copolímero para lograr un mejor manejo del material durante la inmersión. En la figura 2.4 se muestran las placas recubiertas con PLGA 90:10%p.

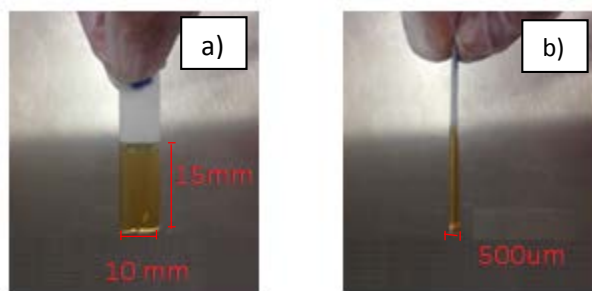


Figura 2.4 a) Placa de vidrio recubierta con PLGA 90:10%p vista de frente y b) Placa de vidrio recubierta con PLGA 90:10%p vista de frente.

Una vez recubiertas las placas se sumergieron en los viales con 30mL de solución salina, con un pH inicial de 6.8 ± 0.4 a una temperatura de $37^{\circ}C \pm 0.1^{\circ}C$, la temperatura se mantuvo constante durante todo el estudio de degradación, colocándose los viales en una estufa marca Memmert modelo UN110pa, una vez colocadas las placas, los viales fueron sellados mediante láminas de aluminio, el número de placas empleadas y la forma de recolección de las muestras dependió del tipo de análisis de caracterización.

Para llevar a cabo el control del proceso de degradación se tomaron muestras del copolímero y del medio de degradación, el periodo de control que se estableció fue de 15min, 30min, 1 hora, 2horas, 5 horas, 10 horas, 24 horas, 48 horas, 1 semana, 2 semanas, 1 mes y 2 meses, ya que se ha reportado que el proceso de degradación de este tipo de copolímeros presenta una mayor actividad durante las primeras horas de inmersión, disminuye en su fase media, al cabo de unas semanas; y al final del proceso de degradación presenta nuevamente un incremento en su velocidad.

2.2.3 Estudio in vitro del proceso de degradación dinámica del poli (ácido L-láctico-co-glicólico), PLGA

Para el estudio del proceso de degradación dinámica del PLGA, se empleó el copolímero 90:10%p (LA:GA) al observar luego de su degradación estática, que se puede obtener un mejor control de la cinética de degradación para ser empleado como dosificador de fármacos.

El sistema dinámico fue diseñado en base a las propiedades físico-químicas de la sangre (Tabla 2.3) y dimensiones de las arterias, se tomó en cuenta el diámetro de la arteria aorta al presentar propiedades reproducibles in vitro mediante una bomba de precisión.

Tabla 2.3 Propiedades fisicoquímicas de la sangre. **Fuente:** Hematología fundamentos y aplicaciones clínicas. Bernadette Rodak. Editorial Panamericana. 2005.

<i>Propiedades físico-químicas de la sangre</i>	
Viscosidad de la sangre en mujeres	2.8 x10 ⁻⁴ kg/mm min
Viscosidad de la sangre en hombres	6 x10 ⁻⁴ kg/mm min
Densidad de la sangre en mujeres	1053 x10 ⁻⁹ kg/mm ³
Densidad de la sangre en hombres	1056 x 10 ⁻⁹ kg/mm ³
Velocidad de la sangre en las arterias	24000-6000 mm/min
Diámetro arterial	25mm

Para simular como influye un flujo en el proceso de degradación, se elaboró un tubo de vidrio mediante el cual se trató de equiparar el Reynolds que presenta la arteria, 1056, este se calculó a partir de diferentes diámetros y la viscosidad y densidad de la solución salina a 37°C, seleccionándose 1.4cm al obtener un numero de Reynolds de 1044. Para poder colocar las placas de vidrio dentro del tubo se diseñó una tapa de vidrio esmerilada que contó con una entrada de un diámetro menor (3.1mm), el otro extremo del tubo presentó una salida con un

diámetro igual al de la entrada de la tapa, ambas, tanto salida de un extremo del tubo como entrada de la tapa se diseñaron en forma de cono para evitar zonas muertas en los extremos del tubo.

La longitud del tubo incluyendo la tapa fue de 10cm y en la parte media, a 4cm de cada entrada, se colocaron 4 muescas pequeñas para colocar y fijar las placas de vidrio, esta distancia se tomó en cuenta para evitar posibles perturbaciones que se pueden generar por las entradas, los cálculos para la determinación del número de Reynolds del sistema dinámico se encuentran en el Anexo I. La reducción del diámetro de la entrada de la tapa y salida del tubo se debió a que permitieran la acoplación de las mangueras por las que circulaba el medio acuoso. En la Figura 2.5 se muestra el esquema del sistema de degradación dinámica del poli (ácido-L-láctico-co-glicólico), PLGA.

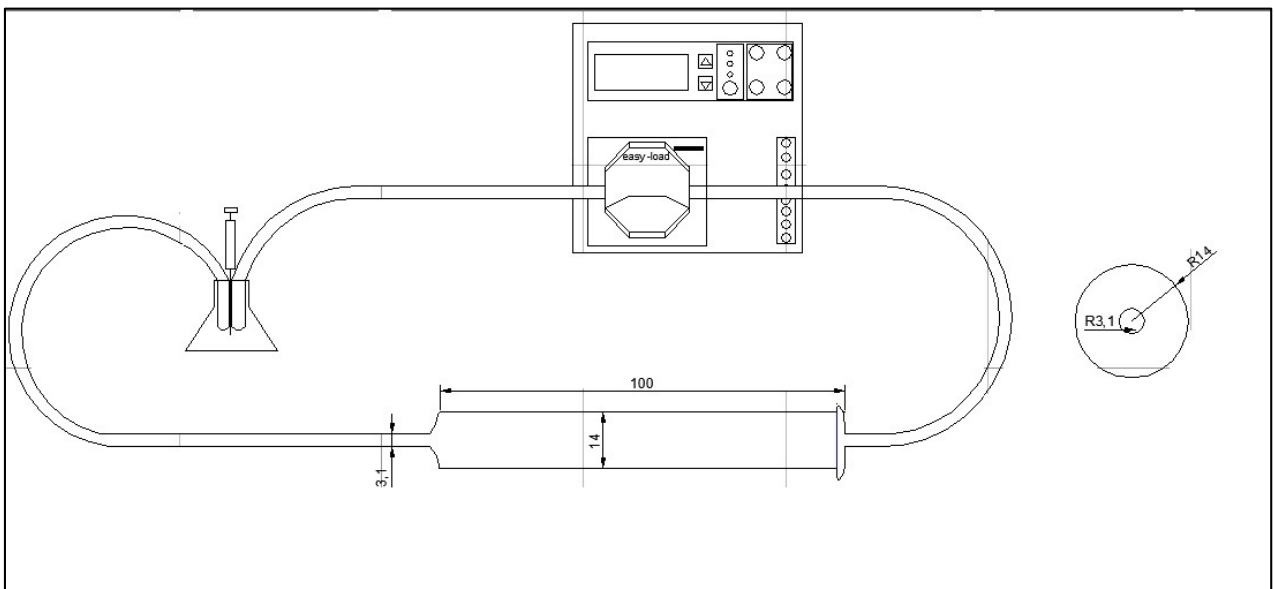


Figura 2.5 Diseño del sistema empleado para la degradación dinámica del copolímero de PLGA 90:10%p.

Se empleó solución salina (0.9%NaCl) a 37°C al igual que el proceso estático, el volumen de solución que se empleó fue de 250mL, los cuales estuvieron contenidos en un matraz erlenmeyer cerrado mediante un tapón de caucho, este se modificó de tal manera que permitiera la entrada de las dos mangueras, una de entrada y otra de salida del fluido; y un

pequeño agujero para el paso de una cánula de acero inoxidable para la toma de muestras. La manguera que se utilizó en el sistema dinámico fue L/S 16 de tygon marca Masterflex con un diámetro interno de 3.1mm. Para mantener la temperatura constante durante todo el estudio, se utilizó un controlador de temperatura marca PolyScience. Las placas de vidrio que se emplearon fueron las mismas que para el sistema estacionario.

El periodo de control del proceso de degradación fue el mismo que se estableció para el sistema estacionario 15min, 30min, 1 hora, 2 horas, 5 horas, 10 horas, 24 horas, 48 horas, 1 semana, 2 semanas, 1 mes y 2 meses. La toma de muestra dependió de cada método de caracterización.

2.2.4. Estudio del proceso de adsorción y desorción de la Prednisona en PLGA.

La Prednisona ($C_{21}H_{26}O_5$) es un polvo cristalino blanco, prácticamente insoluble en agua (hidrofóbico), su punto de fusión es de 233 a 235°C y su absorción UV máxima es de 238nm. Es un glucocorticoide con actividad antialérgica y antiinflamatoria, biológicamente inerte, transformándose en el hígado en Prednisolona. [83,84], se utiliza normalmente por vía oral en forma de cápsulas, comprimidos, soluciones orales, y jarabes (en estas formas el pH está comprendido entre 2,6 y 4,5) [85].

El estudio del proceso de adsorción se llevó a cabo en el copolímero de PLGA 90:10%p y la concentración del fármaco a la cual se trabajó se seleccionó en base a tres aspectos: la dosis de Prednisona que se emplean en tratamientos para restenosis en arterias, afección que ocurre al implantar un stent, la tolerancia del cuerpo al fármaco, que es de 0.2-1g/kg y la baja solubilidad de la Prednisona en agua alrededor de 0.3g/Kg. Se utilizó dimetilsulfoxido (DMSO) (C_2H_6OS) como excipiente [86,87].

En primera instancia se llevó a cabo la curva de calibración de adsorción de Prednisona en base a estas tres consideraciones (Figura 2.6), seleccionándose la concentración de 0.3g/kg para la realización del estudio. Los datos para el cálculo de la curva de calibración se adjuntan en el Anexo II.

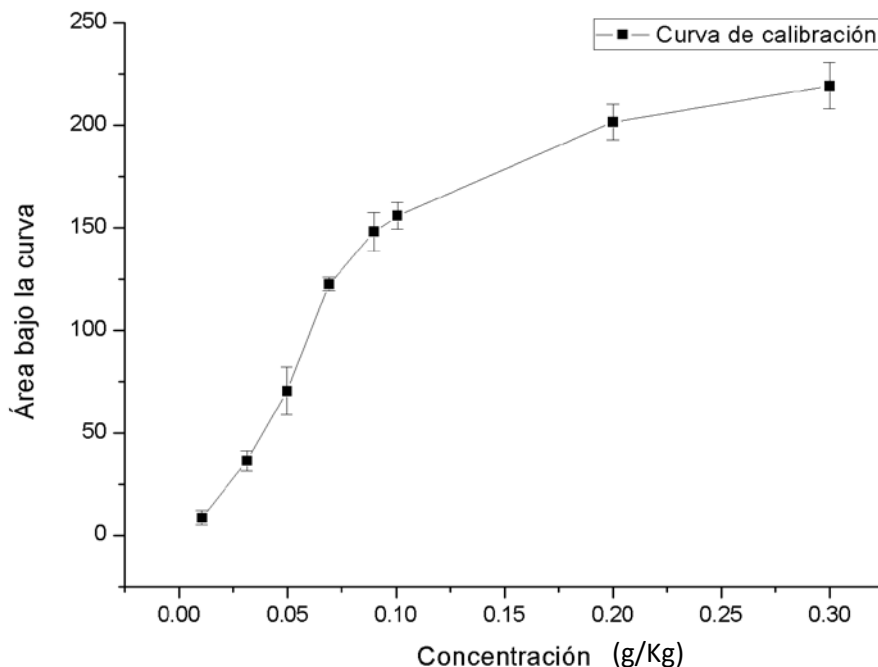


Figura 2.6. Curva de calibración de adsorción de Prednisona.

Se pesó 0.015g de Prednisona que se disolvió en 1g de DMSO, la solución obtenida se aforó a 50g de solución salina, sin tomar en cuenta el peso del excipiente, las placas de PLGA 90:10%p se sumergieron en esta solución que estuvo contenida en vasos de precipitación de 50mL recubiertos con papel aluminio para evitar que el fármaco se degrade con la luz. La adsorción del fármaco se llevó a cabo por triplicado y un blanco que contuvo únicamente la placa de copolímero sumergida en solución salina pura poder eliminar la interferencia generada por los productos de degradación del copolímero.

Las muestras del estudio para la adsorción de Prednisona en la matriz polimérica se tomaron en lapsos de 0 min, 15 min, 30 min, 1 hora, 2 horas, 3 horas, 4 horas, 5 horas, 10 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas y 120 horas; y fueron analizadas mediante espectrofotometría de absorbancia ultravioleta visible, para determinar la variación de concentración de fármaco en el medio que fue adsorbido por el PLGA.

Para llevar a cabo la desorción de Prednisona se utilizaron las placas del estudio de adsorción y se sumergieron en 50mL de solución salina a 37°C para equiparar la temperatura del

cuerpo. Los controles de liberación del fármaco se realizaron durante el mismo periodo establecido para la adsorción. Se tomó como máximo valor de desorción, el obtenido en el tiempo $t=120h$ durante la adsorción del fármaco en la matriz polimérica.

2.3 Técnicas de caracterización del poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA

Debido a la complejidad de los fenómenos físicos y químicos que envuelven el proceso de degradación del PLGA se requiere una serie de análisis para su caracterización, siendo los parámetros más importantes su cambio en el peso molecular que se llevó a cabo mediante espectrometría de masas MALDI-TOF y espectrometría de masas por electrospray, morfología por difracción de rayos X (DRX), temperatura de transición vítrea (T_g) mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis de grupos funcionales por medio de espectrometría infrarroja con la transformada de Fourier (FT-IR), control de pérdida de masa y variación de pH. Para el estudio del proceso de adsorción y desorción de Prednisona se empleó espectrofotometría de absorción de ultravioleta visible.

2.3.1 Difracción de rayos X, DRX

El estudio de difracción de rayos X, se realizó en el difractómetro de rayos X marca Bruker AXS, Modelo D8 Focus. El ángulo de difracción 2θ fue de 5 a 50° , con una velocidad de $2^\circ/\text{min}$, el tubo de rayos X fue de Cu, la intensidad de 25mA y un voltaje de 35Kv .

Se colocó una pequeña gota de cada una de las composiciones de copolímeros de PLGA que se sintetizaron sobre el porta muestras de acrílico y se nivelaron al ras de su superficie. Para las muestras de degradación dinámica de PLGA 90:10 %p (LA:GA), las placas de vidrio correspondientes a cada intervalo de tiempo fueron colocadas sobre el porta muestras de acero y adheridas mediante masilla, de igual manera se nivelaron para obtener una superficie plana.

Para llevar a cabo la caracterización por DRX de los copolímeros sintetizados se tomó directamente una muestra del material y para el estudio de la degradación dinámica del copolímero de PLGA 90:10 %p, se elaboró una placa para cada tiempo de inmersión.

Mediante los difractogramas obtenidos se pudo calcular la distancia interplanar de los arreglos poliméricos empleando la ley de Bragg (1 y 2).

$$n\lambda = 2d \operatorname{sen}(\theta) \quad (1)$$

$$d = \lambda/2 \operatorname{sen}(\theta) \quad (2)$$

2.3.2 Calorimetría diferencial de Barrido, DSC

Los análisis térmicos de los copolímeros de PLGA sintetizados se llevaron a cabo mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC), empleando el calorímetro marca Pressure DSC, modelo Instrument Specialist Incorporated. Se pesaron alrededor de 5-10 mg de cada muestra de cada copolímero sintetizado y se esparcieron uniformemente sobre la balanza hermética de aluminio para asegurar el contacto térmico, la velocidad de barrido fue de 2°C/min en una atmósfera de Argón, desde la temperatura ambiente hasta los 150°C, mediante el software universal para análisis de DSC, se pudo obtener la temperatura de transición vítrea (T_g) de los copolímeros, la cual se determinó en el inicio del cambio de la capacidad calorífica (C). Se calcularon las temperaturas de transición vítrea experimental y teórica, la primera mediante el cálculo de la primera derivada de cada una de las gráficas y así se detectó el punto de inflexión ligado a la T_g del material y la segunda mediante la ecuación de Fox (3) [88].

$$\frac{1}{T_g} = \frac{X_{L-LA}}{T_{gL-LA}} + \frac{X_{GA}}{T_{gGA}} \quad (3)$$

2.3.3 Espectrometría de masas MALDI-TOF

Las mediciones de peso molecular se llevaron a cabo mediante espectrometría de masas por desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI-TOF), se empleó el espectrómetro marca Bruker modelo AUTOFLEX SPEED. Para el análisis se pesó 1mg de muestra y se

disolvió en 1 mL de metanol, luego se tomó 1.5 μ L de ésta solución y se mezcló con 1.5 μ L de una solución saturada del ácido 2,5-dihidroxibenzoico, finalmente la solución se colocó en una placa para su análisis. La determinación se hizo utilizando MALDI-TOF como fuente de ionización, las series que se presentaron contuvieron aductos que se pueden formar con iones H^+ , Na^+ o NH_4^+ . Se obtuvieron datos de peso molecular promedio en número (M_n), peso molecular promedio en peso (M_w), grado de polidispersidad (dp) y grado de polimerización (DP) a través del Software Polytools, para el análisis de los resultados obtenidos se utilizó el software Origin Pro8. Mediante esta técnica se llevó a cabo la medición inicial del peso molecular de los copolímeros sintetizados, los cuales no recibieron ningún tratamiento previo, por su parte para el estudio del proceso de degradación estática y dinámica se elaboró una placa de vidrio para cada copolímero sintetizado correspondiente a cada tiempo de inmersión, las placas se removían del medio acuoso, se eliminaba el exceso de agua y se congelada hasta su análisis.

2.3.4 Espectrometría de masas por electrospray

Las muestras de degradación de los copolímeros sintetizados correspondientes a dos meses de inmersión, debido a la poca cantidad de copolímero que aún permanecía en las placas, se analizaron mediante Espectrometría de masas por electrospray, ya que permite el análisis de cantidades muy pequeñas. El equipo utilizado fue el espectrómetro Marca Bruker modelo Micro-TOF QII, por inyección directa, se pesó 1 μ g de la muestra y se disolvió en 1 mL de agua, esta solución fue inyectada directamente al espectrómetro para la determinación del peso molecular. La determinación se hizo utilizando electrospray en modo positivo (ESI^+) como fuente de ionización, las series que se presentaron se debieron a la formación de aductos que se pueden formar con iones H^+ , Na^+ o NH_4^+ . Las muestras se analizaron a través del Software Polytools al igual que datos obtenidos con Espectrometría de masas Maldi-Tof, para el análisis de los espectros obtenidos se empleó el programa ORIGINPRO8.

2.3.5 Espectroscopia infrarroja con la transformada de Fourier FT-IR

Los estudios de espectroscopía infrarroja, se llevaron a cabo en el espectrofotómetro de infrarrojo con accesorio de reflectancia atenuada ATR de Germanio marca Perkin Elmer, modelo Frontier, con una energía de 236 U.E. Las muestras se midieron dentro del infrarrojo medio de 4000 a 400 cm^{-1} . Para la determinación de la variación en la intensidad de los enlaces covalentes de los copolímeros de PLGA durante el proceso de degradación estática y dinámica, se elaboraron placas para cada copolímero según los intervalos de tiempo de degradación establecido, una pequeña cantidad de cada copolímero degradado se colocó sobre el porta muestras para su medición. Durante el proceso de degradación, que conlleva la ruptura de las cadenas, el medio en cual se encuentra sumergido el copolímero empieza a presentar los enlaces característicos del material, por lo que también se analizó para la corroboración del proceso de degradación; se tomó una pequeña muestra alrededor de 0,1mL mediante una micropipeta y se colocó sobre el porta muestras. Los datos obtenidos se analizaron mediante el software Origin Pro8.

2.3.6 Espectrofotometría de absorción ultravioleta visible

Los análisis espectrofotométricos para la adsorción y desorción del fármaco se llevaron a cabo en el espectrofotómetro Uv-vis marca Perkin Elmer modelo Lambda 25, la longitud de onda utilizada fue de 700 a 300nm, la velocidad de medición fue de 480 (nm/min) en intervalos de 1nm y se emplearon cubetas de cuarzo. Se tomaron 3mL de muestra para cada uno de los tiempos establecidos, esto se realizó tanto en el proceso de adsorción como de desorción de la Prednisona; para el análisis de datos se empleó el software Origin Pro8 y se tuvo que discriminar la señal emitida por los compuestos de degradación del copolímero.

2.3.7 Pérdida de masa

Los análisis de pérdida de masa se llevaron a cabo mediante una microbalanza marca Ohaus, en primera instancia se pesaron las placas de vidrio solas y luego recubiertas con los copolímeros de PLGA, luego se fue pesando cada una de las placas según el intervalo de

tiempo correspondiente. El proceso consistió en ir retirando las placas del medio de degradación y eliminar el exceso de agua, una vez secas se pesaron y se volvieron a colocar en el medio de degradación. Este estudio se realizó tres veces por cada copolímero, el proceso fue similar para el sistema estático y dinámico. La pérdida de masa de los copolímeros de PLGA de terminó mediante la siguiente ecuación (4).

$$\% \text{ de pérdida de masa} = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100 \quad (4)$$

En donde M_1 es el peso inicial de las placas y M_2 el peso final.

Mediante la pérdida de masa se pudo conocer la velocidad de degradación de los copolímeros de PLGA, al calcular la correlación entre el tiempo de degradación (horas) (X) y el porcentaje de pérdida de masa (Y), utilizando la fórmula (5) [89].

$$r_{xy} = \frac{\sum XY - \frac{(\sum X)(\sum Y)}{N}}{\sqrt{[\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{N}] - [\sum Y^2 - \frac{(\sum Y)^2}{N}]}} \quad (5)$$

Para conocer la tendencia de pérdida de masa durante el estudio del proceso de degradación, se calculó el coeficiente de regresión del porcentaje de pérdida de masa (Y) sobre el tiempo (horas) (X), para determinar el cambio en las variables en estudio cuando la degradación se llevaba a cabo, utilizando la fórmula (6) [89].

$$b_{yx} = \frac{\sum XY - \frac{(\sum X)(\sum Y)}{N}}{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{N}} \quad (6)$$

2.3.8 Variación de pH

Se utilizó un conductímetro, las mediciones se realizaron directamente del medio de degradación en el que se encontraban sumergidas las placas recubiertas con PLGA de acuerdo al periodo de tiempo establecido. Para el sistema dinámico las muestras fueron extraídas mediante la cánula que se acopló al sistema.

CAPÍTULO TRES
ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1 Síntesis del poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA por polimerización de apertura de anillo ROP.

Mediante la síntesis empleada se pudo obtener cinco copolímeros de composición 50:50%p, 60:40%p, 70:30%p, 80:20%p y 90:10%p con una cantidad de polímero residual menor al 0.0001 ± 0.00005 .

El poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA obtenido tubo una estructura en bloque al azar conformada por las unidades repetitivas de glicoli (72g/mol) y láctil (86g/mol), promovidas por la presencia del iniciador Sn(Oct)₂ con ausencia de reacciones laterales. Este tipo de estructura se debe al mecanismo de polimerización e iniciador empleados.

El proceso de síntesis del poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA se inició, con la formación de los dímeros cíclicos de ácido láctico y ácido glicólico durante el proceso de deshidratación, en el que una molécula de ácido láctico actuó como ácido y reaccionó con otra molécula del mismo compuesto que actuó como alcohol para formar el éster cíclico, lo que produjo fácilmente una doble separación de agua entre dos moléculas del ácido y se generó el lactido, un proceso similar ocurrió con el ácido glicólico y se obtuvieron sus dímeros cíclicos o glicólidos

Una vez que los dímeros fueron formados, se inició la polimerización de apertura de anillo mediante la incorporación del 2-etilhexanoato de estaño Sn(Oct)₂, el iniciador, el cual empleó un mecanismo de coordinación-inserción para la ruptura del anillo, la lactida y glicolida formada intercambiaron ligandos con el octoato seguida por la coordinación del láctido o glicólido en el centro metálico.

La inserción del dímero ocasionó la ruptura del anillo y formación de oligómeros lineales. A partir de este punto, los grupos carboxilos e hidroxilo terminales de los oligómeros de láctica y glicólido formados, reaccionaron para iniciar la propagación de la cadena de PLGA. La

Figura 3.1 se muestra el esquema completo de la polimerización por apertura de anillo del PLGA.

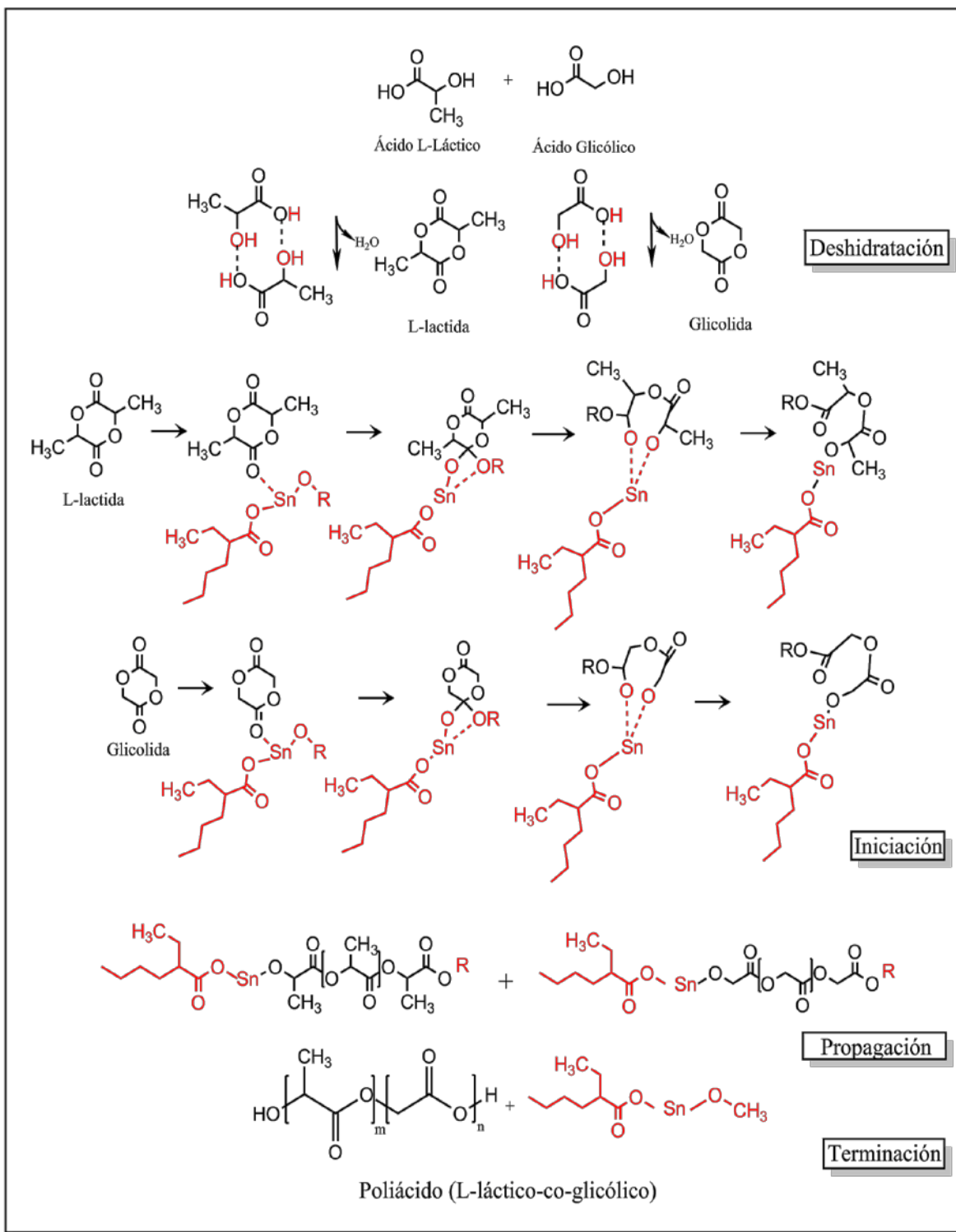


Figura 3.1. Polimerización por apertura de anillo (ROP) del PLGA.

3.2 Resultados de la caracterización de los copolímeros de poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA.

3.2.1 Estructura de los copolímeros de poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA

A partir de la polimerización de apertura de anillo ROP de los dímeros anhídros de L-láctida y glicólida, se obtuvieron cinco copolímeros de PLGA de diferentes proporciones 50:50%p, 60:40%p, 70:30%p, 80:20%p y 90:10%p, todos presentaron una estructura amorfa, independientemente del porcentaje de su composición inicial. La Figura 3.2, muestra el difractograma de los copolímeros de PLGA sintetizados.

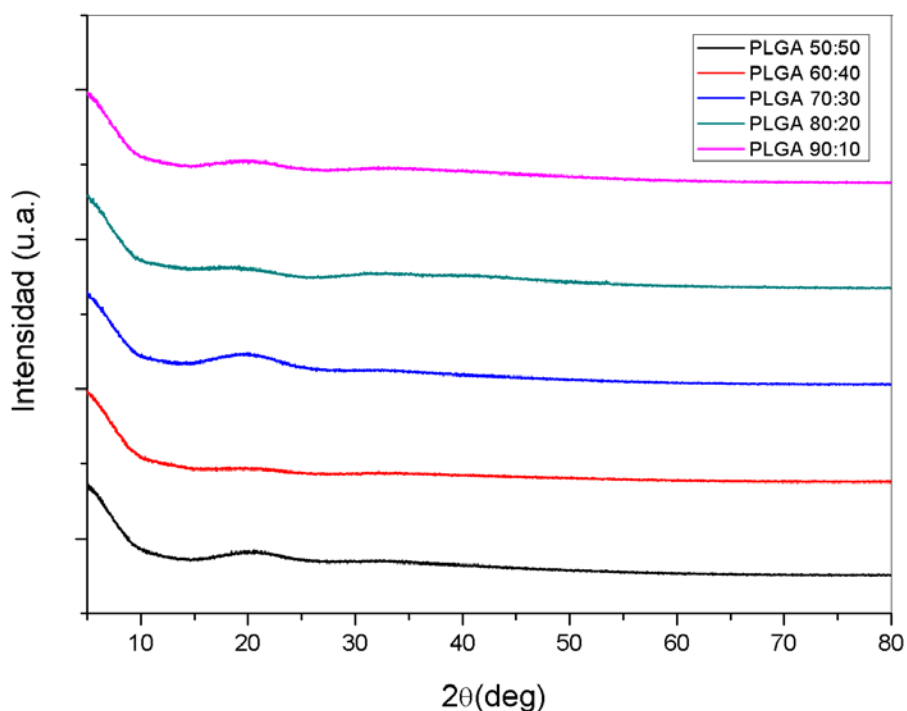


Figura 3.2. Difractogramas DRX de los copolímeros de PLGA 50:50%p, 60:40%p, 70:30%p, 80:20 y 90:10%p.

Los resultados de DRX, concuerdan con lo estudiado por Gilding y Reed, quienes reportaron que los copolímeros de PLGA que contienen de 25 a 75%p de ácido glicólico presentan una estructura amorfa. Este hecho puede atribuirse a que los pesos moleculares obtenidos durante el proceso de polimerización, son bajos, alrededor de 1300Da. Esto implica que los materiales tienen cadenas cortas y poseen una alta concentración de extremos o grupos

terminales [C] y [C-O], estos grupos químicos no son iguales que el resto de las unidades estructurales de la cadena y le restan regularidad a la estructura; también tienen mayor movilidad, puesto que los extremos están unidos a la cadena de un solo lado dejando uno libre, favoreciendo a que presenten una estructura amorfa. Además, el proceso de copolimerización, destruye la regularidad estructural y baja el grado de cristalinidad a menos que se trate de copolímeros alternados. Sin embargo, mediante la polimerización de apertura de anillo ROP de los dímeros cíclicos, no se pueden obtener arreglos del tipo LGL (láctico-glicólico-láctico) disminuyendo el orden de la estructura. Kasperczyk [16] también ha reportado que al emplear el octoato de estaño como iniciador de la ROP de los dímeros de lactida y glicolida se obtienen cadenas con unidades al azar de láctico y glicólico disminuyendo su cristalinidad.

3.2.2 Medición de los enlaces característicos de los copolímeros de poli (ácido L-láctico-co-glicólico), PLGA

Los cambios en las bandas de la estructura química de los copolímeros de PLGA sintetizados se pudieron observar mediante el análisis del espectro infrarrojo, diez y seis fueron los picos que se seleccionaron como característicos. En la Tabla 3.1 y Figura 3.3 se muestran las bandas designadas para los copolímeros de PLGA.

Tabla 3.1 Bandas de transmitancia designadas para los copolímeros de PLGA.

Longitud de onda cm^{-1}	Enlace
2997	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_3$
2945	$\nu_{\text{s}}\text{CH}_3$
2881	νCH
1759	$\nu_{\text{a}}\text{C}=\text{O}$
1454	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_3$
1424	CH_2
1384-1348	$\nu_{\text{s}}\text{CH}_3$
1368-1360	$\nu_{\text{s}}\text{CH}_3$
1265	$\text{CH} + \nu\text{C}-\text{O}-\text{C}$
1209-1186	$\nu_{\text{s}}\text{C}-\text{O}-\text{C} + \nu_{\text{as}}\text{CH}_3$
1132	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_3$
1090	$\nu_{\text{s}}\text{C}-\text{O}-\text{C}$
1045	$\nu\text{C}-\text{CH}_3$
960-925	$\nu\text{CH}_3-\text{C}-\text{C}$
871	$\nu\text{C}-\text{COO}$
756	$\text{C}=\text{O}$

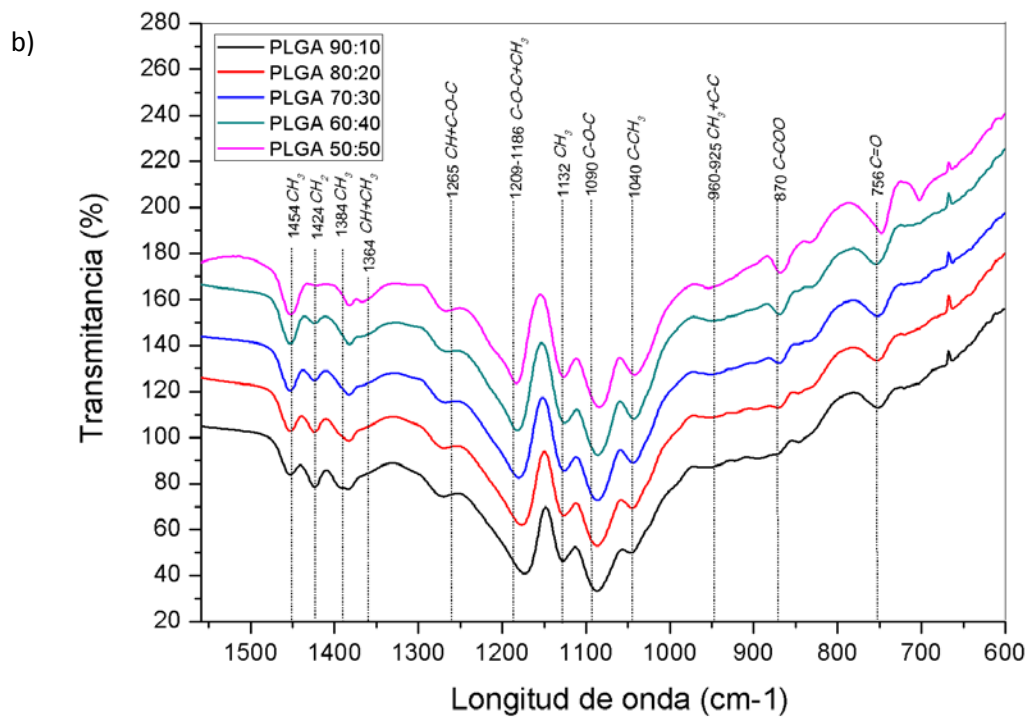
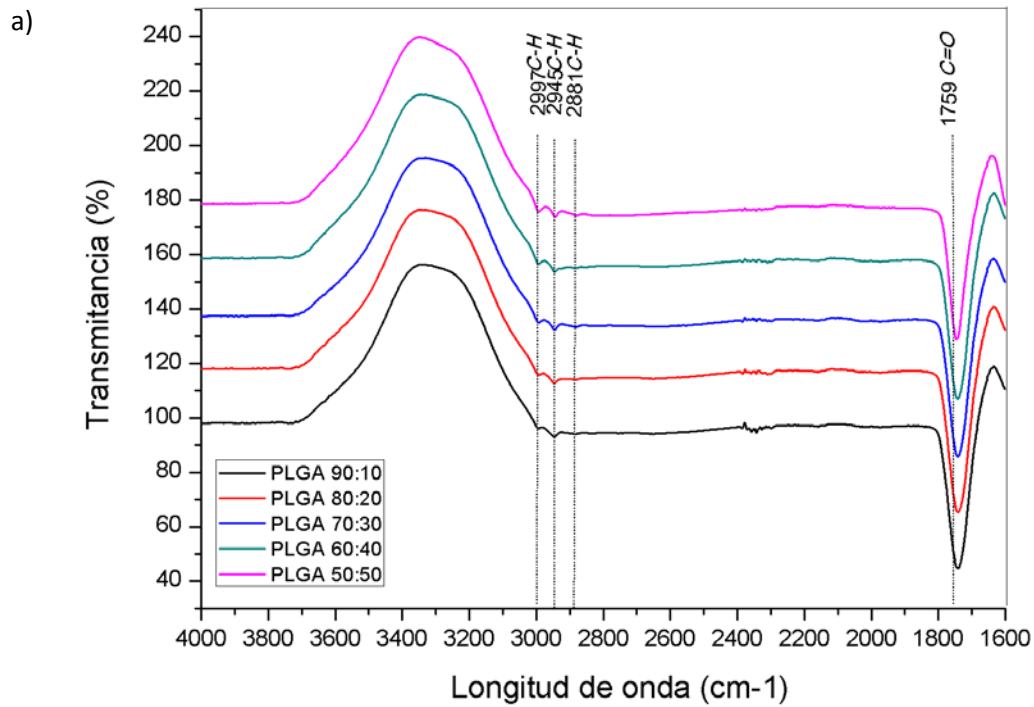


Figura 3.3. Espectros FT-IR de a) 4000 a 1600 cm^{-1} y b) 1559 a 600 cm^{-1} de los copolímeros de PLGA 50:50, 60:40, 70:30, 80:20 y 90:10% p.

El estudio del cambio de las intensidades de las bandas se realizó con base en la evaluación de los cambios de transmitancia en los espectros infrarrojos por regiones características de cada enlace. Esta evaluación se realizó considerando dos tipos de variaciones de los rangos de longitud de onda: el primero que caracteriza la variación de la transmitancia en un rango de longitud de onda identificado para todos los copolímeros de PLGA sintetizados; estos rangos corresponden a las bandas de los enlaces seleccionados por su relevancia durante el proceso de degradación del PLGA, como característicos del material. En el segundo caso, se tomó en cuenta los desplazamientos de cada banda reconocida en los espectros, los cuáles fueron identificados por observación y su posterior análisis de acuerdo a la bibliografía existente [90, 91, 92 y 93].

En los espectros infrarrojos, se pudo observar en todos los copolímeros bandas correspondientes al estiramiento de las vibraciones C-H de los enlaces $_{as}CH_3$ ($2991-2992\text{ cm}^{-1}$) y $_{s}CH_3$ ($2944-2946\text{ cm}^{-1}$) con una mayor intensidad en el copolímero 90:10%p, también bandas entre $2880-2881\text{ cm}^{-1}$ correspondientes al estrechamiento simétrico y asimétrico de los enlaces $_{as}CH_2$ de los cadenas de glicólido, los picos más prominentes se encontraron en las composiciones 50:50%p y 60:40%p.

Las deformaciones de las vibraciones C-H de los grupos $_{as}CH_3$ de las cadenas de lactida, se mostraron en la banda de 1454 cm^{-1} , los enlaces $_{s}CH_3$ se observaron entre las bandas 1348 a 1384 cm^{-1} y en la banda de 1132 cm^{-1} también se observó el enlace $_{as}CH_3$. Las bandas correspondientes a las deformaciones de las vibraciones de C-H de los grupos CH_2 presentes en las cadenas de glicólido también se presentaron entre 1424 y 1452 cm^{-1} .

Se observaron bandas en 1084 , 1086 y 1087 cm^{-1} ; y 1173 a 1183 cm^{-1} que pueden atribuirse al estrechamiento de las vibraciones de los grupos C-O y dos bandas correspondientes al enlace C=O una muy intensa que se localizó de 1740 a 1446 cm^{-1} y una más débil a los 756 cm^{-1} .

La región comprendida entre 1300 a 1000 cm^{-1} se relaciona directamente con el estrechamiento de las vibraciones del enlace C-O-C. Los copolímeros presentaron bandas en el rango de 1265 cm^{-1} que se originaron de las vibraciones de las deformaciones de los enlaces

C-H y el estrechamiento de los grupos C-O-C; entre 1209 a 1186 cm^{-1} . Las vibraciones del enlace asC-O-C y asCH_3 y en 1088 cm^{-1} una banda correspondiente al estrechamiento del enlace C-O-C. Por su parte la banda que se presentó en 1046 cm^{-1} está conectada al estrechamiento de las vibraciones de los grupos C-CH₃. Dentro de esta región, los copolímeros mostraron intensidades similares. Las bandas entre 960 y 830 cm^{-1} son sensibles al grado de cristalinidad y a la cantidad de L-isómeros del PLLA, especialmente la banda a 920 cm^{-1} que se atribuye a los cristales de PLLA en la forma α con una distorsión en la conformación de la hélice 10₃, debido al acoplamiento C-C del estrechamiento de la cadena y al modo oscilante del enlace CH₃; también se ha reportado que existe un considerable desorden de los cristales de PLLA, que se debe a las interacciones entre cadenas de los grupos CH₃. Esta tendencia al orden se manifiesta con el aumento de la intensidad en la banda de 830 cm^{-1} . Los copolímeros sintetizados presentaron ambos picos existiendo en mayor intensidad en el copolímero 90:10%p y siendo casi nula en la banda de 830 cm^{-1} en el copolímero 50:50%p. Adicionalmente, las bandas correspondientes al estrechamiento de las vibraciones de los grupos O-H se presentaron entre el rango de 3200 a 3600 cm^{-1} .

3.2.3 Resultados de Temperatura de transición vítrea (Tg) de los copolímeros de poli (ácido L-láctico-co-glicólico), PLGA.

La temperatura de transición vítrea de los copolímeros de PLGA sintetizados se resume en la Tabla 3.2 en la cual se compara con la temperatura de transición vítrea teórica.

Tabla 3.2 Valores teóricos y experimentales para la Tg de las relaciones de PLGA, en flujo de aire.

Copolímero de PLGA (%p)	Tg Experimental (°C)	Tg Teórica (°C)
90:10	42.75	54.55-62.23
80:20	40.85	50.00-59,69
70:30	40.77	46.15-57.35
60:40	39.60	42.86-55.19
50:50	32.13	40.00-53.18

Se notó un incremento de la temperatura de transición vítrea a medida que el porcentaje de ácido L-láctico iba aumentando, este resultado se relaciona con el peso molecular promedio obtenido en los copolímeros de PLGA sintetizados (Tabla 3.3), los cuales al igual que la (Tg)

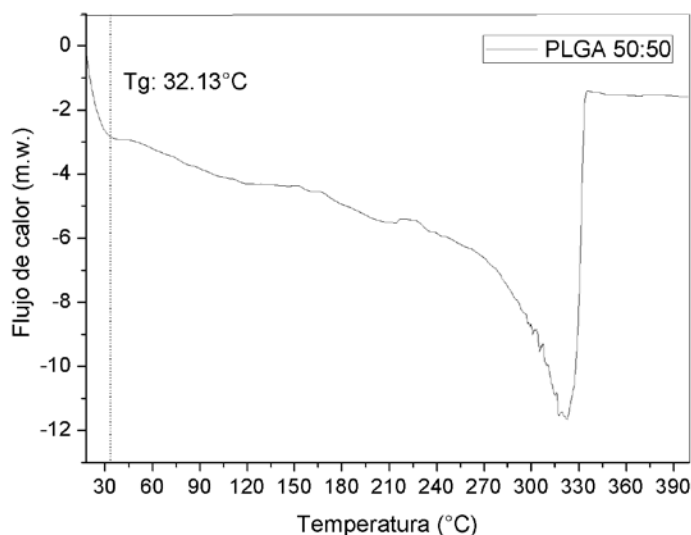
aumentaron a medida que el porcentaje de ácido L-láctico aumentó; esto podría deberse a que la presencia de los grupos CH₃ de los segmentos L-láctico disminuye la movilidad de las cadenas y genera de igual manera un aumento en la (Tg).

La Figura 3.4 muestra los termogramas de los copolímeros de PLGA 50:50%p, 60:40%p, 70:30%p, 80:20%p y 90:10%p. En relación a trabajos previos sobre temperatura de transición vítrea para copolímeros de PLGA se ha reportado que composiciones 50:50%p presentan una Tg entre 33°C y 38°C, mientras que para composiciones de 60:40%p, se presenta entre 34°C y 45°C.

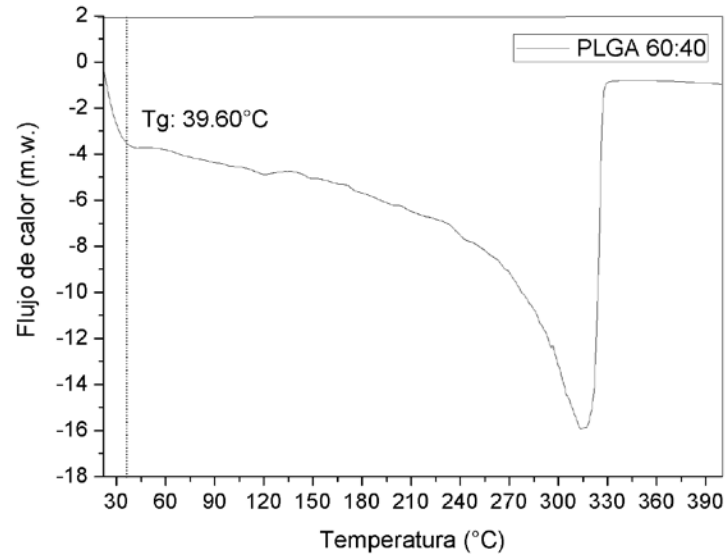
En el caso del PLGA 70:30%p entre 35°C-49°C, las composiciones 80:20%p presentan temperaturas entre 38°C y 50°C; y copolímeros de 90:10%p se han reportado Tg entre 35.5°C-36.5°C. En base a las temperaturas de transición vítrea teóricas de los copolímeros de PLGA (Tabla 3.2), los valores obtenidos en forma experimental fueron menores, esto podría deberse a que los pesos moleculares de los copolímeros sintetizados fueron menores y la Tg se ve directamente relacionada con esta propiedad.

Los copolímeros de PLGA sintetizados presentaron una temperatura de composición entre 322°C y 265°C.

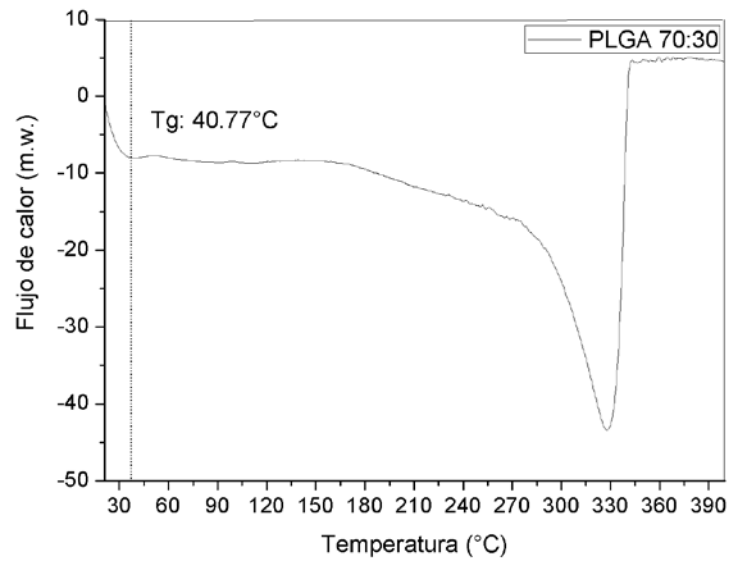
a)



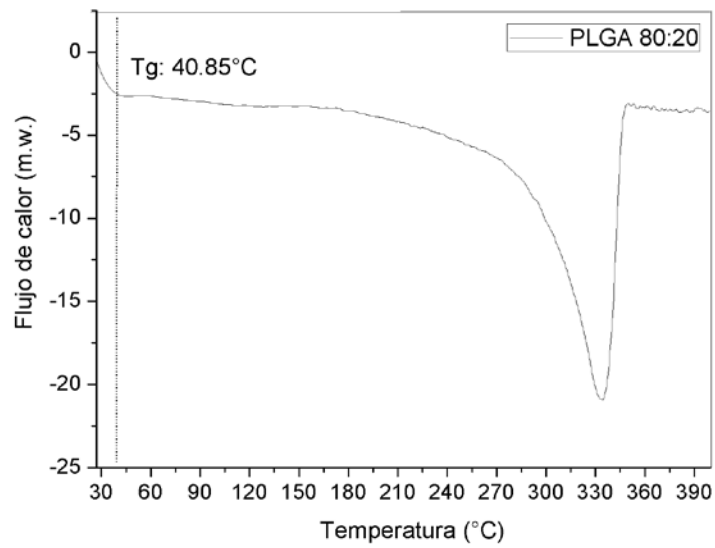
b)



c)



d)



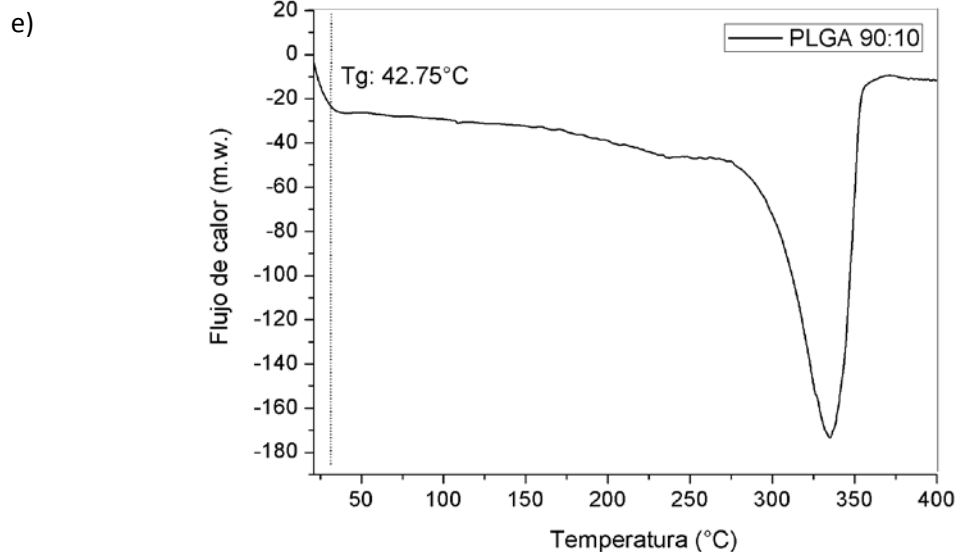


Figura 3.4 Termogramas DSC de los copolímeros de PLGA a) 50:50%p, b) 60:40%p, c) 70:30%p, d) 80:20%p y e) 90:10%p.

3.2.4 Peso molecular promedio de los copolímeros de poli (ácido L-láctico-co-glicólico), PLGA

Los pesos moleculares promedios obtenidos de las cadenas de PLGA en los copolímeros de poli (ácido L-láctico-co-glicólico) se encuentran dentro de un rango de 527.3205 a 684.3312 Da. Se obtuvo un peso molecular promedio mayor en el copolímero 90:10%p de PLGA. Los índices de polidispersidad oscilaron entre 1.05 y 1.08; mientras que el grado de polimerización entre 5.16 y 6.52. La Tabla 3.3, se muestra un resumen del índice de polidispersidad, grado de polimerización y peso molecular promedio.

Tabla 3.3 Peso molecular promedio, Índice de polidispersidad y Grado de polimerización de los cadenas de PLGA.

PLGA (%p)	Peso molecular promedio (Mw) Da	Índice de polidispersidad (Ip)	Grado de Polimerización
90:10	684.3312	1.05	6.52
80:20	665.0482	1.08	6.51
70:30	653.3224	1.06	6.41
60:40	627.3205	1.06	6.40
50:50	613.8471	1.05	6.35

Las Figuras 3.5 y 3.6 muestran la relación entre el peso molecular, índice de polidispersidad y grado de polimerización en función de la composición del copolímero. Se observó que el peso molecular y el grado de polimerización se incrementaron a medida que el porcentaje de ácido L-láctico aumentó en la composición.

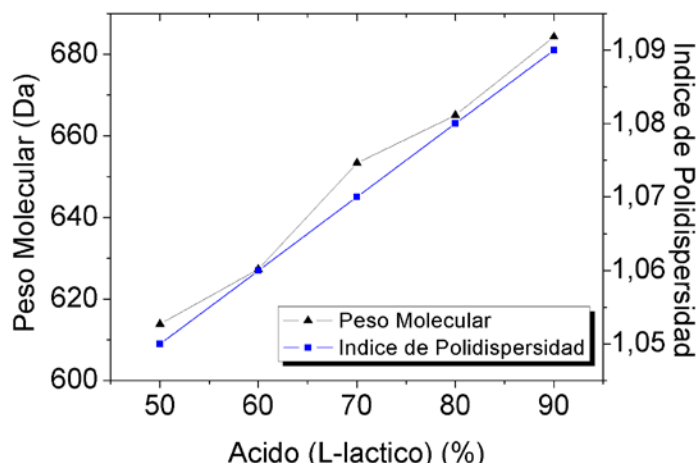


Figura 3.5 Porcentaje de Ácido L-láctico vs. Peso molecular promedio e Índice de polidispersidad.

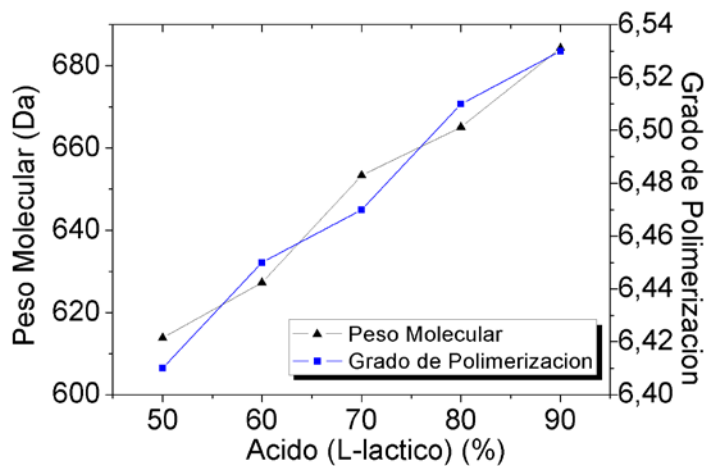


Figura 3.6 Porcentaje de ácido L-láctico vs. Índice de polidispersidad y Grado de polimerización.

Las cadenas de PGA de los copolímeros de poli (ácido L-láctico-co-glicólico) presentaron pesos moleculares promedio entre 324.0804 y 680.1981 Da, el índice de polidispersidad osciló entre 1.02 y 1.08 y el grado de polimerización entre 4.50 y 8.85; mientras que para las cadenas de PLLA, los pesos moleculares promedios se encontraron entre 684.2202 y 823.6549 Da, su índice de polidispersidad se encontró entre 1.03 y 1.05, mientras que su

grado de polimerización entre valores de 9.50 y 11.43, las Tablas 3.4 y 3.5 muestran los datos obtenidos de los segmentos de PGA y PLLA de los copolímeros de PLGA sintetizados.

Tabla 3.4 Peso molecular promedio, Índice de polidispersidad y Grado de polimerización de las cadenas de PGA.

PLGA (%p)	Peso molecular promedio (Mw)	Índice de polidispersidad (Ip)	Grado de Polimerización
90:10	761.6277	1.08	8.85
80:20	716.8021	1.07	8.74
70:30	661.6465	1.06	7.70
60:40	624.0804	1.02	5.50
50:50	580.1981	1.05	7.91

Tabla 3.5 Peso molecular promedio, Índice de polidispersidad y Grado de polimerización de las cadenas de PLLA.

PLGA (%p)	Peso molecular promedio (Mw)	Índice de polidispersidad (Ip)	Grado de Polimerización
90:10	823.6549	1.03	11.43
80:20	684.2202	1.05	9.50
70:30	720.4138	1.03	10.01
60:40	703.4398	1.05	9.77
50:50	587.4535	1.04	9.55

Los pesos moleculares promedios obtenidos son bajos debido al método de polimerización que no permite obtener cadenas periódicas del tipo glicólico-láctico. Los copolímeros de PLGA fueron sintetizados mediante polimerización de apertura de anillo del tipo aniónica (AROP), por lo que su etapa de terminación está dirigida por reacciones de transferencia de cadena con monómeros inactivos, además los centros activos de los monómeros son nucleofílicos y actúan como bases para extraer los protones de los monómeros, todo esto disminuye el peso molecular final. Se pudo observar además que los copolímeros presentan un grado de polimerización bajo debido al tipo de polimerización empleada.

En comparación a los resultados obtenidos en investigaciones previas sobre la síntesis de copolímeros de PLGA mediante ROP y empleando el 2-etilhexanoato de estaño Sn(Oct)₂ como iniciador se obtuvieron pesos moleculares bajos, esto se debe a que la síntesis se realizó a una presión mucho más baja de 70Pa lo cual favorece los procesos de polimerización.

El peso molecular es un valor promedio que muestra la distribución de pesos moleculares que presentan las cadenas del copolímero y a pesar de que se obtuvieron valores bajos de peso molecular promedio, se pudo observar la presencia de cadenas de hasta 1100Da, para el caso de los copolímeros 50:50 y 60:40 %p las cadenas de PLLA presentaron valores de hasta 990Da y las cadenas de PGA de hasta 970Da, y no se registraron valores mayores a 1000Da para segmentos de PLGA. Algo similar se observó para la composición 70:30%p. En la composición 80:20%p, el peso molecular de las cadenas de PGA y PLLA osciló entre los 1000Da. Para la composición 90:10%p, algunas de las cadenas de PGA, presentaron valores mayores a 1000Da y para cadenas de PLLA se mantuvieron alrededor de los 1000Da. Se observó que a medida que el porcentaje de ácido L-láctico aumentaba se obtenían cada vez cadenas más largas de PLGA, además que la campana de distribución de pesos moleculares se asemejó a la típica observada para polímeros sintetizados por apertura de anillo. La campana de distribución de Poisson de los pesos moleculares de PLGA sintetizados se encuentra en el Anexo III.

3.3 Degradación estática del poliácido (L-láctico-co-glicólico) PLGA.

3.3.1 Variación del peso molecular promedio del poliácido (L-láctico-co-glicólico) PLGA durante el proceso de degradación estática.

El copolímero 90:10%p presentó un patrón de cuatro fases en su proceso de degradación en base a su peso molecular promedio, la primera fase correspondió a una disminución rápida de su peso molecular promedio (primera hora de inmersión en solución salina) (Figura 3.7 (a)), la segunda fase a partir de la segunda hasta la décima hora de inmersión, en la que el peso molecular promedio aumentó; a partir de esta hora, y hasta las 336 horas (2 semanas) correspondió a la tercera fase en la que se notó una disminución en peso molecular promedio; y para el primer y segundo mes de estudio la cuarta fase en la que los promedios de peso molecular fueron mayores. Los bloques de PLLA y PGA presentaron un comportamiento similar (Figura 3.7 (b) y (c)).

El índice de polidispersidad para las cadenas de PLGA en el copolímero 90:10%p aumentó durante los primeros treinta minutos de inmersión mientras su peso molecular disminuyó (Figura 3.7 (a)), alcanzando su máximo valor de 1.27 a las dos horas, a partir de este punto disminuyó mientras que su peso molecular aumentó hasta las 48 horas, luego de este tiempo hasta el final del proceso de degradación aumentó; las cadenas del copolímero presentaron valores entre 2000 y 1000 Da y muy pocas cadenas con un valor menor a 500 Da. Para las cadenas de PLLA y PGA del copolímero 90:10%p (Figura 3.7 (a) y (b)) el índice de polidispersidad disminuyó durante los primeros 15 minutos y luego aumentó hasta los 30 minutos para llegar a ser homodispersos a la primera hora de inmersión, a partir de este punto presentó un perfil muy similar a las cadenas de PLGA que aumentaron durante la segunda hora de estudio y disminuyeron hasta las 48 horas de inmersión, luego aumentaron hasta el final del periodo de degradación.

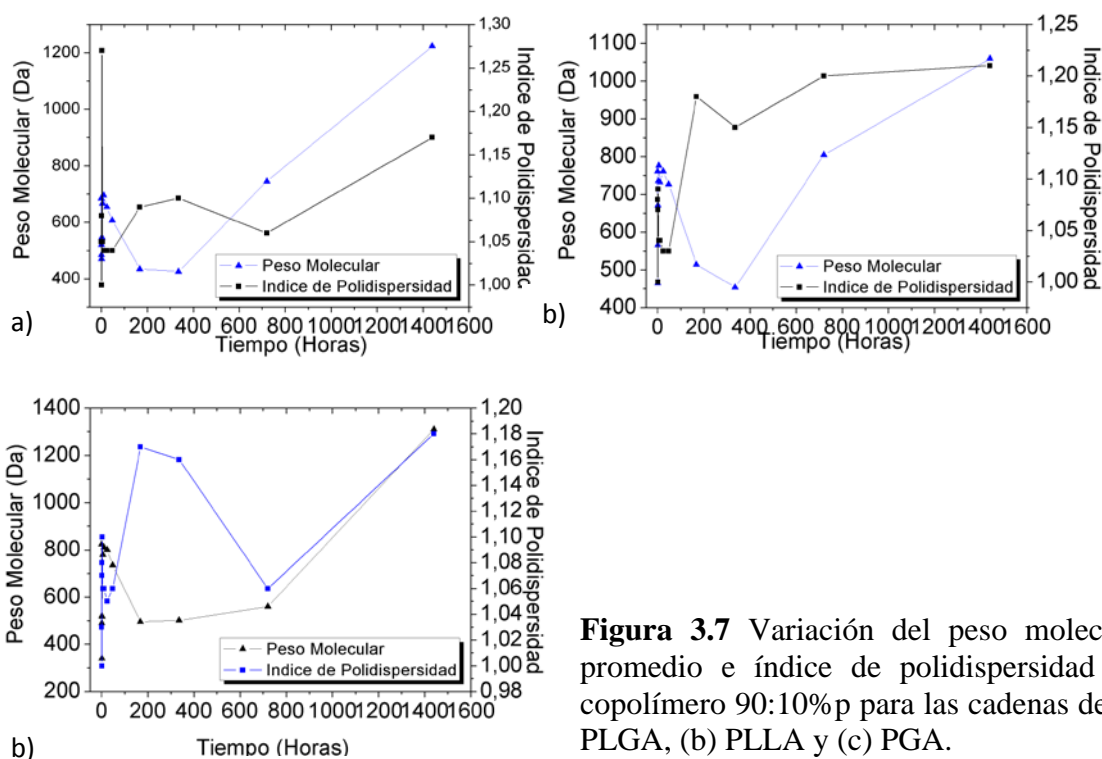
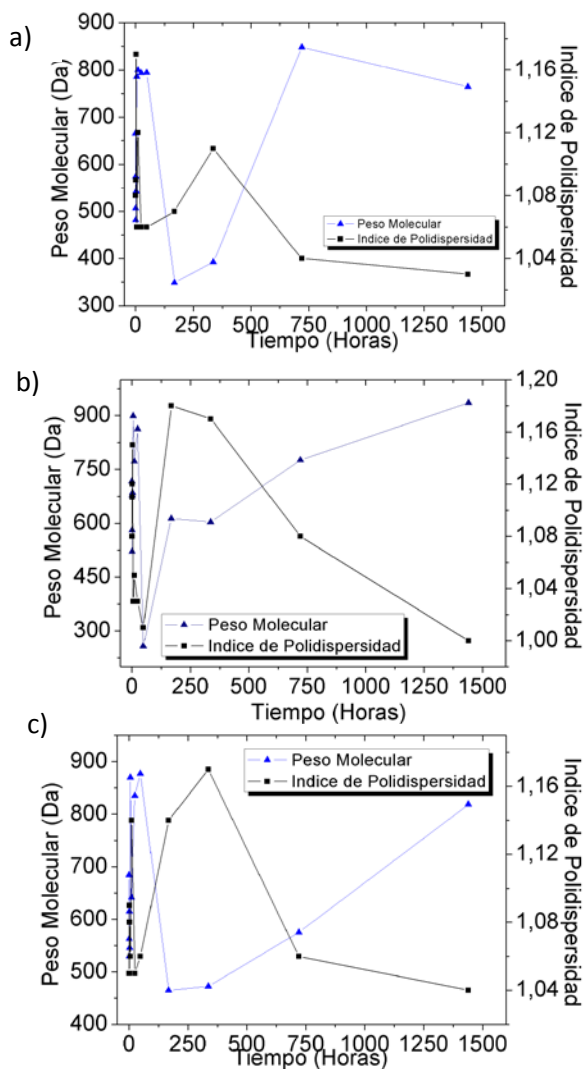


Figura 3.7 Variación del peso molecular promedio e índice de polidispersidad del copolímero 90:10%p para las cadenas de (a) PLGA, (b) PLLA y (c) PGA.

En caso del copolímero 80:20%p la variación del peso molecular promedio de las cadenas de PLGA fue similar al observado en el copolímero 90:10%p; más presentó un patrón irregular durante su primera fase, disminuyendo a los 30 minutos de inmersión (Figura 3.8 (a)) y aumentando a la primera hora. A la segunda hora disminuyó presentan valores entre

481.9791 y 574.9791Da y a partir de la segunda hora de inmersión se notó un incremento en el promedio de peso molecular hasta alcanzar los 794.1587Da a las 48 horas, luego de las 48 horas de degradación el promedio de peso molecular disminuyó a la mitad y al llegar al primer y segundo mes del proceso de inmersión el peso molecular aumentó nuevamente hasta alcanzar su máximo entre 848.4503 y 764.1576 Da. Las cadenas de PLLA y PGA presentaron un comportamiento similar (Figura 3.8 (b) y (c)).



El índice de polidispersidad para las cadenas de PLGA, PGA y PLLA aumentó durante los primeros 15 minutos de inmersión y luego disminuyó durante la primera media hora como se muestra en la Figura 3.10, al parecer las cadenas más cortas se liberan al inicio del proceso de degradación, luego no se muestra un patrón definido hasta alcanzar las 10 horas, a partir de estas el índice de polidispersidad disminuyó hasta las 48 horas de inmersión, durante las dos semanas siguientes el I_p aumentó y al finalizar el segundo mes de inmersión disminuyó.

Figura 3.8 Variación del peso molecular promedio e índice de polidispersidad del copolímero 80:20%p para las cadenas de (a) PLGA, (b) PLLA y (c) PGA.

Como se muestra en la Figura 3.9 (b) el peso molecular promedio para el copolímero 70:30%p de las cadenas de PLGA presentó solo tres fases; la primera fase que constituyó la primera media hora de inmersión, disminuyó, la segunda fase que abarcó hasta las 24 horas

de estudio, aumentó y una tercera fase a partir de la hora 24 hasta el primer mes de inmersión, en la cual el peso molecular promedio empezó a disminuir. Al final del proceso de degradación, se observó que quedó muy poco material polimérico sobre la placa de vidrio, casi imperceptible. En cuanto a las cadenas de PLLA y PGA (Figura 3.9 (b) y(c)) el peso molecular promedio disminuyó durante los primeros 15 minutos de inmersión. Posteriormente, se observó un aumento de peso molecular durante la hora y media siguiente y luego una leve disminución hasta la décima hora de observación. Durante las diez horas de inmersión hasta las 48 horas el promedio de peso molecular aumentó y al final de las 48 horas hasta las dos semanas (336 horas) el peso molecular disminuyó.

El índice de polidispersidad de las cadenas de PLGA del copolímero 70:30%p (Figura 3.9 (a)) mostró un aumento durante los primeros 15 minutos de degradación y disminuyó durante la siguiente hora. Al alcanzar la segunda hora de inmersión el I_p aumentó a un valor de 1.17 y luego se observó una disminución hasta alcanzar las 48 horas de degradación, a las dos semanas la polidispersidad de las cadenas aumentó, más disminuyó hasta llegar al final del periodo de estudio (1440 horas).

Para las cadenas de PLLA (Figura 3.9 (b)) el índice de polidispersidad durante las primeras cinco horas aumentó, con excepción de la primera hora de inmersión en la cual se notó una disminución en el I_p . A partir de la quinta hora hasta las 48 horas de inmersión el I_p disminuyó, al cabo de dos semanas el índice de polidispersidad aumentó y al llegar a los dos meses de degradación volvió a disminuir.

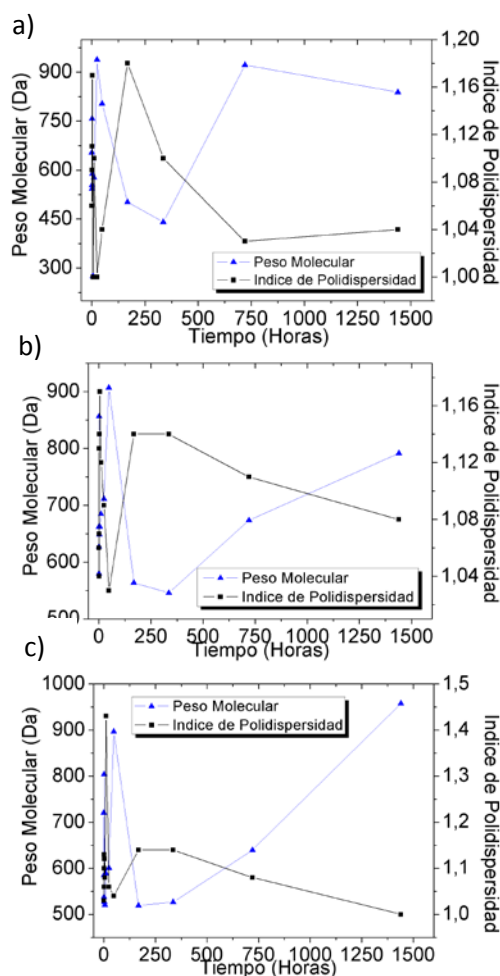


Figura 3.9 Variación del peso molecular promedio e índice de polidispersidad del copolímero 70:30%p para las cadenas de (a) PLGA, (b) PLLA y (c) PGA.

Las cadenas de PGA mostraron un aumento en su índice de polidispersidad durante los primeros treinta minutos de estudio, posteriormente se notó una disminución hasta alcanzar las cinco horas de inmersión; a partir de la décima hora se notó un aumento significativo en el índice de polidispersidad a 1.43, luego disminuyó hasta llegar a las 48 horas de degradación. Durante las dos semanas de inmersión se percibió un aumento en el I_p y finalmente disminuyó al cabo de los dos meses como se muestra en la Figura 3.9 (c).

El peso molecular promedio de las cadenas de PLGA, PLLA y PGA del copolímero 60:40%p no presentaron un perfil definido; aumentó durante las dos primeras horas de degradación (Figura 3.10 (a,b y c)), posteriormente disminuyó hasta la décima hora. Al primer día del proceso de degradación el peso molecular promedio aumentó y posteriormente disminuyó hasta la segunda semana de inmersión, al llegar al primer mes de experimentación el peso molecular promedio aumentó, más no llegó a finalizar el tiempo de estudio (1440 horas) ya que se degradó por completo a las cinco semanas.

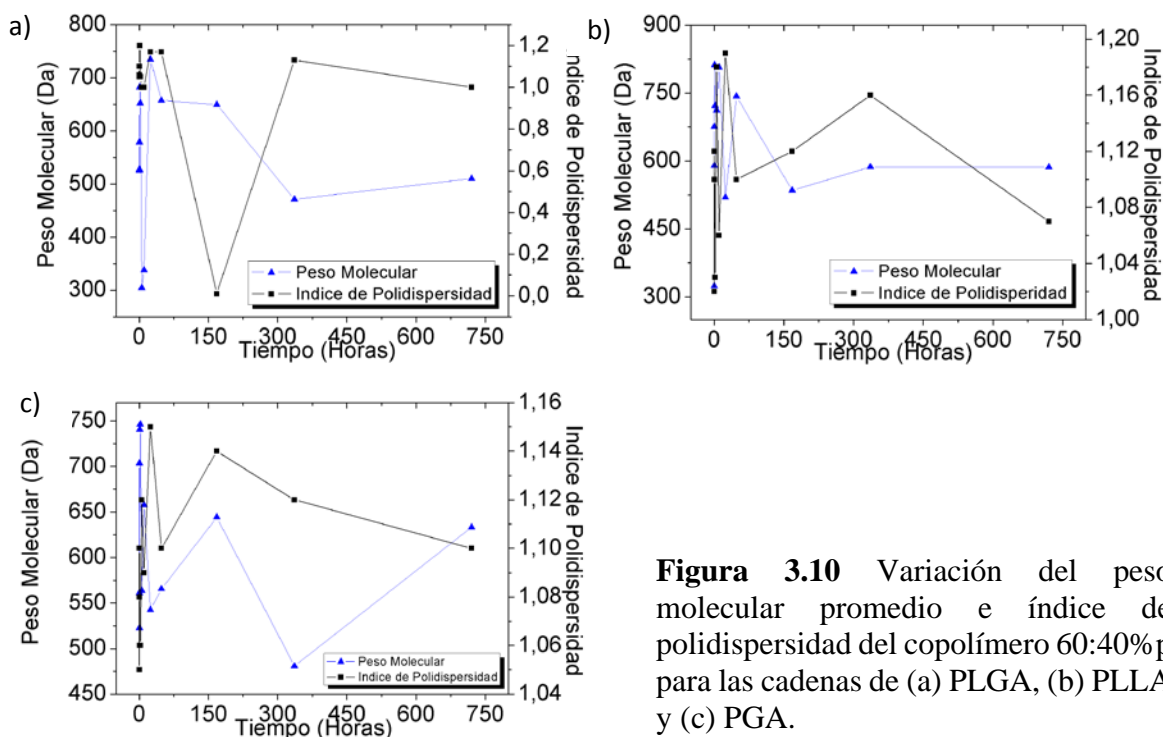


Figura 3.10 Variación del peso molecular promedio e índice de polidispersidad del copolímero 60:40%p para las cadenas de (a) PLGA, (b) PLLA y (c) PGA.

El índice de polidispersidad de las cadenas de PLGA del copolímero 60:40%p como se muestra en la Figura 3.10 (a) durante la primera hora del proceso de degradación ascendió y

a partir de la segunda hora hasta la décima hora disminuyó, durante los siguientes dos días ascendió y se mantiene estable con un valor de 1.17, para disminuir a la semana de inmersión y volver a ascender a las dos semanas, para el final del proceso de degradación el material es homodisperso.

El peso molecular promedio de las cadenas de PLGA, PLLA y PGA del copolímero 50:50%p (Figura 3.11 (a, b y c)) al igual que las cadenas del copolímero 60:40%p mostró un perfil irregular en el cual se observó una disminución durante los primeros 15 minutos de degradación, para luego aumentar y volver a disminuir a los 30 minutos y hora respectivamente, a partir de la segunda hora de inmersión el peso molecular promedio aumentó para luego descender hasta la hora 48; durante las dos semanas siguientes se notó un incremento en el Mw para luego descender al cabo de un mes y mostrar un ligero incremento al final del periodo de estudio.

El índice de polidispersidad de las cadenas de PLGA del copolímero 50:50%p (Figura 3.11 (a)) mostró al igual que el peso molecular promedio un aumento durante los primeros quince minutos de inmersión y luego un descenso a los 30 minutos para volver a ascender al cabo de una hora, posteriormente no tuvo un patrón fijo y al llegar al final de las cuatro semanas se obtuvo un material homodisperso. Para las cadenas de PLLA y

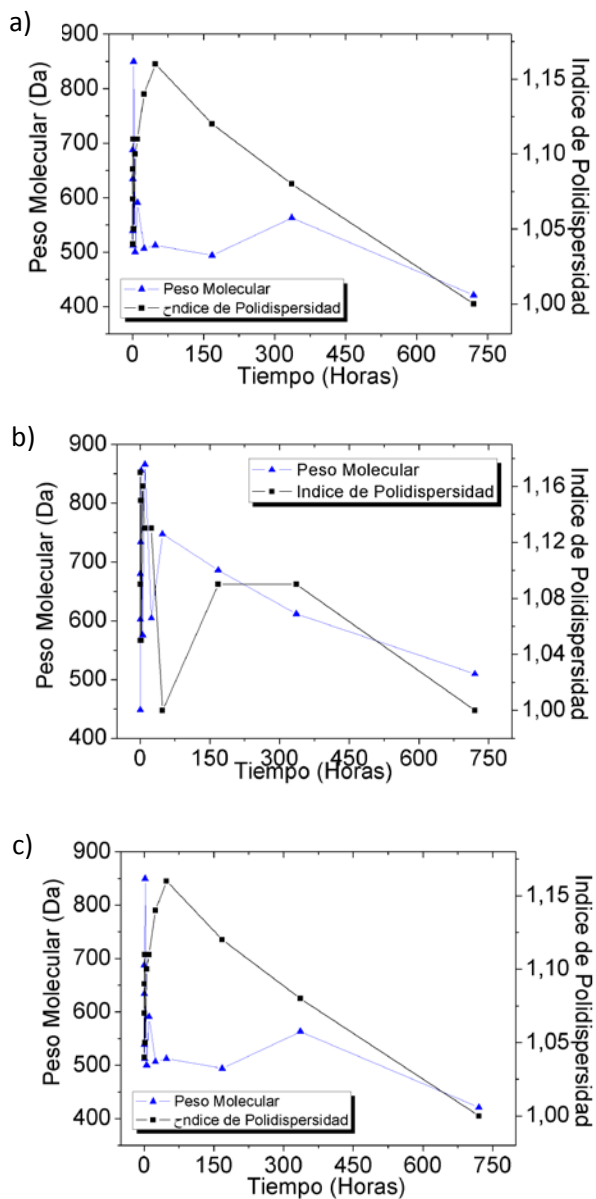


Figura 3.11 Variación del peso molecular promedio e índice de polidispersidad del copolímero 50:50%p para las cadenas de (a) PLGA, (b) PLLA y (c) PGA.

PGA el índice de polidispersidad aumentó durante los primeros 30 minutos de inmersión y volvió a disminuir durante la primera hora, para volver a ascender durante la segunda hora de estudio, posteriormente el índice de polidispersidad tuvo un comportamiento variable y disminuyó al igual que las cadenas PLLA hasta quedar un polímero homodisperso, como se muestra en la Figura 3.11 (b y c).

3.3.2 Medición de los enlaces característicos de los copolímeros de poli (ácido L-láctico-co-glicólico), PLGA

En el análisis realizado de los espectros infrarrojos, se pudo observar que la degradación de las cadenas de PLGA se realiza desde sus extremos o terminaciones carboxílicas hacia el interior de la cadena. Este fenómeno se evidencia durante las primeras 48 horas en las que la banda de los espectros OH disminuye su intensidad quedando los enlaces carboxílicos terminales expuestos al medio acuoso. A partir de este tiempo se inicia la degradación de la parte interna del material, proceso que se ve motivado especialmente por la autocatálisis de las cadenas ácidas generadas. Este hecho se refleja en el aumento de la intensidad de la transmitancia de las bandas del espectro correspondiente a los enlaces C-H y ocurre durante las dos primeras semanas de degradación (336 h). A partir de la segunda semana, el proceso de degradación parece presentar una tendencia lineal con respecto al tiempo. Esto quiere decir que la degradación de la parte interna del material se lleva a una velocidad constante.

Los cambios en las bandas de la estructura química que los copolímeros de PLGA experimentaron durante el proceso de degradación estática se pudieron observar mediante el análisis del espectro infrarrojo, diez y seis fueron los picos que se estudiaron durante el proceso de degradación.

El estudio del cambio de las intensidades de las bandas se realizó con base en la evaluación de los cambios de transmitancia en los espectros infrarrojos por regiones características de cada enlace. Esta evaluación se realizó considerando dos tipos de variaciones de los rangos de longitud de onda: el primero que caracteriza la variación de la transmitancia en un rango de longitud de onda identificado desde la primera muestra al tiempo inicial. Estos rangos

corresponden a las bandas de los enlaces seleccionados (por su relevancia durante el proceso de degradación del PLGA) como característicos del material. En el segundo caso, se tomó en cuenta los desplazamientos de cada banda reconocida en el espectro inicial, los cuáles fueron identificados por observación y su posterior análisis de acuerdo a la bibliografía existente [90,91].

Cabe mencionar que el comportamiento de las variaciones del espectro en los rangos de longitud seleccionados entre los dos casos presentan pocas diferencias entre ellos.

Las bandas de las vibraciones del estrechamiento del enlace C-H correspondieron a los enlaces $_{as}CH_3$, $_sCH_3$ y $_{as}CH_2$, estos se ubicaron en las longitudes de onda de $2997cm^{-1}$, $2945cm^{-1}$ y $2881cm^{-1}$ las dos primeras señales de CH_3 simétrico y asimétrico corresponden a las cadenas de ácido L-láctico, mientras que la banda de $_{as}CH_2$ corresponde a las cadenas de ácido glicólico. Se ha demostrado que generalmente la banda correspondiente al $_{as}CH_2$ es muy sensible a relación trans/gauche y a la densidad del empaquetamiento de los grupos metilo [92]. Todos los copolímeros de PLGA sintetizados presentaron un comportamiento irregular sobre estas bandas, se determinó que la transmitancia de los copolímeros de PLGA 50:50%p y 60:40%p (Figura 12 y 13) aumentó con una tendencia lineal, la cual es más rápida que la obtenida en los casos de los copolímeros 70:30%p, 80:20%p y 90:10%p (Figura 14,15 y 16). En el caso de estas tres composiciones, se presentó un cambio más lento en la intensidad de estas bandas. Este hecho se puede explicar considerando que el paso de las bandas de bajas a altas frecuencias, significa una transición de mayor orden a una de menor orden [92,93] y a que se presenta una modificación de la conformación trans a una de tipo gauche. Esta conformación es característica de un empaquetamiento no rígido, el cual se generó por la difusión de agua dentro de la matriz polimérica. Esta difusión se asocia a la presencia de un mayor porcentaje de ácido glicólico en los copolímeros de PLGA 50:50%p y 60:40%. Por lo tanto, es factible que estos copolímeros se hidrolizarán más rápido, lo que lleva a la pérdida del ordenamiento de su empaquetamiento, lo que a su vez acelera el proceso de degradación.

Los enlaces CH, CH_3 y el estrechamiento de la banda C-O-C en los copolímeros de PLGA se evidenciaron entre las longitudes de onda de 1500 a $1000 cm^{-1}$; en todos los materiales.

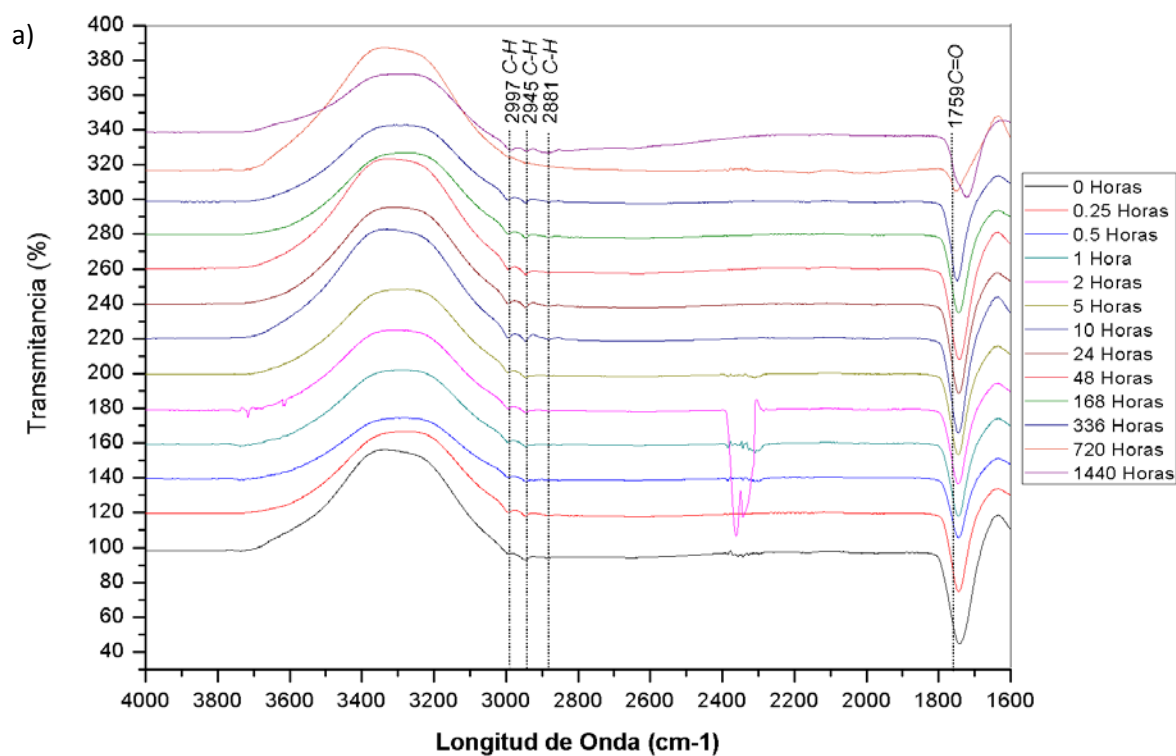
La banda correspondiente al modo de deformación asimétrica del enlace CH_3 y CH_2 se ubicó en la longitud de onda de 1454 cm^{-1} , la cual aumentó su intensidad y se dividió a medida que el copolímero se iba degradando. Este hecho se evidenció más, a medida que el porcentaje de ácido L-láctico aumentaba. En algunos espectros, se observó este pico característico dividido, Zhang et al, 2004 lo atribuyen a un intercambio de las cadenas durante la formación del cristal 10_3 helicoidal generado por los grupos CH_3 .

Por su parte, la banda correspondiente a las deformaciones del enlace C-H de los grupos CH_2 (1424cm^{-1}) presentes en las cadenas de ácido glicólico fueron disminuyendo durante el proceso de degradación para los copolímeros de PLGA 70:30%p, 80:20%p y 90:10%p, la disminución en la intensidad del espectro fue mayor en las composiciones con un mayor porcentaje de ácido L-láctico, los copolímeros de PLGA 90:10%p casi no mostraron este pico característico en su espectro, por otro lado los copolímeros de PLGA 50:50 y 60:40%p si mostraron un aumento en esta banda y en mayor proporción la composición 50:50%p. Este hecho se ve reflejado en las microscopías de la superficie de estos copolímeros, en las cuales se pueden observar claramente la presencia de residuos de ácido glicólico y L-láctico hasta el final del proceso de degradación. Las vibraciones de la deformación del enlace C-H de los grupos CH_3 presentes en las cadenas de poli L-láctico se presentaron en un rango de 1368 a 1384 cm^{-1} . Las intensidades observadas fueron variables, sin embargo, estas se encuentran directamente relacionadas con el rompimiento de los enlaces éster durante la hidrólisis.

La región de 1300 a 1000 cm^{-1} se relacionó directamente con las vibraciones del estrechamiento del enlace C-O-C, el cual estuvo sujeto a una división y cambios de posición en el pico en todos los copolímeros de PLGA. Las intensidades de estos espectros tuvieron un comportamiento irregular durante el proceso de degradación, aumentando y disminuyendo sus intensidades. Esto se puede deber a la mezcla de oligómeros y ácidos que se formaron durante el proceso [85,86]. Por su parte, las variaciones en el rango de la banda del grupo C-O se deben a un aumento en el número de terminaciones carboxílicas de las cadenas del polímero generadas durante la hidrólisis del material en un inicio y luego a la transformación de las cadenas de ácido L-láctico y glicólico [91,92,93].

El estrechamiento de la cadena y la rotación del enlace CH_3 en los copolímeros de PLGA se evidenció de una longitud de onda entre 960 - 830 cm^{-1} . Los copolímeros mostraron un

aumento en la intensidad de los picos correspondientes a los enlaces C-C y C-COO a medida que el porcentaje de ácido L-láctico aumentaba. Esto se puede deber a que esta región es sensible al grado de cristalización por lo que la cantidad de ácido L-láctico influencia de manera directa este aumento [93]. La banda entre 920cm^{-1} se atribuye a los cristales en la forma α con una distorsión en la conformación de la hélice 10_3 debido al emparejamiento del estrechamiento del enlace C-C de la cadena y a la rotación del grupo metilo. Este hecho también genera que exista cierto desorden estructural en los cristales de PLLA. Por su parte se observó que la banda entre 865cm^{-1} correspondiente al enlace C-COO aumento y se volvió más aguda durante el proceso de degradación de todos los copolímeros, sugiriendo que los cristales iban adoptando un orden.



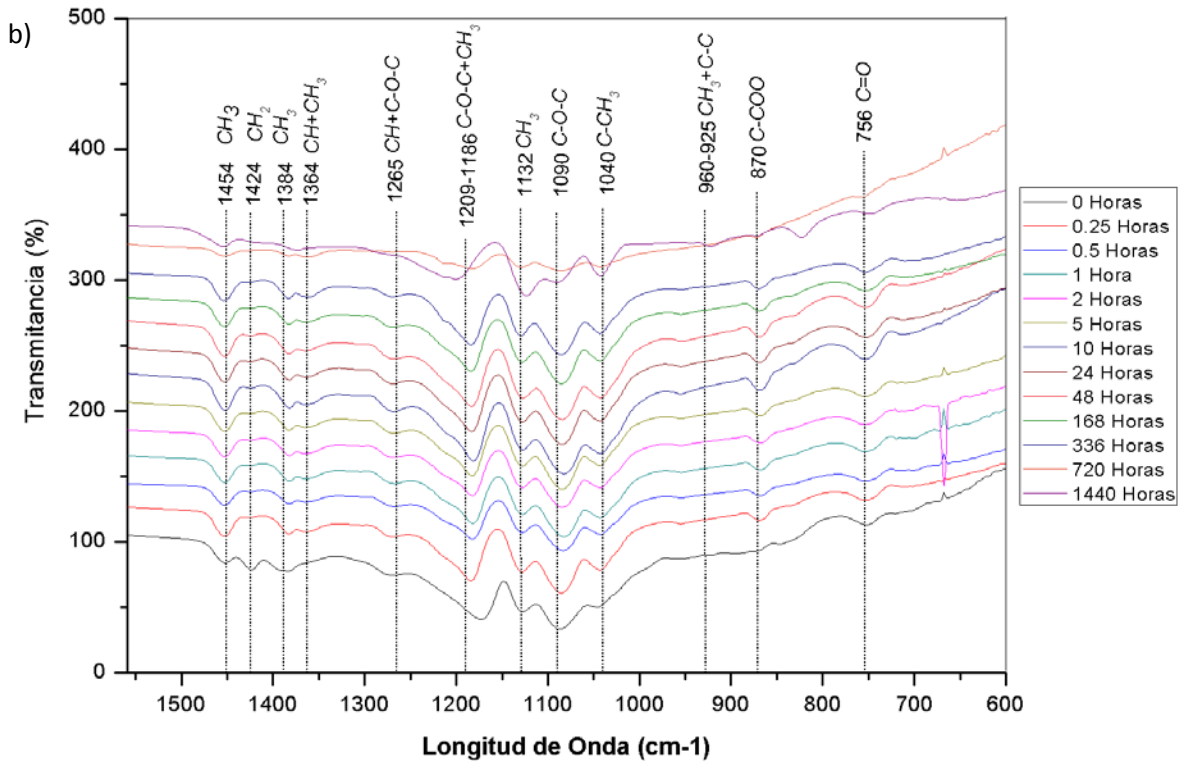
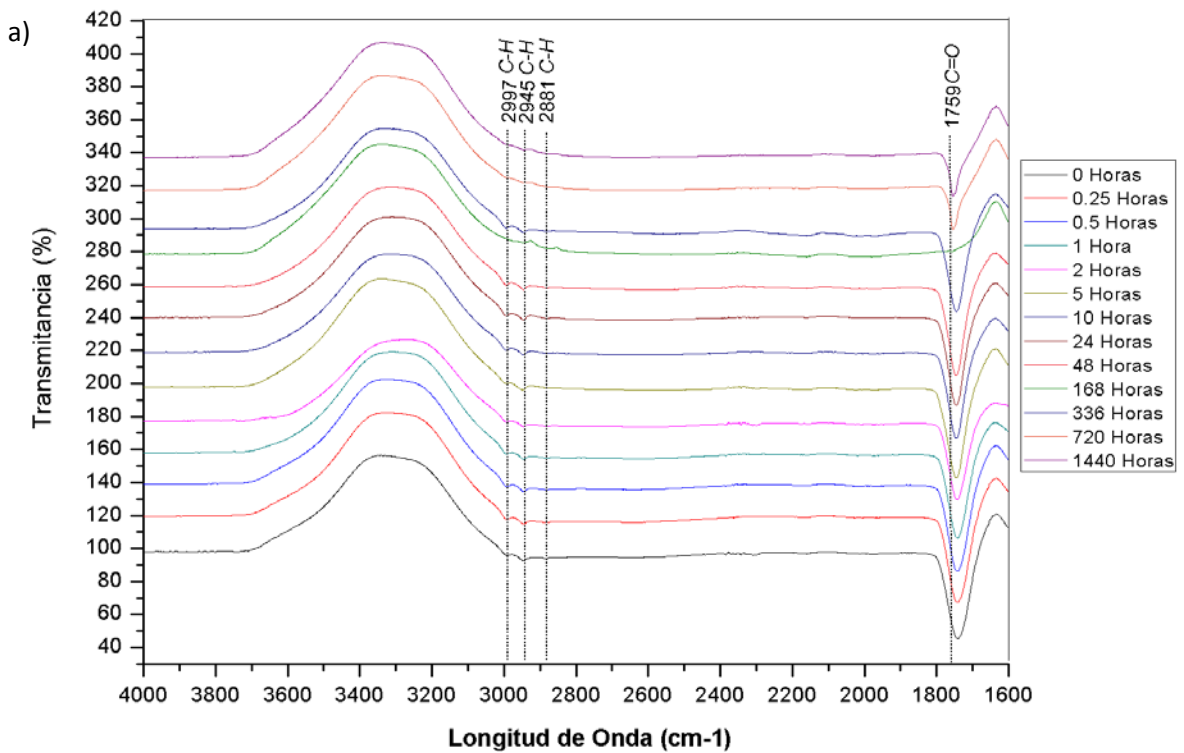


Figura 3.12 Espectros FT-IR a) 4000 a 1600 cm^{-1} y b) 1559 a 600 cm^{-1} del proceso de degradación estática del copolímero 90:10%p de PLGA.



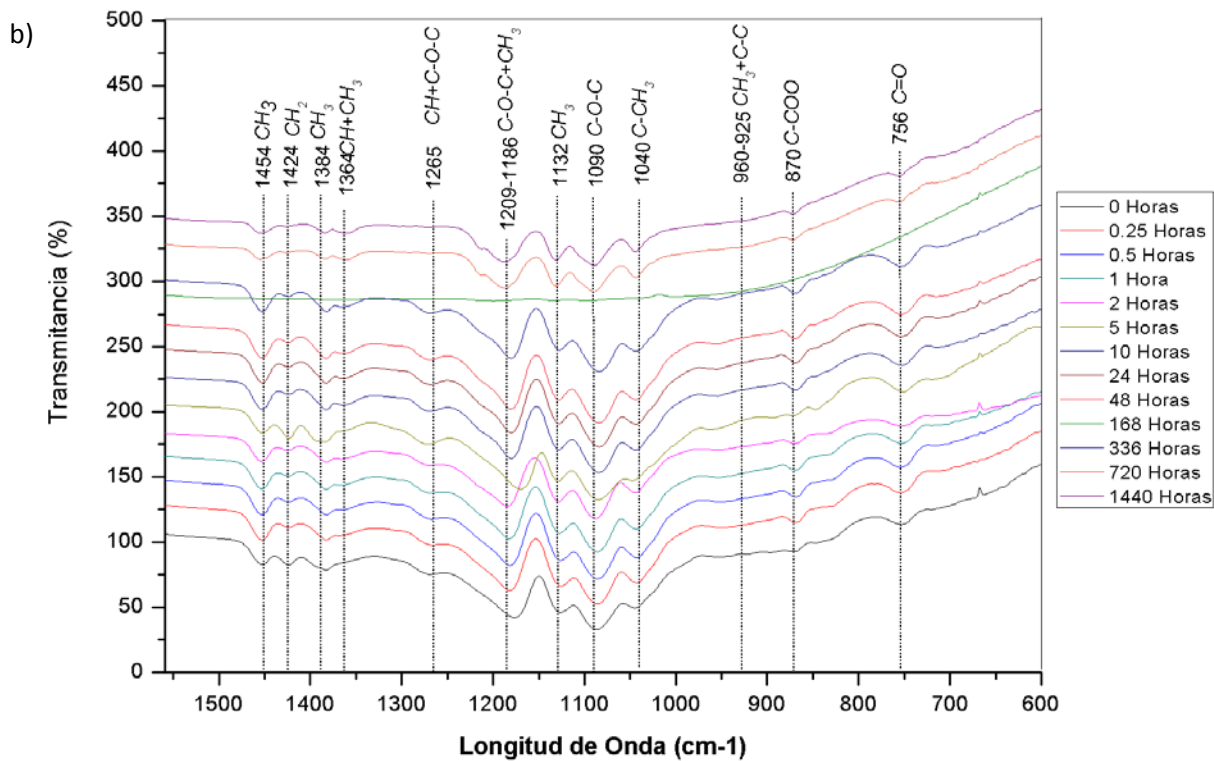
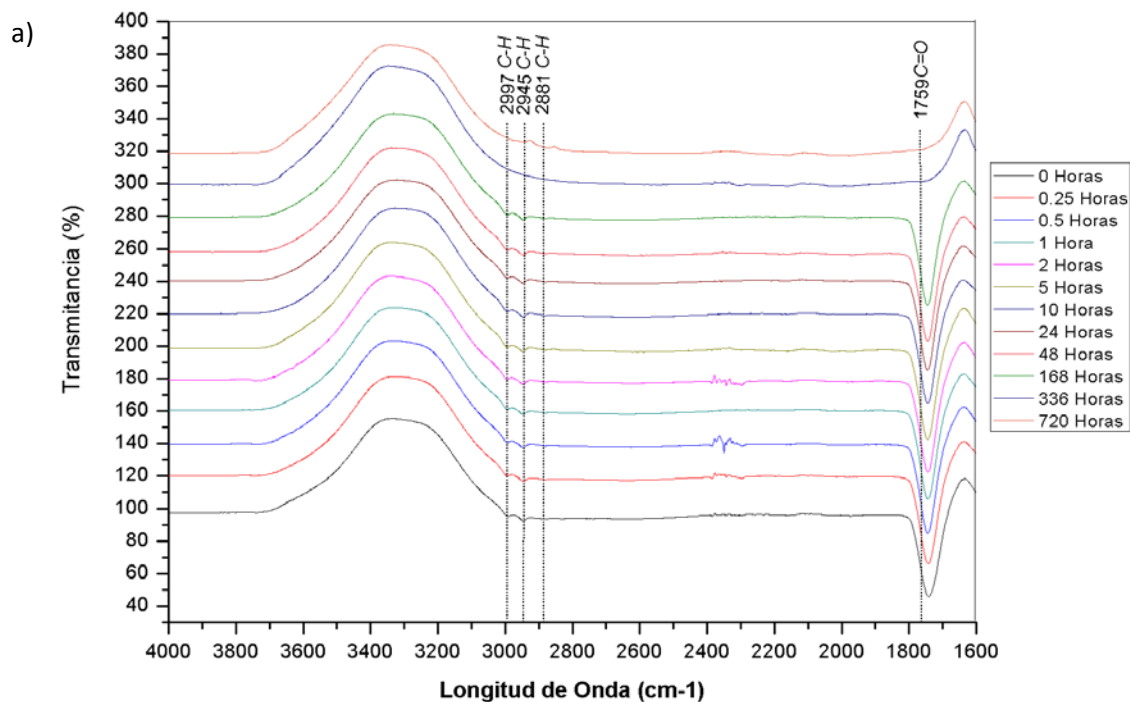


Figura 3.13 Espectros FT-IR a) 4000 a 1600 cm⁻¹ y b) 1559 a 600 cm⁻¹ del proceso de degradación estática del copolímero 80:20%p de PLGA.



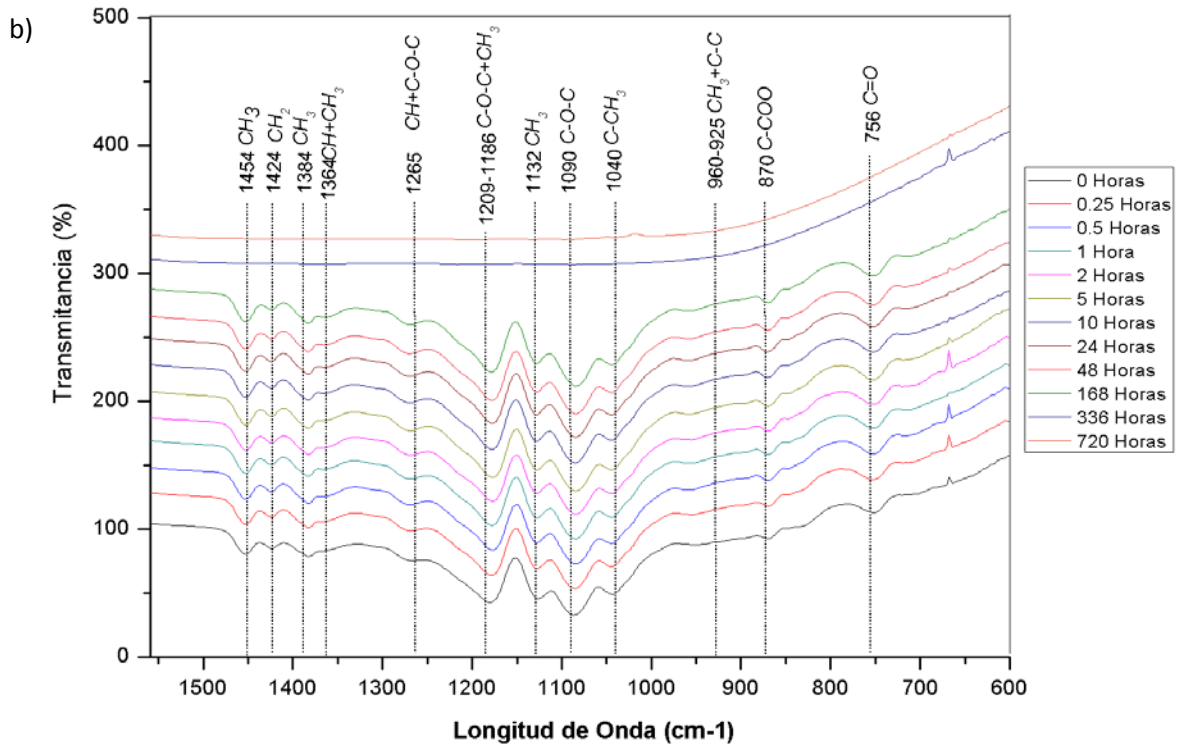
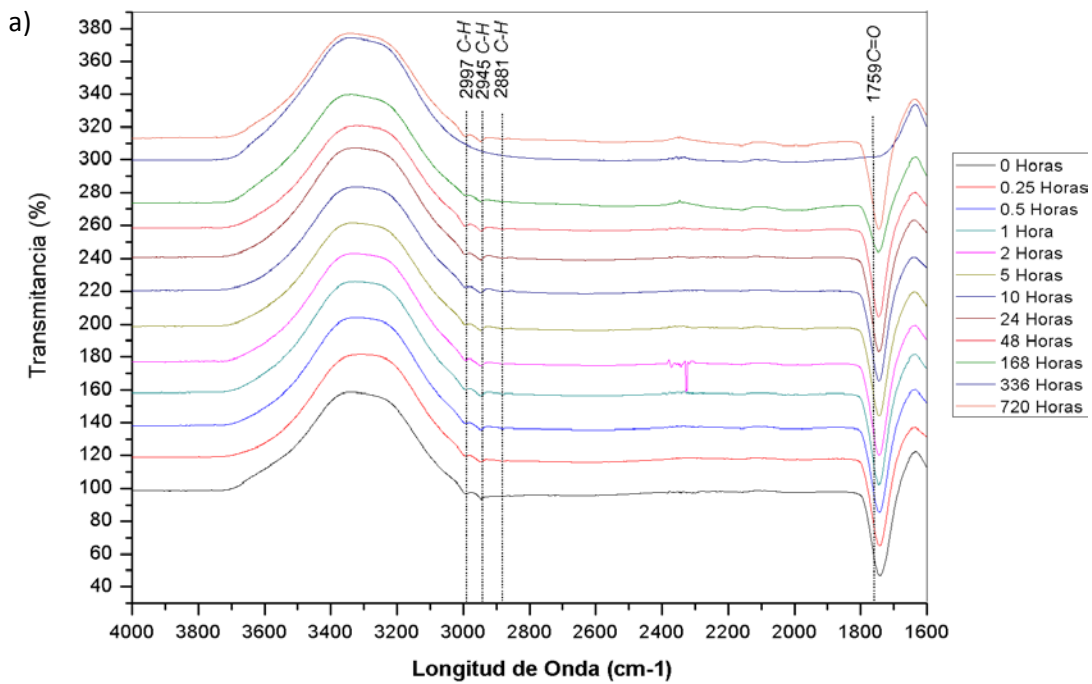


Figura 3.14 Espectros FT-IR a) 4000 a 1600 cm^{-1} y b) 1559 a 600 cm^{-1} del proceso de degradación estática del copolímero 70:30%p de PLGA.



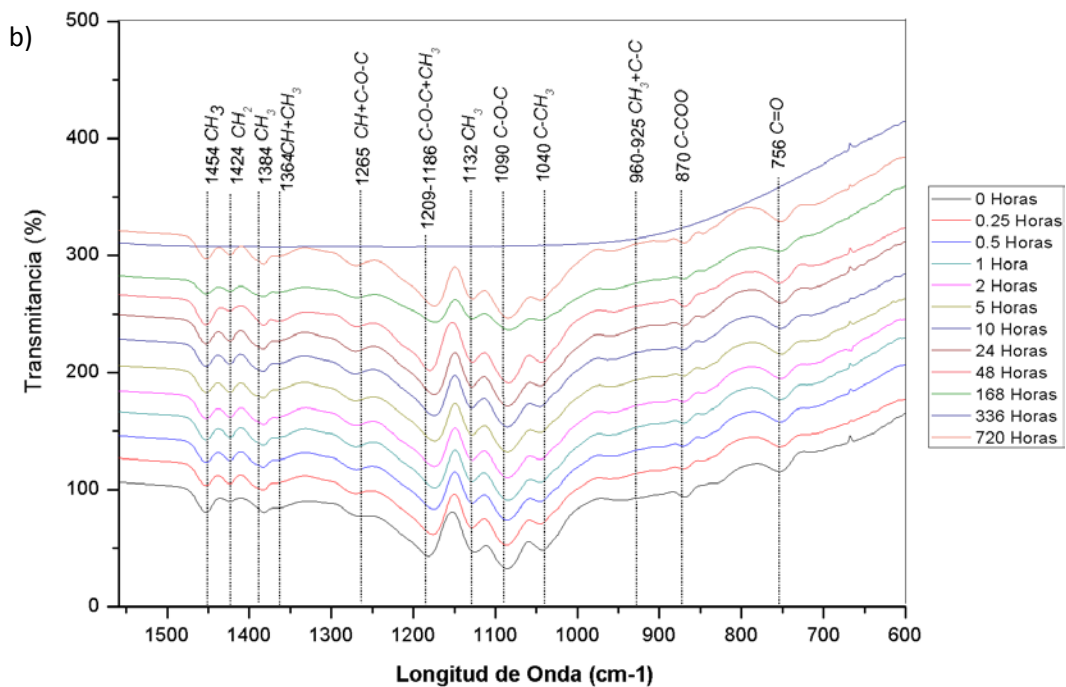
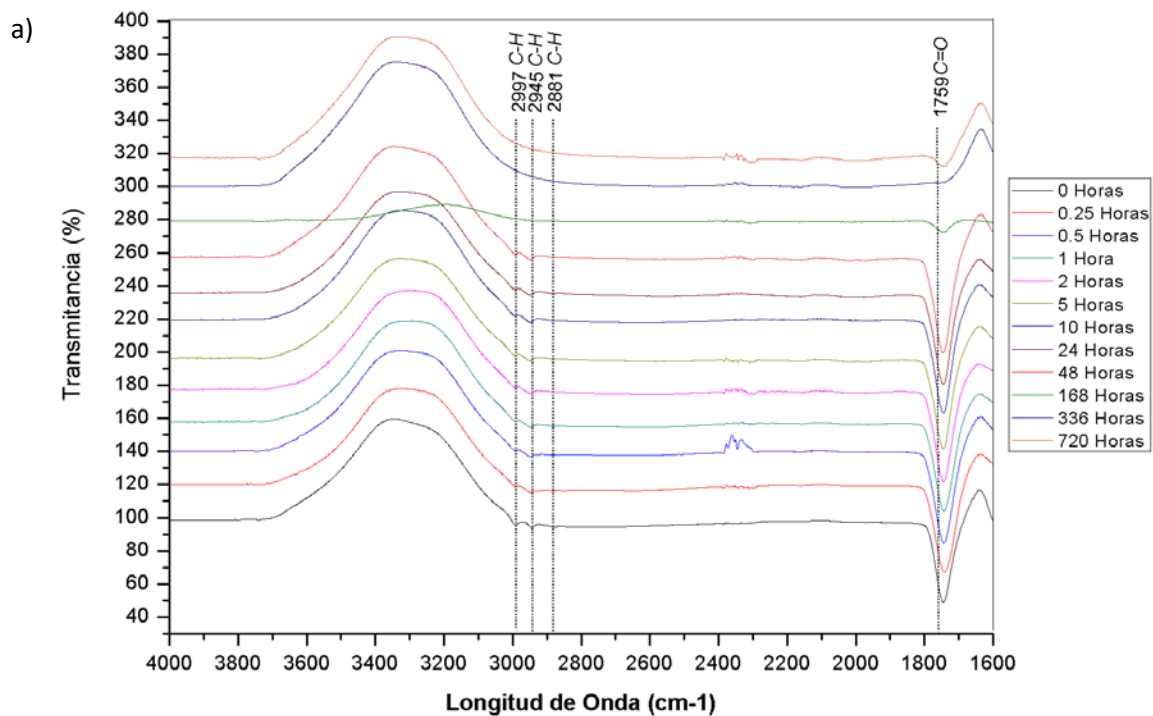


Figura 3.15 Espectros FT-IR a) 4000 a 1600 cm^{-1} y b) 1559 a 600 cm^{-1} del proceso de degradación estática del copolímero 60:40%p de PLGA.



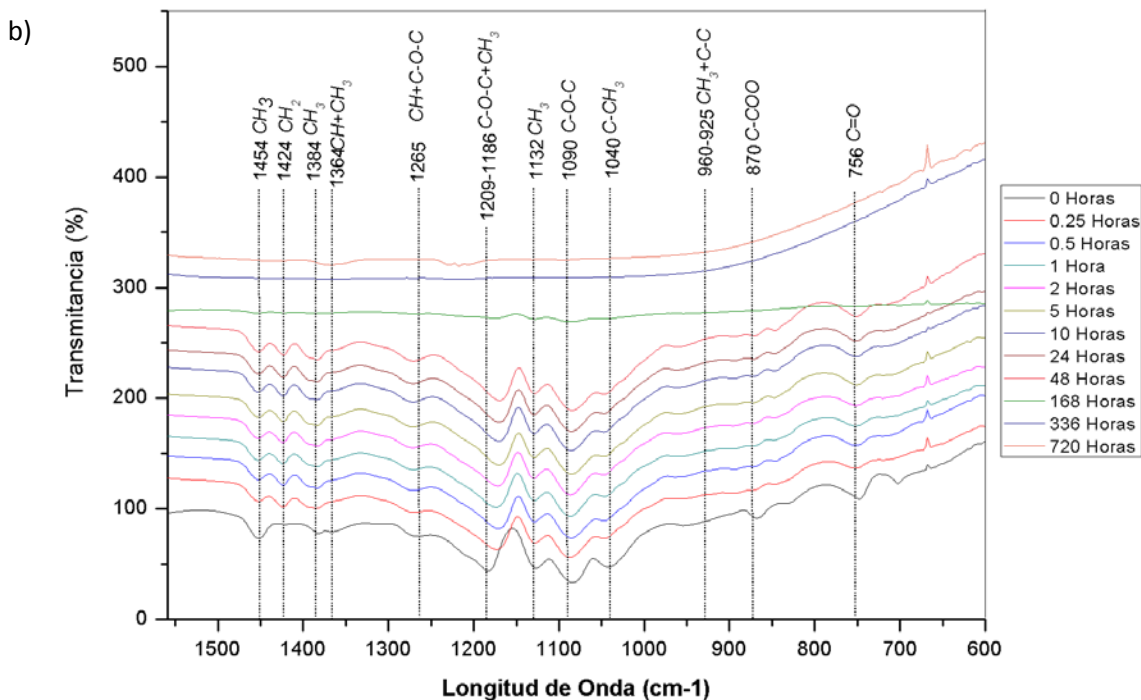


Figura 3.16 Espectros FT-IR a) 4000 a 1600 cm^{-1} y b) 1559 a 600 cm^{-1} del proceso de degradación estética del copolímero 50:50% p de PLGA.

3.3.3 Pérdida de masa y variación de pH durante el proceso de degradación estática del poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA.

Durante los primeros minutos de estudio del proceso de degradación de los copolímeros de PLGA, la variación del pH en el medio acuoso fue evidente. El pH inicial de las muestras estuvo entre 7.4 ± 0.1 y al cabo de 15 minutos de inmersión este descendió a 3 ± 0.5 , evidenciándose que existió la liberación de las cadenas poliméricas que podrían haber estado sujetas a la superficie (Figura 3.17).

A partir de este tiempo el pH siguió disminuyendo hasta estabilizarse al alcanzar las dos semanas del proceso (Figura 3.18). Después de los 14 días de estudio para los copolímeros 90:10%p, 80:20%p y 70:30%p se observó una ligera disminución del pH, por su parte los copolímeros 50:50%p y 60:40%p se degradaron al alcanzar este tiempo y alcanzaron el mayor valor de acidez, 1.85 y 1.86 respectivamente en comparación a las cinco

composiciones. Además, se pudo observar que los copolímeros 90:10%p, 80:20%p y 70:30%p tuvieron un descenso inicial de pH más rápido alcanzando valores entre 2.84, 2.92 y 2.84 respectivamente, mientras que los copolímeros 50:50%p y 60:40%p llegaron a valores entre 3.6 y 3.4. A pesar de este hecho la velocidad de disminución de pH durante el resto del proceso de degradación fue mayor para los copolímeros con un mayor porcentaje de ácido glicólico.

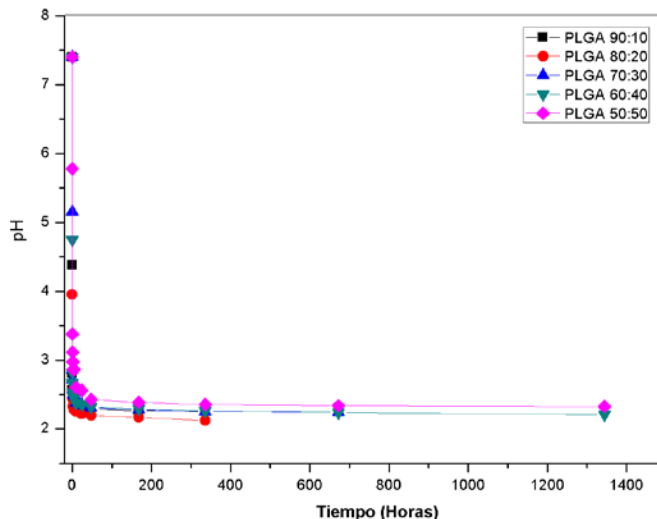


Figura 3.17 Variación del pH durante el proceso de degradación estática de los copolímeros 50:50%p, 60:40%p, 70:30%p, 80:20%p y 90:10%p PLGA, desde el tiempo t=0h hasta t=1440h.

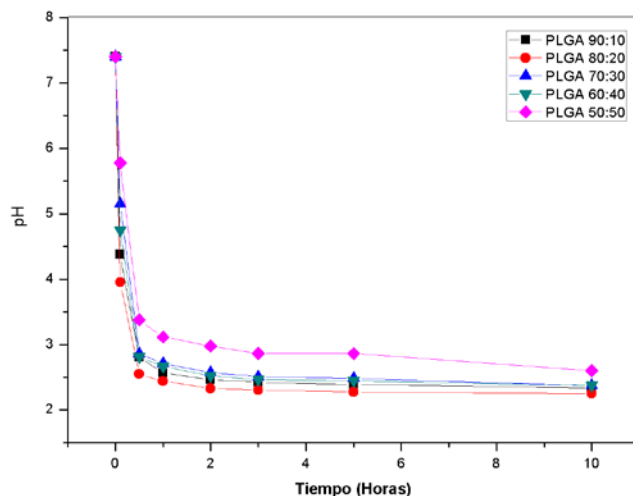


Figura 3.18 Variación del pH durante el proceso de degradación estática de los copolímeros 50:50%p, 60:40%p, 70:30%p, 80:20%p y 90:10%p PLGA, desde el tiempo t=0h hasta t=10h.

Esta brusca disminución del pH en el medio de degradación puede deberse a que una vez que el PLGA se encuentra en contacto con el agua, esta penetra en el dispositivo y empieza el rompimiento hidrolítico de los enlaces éster, por lo que las cadenas cortas producidas por la misma degradación del material disminuyen el pH del micro ambiente de degradación, lo que afecta subsecuentemente el proceso de rompimiento de las cadenas. Este hecho también fue estudiado por Bruner et al., 1999, Fu et al., 2000, Von Burkersoda et al., 2002, Schwendeman, 2005 y Siepmann et al., 2005.

El rompimiento de las cadenas que se genera cuando el PLGA entra en contacto con el agua, se debe al gradiente de concentración. Así, las cadenas ácidas cortas generadas se difunden en el medio acuoso de degradación en donde son neutralizadas. De igual manera las bases de la solución salina ingresan en la matriz polimérica y neutralizan las cadenas ácidas generadas que aún no se liberan en el medio; sin embargo la transferencia de masa es muy lenta y la velocidad en que las cadenas ácidas son generadas es mucho más rápida por lo que se traduce en una disminución significativa del pH y autocatálisis del material (Bruner et al., 1999 y Li y Schwendeman, 2005).

Otro dato importante que explica la disminución rápida de pH recae en la forma del dispositivo empleado ya que al ser una capa plana permite un mayor contacto de la superficie con el medio acuoso. Así, se permite que las cadenas ácidas salgan con mayor facilidad, más al estar soportadas sobre una superficie de vidrio donde solo tienen un lado de difusión hacia el medio acuoso. Por lo que, la entrada de las bases de la solución salina no es igual a la salida de los ácidos reflejándose en un efecto autocatalítico y disminución brusca del pH.

Por su parte, durante los análisis de pérdida de masa (Figura 3.19), se pudo observar que existió una disminución constante desde los primeros minutos de inmersión en todos los copolímeros de PLGA, a excepción del copolímero de 90:10%p que presentó una pérdida de masa más lenta hasta alcanzar las 48 horas de estudio. Se pudo observar, una disminución importante durante la primera semana.

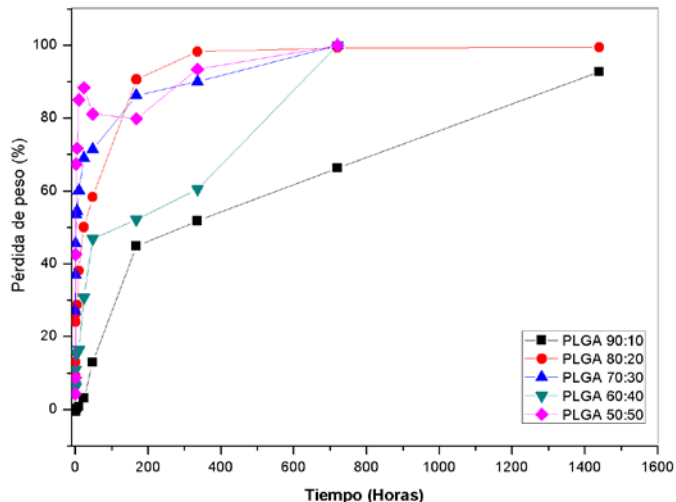


Figura 3.19 Porcentaje de pérdida de masa durante el proceso de degradación dinámica de los copolímeros 50:50%p, 60:40%p, 70:30%p, 80:20%p y 90:10%p PLGA, desde el tiempo $t=0.25h$ hasta $t=1440h$.

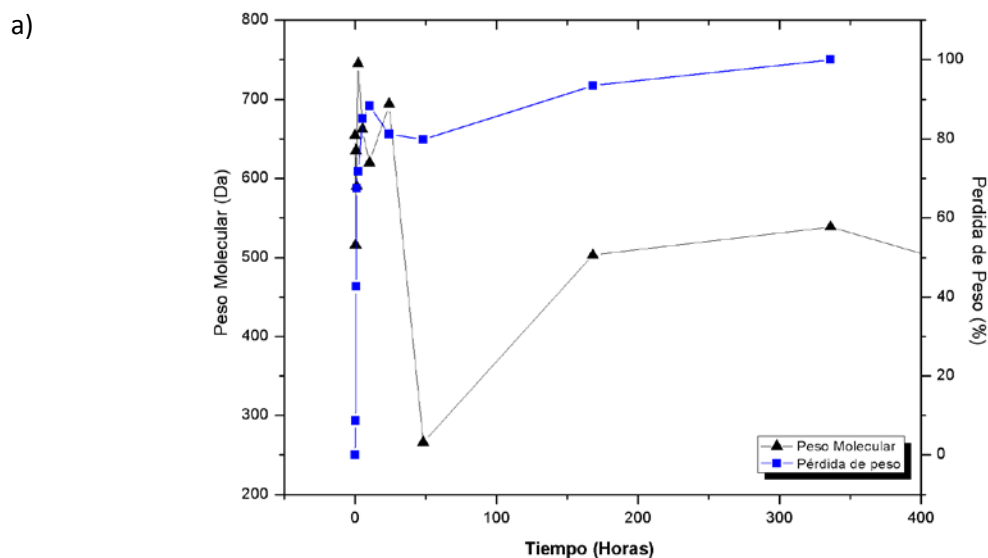
Los copolímeros 80:20 y 70:30%p PLGA, perdieron alrededor del 80% de su masa mientras que los copolímeros 60:40 y 50:50%p PLGA alrededor del 60% y el copolímero 90:10% alrededor del 40% de su masa. Durante la segunda semana de inmersión, la pérdida de peso fue más pronunciada; esto es, los copolímeros 90:10 y 80:20%p perdieron un 10% adicional mientras que el copolímero 70:30%p PLGA un 20% más. Los copolímeros 60:40 y 50:50%p PLGA por su parte, perdieron alrededor del 90% de su masa. Al llegar al primer mes de estudio, los copolímeros 50:50 y 60:40%p PLGA perdieron el 100% de su masa, mientras que el copolímero 70:30% PLGA todavía evidenciaba parte del material sobre la superficie de vidrio, como un 0.16% de su masa inicial. Los copolímeros 80:20 y 90:10%p PLGA aun presentaban alrededor del 0.7 y 30% de su masa inicial. Al finalizar el estudio al cabo de 1440 horas (2 meses), el copolímero 70:30%p PLGA perdió el 100% de su masa, el copolímero 80:20 %p el 99.48% de su masa y el copolímero 90:10%p, aún permanecía alrededor del 7% de su masa.

La disminución de 48 horas a 168 horas fue mucho más rápida que la disminución de masa inicial. La mayor pérdida de masa se observó durante este lapso; a partir de la primera semana a la segunda semana de inmersión, el cambio fue evidente pero no tan rápido comparado con el lapso anterior. Los polímeros que presentaron un porcentaje de ácido glicólico mayor

(50:50 y 60:40%p PLGA) (Figura 3.20 (a)) perdieron su masa en el lapso de un mes. El copolímero 70:30%p PLGA perdió el 100% de su masa durante un mes y nueve días, mientras que los copolímeros 80:20 y 90:10%p PLGA, perdieron su masa a los dos meses, más la composición 90:10%p (Figura 3.20 (b)) presentó un porcentaje mayor de masa sobre la superficie. El hecho de que los copolímeros de PLGA con un mayor porcentaje de ácido glicólico pierdan su masa más pronto recae en que este ácido, es más reactivo por lo que al momento de hidrolizarse los enlaces que primero se rompen son los de glicólico-glicólico.

Mediante los análisis de microscopía óptica, se pudo observar que la superficie del material se erosiona; esto es característico de una degradación heterogénea. También se observó que el porcentaje de pérdida de masa fue mayor en los copolímeros con un porcentaje mayor de ácido glicólico característico de una degradación homogénea.

La pérdida de peso conjunto a los cambios de pH, pueden verse afectados por la geometría plana del dispositivo, influyendo directamente en el tiempo en que los productos ácidos de la degradación se neutralizan, por ende en la autocatálisis del material [78]. Otras investigaciones recalcan que este hecho influye mayormente a medida que el tamaño del dispositivo aumenta ya que aumenta la longitud de las vías de difusión proceso [57, 78].



b)

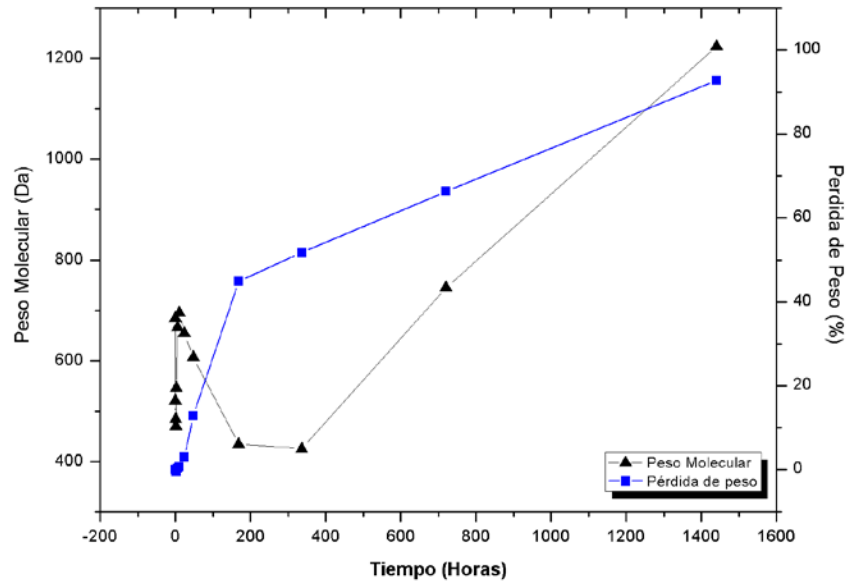


Figura 3.20 Tablas del peso molecular promedio vs. Porcentaje de pérdida de peso de los copolímeros de PLGA a) 90:10%p y b) 50:50%p

3.3.4 Cambios de superficie durante el proceso de degradación estática del poliácido (L-láctico-co-glicólico) PLGA.

Desde el inicio del proceso de degradación el copolímero 50:50%p PLGA mostró una superficie con grietas, más esta no se debió al proceso de degradación sino a la superficie porosa del material de vidrio y al espesor empleado. Al cabo de 15 min se presentó un ligero hinchamiento del material; observándose algunas ondas elevadas sobre la superficie. Este comportamiento se mantuvo durante las primeras 5 h de degradación. A partir de la décima hasta las 48 horas de estudio, se observó la formación de burbujas de diferente diámetro sobre la superficie y al llegar a la primera semana de inmersión, aparecieron pequeños agujeros circulares ocasionados por la erosión del material. Al llegar la segunda semana de estudio, se observa la presencia de cristales de ácido láctico (color blanco) y en una mayor proporción residuos de las cadenas de ácido glicólico (color marrón). A las tres semanas de estudio, el material presenta en su superficie cristales de ácido láctico en una mayor proporción, casi cubre todo el poco material que queda y pequeñas cantidades de ácido glicólico. El copolímero se degrada por completo al cabo de un mes de inmersión. La Figura 3.21 muestra micrografías del proceso de degradación estática del copolímero 50:50%p PLGA.

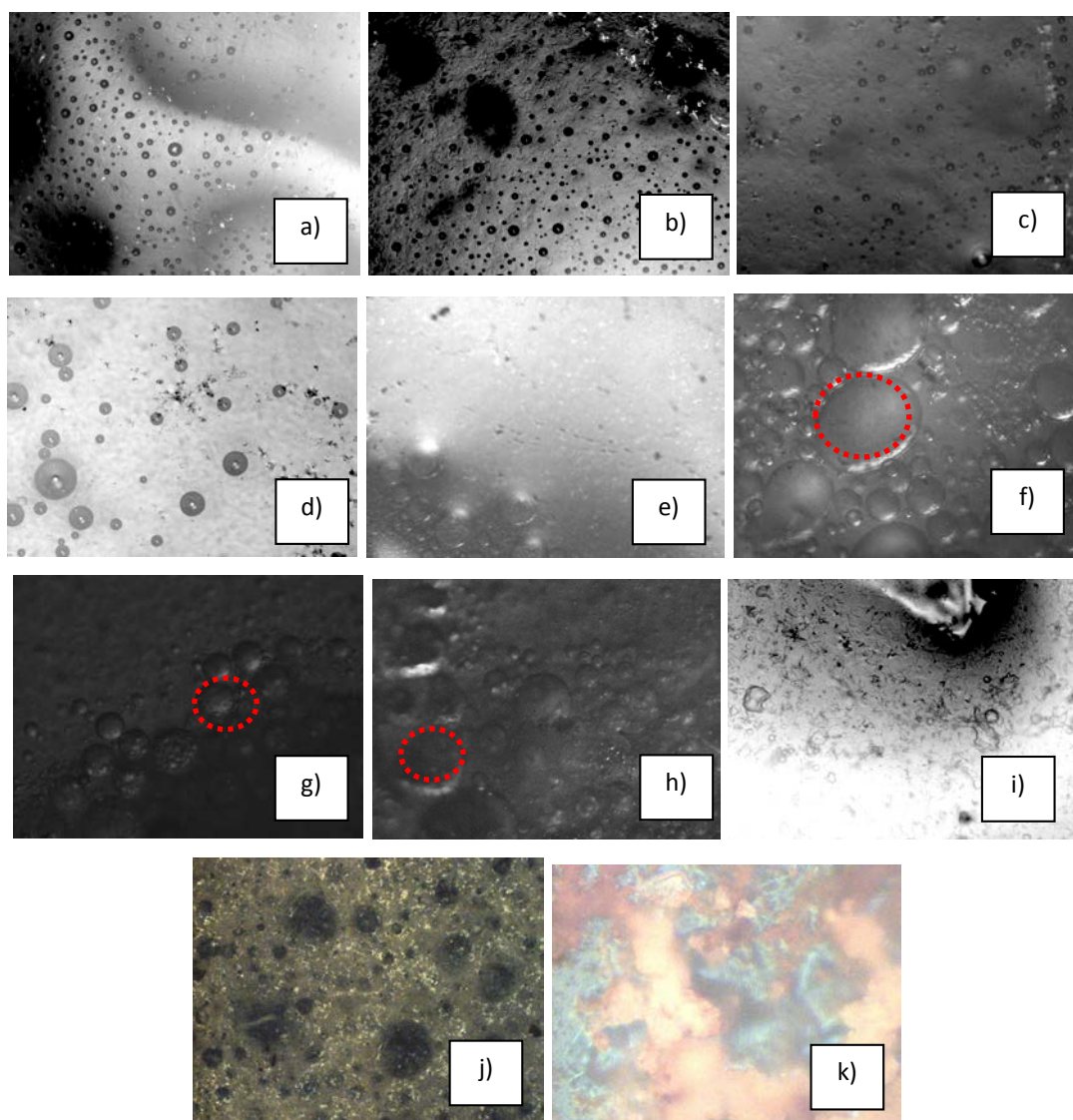


Figura 3.21 Micrografías del copolímero (20x) 50:50%p PLGA luego de a) 0.25 h, b) 0.5 h, c) 1h, d) 2h, e) 5h, f) 10h, g) 24h, h) 48h, i) 168h, j) 336h y k) 720h de degradación estática.

El copolímero 60:40%p PLGA presentó un cambio en su superficie similar a la que mostró durante su proceso de degradación el copolímero 50:50%p. Al igual que en el caso anterior, su superficie inicial presentó pequeñas grietas debido a la porosidad del soporte de vidrio y espesor del recubrimiento. El hinchamiento del material se observó desde la primera hora de inmersión así como, la generación de grietas, debido a la erosión. Luego de la décima hora de inmersión, el proceso continuo durante las 38 horas siguientes y al llegar a la primera

semana, la superficie ya se encontraba erosionada. Durante la segunda semana se pudo observar al igual que el copolímero 50:50%p PLGA, la presencia de ácido glicólico en un mayor porcentaje que los cristales de ácido láctico; y al cabo de tres semanas de inmersión, la cantidad de ácido láctico que se observó fue mayor. El copolímero se degradada por completo al alcanzar las cuatro semanas de inmersión. La Figura 3.22 muestra las micrografías de la superficie del copolímero 60:40%p PLGA durante su proceso de degradación estática.

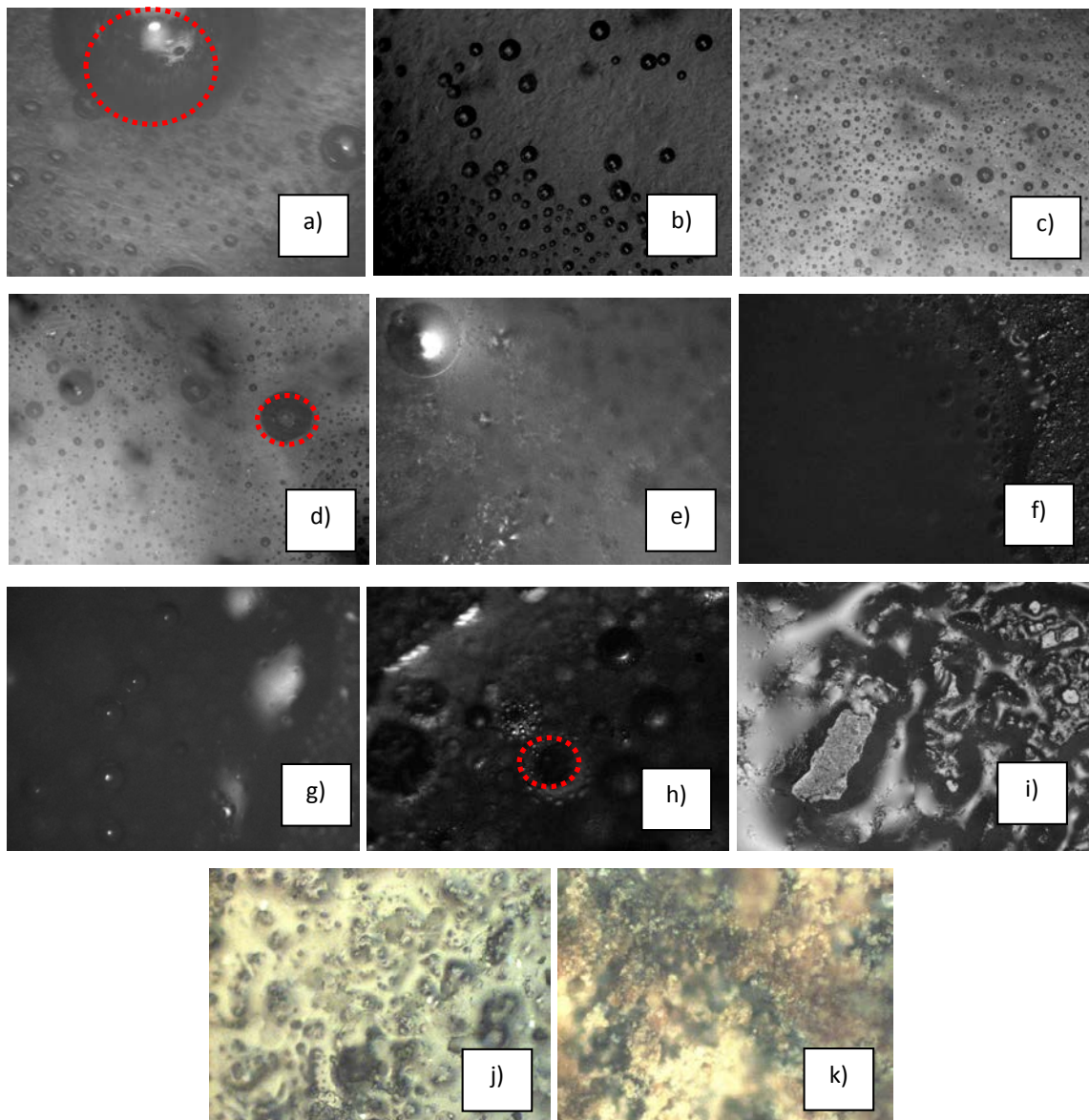
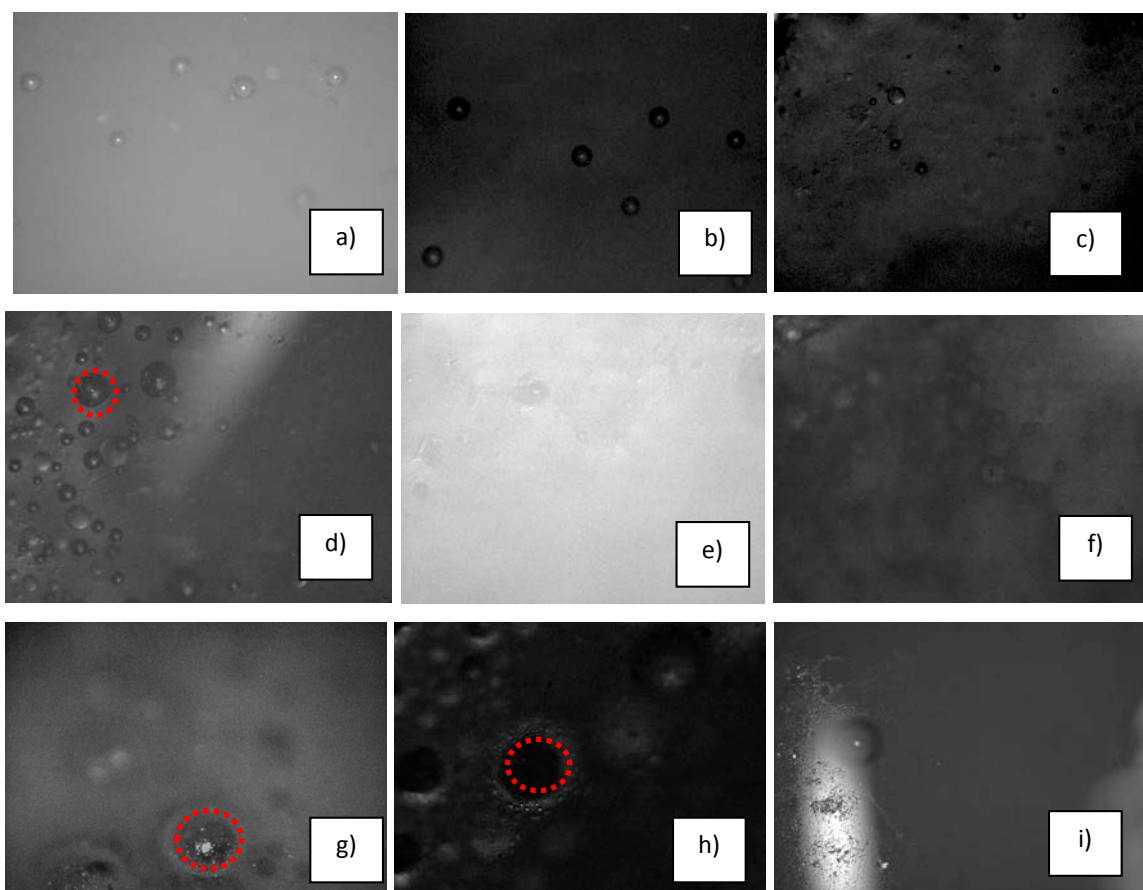


Figura 3.22 Micrografías del copolímero (20x) 60:40%p PLGA luego de a) 0.25 h, b) 0.5 h, c) 1h, d) h, e) 5h, f) 10h, g) 24h, h) 48h, i) 168h, j) 336h y k) 720h de degradación estática.

Durante el proceso de degradación estática del copolímero 70:30%p PLGA (Figura 3.23) su superficie no mostró cambio durante los primeros 30 minutos de inmersión. El hinchamiento del material se pudo observar levemente a partir de la primera hora de inmersión y fue más evidente a partir de la segunda hora. Desde la quinta hora hasta las 48 horas, el material formó burbujas; que al cabo de la primera semana, derivaron en la erosión de la superficie del material. Al llegar la segunda semana, únicamente quedó sobre la superficie pequeños círculos del material de color miel que presentaron algunos orificios debido a la erosión. Durante el primer mes la superficie presentó pequeños cristales blancos correspondientes al ácido L-láctico, sin observarse ningún residuo de ácido glicólico. A las seis semanas, únicamente quedaron pequeños cristales sobre la superficie que no se percibieron fácilmente al ojo humano. El material se degradó a las siete semanas de estudio.



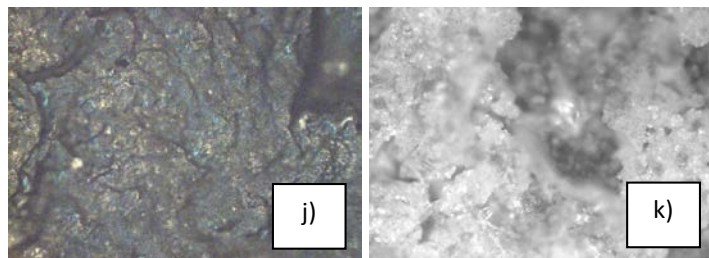
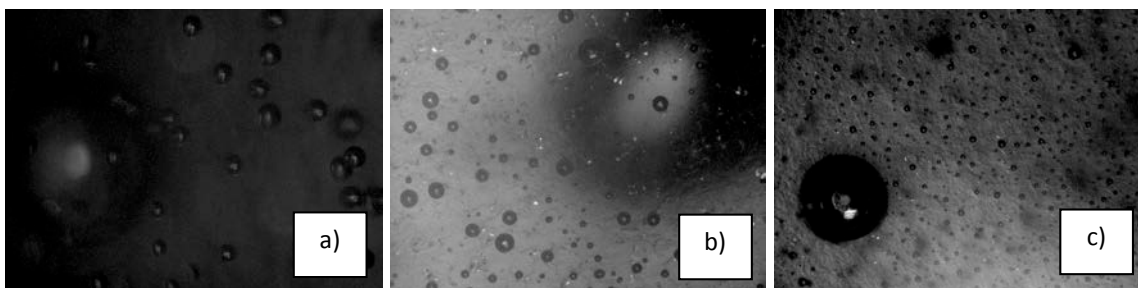


Figura 3.23 Micrografías del copolímero (20x) 70:30%p PLLGA luego de a) 0.25 h, b) 0.5 h, c) 1h, d) 2h, e) 5h, f) 10h, g) 24h, h) 48h, i) 168h, j) 336h, k) y 720h de degradación estática.

La degradación del copolímero de PLGA 80:20%p mostró un inicio del proceso de degradación más rápido que en los casos anteriores. La formación de una película alrededor del material se evidenció durante los primeros quince minutos y a la primera hora de inmersión, el material ya presenta burbujas de diferente diámetro. Sin embargo, después de la quinta hora de inmersión hasta las 24 horas, el proceso de degradación se vuelve más lento por lo que la superficie no muestra cambios. A partir de la hora 48, la superficie continúa su proceso de degradación, y se observan más burbujas sobre la superficie. Al cabo de una semana, el material se encuentra erosionado y al llegar la segunda semana de inmersión todo el material es cristalino. Durante el primer mes se nota como disminuye la cantidad de material sobre la superficie de vidrio y al cabo de siete semanas solo quedan sobre la superficie muy pocos cristales. Este hecho se equipara con la pérdida de masa del material descrito en el apartado anterior. Las imágenes del proceso de degradación se muestran en la Figura 3.24.



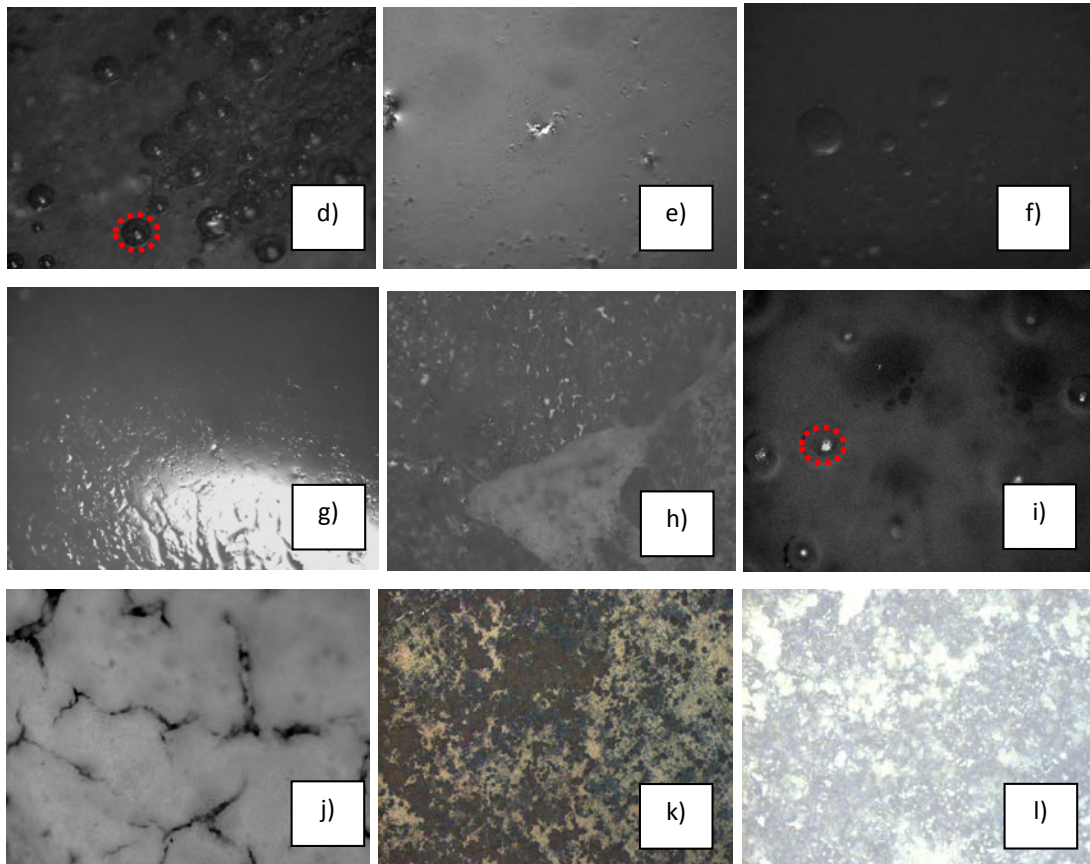


Figura 3.24 Micrografías del copolímero (20x) 80:20%p PLGA luego de a) 0.25 h, b) 0.5 h, c) 1h, d) 2h, e) 5h, f) 10h, g) 24h, h) 48h, i) 168h, j) 336h, k) 720h y l) 1440 de degradación estática

Al igual que el copolímero de PLGA 80:20%p, el copolímero 90:10%p evidenció un proceso de hidratación más rápido notándose una pequeña capa sobrenadante alrededor del material. El hinchamiento de la superficie se evidenció al cabo de una hora de inmersión, observándose burbujas; sin embargo, su superficie no evidenció muchos cambios durante las primeras 24 horas y solo a partir de las 48 horas se notó la formación de más burbujas debido a la erosión del material. Al llegar la primera semana la superficie del material empezó a presentar fracturas, y al cabo de dos semanas ya se encontraba erosionado y tendiendo a un aspecto cristalino. Al cabo de un mes, el material ya era completamente cristalino, presentando fracturas notables, que separaban el material en pequeñas áreas. Al llegar las ocho semanas, solo quedaban pequeños cristales aglomerados. La Figura 3.25 muestra los cambios en la superficie del copolímero 90:10%p durante el proceso de degradación.

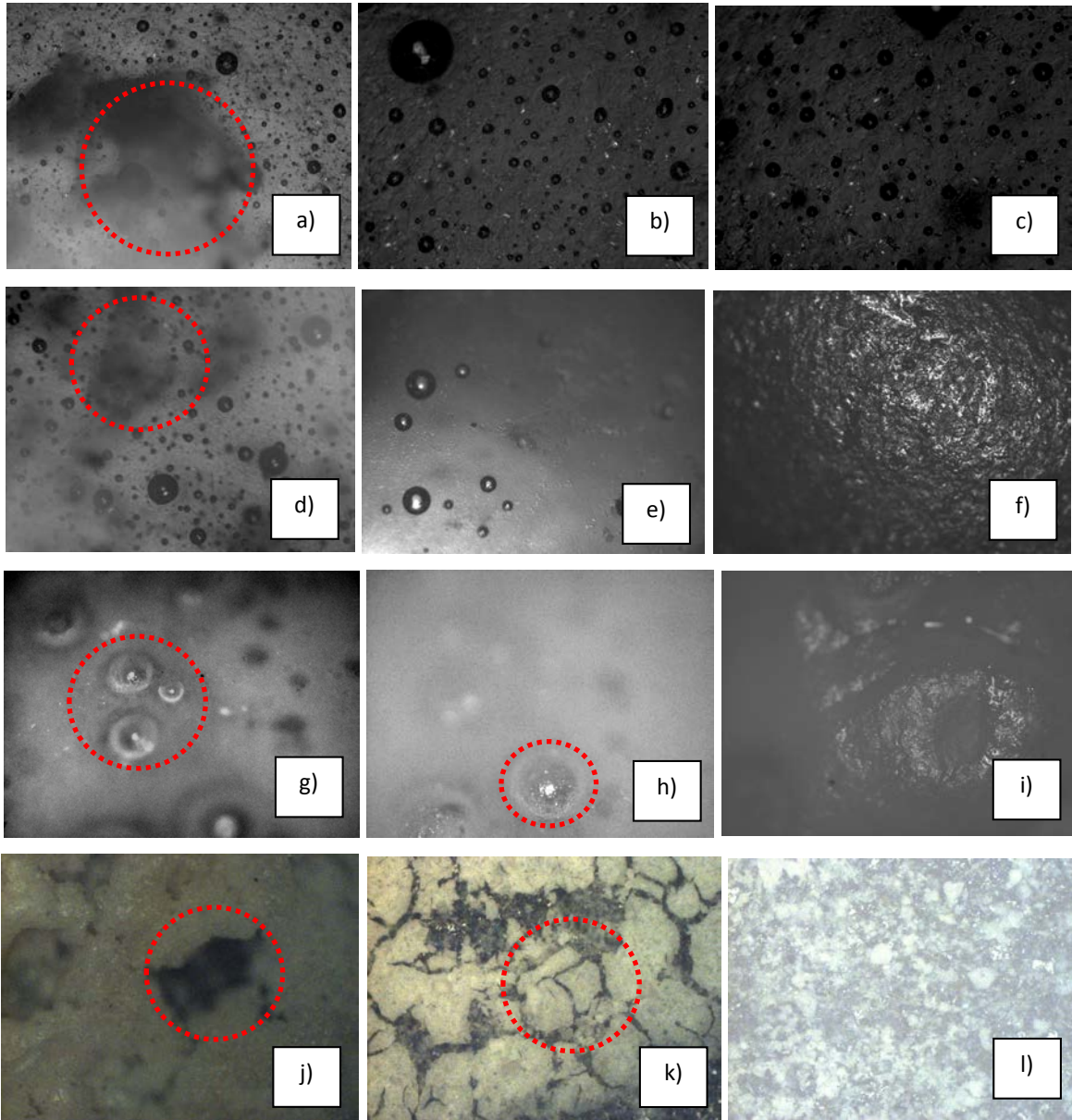


Figura 3.25 Micrografías del copolímero (20x) 90:10%p PLGA luego de a) 0.25 h, b) 0.5 h, c) 1h, d) 2h, e) 5h, f) 10h, g) 24h, h) 48h, i) 168h, j) 336h, k) 720h y l) 1440 de degradación estática.

El copolímero 50:50%p presentó un proceso de hidratación más rápido que los copolímeros 60:40%p, 70:30%p, 80:20%p y 90:10% en los cuales se observó a partir de la primera hora de inmersión. Sin embargo, todos los copolímeros coincidieron que hasta las 48 horas de inmersión sufren de una hidrólisis rápida del material traducida en la formación de burbujas sobre la superficie, el proceso de erosión inicia durante la primera y segunda semana de

inmersión. Mediante las micrografías se pudo observar que para los copolímeros 50:50%p y 60:40%p durante la tercera y cuarta semana la cantidad de ácido glicólico iba disminuyendo, y apareciendo cristales de ácido L-láctico, los cuales permanecieron hasta el final de sus procesos de degradación (Figura 3.26).

El copolímero de PLGA 70:30%p por su parte, presentó un comportamiento diferente; pues al cabo de 5 horas, éste se encogió y redujo su área a pequeñas gotas, las cuales continuaron con el proceso de erosión y al cabo de dos semanas éstas presentaron una superficie rígida como goma seca.

Los copolímeros 80:20%p y 90:10%p de PLGA por su parte, presentaron una capa transparente sobrenadante a la superficie del material durante las primeras horas de inmersión, que pueden deberse a la liberación rápida de las cadenas en especial de ácido glicólico. Este hecho se evidencia al final de su proceso de degradación, en el que únicamente quedan cristales de ácido L-láctico sobre su superficie.

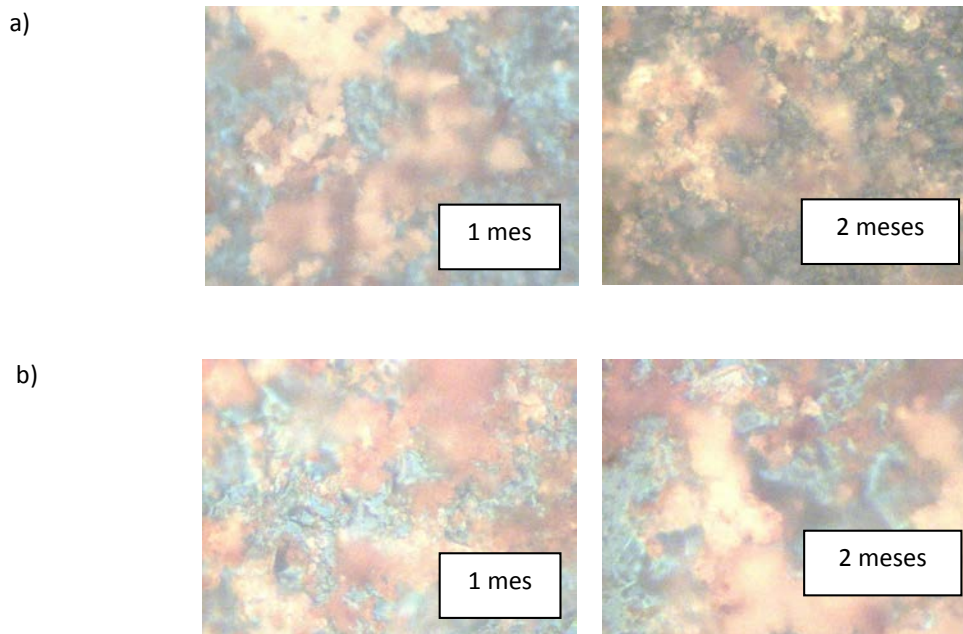


Figura 3.26 Micrografías (20x) del copolímeros de PLGA a) 50:50%p y b) 60:40%p luego de 336h y 720h de degradación estática.

3.4 Degradación dinámica del poliácido (L-láctico-co-glicólico) PLGA.

A partir de los resultados obtenidos del estudio del proceso de degradación estática de los copolímeros de PLLGA entre los porcentajes de 50%p de ácido L-láctico hasta 90%p, se seleccionó el copolímero 90:10%p al presentar un proceso de degradación más estable y controlable que las composiciones 80:20%p y 70:30%, además su periodo de degradación es muy prolongado, adecuado para el tipo de fármaco que se incorporó.

3.4.1 Variación del peso molecular del proceso de degradación dinámico del poliácido (L-láctico-co-glicólico) PLGA.

Durante los primeros 15 min del proceso de inmersión, el peso molecular promedio disminuyó (Tabla 3.6) y aumentó durante la primera hora. A partir de este punto, hasta la segunda hora disminuyó nuevamente y aumentó cuando alcanzó la quinta hora. Al cabo de dos semanas el peso molecular disminuye con un promedio de 396.7078 Da. Comparándolo con el copolímero degradado estáticamente, presentaron un perfil similar al inicio del proceso. Al cabo de una hora de inmersión, el copolímero degradado dinámicamente presentó un promedio de peso molecular mayor. A partir de este punto, hasta las dos semanas, el copolímero no presentó un perfil fijo en su variación del promedio de peso molecular, aumentando y disminuyendo tras el paso del periodo de estudio, mientras que el copolímero degradado estáticamente aumentó su peso molecular hasta la 48^{va} hora de inmersión y luego disminuyó durante las dos semanas siguientes. El índice de polidispersidad a diferencia del copolímero degradado estáticamente, presenta un perfil descendente hasta la décima hora de inmersión, desde este punto hasta la hora número 24 aumenta y posteriormente disminuye hasta el final de las dos semanas de inmersión. Al llegar al primer mes de inmersión (720 horas) no se observaron cadenas de PLGA en el material.

El copolímero 90:10%p degradado dinámicamente presentó promedios de peso molecular más bajos que el copolímero degradado estáticamente. Al parecer, el flujo generó un mayor desgaste, que no solo se manifestó en la disminución del peso molecular sino también en la

pérdida de masa del mismo, observándose un desgaste desde los fillos del material hacia adentro, pasando de un tipo de degradación heterogénea a homogénea (Figura 3.27).

Tabla 3.6 Variación del promedio de peso molecular (Mn) e índice de polidispersidad de las cadenas del copolímero de PLGA 90:10%p degradado dinámicamente.

Tiempo (Horas)	Degradación Estática		Degradación Dinámica	
	Peso Molecular (Da)	Índice de Polidispersidad	Peso Molecular (Da)	Índice de Polidispersidad
0	684.3312	1.05	684.3312	1.05
0.25	520.1243	1.08	435.3157	1.15
0.5	483.9257	1.08	813.7067	1.11
1	469.4350	1.00	443.5990	1.12
2	545.8421	1.27	436.0682	1.08
5	665.8304	1.05	844.9211	1.07
10	694.9410	1.04	384.2940	1.04
24	654.3481	1.04	421.4373	1.18
48	606.5464	1.04	353.8576	1.03
168	433.9425	1.09	410.0616	1.10
336	424.9342	1.10	396.7078	1.13
720	744.7117	1.06		
1440	1223.7119	1.17		

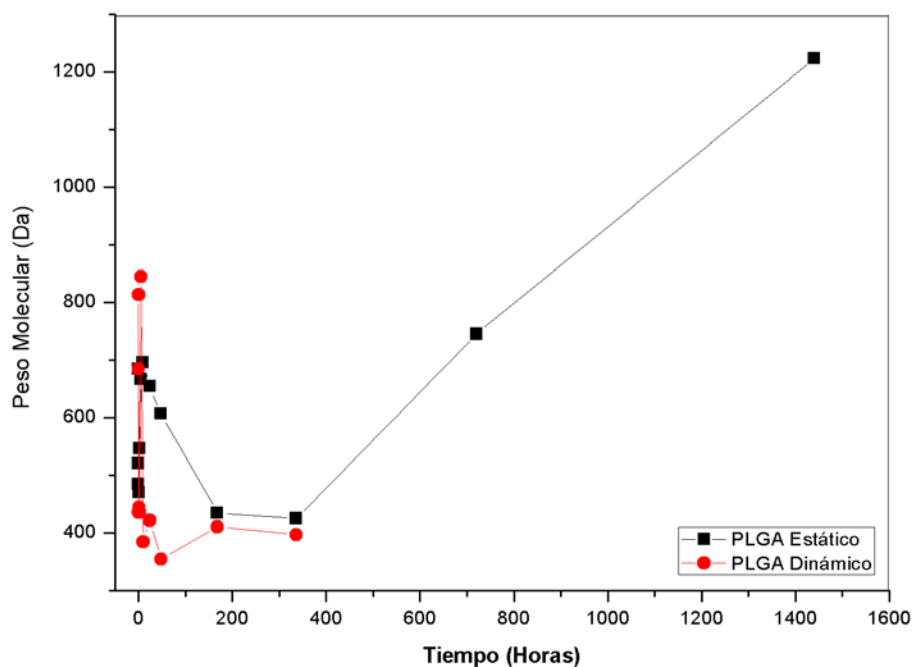


Figura 3.27 Variación del peso molecular promedio de las cadenas del copolímero de PLGA 90:10%p degradado estática y dinámicamente.

En cuanto a las cadenas de PLLA el promedio de peso molecular aumentó durante los primeros 15 minutos de inmersión y luego disminuyó al llegar a los treinta. A partir de este punto, aumentó durante las 5 horas de inmersión siguientes y luego disminuyó hasta finalizar la segunda semana (Tabla 3.7). En comparación al copolímero degradado estáticamente, presentaron un perfil similar con la diferencia que al cabo de dos semanas el peso molecular promedio del degradado estáticamente aumentó; también se observó que los pesos moleculares promedio fueron menores que los obtenidos en el copolímero degradado estáticamente.

En cuanto al índice de polidispersidad, éste aumentó durante los primeros 30 minutos de inmersión a diferencia del copolímero degradado estáticamente que disminuyó. Al llegar a la primera hora de inmersión, el peso molecular disminuyó y luego aumentó durante el primer día. A partir de este punto, el peso promedio disminuyó durante las dos semanas siguientes. Por su parte, el copolímero degradado estáticamente disminuyó su índice de polidispersidad hasta la hora 48 y aumentó durante las dos semanas de estudio (Figura 3.28).

Tabla 3.7 Variación del promedio de peso molecular (Mn) e índice de polidispersidad de las cadenas de PLLA del copolímero 90:10%p degradado dinámicamente.

Tiempo (Horas)	Degradación Estática		Degradación Dinámica	
	Peso Molecular (Mw)	Índice de Polidispersidad	Peso Molecular (Mw)	Índice de Polidispersidad
0	761.6277	1.08	761.6277	1.08
0.25	565.7098	1.07	723.3562	1.15
0.5	464.3443	1.09	684.0530	1.21
1	671.3084	1.00	787.1898	1.09
2	735.7903	1.09	783.0054	1.17
5	776.3413	1.04	746.4428	1.12
10	732.8952	1.04	521.9307	1.16
24	761.3079	1.03	473.6705	1.19
48	726.7807	1.03	442.7650	1.13
168	514.1566	1.18	518.5790	1.14
336	453.4955	1.15	449.0401	1.20
720	559.9268	1.06	289,6052	1.02
1440	1309.9217	1.18		

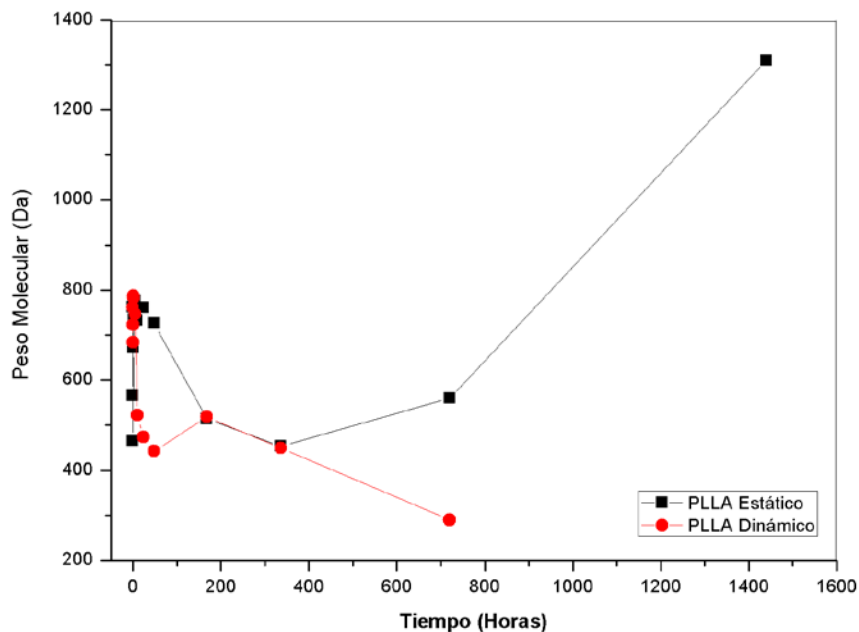


Figura 3.28 Variación del peso molecular promedio de las cadenas del copolímero de PLLA 90:10%p degradado estática y dinámicamente.

El promedio de peso molecular de las cadenas de PGA (Figura 3.29) disminuyó durante los primeros 30 minutos de inmersión, posteriormente presentó un perfil irregular hasta la quinta hora que empezó a descender hasta el final de la segunda semana. Comparando su perfil con el copolímero degradado estáticamente, éste aumentó durante la hora diez y veinte y cuatro de inmersión, y disminuyó durante la primera y segunda semana.

En cuanto a su índice de polidispersidad fue muy diferente en comparación al copolímero degradado estáticamente, pues éste aumentó durante todo el proceso, hasta alcanzar un máximo de 1.26 al final de las dos semanas. El flujo que presentó el sistema dinámico aceleró el proceso de degradación existiendo un rompimiento de cadenas mayor en los enlaces glicólico-glicólico generando un mayor índice de polidispersidad que el copolímero degradado estáticamente.

Tabla 3.8 Variación del promedio de peso molecular (Mn) e índice de polidispersidad de las cadenas de PGA del copolímero 90:10%p degradado dinámicamente.

Tiempo (Horas)	Degradación Estática		Degradación Dinámica	
	Peso Molecular (Mw)	Índice de Polidispersidad	Peso Molecular (Mw)	Índice de Polidispersidad
0	823.6549	1.03	823.6549	1.03
0.25	521.1798	1.07	585.8790	1.15
0.5	490.9647	1.08	596.5777	1.16
1	340.8770	1.00	672.6834	1.12
2	518.6170	1.10	427.8180	1.22
5	779.7529	1.06	878.3622	1.06
10	810.3817	1.06	517.1552	1.14
24	800.5544	1.05	493.1997	1.19
48	735.5186	1.06	463.4618	1.12
168	495.9218	1.17	546.7154	1.17
336	502.0107	1.16	443.4016	1.26
720	804.3829	1.20	330,9239	1.08
1440	1059.2119	1.21		

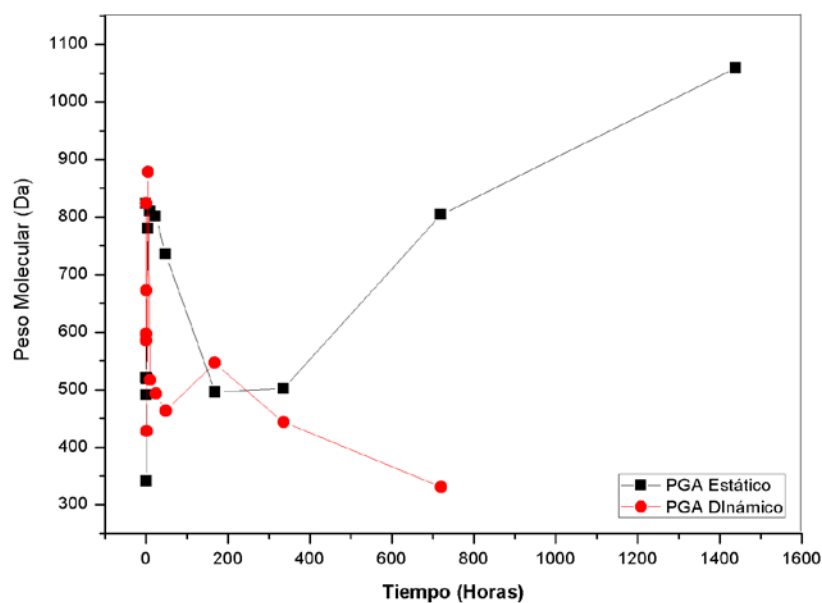
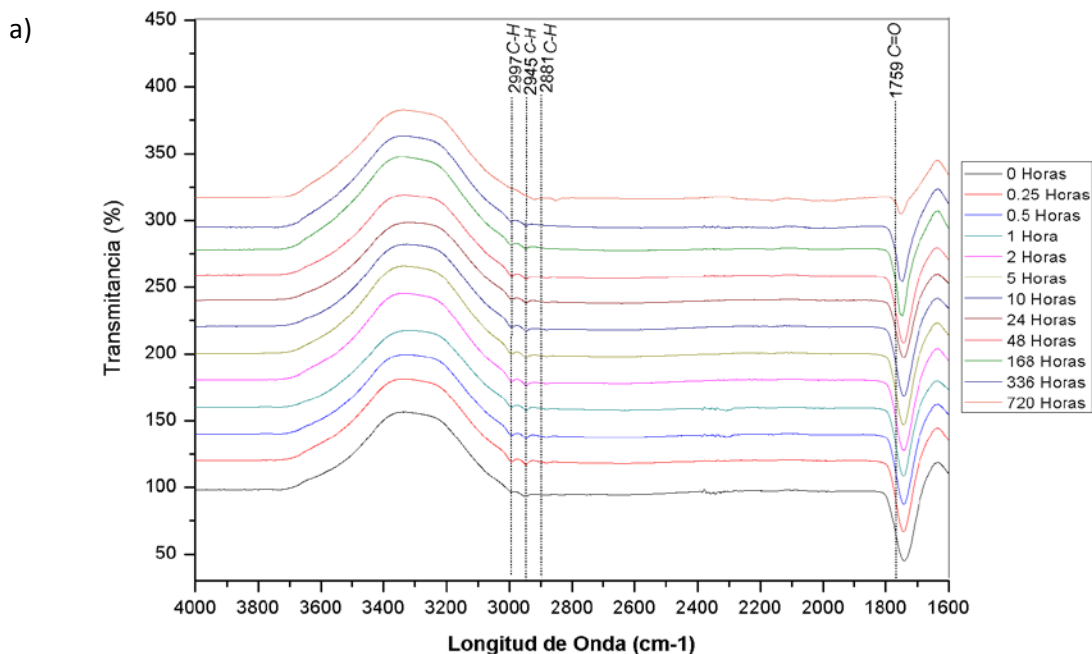


Figura 3.29 Variación del peso molecular promedio de las cadenas del copolímero de PGA 90:10%p degradado estática y dinámicamente.

3.4.2 Variación de los enlaces covalentes durante el proceso de degradación dinámica del poliácido (L-láctico-co-glicólico) PLGA.

Se realizó la comparación de los espectro FT-IR obtenidos del proceso de degradación estática y dinámica del copolímero de PLGA 90:10%p; mediante el análisis se pudo observar que en el copolímero degradado dinámicamente fue más evidente el desgaste en las capas exteriores existiendo una variación en la intensidad de las bandas de transmitancia mayor, correspondientes a los enlaces $asCH_3$, sCH_3 y CH_2 (2993, 2945 y 2881 cm^{-1}). Se pudo observar que los espectros obtenidos de la degradación dinámica y estática del copolímero 90:10%p tuvieron un comportamiento similar con una intensidad de transmitancia mayor y en las bandas correspondientes a los enlaces C-C ($960cm^{-1}$) el copolímero degradado dinámicamente presentó una intensidad de banda creciente hasta las dos semanas de inmersión y al llegar a la cuarta semana disminuyó (Figura 30 a y b). Este hecho se puede atribuir a la formación de cristales por parte de las cadenas de ácido L-láctico en la etapa final de degradación [93], la cual fue más evidente que en el proceso de degradación estática del materia, sugiriendo que el flujo acelera el proceso de degradación mediante un desgaste de la superficie.



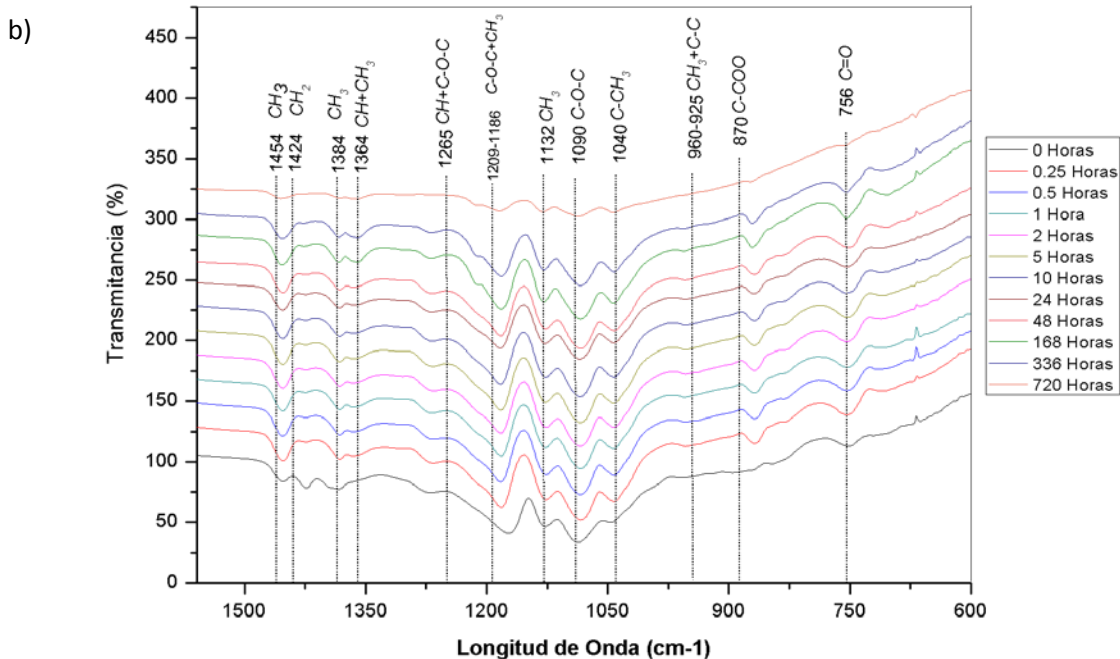


Figura 3.30 Espectros FTIR a) 4000 a 1600 cm^{-1} y b) 1559 a 600 cm^{-1} del proceso de degradación dinámica de copolímero 90:10 %p de PLGA.

3.4.3 Pérdida de masa y variación de pH durante el proceso de degradación dinámica del poliácido (L-láctico-co-glicólico) PLGA.

La variación de pH que se observó durante el proceso dinámico de degradación del copolímero de PLGA 90:10%p (Figura 3.31) fue más lenta en comparación a la disminución del pH en el sistema estático, pues al cabo de 15 minutos de estudio, el pH únicamente había descendido hasta un valor de 6.10, mientras que en la degradación estática disminuye hasta un valor de 5.77. A los 30 minutos del proceso de degradación, el valor decae a 5.56 mientras que en el sistema estático 3.38, valor que el sistema dinámico alcanza al cabo de 24 horas. A partir de este punto la degradación muestra un perfil similar que el proceso estático alcanzó un valor de 2.38 al finalizar su tiempo de degradación a las 7 semanas.

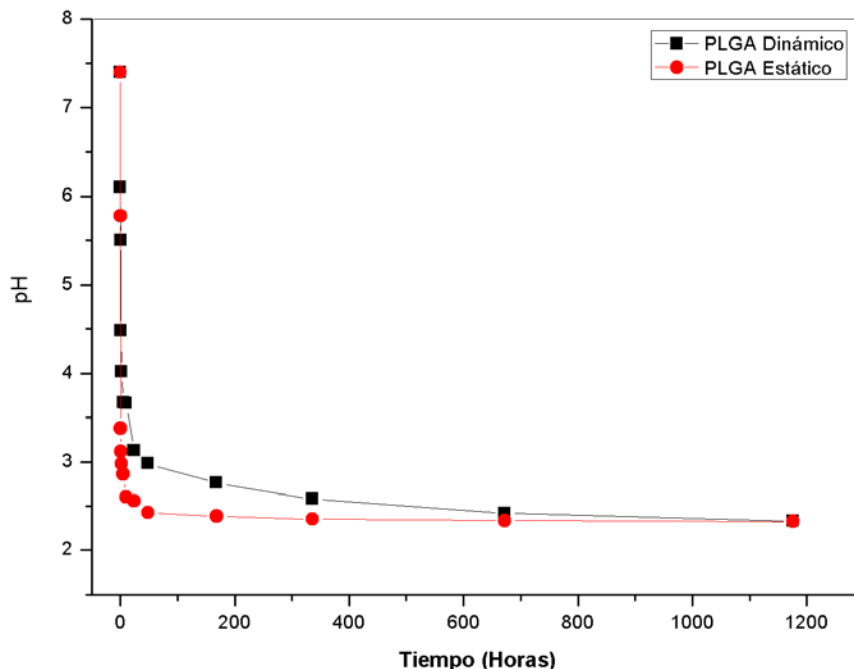


Figura 3.31 Variación de pH del proceso de degradación estática en comparación al proceso de degradación dinámico del copolímero de PLGA 90:10%p durante los tiempos de 0 horas, 0.25 horas, 0.5h, 1h, 2h, 5h, 10h, 24h, 48h, 168h, 336h, 720h.

La disminución tardía del pH puede deberse al aumento en la cantidad de flujo, por lo que el medio tarda en acidificarse; sin embargo, al final del proceso de degradación, los valores alcanzados por ambos sistemas son similares. Este hecho es importante de tomar cuenta en el momento de elaboración de un dispositivo dosificador de fármacos, ya que durante la degradación, un fenómeno adverso es la acidificación del medio por la existencia de células vivas; por lo tanto, se puede garantizar que el flujo elimina este efecto, y el material puede ser empleado en la elaboración de este tipo de dispositivos dependiendo del tiempo de dosificación del fármaco a emplear.

Por su parte, el copolímero de PLGA 90:10%p mostró un incremento en su peso molecular durante las dos primeras horas de inmersión al igual que su degradación estática. A partir de este tiempo, la matriz polimérica comienza a perder masa y su porcentaje es muy bajo, alrededor del 0.5%, y es hasta alcanzar la décima hora de estudio, que se evidencia una pérdida de masa mayor que el sistema estático. Al cabo de una semana, el copolímero degradado dinámicamente perdió alrededor del 60% de su masa mientras que el degradado

estáticamente solo mostro una pérdida del 45%. El proceso de degradación se aceleró durante la segunda semana, y el copolímero había perdido alrededor del 80% de su masa. Al llegar el primer mes de inmersión solo restaba el 11% de su masa (Figura 32).

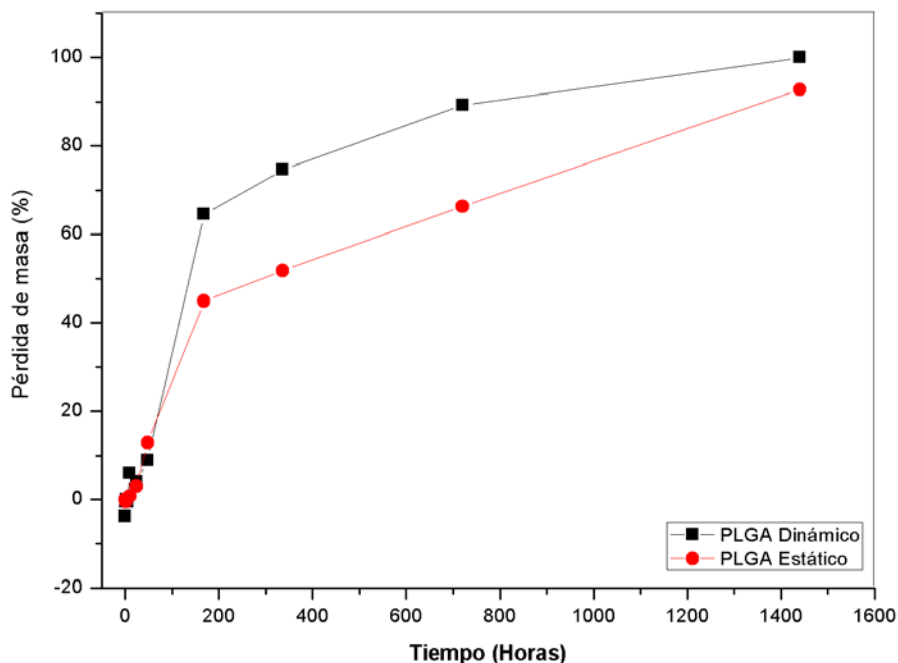


Figura 3.32 Comparación entre el porcentaje de pérdida de masa del copolímero de PLGA 90:10%p degradado estática y dinámicamente, durante los tiempos de 0 horas, 0.25 horas, 0.5h, 1h, 2h, 5h, 10h, 24h, 48h, 168h, 336h, 720h.

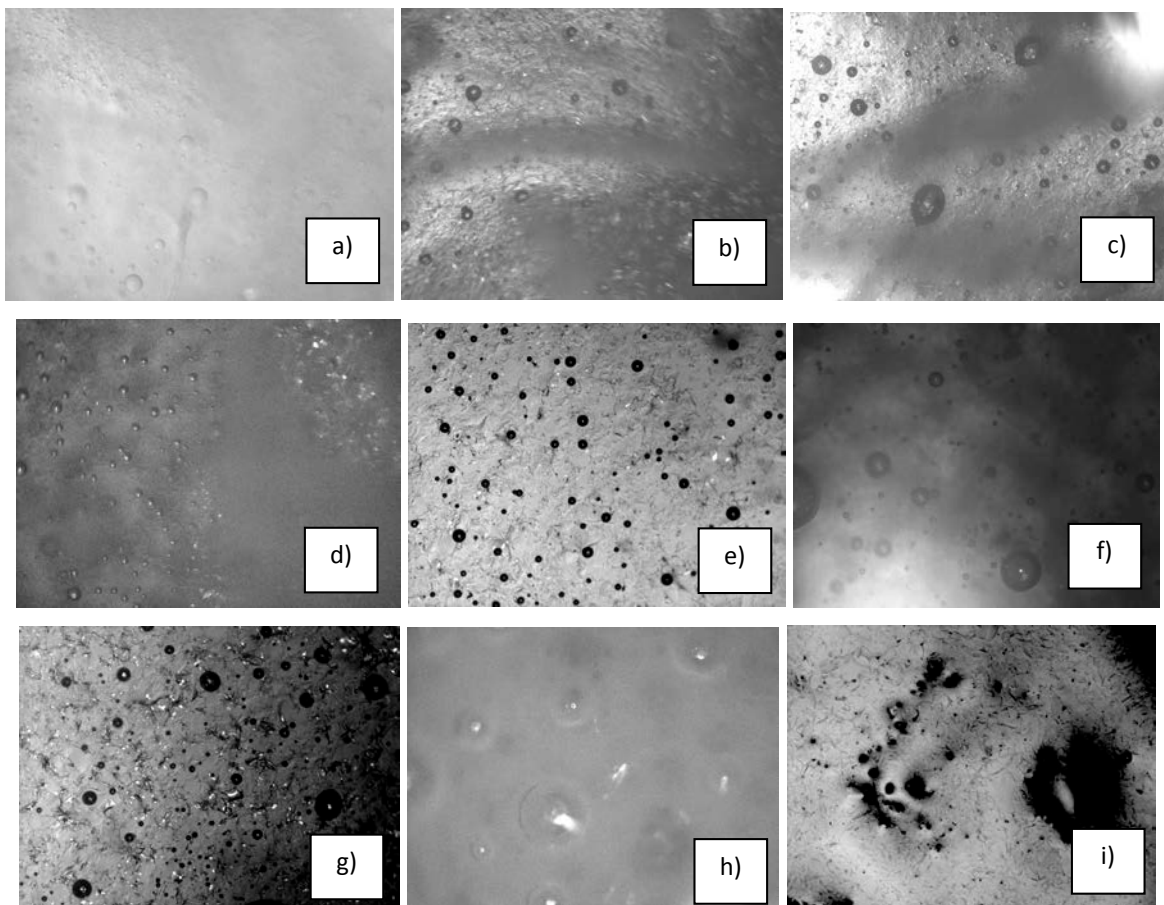
El aumento en el porcentaje de pérdida de masa del sistema estático se debe a la presencia de un flujo constante que permite la degradación del material de manera homogénea, comenzando por la periferia de la matriz polimérica hacia adentro. Si bien es cierto, el pH y el efecto de la autocatálisis influyen de igual manera que en el proceso de degradación estática, el flujo es el factor principal durante el fenómeno de degradación del material acelerando el proceso.

Un hecho importante que se observó durante el proceso, es que no se observaron partículas sueltas en el medio acuoso, por lo que se descartó la posibilidad de que el PLGA se

fragmentara, considerando que éste se va degradando conforme el flujo va desgastando la superficie, pasando de un tipo de degradación heterogénea a homogénea.

3.4.4 Cambios de superficie durante el proceso de degradación dinámica del poliácido (L-láctico-co-glicólico) PLGA.

La matriz polimérica de PLGA 90:10%p no presenta cambios en la superficie del material durante las primeras dos horas de inmersión, a partir de este tiempo el material empieza a crear un manto transparente similar que en el proceso dinámico y al alcanzar las 48 horas se empieza a ver pequeños poros creados por la erosión del material. No es hasta la segunda semana que se empiezan a notar cambios en la superficie del material volviéndose completamente blanco por la presencia de los cristales del ácido L-láctico. Al llegar al primer mes de estudio, el materia presenta una superficie con grumos o aglomerados de cristales que terminan degradándose al cabo de 7 semanas (Figura 33).



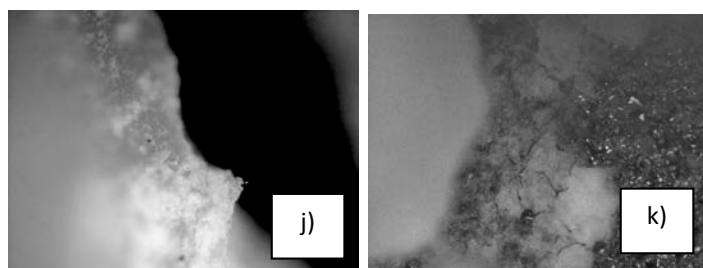


Figura 3.33 Micrografías del copolímero (20x) PLGA 90:10%p luego de a) 0.25 h, b) 0.5 h, c) 1h, d) 2h, e) 3h, f) 4h, g) 5h, h) 10h, i) 24h, j) 48h, k) 168h, l) 336h y k) 730h de degradación.

Mediante el análisis del proceso de degradación estática y dinámica se pudo observar que el poli (ácido-L-láctico-co-glicólico) PLGA se degrada hidrolíticamente y el proceso conlleva tres fases, una inicial en la cual el material pierde muy poca masa, y se observa una variación en su peso molecular, una segunda etapa en donde la degradación se acelera y se inicia el proceso de erosión y una tercera etapa o final en la que la degradación es lenta y se evidencia pérdida de masa mayor debido a la erosión. La degradación estática de los copolímeros fue de manera heterogénea debido a la contribución de agentes auto-catalíticos, mientras que la degradación dinámica fue homogénea, esto se puede deber a la influencia del flujo que genera un desgaste de la superficie.

En primera instancia el material experimentó una degradación alcalina en la que el material se degradó por la liberación progresiva de dímeros cíclicos (transesterificación intramolecular), estos dímeros libres se hidrolizaron en dos moléculas de ácido láctico y ácido glicólico. Y la degradación intramolecular ocurrió por el ataque alcalino sobre el carbono del grupo éster, seguida de la hidrólisis del enlace éster (Figura 3.34).

Debido a la rápida liberación de las cadenas de ácido L-láctico y glicólico el pH del medio desciende y el material experimenta una degradación ácida (Figura 3.35) En donde la protonación del grupo terminal hidroxilo formó un enlace de hidrógeno intramolecular, la hidrólisis del grupo éster permite la liberación de la molécula de los ácidos. La protonación aleatoria del carbono del grupo éster llevó también a la hidrólisis del enlace éster, liberando diferentes fragmentos de bajo peso molecular [89].

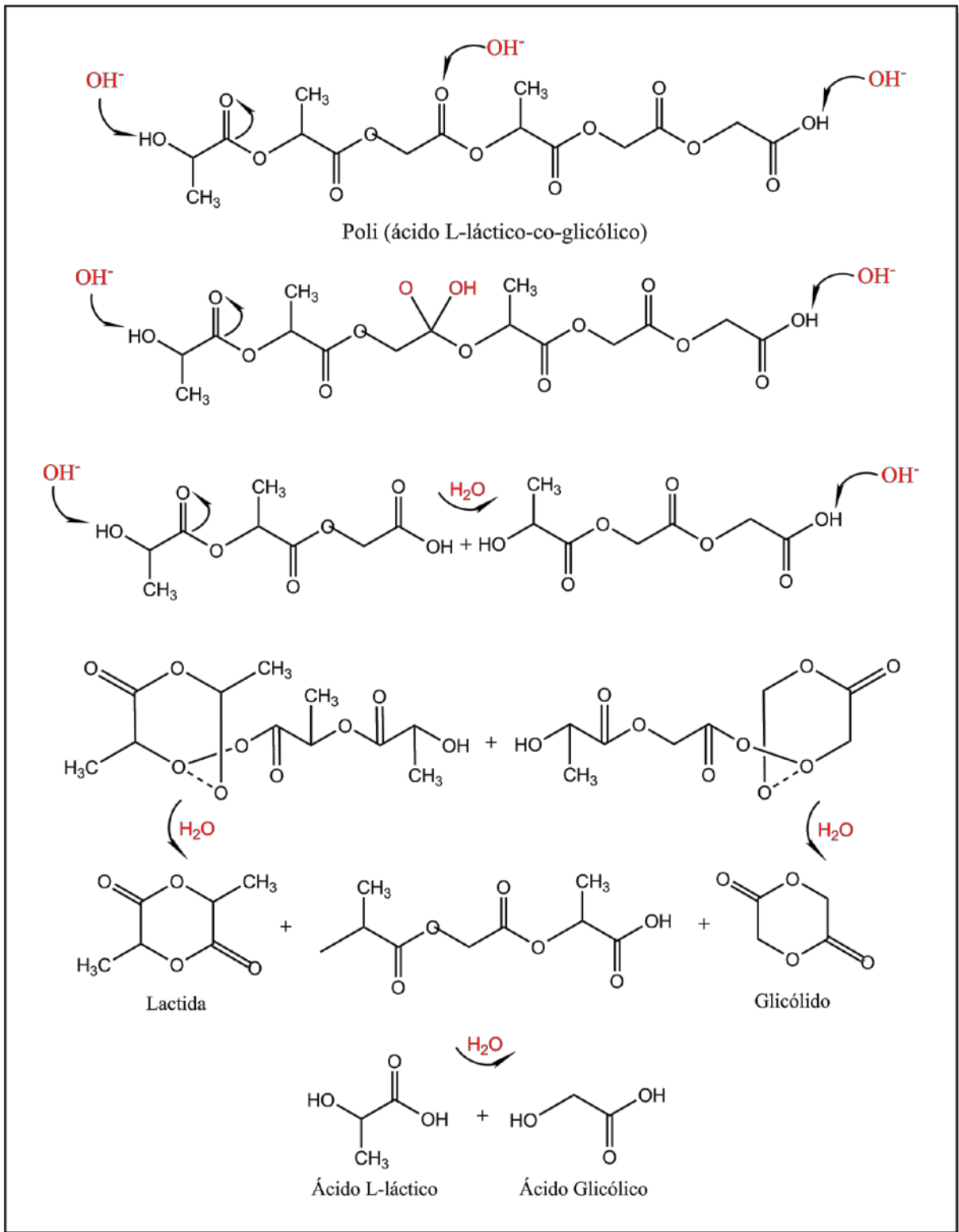


Figura 3.34 Degradación básica de los copolímeros de PLGA.

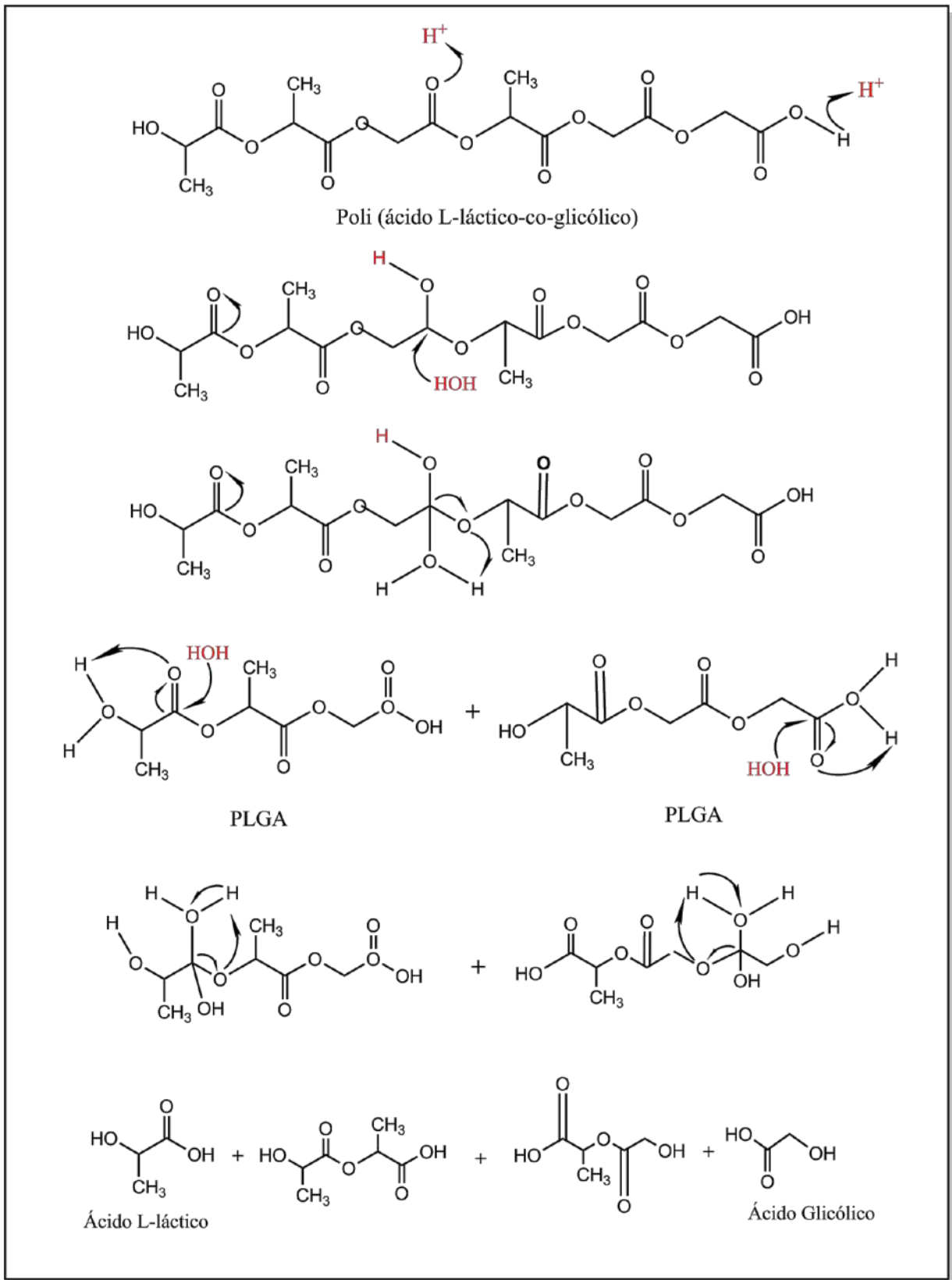


Figura 3.35 Degradación ácida de los copolímeros de PLGA.

CAPÍTULO CUATRO
CONCLUSIONES

- 4.1** Las condiciones de síntesis empleadas; es decir 6 horas de deshidratación a 140°C y 10 horas de polimerización por apertura de anillo ROP a 165°C de los ácidos iniciadores de L-láctico y glicólico permiten obtener copolímeros de poli (ácido L-láctico-co-glicólico) PLGA con características fisicoquímicas adecuadas para ser utilizados como dispositivos liberadores de fármacos.
- 4.2** La cantidad de iniciador empleada, 0.05% de 2-etil-hexanoato de estaño, fue la ideal para llevar a cabo la polimerización por apertura de anillo de los dímeros cíclicos de L-lactida y glicolida permitiendo obtener copolímeros de PLGA con una cantidad de polímero residual menor al 0.0001.
- 4.3** Los copolímeros de PLGA son amorfos con una tendencia al ordenamiento interplanar, presentan una temperatura de transición vítrea alrededor de los 37°C y su peso molecular promedio oscila entre los 527.3205 a 684.3312 Da.
- 4.4** La degradación del poliácido (L-láctico-co-glicólico) se realizó mediante la escisión de la cadena polimérica generada por el ataque hidrolítico del agua a los enlaces éster del material, como se pudo observar en los resultados obtenidos mediante los análisis de peso molecular el comportamiento del material es irregular hasta alcanzar las 24 y 48 horas, a partir de este periodo el peso molecular empieza a descender, esto se evidencio en todas las composiciones de los copolímeros sintetizados, al final del periodo de observación solo la composición 90:10%p experimento un aumento el peso molecular promedio.
- 4.5** La brusca disminución del pH en el medio de degradación puede deberse a que una vez que el PLGA se encuentra en contacto con el agua, esta penetra en el dispositivo y empieza a romper hidrolíticamente los enlaces éster, por lo que las cadenas cortas producidas por la misma degradación del material disminuyen el pH del micro ambiente de degradación, lo que afecta subsecuentemente el proceso de rompimiento de las cadenas éster, evidenciándose dos tipos de degradación una tipo básica inicial y una tipo ácida que gobierna hasta el final del proceso de inmersión.

- 4.6** La disminución en el peso molecular y pérdida de masa se ven reflejados en cambios en la morfología de la superficie del material, erosionándolo.
- 4.7** El poli (ácido-L-láctico-co-glicólico) PLGA se degrada hidrolíticamente y el proceso conlleva tres fases, una inicial en la cual el material no pierde masa, más se observa una variación en su peso molecular, una segunda etapa en donde la degradación se acelera y se inicia el proceso de erosión y una tercera etapa o final en la que la degradación es lenta y se evidencia pérdida de masa debido a la erosión.
- 4.8** La degradación estática de los copolímeros fue de manera heterogénea debido a la contribución de agentes auto-catalíticos, mientras que la degradación dinámica fue homogénea, esto se puede deber a la influencia del flujo que genera un desgaste de la superficie.

BIBLIOGRAFÍA

1. O. PILLAI, A.DHANIKULA, R. PANCHAGNULA, R, CURR. OPIN. Drug delivery: an odyssey of 100 years **Chem. Biol.** Vol. 5. pp. 439-446. 2001.
2. R.S. LANGER, D.L. WISE. Medical applications of Controlled Release, applications and evaluations. **CRC Press:** Florida. Vol. 1 y 2. pp 65-76 1984.
3. C.F. VAN DER WALLE, O. OLEJNIK. An Overview of the field of peptide and protein delivery. **Peptide and protein delivery Academic Press.** Capítulo 1. pp 1-22. 2011.
4. CHHAYA ENGINEER, JIGISHA PARIKH, ANKURRAVAL. Review on Hidrolytic Degradation Behavior of Biodegradable Polymers from Controlled Drug Delivery System. **Trends Biomater. Artif. Organs.** Vol. 25. pp. 79-85 2011.
5. THIES, C. In. Microcapsules and Nanoparticles in Medicine and Pharmacy (Ed. M. Donbrow). **CRC** Capítulo 3. pp. 219-237 1992.
6. R.S. LANGER. Polymers for a sustained release of proteins and other macromolecules **Science.** Volumen 249. pp. 1527-1533. 1990.
7. N.A. PEPPAS, R.S. Langer. Modelling of Drug Diffusion Through Swellable Polymeric Systems **Science.** Vol. 264. pp. 1065-1067. 1994.
8. S. J. HOLLAND, B.J. TIGHE, P.L. GOULD. Polymers for biodegradable medical devices. 1. The potential of polyesters as controlled macromolecular release systems. **ELSEVIER** Vol 4. pp. 155-180. 1986.
9. L.E. FREED, J.C. MARQUIS, A. NOHRIA, J. EMMANUAL, A.G. MIKOS, R.S. Biomedical. Materiales.in Restenosis. Vol 27. pp. 11-23. 1993.
10. A.M. REED, D.K. GILDING. *Polymer.* Vol 22. 494-498. 1981.
11. J.W. LEWIS. Biodegradation polymers as drug delivery systems. Controlled released of bioactive agents from Lactide/Glycolide polymers, in Biodegradable polymers as drug delivery systems. **ELSEIVER** pp 1-43. 1990.
12. J. HELLER. Drug Delivery Systems, in: Biomaterials Science: An introduction to Materials in Medicine. **Advances in Polymer Science** pp. 347-356. 1996.
13. LINHARDT, R. J. in Controlled Release of Drugs (Ed. M. Rosoff), **VCH Publishers.** New York. Capítulo 2, 1989.
14. SPENLEHAUER, G., VERT, M., BENOIT, J. P. AND BODDAERT, A. **Biomaterials.** Vol.10. pp. 557. 1984.

15. TABATA, Y. AND IKADA, Y. Protein release from gelatin matrices **ELSEIVER** Vol.6. pp 287-301. 1998
16. J. KASPERCZYK. Microstructural analysis of poly[(L,L-lactide)-co-(glycolide)] by ^1H and ^{13}C .m.r. spectroscopy. **EISEVIER**. Vol. 37. No.2. pp. 201-203. 1996.
17. LAKSHMI S. NAIR, CATO T. LAURENCIN. Biodegradable polymers as biomaterials. **EISEVIER**.. Vol. 32. pp. 762-798. 2007.
18. NEVILLE KUKREJA, ET AL. The future of drug-eluting stents. Thoraxcenter, Erasmus Medical Center, Rotterdam, Netherlands. **Pharmacological Research** Vol. 57 pp.171–180. 2008.
19. ETIENNE SCHACHT. Biodegradable polymers for biomedical applications. Polymer Materials Research Group. **European Cells and Materials** Vol. 5. Suppl. 1. pp.58. 2003.
20. ROBERTO MARTÍN-REYES. Comparison of the safety between first- and second-generation drug eluting stents Meta-analysis from 19 randomized trials and 16,924 patients. **International Journal of Cardiology**. 2011.
21. SUSANNE FREDENBERG. The mechanisms of drug in poly(lactic-co-glycolic acid) based drug delivery systems-A review. **International Journal of pharmaceutics** Vol. 415. pp. 34-52. 2011.
22. C.WISCHKE, S.P. SCHWENDEMAN. Principles of encapsulating hydrophobic drugs in PLA/PLGA microparticles. **Int J. Pharm** Vol 364. pp. 298-327. 2008.
23. S. SCHWENDEMAN. Recent advances in the stabilization of proteins encapsulated in injectable PLGA delivery systems. Vol. 19. pp. 73-98. 2002.
24. X.X. HU, H. SHEN, F. YANG, J.Z. BEI, S.G. WANG. Preparation and cell affinity of microtubular orientation-structure PLGA (70/30) blood vessel scaffold. **Biomaterials**. Vol 29. pp. 3128-3136. 2008.
25. A. JAKLENEC, A. HINCKFUSS, B. BILGEN, ET AL. Sequential release of bioactive IGF-I and TGF- β 1 from PLGA microsphere-based scaffolds. **Biomaterials**. Vol 29. pp.1518-1525. 2008.
26. UHRICH KE, CANNIZZARO SM, LANGER RS, SHAKESHEFF KM. Polymeric systems for controlled drug release. **Chem Rev**. Vol. 99. pp. 3181–3198. 1999.

27. HOUCHIN ML, TOPP EM. Physical properties of PLGA films during polymer degradation. **J Appl Polym Sci**. Vol. 114. pp. 2848–2854. 2009
28. SIEGEL SJ, KAHN JB, METZGER K, WINEY KI, WERNER K, DAN N. Effect of drug type on the degradation rate of PLGA matrices. **Eur J Pharm Biopharm**. Vol. 64. pp. 287–293. 2006
29. PASSERINI N, CRAIG DQM. An investigation into the effects of residual water on the glass transition temperature of polylactide microspheres using modulated temperature DSC. **J Control Release**. Vol.73. pp.111–115.2001.
30. B. E. Hingerty, R. H. Ritchie, T. L. Ferrell and J. E. Turner. Dielectric effects in biopolymers: The theory of ionic saturation revisited. *Biopolymers*. Vol 24. pp 427-439. 1985.
31. DARENSBOURG, D.J., CHOI, W. Y RICHERS, C.P. Ring-opening polymerization of cyclic monomers by biocompatible metal complexes. Production of poly (lactide), polycarbonates, and their copolymers, **Macromolecules**. Vol. 40. pp. 3521-3523, 2007.
32. RUDOLPHMACY. **Química Orgánica Simplificada**. Editorial Reverté. pp.326. 2005.
33. GARRIDO, L., IBARRA, L. Y MARCO, C. Ciencia y tecnología de los materiales poliméricos, Vol. 1, **Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros (CSIC)**. p.66. 2004
34. WITT C. Morphological characterization of microspheres, films and implants prepared from poly(lactide-co-glycolide) and ABA triblock copolymers: Is the erosion controlled by degradation, swelling or diffusion. **Eur J. Pharm Biopharm**. Vol.51. pp.171–181. 2001.
35. GRIZZI I, GARREAU H, LI S, VERT M. Hydrolytic degradation of devices based on poly(DL-lactic acid) size-dependence. **Biomaterials**. Vol.16. pp. 305–311. 2001.
36. LIGGINS R. Paclitaxel loaded poly(L-lactic acid) microspheres: Properties of microspheres made with low molecular weight polymers. *Int J Pharm*. p.p 222:19–33. 2001.

37. FRANK A, RATH SK, VENKATRAMAN SS. Controlled release from bioerodible polymers: Effect of drug type and polymer composition. *J Control Release*. Vol.102. pp.333–344. 2005.
38. CAI Q, SHI G, BEI J, WANG S. Enzymatic degradation behavior and mechanism of poly(lactide-*co*-glycolide) foams by trypsin. *Biomaterials*. Vol.24. pp.629–638. 2003.
39. LI S, GIRARD A, GARREAU H, VERT M. Enzymatic degradation of polylactidestereocopolymers with predominant-lactyl contents. *PolymDegrad Stab*. Vol.71. pp. 61–67. 2000.
40. C.H. BANFOR, C. TIPPER. *Comprehensive Chemical Kinetics*. ELSEIVIER. Vol. 14. 1972
41. N. GRASSIE, G. SCOTT. *Polymer Degradation and Stabilization*. Cambridge University Press. 1985.
42. LI-GUO SUN, ZHUO-YING XIE, YUAN-JIN ZHAO, HONG-MEI, ZHONG-ZE-GU. *Chinese chemical Letters*. **ELSEIVIER**. Vol. 24. Pp 9-12. 2013.
43. A. MORAWSKA-CHOCHOL, J. JAWORSKA, J. CHLOPEK, J. KASPERCZYK., P. DOBRZYNKI, C. PALUSZKIEWICZ, C. BAJOR. Degradation of poly(lactide-*co*-glycolide) and its composites with carbon fibres and hydroxyapatite in rabbit femoral bone. **ELSILVER**. Vol. 96. pp. 719-726. 2011.
44. L.G. GRIFFITH. *Polymeric Biomaterials* **ELSEIVIER**. Vol 48. pp. 263-277. 2000.
45. A. MERKLI, C.TABATABAY, R. GRUNY, Y. HELLER. **Prog. Polym. Sci**, Vol 23. Pp.563-580. 1998.
46. SUSANHURRELL Y RUTH E. Cameron. The effect of initial polymer morphology on the degradation and drug release from polyglycolide. ELSEIVIER. **Biomaterials**. Vol 23. pp. 2401- 2409. 2002.
47. M. VERT, P. CHRISTEL, F. CHABOT Y J. LERAY. Stereoregular bioresorbable polyesters for orthopaedic surgery. **Macromolecular Materials**. Vol 119. pp 30-41 1984.
48. T. G. PARK. Degradation of poly (D, L-lactic acid) microspheres: effect of molecular weight. **Journal Control Rel**. Vol 30. pp. 161.173. 1994.
49. M. VERT. S. LI. Y H. GARREAU. *Clinicals Materials*. Vol 10. pp. 3-8. 1992.

50. S. M. LI, H. GARREAU Y M. VERT, J. MATER. **Sci. Mater. Med.** Vol. 1. pp. 123-130. 1990.
51. S. M. LI, H. GARREAU, AND M. VERT, J. MATER. Hydrolytic degradation of devices based on poly(dl-lactic acid) size-dependence **ELSEVIER**. Vol.1. pp. 198-206. 1990.
52. TAE GWAN PARK. Degradation of poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres: effect of copolymer composition. **ELSEVIER**. Vol. 16. pp. 1123-1130. 1995.
53. S. LI, S. GIROD-HOLLAND AND M. VERT, J Synthesis and degradation of PLA–PCL–PLA triblock copolymer prepared by successive polymerization of ϵ -caprolactone and dl-lactide. **ELSEVIER**. Vol.40. pp. 41-53.1996.
54. J. HELLER, Polym. Sci. Technol. Physico-mechanical properties of degradable polymers used in medical applications: A comparative study **ELSEVIER** Vol. 34. pp. 357-368. 1986.
55. E. MATHIOWITZ, D. KLINE AND R. LANGER, J. E. MATHIOWITZ, D. KLINE AND R. LANGER, J. Future direction in biomaterials **ELSEVIER**. Vol. 4. pp. 329-340. 1990.
56. LI S, GIRARD A, GARREAU H, VERT M. Enzymatic degradation of polylactidestereocopolymers with predominant-lactyl contents. PolymDegrad Stab. Vol. 71. pp. 61–67. 2000.
57. MARTIN G. PETER. Chemical Modifications of Biopolymers by Quinones and Quinone Methides. Angewandte **International Edition Chemie**. Vol 28. pp 55-570. 1989.
58. M. DUNNE, O.I. CORRIGAN, Z. RAMTOOLA. Influence of particle size and dissolution conditions on the degradation properties of polylactide-co-glycolide particles. **Biomaterials**. Vol 21. pp. 1659-1668. 2000.
59. HAKANKELES, ANDREW NAYLOR, FRANCIS CLEGG Y CHRIS SAMMON. Investigation of factors influencing the hydrolytic degradation of single PLGA microparticles. **ELSEVIER**. Polymer and Degradation Stability. Vol 119. pp. 228-241. 2015.
60. PIOTR CIEPLAK, WENDY D. CORNELL, CHRISTOPHER BAYLY, PETER A. KOLLMAN. Application of the multimolecule and multiconformational RESP

- methodology to biopolymers: Charge derivation for DNA, RNA, and proteins. **Journal of Computational Chemistry**. Vol 16. pp 1357-1377 1995.
61. ENIOLA AO, HAMMER DA. Characterization of biodegradable drug delivery vehicles with the adhesive properties of leukocytes II: Effect of degradation on targeting activity. **Biomaterials**. Vol. 26. pp. 661–670. 2005.
 62. D.W. GRIJPMAN, A.J. NIJENHUIS, A.J. PENNING. *Polymer*. Vol. 31. pp. 2201-2206. 1990.
 63. B. S. ZOLNIK, P.E. LEARY Y D.J. BURGESS. Elevated temperature release testing of PLGA microspheres. *Journal Controlled. Release*. Vol 112. pp. 293-300. 2006.
 64. LI-GUO-SUN, ZHUO-YING XIE, YUAN-JIN ZHAO, HONG-MEI WEI, ZHONG-ZEGU. Optical monitoring the degradation of PLGA inverse opal film. *Chinese Chemical Letters*. Vol. 24. pp. 9-12. 2013.
 65. RICHARD. A. KENLEY, M. O. LEE, T. R. MAHONEY Y L.M. SANDERS. Poly(lactide-co-glycolide) Decomposition Kinetics in Vivo and in Vitro. *Macromolecules*. **ACS Publications** Vol 20. pp. 2398-2403. 1987.
 66. PAUL. J. FLORY AND M. VOLKENSTEIN. Statistical mechanics of chain molecules. **BIOPOLYMERS**. Vol 8. pp 699–700. 1969
 67. DAILEY L, JEKEL N, FINK L, GESSLER T, SCHMEHL T, WITTMAR M, KISSEL T, SEEGER W. Investigation of the proinflammatory potential of biodegradable nanoparticle drug delivery systems in the lung. **Toxicology Applications Pharmacology**. Vol. 215. pp. 100–108. 2006.
 68. LU L, GARCIA CA, MIKOS AG. *In vitro* degradation of thin poly (D,L-lactic-co-glycolic acid) films. **Jouerbai Biomed Mater Res**. Vol. 46. pp. 236–244. 1999.
 69. M. DUNNE, O.I. CORRIGAN, Z. RAMTOOLA. Influence of particle and dissolution conditions on the degradation properties of polylactide-co-glicolide particles. **ELSIEVER**. Vol 21. pp. 1659-1668. 2000.
 70. J. KASPERCZYK. Microstructural analysis of poly [(L-L lactide)-co-(glycolide)] by H and C.n.m.r. spectroscopy. **ELSIEVER**. Vol 37. pp. 201-203. 1996
 71. A. GOPFERICH. Mechanisms of polymer degradation and erosion **ELSIEVER**. Vol 23. pp. 103-114. 1996

72. U. Edlund, A. Albertsso. One-pot syntheses, coordination, and characterization of application-specific biodegradable ligand-polymers **Adv. Polym. Sci.** Vol. 157. pp. 67-112. 2002
73. J. HELLER, R.S. LANGER, D.L. Wise. Medical Applications of Controlled Release. Vol. 1. pp. 69-101. 1984
74. www.luprol.com
75. www.dentalcompare.com
76. J.C. MIDDLETON Y A.J. TIPTON. Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. **Biomaterials.** Vol. 21. pp. 2335-2346. 2000.
77. Z. RAMTOOLA, O.I. CORRIGAN Y C. BARRET. Microencapsulación. Vol 9. pp. 415-153. 1993
78. B.V. PARIKH, S. M. UPADRASHTA, S.H. NEAU Y N. O. NUESSELE. Microencapsulización **ELSIEVER.** Vol 10. pp.141-153. 1993.
79. J. SWARBRIK Y J.C. BOYLAN. Biodegradable Polyester Polymers as Drug Carriers to clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. Informa Health Care. **Trends Biomater. Artif. Organs,** Vol 25. pp 79-85 2011.
80. J.F. FITZGERALD Y O. I. CORRIGAN. Thermosensitivity and release from poly N-isopropylacrylamide–polylactide copolymers **ELSIEVER.** Vol. 366. pp.21-31. 2009.
81. J. CHEN, J. LEE AND N. L. HERNANDEZ DE GATICA, 77. J. CHEN, J. LEE AND N. L. HERNANDEZ DE GATICA, Macromolecules. **ASC PUBLICATIONS** Vol 33. pp. 4726-4732. 2000.
82. D. KLOSE AND F. SIEPMANN, Modeling of diffusion controlled drug delivery **ELSIEVER.** Vol. 354. pp.95-103. 2012.
83. Steven J. Siegel, Jonathan B. Kahn, Kayla Metzger, Karen I. Winey, Kathryn Werner, Nily Dan. **EISEVIER.** Vol 64.pp. 287-293. 2006.
84. XINTONG WANG, SUBBU S. VENKATRAMAN, FREDDY Y. C. BOEY, JOACHIM S.C. LOO, LAY POH TAN. Controlled released of sirolimus from a multilayered PLGA stent matrix. **EISILVER.** Vol 27. pp. 5588-5595. 2006.

85. A. FRANK, S. K. RATH AND S. S. VENKATRAMAN, J. Controlled degradation of multilayered poly (lactide-co-glycolide) films using electron beam irradiation. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**. Vol 84. pp 980–987. 2008
86. T. TARVAINEN, T. KARJALAINEN M. MALIN, S. POHJOLAINEN, J. TUOMINEN AND J. SEPPALA. Degradation of and drug release from a novel 2, 2-bis (2-oxazoline) linked poly (lactic acid) polymer **Journal. Controlled Release**. Vol.81. pp. 252-261. 2002.
87. JAMES M. ANDERSON, MATTHEW S. SHIVE Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres. The effect of particle microstructure on the somatostatin release from poly (lactide) microspheres prepared by a W/O/W solvent evaporation method **ELSEVIER** Vol.64. pp. 72-82.2012.
88. JOACHIM HERRMANN, ROLAND BODMEIER. Biodegradable, somatostatin acetate containing microspheres prepared by various aqueous and non-aqueous solvent evaporation methods **ELSEVIER**. Vol.36. pp.63-71.1995.
89. VAHIK KRIKORIAN AND DARRIN J. PCHAN. Crystallization behavior of poly(L-lactic acid) nanocomposites: nucleation and growth probed by infrared spectroscopy. **Macromolecules**. Vol 35. Pp. 6520-6527. 2005
90. J. CHLOPEK, A. MORAWSKA-CHOCOL, C.PALUSZKIEWICZ, J. JAWORSKA, J. KASPERCZYK, P. DOBRZYNSKI. FTIR and NMR study of poly(lactide-co-glycolide) and hydroxyapatite implant degradation under in vivo conditions. **ELSEVIER. Polymer Degradation and stability** Vol 94. Pp. 1479-1485. 2009.
91. GRIJPMADW. NIJENHUIS AJ, PENNINGSAJ. **Polymer**. Pp 2201-2206. 1990
92. JAN CHLOPECK, ANNA MORAWSKA-CHOCHÓL, CZESŁAWA PALUSZKIEWICZ. FTIR evaluation PLGA-carbon fibres composite behavior under in vivo conditions **ELSEVIER Journal of molecules structure**. Pp 101- 107. 2008.
93. CLAUDIA PATRICIA RUEDA MARTÍNEZ “Obtención de poli(ácido l(+)) láctico-co-glicólico) y su aplicación en el recubrimiento de nanopartículas de hierro cero valente” **Instituto Politécnico Nacional**.2015

ANEXOS

Anexo I.

Determinación del número de Reynolds de la sangre y solución salina a 37°C y diseño del tubo para el estudio del sistema dinámico de degradación.

Tabla 1. Diseño de acierto/error, para la determinación del diámetro interno del tubo, equiparando el número de Reynolds.

L/s 16								
Ø Tubing(mm)	Ø Tubo (mm)	A1 (mm ²)	A2 (mm ²)	V1 (mm/min)	V2 (mm/min)	μ (kg/mm min)	p (kg/mm ³)	Re
3.1	20	7.5477	314.15	63595.73	1527.88	4.152x10 ⁻⁵	9.9337x10 ⁻⁷	548.32
	19		283.52		1692.95			769.58
	18		254.46		1886.28			812.33
	17		226.98		2114.72			860.11
	16		201.06		2387.32			913.87
	15		176.71		2716.24			974.80
	14		153.93		3118.13			1044.42
	13		132.73		3616.30			1124.76
	12		113.09		4244.13			1218.50
	11		95.03		5050.87			1329.27
	10		78.53		6111.55			1462.19

Tabla 2. Datos para la determinación del número de Reynolds en la sangre y solución salina

Soluciones	Diámetro (mm)	Velocidad (mm/min)	Viscosidad (kg/mm min)	Densidad (kg/mm ³)
Sangre Hombres	25	24000	0.0006	0.000001056
Solución Salina	13		0.00004152	9.933E-07

$$Re = \frac{\rho V D}{\mu}$$

$$Re_{sangre} = \frac{(1.056 \times 10^{-6} \text{ kg/mm}^3) * (24000 \text{ mm/min}) * (25 \text{ mm})}{0.0006 \text{ kg/mm min}}$$

$$Re_{sangre} = 1056$$

$$Re_{salina} = \frac{(9.933 \times 10^{-7} \text{ kg/mm}^3) * (3118.1377 \text{ mm/min}) * (14 \text{ mm})}{4.152 \times 10^{-5} \text{ kg/mm min}}$$

$$Re_{salina} = 1044.42$$

Anexo II.

Curva de calibración para el estudio de adsorción y desorción de Prednisona.

Tabla 3. Promedios de concentración y área bajo la curva de las tres repeticiones R₁,R₂,R₃ empleadas para la obtención de la curva de calibración de adsorción de Prednisona.

ÁREA BAJO LA CURVA								
Concentración (g/kg)	Concentración (g)R ₁	Área bajo la curva R ₁	Concentración (g)R ₂	Área bajo la curva R ₂	Concentración (g)R ₃	Área bajo la curva R ₃	Media (Cont.)	Media (Área)
0.3	0.2999	210.7587	0.2999	215.0106	0.2999	231.9273	0.300	219.2322
0.2	0.2013	196.5074	0.1994	196.7737	0.1993	211.45682	0.200	201.5793
0.1	0.1012	154.6331	0.0999	150.0773	0.1009	162.72246	0.101	155.8110
0.09	0.0892	144.0594	0.0900	141.2161	0.0904	158.65875	0.090	147.9781
0.07	0.0693	123.4095	0.0699	125.1804	0.0683	118.87961	0.069	122.4898
0.05	0.0500	65.4229	0.0498	83.8360	0.0492	62.10978	0.050	70.4562
0.03	0.0340	41.8601	0.0301	34.8594	0.0297	32.17914	0.031	36.2995
0.01	0.0108	11.9999	0.0102	9.0276	0.0104	4.95718	0.010	8.6615