

# **Efecto de las radiaciones en la cinética de degradación de películas antibacteriales de quitosana**

**Proyecto presentado por:**

**Dra. Santos Adriana Martel Estrada.**  
Universidad Autónoma de Ciudad Juárez

## **Participantes del proyecto**

Santos Adriana Martel Estrada	Responsable, IADA UACJ
Elí Santos Rodríguez	Participante, MCTP UNACH
Imelda Olivas Armendáriz	Participante, IIT UACJ
Porfirio Peinado Coronado	Participante, IADA UACJ

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El quitosano es uno de los polímeros naturales más utilizados en el área de ciencias de los biomateriales, debido a sus propiedades biológicas únicas y a su fácil manejo para la elaboración de andamios celulares, biogeles y películas plásticas. Aun con la gran cantidad de estudios encontrados sobre las películas plásticas de quitosano; se tiene la necesidad de mejorar sus propiedades biológicas y fisicoquímicas, por lo cual se pueden incorporar y evaluar diferentes sustancias.

## 2. JUSTIFICACIÓN

El quitosano es un potente candidato para la fabricación de películas plásticas, debido a la facilidad en la elaboración y a sus propiedades biológicas de regeneración celular, biocompatibilidad, bioadhesividad, antimicrobianas y de cicatrización. Este tipo de películas plásticas pueden ser mejoradas, añadiendo Mimosa Tenuiflora como ingrediente activo para potencial el efecto regenerativo y antimicrobiano del biomaterial; aumentando así las posibilidades de una mejor curación y cicatrización de la piel. Con de fin de conocer la eficacia de las propiedades de la Mimosa Tenuiflora acompañado con un biopolímero. De la misma forma, las nanopartículas de zinc han probado su efectividad para mejorar las propiedades antibacteriales de diferentes polímeros, por lo que se pretende evaluar esta película.

## 3. MARCO TEÓRICO

### 3.1. Nanopartículas de zinc

El óxido de zinc es un material único que exhibe propiedades semiconductoras y propiedades piezoeléctricas duales. Las nanoestructuras de este material han sido utilizadas en aplicaciones novedosas en optoelectrónica, sensores, transductores y ciencias biomédicas (Zhong Lin, 2004). Por otro lado, las nanopartículas de óxido de metal son reconocidas como agentes bactericidas efectivos (Basha, Lakshmi, & Kumari, 2016).

### 3.2. Quitosano

El quitosano es un polisacárido [ $\alpha$  (1-4)2-amino 2-desoxi  $\beta$ -D glucano] obtenido por desacetilación de la quitina [(1-4)2-acetamido 2-desoxi  $\beta$ -D glucano], un producto de desechos de mariscos de la industria (conchas de los crustáceos, la cutícula y pared celular de insecto de los hongos), que se ha estudiado ampliamente como un biomaterial y como excipiente farmacéutico en formulaciones de fármacos (Amidi, 2010).

El quitosano es insoluble en agua a pH neutro, pero en condiciones ligeramente ácidas (pH<5) es soluble debido a la protonación de los grupos amino. Este polímero soluble, catiónico interactúa con las membranas celulares, así mismo aumenta la permeabilidad paracelular de los forros de células (Anbinder, Macchi, Amalvy, & Somoza, 2016). Los grupos primarios de amina, así como los hidroxilos del quitosano permiten derivatización química por la cual las propiedades de este polímero pueden modularse y ajustarse a la aplicación deseada. Esto ha resultado en una gran variedad de derivados de quitosano con diferentes propiedades físicas y biológicas, como la solubilidad, potenciación de la permeación, su uso como adyuvante, entre otros. Los cuales han sido estudiados para las formulaciones terapéuticas macromoleculares que mejoran la absorción (péptidos, proteínas terapéuticas y los antígenos, así como ADN de plásmido) y para atacar a los sistemas con la preparación de fármaco en partículas (van der Lubben, Verhoef, Borchard, & Junginger, 2001)

El quitosano se muestra prometedor para el uso seguro en productos para la salud, se puede encontrar en distintas formas que difieren en el tamaño (peso molecular medio; MW) y el grado de desacetilación (DD) (Kean & Thanou, 2010).

Un aspecto importante en el uso de polímeros como los sistemas de administración de fármacos es su destino metabólico en el cuerpo o la biodegradación, debe tener un adecuado MW para el aclaramiento renal. Si el tamaño del polímero administrado es mayor, éste debe someterse a la degradación. La biodegradación (química enzimática) proporcionaría fragmentos adecuados para la depuración renal (Kean & Thanou, 2010)

Se han propuesto tres mecanismos como una explicación a las propiedades antimicrobianas del quitosano (Martínez-Camacho et al., 2013). En la primera, las cargas positivas presentes en la cadena polimérica de quitosano, su grupo amino interactúa con las cargas negativas de los residuos de macromoléculas (lipopolisacáridos y proteínas) en las membranas de las células microbianas, interfiriendo con el intercambio de nutrientes entre el exterior y el interior de la célula. Estas cargas también pueden competir con el calcio para los sitios electronegativos en la membrana, lo que compromete su integridad, causando la liberación de material intracelular resultando en la muerte celular (Martínez-Camacho et al., 2010).

El segundo mecanismo propone que el quitosano actúa como un agente quelante, la creación de compuestos de trazas de metales esenciales para la célula. El tercer mecanismo establece que el quitosano de bajo peso molecular es capaz de entrar al núcleo de la misma célula e interactuar con el ADN, lo que interfiere con la síntesis de ARN mensajero, que afecta a la síntesis de proteínas y la inhibición de la acción de diversas enzimas (Martínez-Camacho et al., 2010).

### 3.3. *Mimosa tenuiflora*.

*Mimosa tenuiflora* (Willd). Poret, conocido tradicionalmente como “tepescohuite”, es un arbusto indeciduo perenne de la familia *Mimosaceae*, ampliamente extendido en América Central y del sur. De acuerdo con la etnomedicina tradicional mexicana el material de corteza seca y en polvo se aplica directamente a las lesiones de la piel, o como extractos acuosos. Sin embargo, la información de menor importancia es disponible sobre la bioactividad de los compuestos aislados. Los altos contenidos de saponinas y taninos en el material de la corteza se dice que son los responsables de los posibles efectos de curación de heridas, debido a los antimicrobianos, anti-inflamatoria y los efectos cicatrizantes (Zippel, Deters, & Hensel, 2009).

En México, *M. tenuiflora* es una planta con actividad osteogénica, que puede ser fácilmente adquirida, es accesible y económico. La corteza de *M. tenuiflora* se ha utilizado durante décadas como un remedio en el tratamiento de heridas y quemaduras de la piel debido a su capacidad de curar, anti-inflamación y actividad antimicrobiana. La acción de los componentes de la corteza en el tejido epitelial han demostrado su potencial para estimular la proliferación de fibroblastos y células epiteliales. Debido a los compuestos orgánicos que contiene, es posible que esta es la razón de su reacción al tejido de la piel (Rivera-Arce et al., 2007).

Debido a que los fibroblastos y osteoblastos son las líneas celulares similares, *M. tenuiflora* podría activar la proliferación de osteoblastos, como lo hace con los fibroblastos. La incorporación de corteza de *M. tenuiflora* al quitosano se podría obtener un material compuesto que contiene las propiedades beneficiosas de los dos componentes (Martel-Estrada et al., 2014).

De acuerdo a todo lo anterior, es posible considerar que los nanodiamantes unidos a moléculas de arabinogalactanos de mimosa tenuiflora podrán tener actividad citotóxica en el tratamiento de cáncer. Por este motivo, la presente investigación tiene como finalidad de evaluación de la toxicidad de capsulas de quitosana recubriendo arabinogalactanos de Mimosa Tenuiflora con nanodiamantes.

#### 4. OBJETIVO GENERAL

Analizar los efectos de la radiación en la cinética de degradación de películas de quitosano/mimosa tenuiflora/óxido de zinc.

#### 5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar las películas de quitosano/mimosa tenuiflora/óxido de zinc.
- Someter a diferentes dosis de radiación UV en las películas de quitosano/mimosa tenuiflora/óxido de zinc.
- Caracterización de las películas por SEM, FTIR y DRX.
- Evaluar los efectos de la radiación en la cinética de degradación de películas de quitosano/mimosa tenuiflora/óxido de zinc.

#### 6. METAS

- Obtención de películas de quitosano/mimosa tenuiflora/óxido de zinc.
- Participación en un congreso internacional para presentar los resultados de la investigación

#### 7. METODOLOGÍA

### 7.1. Preparación de solución base de quitosano/Mimosa.

Para la elaboración de las películas se prepararon soluciones de quitosano/Mimosa al 1% p/v en una solución al 1% v/v de ácido acético, con un 1 ml de glicerol. Los porcentajes utilizados serán los siguientes: 90-10%, 80-20% y 70-30% de quitosano y Mimosa respectivamente. A estas películas también se les agregó un 0.5 % de óxido de zinc.

Para la formación de películas, se usaron cajas petri de 10 cm de diámetro, las cuales se lavaron con abundante agua y desengrasaron con acetona. A cada recipiente se le agregó 25 mL de las soluciones de quitosano/Mimosa con glicerina al 1% y 0.5 % de óxido de zinc. Luego se dejaron a temperatura ambiente en una campana de extracción; y por evaporación del solvente se formaron las películas.

### 7.2. Neutralización de las películas.

Para la neutralización de las películas se utilizó alcohol etílico al 99%, sumergiéndolas durante 10 min, y dejándolas secar.

### 7.3. Radiación de las películas

Las películas fueron sometidas a 30 min y 60 min de radiación UV en una campana de flujo laminar.

### 7.4. Caracterización de las películas plásticas

#### 7.4.1. Morfología de la superficie: Microscopía óptica

La morfología de las películas secas se estudió utilizando microscopía óptica a distintas magnificaciones. Las películas plásticas se cortaron y se montaron en portaobjetos de cristal. Las muestras se analizaron sin preparación para ver la rugosidad de la superficie y la distribución de la mimosa tenuiflora en la película de quitosano.

#### 7.4.2. Caracterización con FTIR

Con el fin de observar los grupos funcionales de la composición de las películas plásticas de quitosano/Mimosa, se analizaron por FT-IR (Nicolet 6700) en la región de IR medio. Las películas fueron cortadas y montadas en un adaptador de ATR con cristal de Germanio para el análisis.

#### 7.4.3. Caracterización por DRX

El análisis de cristalinidad de las muestras fue realizada en un difractor de rayos X (PANanalytical X'pert PRO) con ángulos  $2\theta=10^\circ$  y  $2\theta=80^\circ$  con un ángulo de apertura de  $2\theta=0.02^\circ$  en modo continuo.

#### 7.4.4. Degradación hidrolítica

Se realizará una solución de PBS disolviendo 80 g de cloruro de sodio NaCl, 2 g de cloruro de potasio KCl, 14.4 g de potasio disodico  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  y 2.4 g de fosfato de potasio monobásico  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , en 1000 ml de agua destilada.

Las películas se cortaron en cuadros de aproximadamente 1cmx1cm y se secaron a vacío durante 3 días, posteriormente fueron pesadas para registrar el peso inicial. La degradación hidrolítica in vitro se desarrollo en tubos para centrifuga (Corning) estériles de 20ml, con 5ml una solución amortiguadora de fosfatos a un pH de 7.4; Las películas fueron incubadas a  $37^\circ\text{C}$  a 30, 60, 120 y 180 min. Después de cada periodo de tiempo, las muestras se dejaron secar durante 5 días en desecador y la degradación fue evaluada con la pérdida de peso de la muestra.

## 8. IMPACTO DEL PROYECTO

Este proyecto permitirá continuar con la investigación que se ha venido desarrollando conjuntamente con el MCTP de la UNACH, pero principalmente fortalecerá el grupo del cuerpo académico de Ingeniería Tisular y Medicina Regenerativa para que tengan la formación y experiencia necesaria para operar el modelo educativo y desarrollar las actividades de docencia e investigación y difusión de acuerdo al proyecto académico de los departamentos que integran a estas instituciones. Y por último fortalecerá el conocimiento adquirido para poder desarrollar biomateriales que permitan mejorar la calidad de vida de las personas que padezcan cáncer de mama a través de investigación original, actual y de alto impacto involucrando estudiantes para formación de recursos humanos y fortalecimiento de los programas académicos.

## 9. Resultados y discusión

### 9.1. Estudio de morfología por microscopía óptica

Durante el estudio de morfología se optó por el uso de microscopía óptica para analizar la distribución de la corteza de *Mimosa Tenuiflora* en la superficie de la película, así como cambios en la rugosidad de la misma debido al proceso de radiación de la película y la degradación a la que fue sometida.

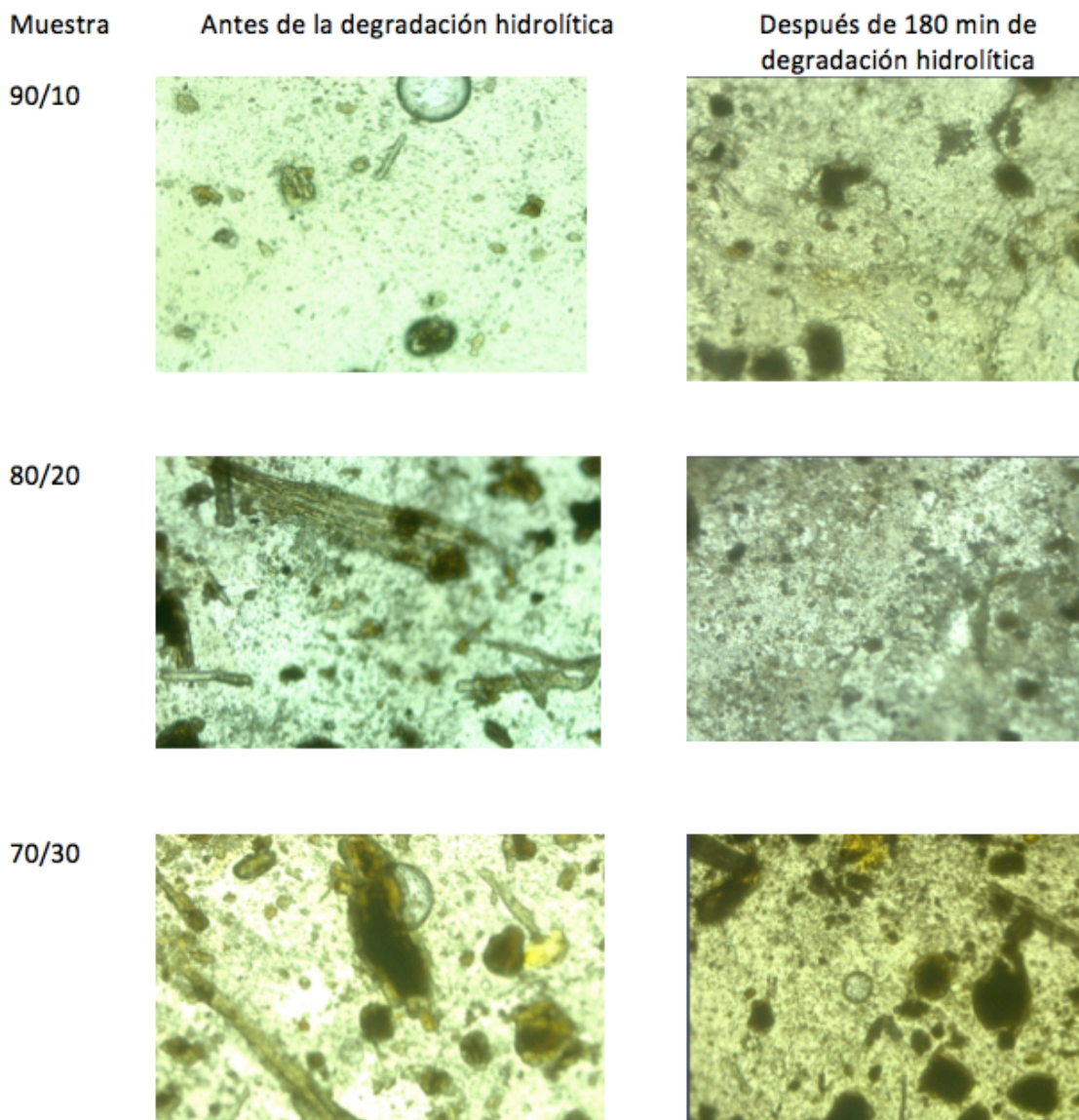


Figura 1. Morfología de las muestras sometidas a radiación por 30 min, antes y después de un proceso de degradación hidrolítica por 180 min a 5X de magnificación.



Como puede ser apreciado en las imágenes de microscopía de la Figura 1, la distribución de la corteza de *Mimosa Tenuiflora* no es homogénea, tendiendo a mostrar grandes fragmentos de alrededor de 20  $\mu\text{m}$  de largo. No obstante, después de que las películas son sometidas a un proceso de biodegradación, los grandes fragmentos de corteza tienden a desaparecer de la película, mostrando polvos menores a 1  $\mu\text{m}$  de espesor en todas las composiciones analizadas. Esto sugiere que la distribución de la *Mimosa Tenuiflora* fue afectada en las películas, fragmentándola. En general, la quitosana no mostró modificaciones evidentes.

## 9.2. Estudio de infrarrojo por transformada de Fourier

La espectroscopía por infrarrojo es una técnica basada en las vibraciones de los átomos de una molécula. Un espectro de infrarrojo es obtenido comúnmente pasando radiación infrarroja a través de una muestra y determinando qué fracción de la radiación incidente es absorbida a una energía particular. La energía a la cual cualquier pico de un espectro de absorción aparece corresponde a la frecuencia de una vibración de una parte de una molécula de la muestra. Para que una molécula muestre absorciones de infrarrojo debe poseer características específicas, por ejemplo un momento de dipolo eléctrico de la molécula debe cambiar durante la vibración, y cuanto más grande sea este cambio, más intensa será la banda de absorción. Esta es la regla de selección para la espectroscopía de infrarrojo. Una molécula puede absorber radiación únicamente cuando la radiación de infrarrojo tiene la misma frecuencia de uno de los modos fundamentales de vibración de la molécula. Las vibraciones pueden involucrar un cambio en la longitud de la cadena (estiramiento) o en el ángulo de enlace (doblamiento o flexión). Algunos enlaces pueden estirarse en fase (estiramiento simétrico) o fuera de fase (estiramiento asimétrico) (Stuart, 2004).

Cuando dos sustancias son mezcladas, es posible comparar si fue producida una mezcla física o una interacción química, analizando los cambios en los picos característicos de una sustancia en el espectro IR (Sutton, et al., 2006; Bourtoom & Chinnan, 2008; Choi, et al., 2008; Li, et al., 2008; Sokker, et al., 2008; Jevtic, et al., 2009). Estos cambios pueden resultar en la aparición de nuevos picos o en el desplazamiento de los picos existentes (Liu & Bai, 2005).

En el espectro de la Figura 2 se observan las bandas de los grupos funcionales característicos de las partículas de polvo de corteza de *M. tenuiflora*, se percibe la banda del grupo amina primaria (vibración de flexión en tijera) a  $1649\text{ cm}^{-1}$ , y una amina secundaria (vibración de flexión) a  $1512\text{ cm}^{-1}$ . Se puede apreciar la banda del grupo  $\text{CH}_2$  de los carbohidratos (vibración de flexión) a  $1390\text{ cm}^{-1}$ .

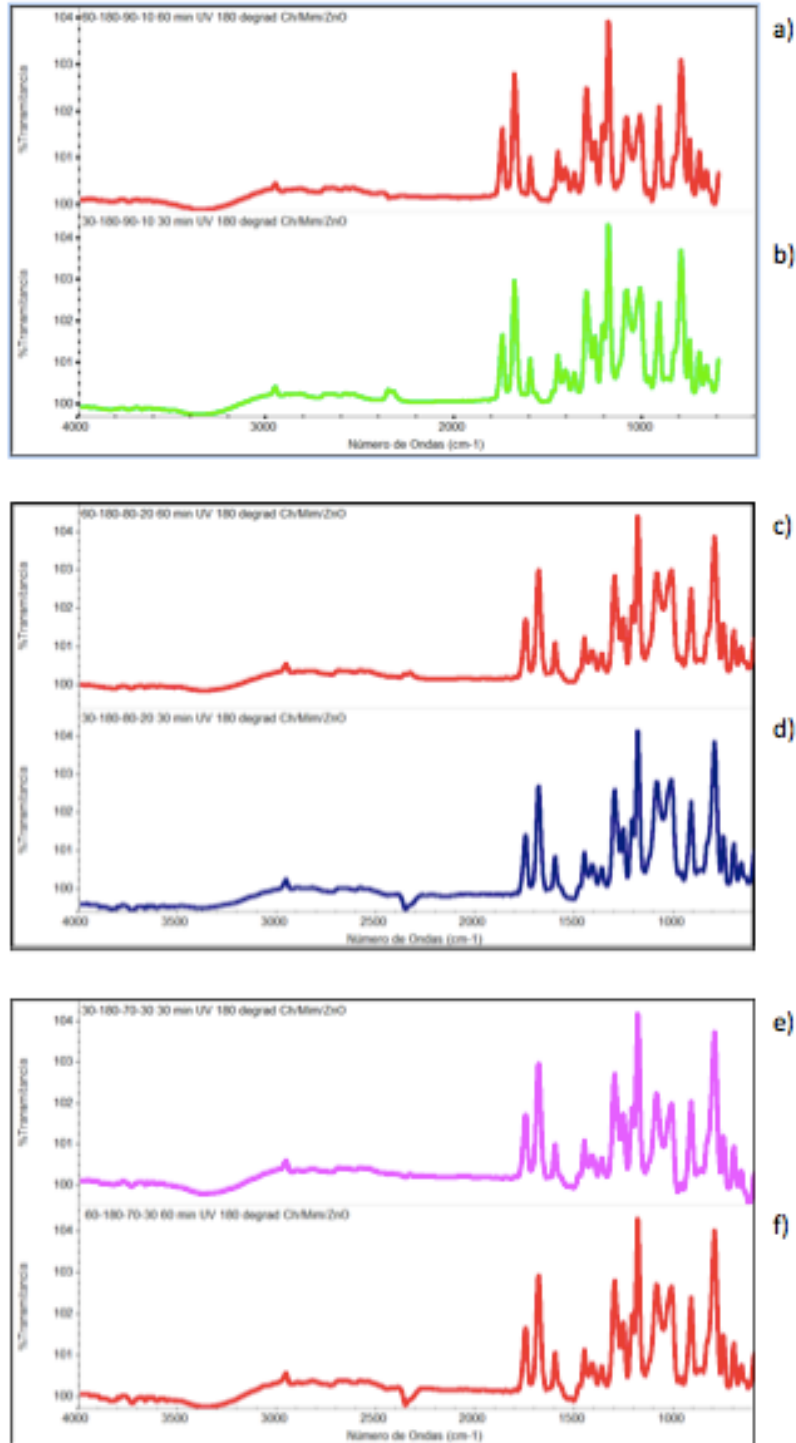


Figura 2. Espectros de infrarrojo por transformada de Fourier para los compositos a) 90-10 con 60 min de radiación UV, b) 90-10 con 30 min de radiación UV, c) 80-20 con 60 min de radiación UV, d) 80-20 con 30 min de radiación UV, e) 70-30 con 30 min de radiación UV y f) 90-10 con 60 min de radiación UV.

En el espectro mostrado en la Figura 2 se observan también las bandas de los grupos funcionales característicos de la molécula de quitosano, que se traslapa con el pico de amina primaria de la Mimosa Tenuiflora banda del grupo amina primaria  $\text{-NH}_2$  (vibración de flexión en tijera). La amina secundaria de N-acetilglucosamina se observa a  $893\text{ cm}^{-1}$  (vibración de flexión, sin ningún desplazamiento debido a la degradación). Se pudo observar una banda ancha del grupo OH primario (tensión H-enlazado) a  $3365\text{ cm}^{-1}$  y a  $1149\text{ cm}^{-1}$ . Por otro lado, uno de los grupos evidentes del óxido de zinc puede ser apreciado alrededor de  $436\text{ cm}^{-1}$ , en su vibración de estiramiento. No obstante, debido al modo de infrarrojo utilizado no fue posible apreciarlo. Sin embargo, tampoco se aprecia una interacción química que se evidencia en la quitosana o en la mimosa tenuiflora. En general, se puede apreciar que a los tiempos de degradación medidos la integridad de los grupos funcionales de la quitosana permanecen intactos, lo que sugiere que durante el tiempo de degradación considerado, no hay rompimiento de los enlaces que integran al material compuesto.

### 9.3. Estudio de cristalinidad de las muestras

Las Figuras 3 y 4 muestran los patrones de difracción por rayos X de los materiales compuestos expuestos a 30 min y 180 min de biodegradación, respectivamente. Las figuras permite ver las características amorfas de la quitosana con un pico alrededor de  $2\theta=21.70^\circ$ . Este pico esta en acuerdo con otros resultados publicados (Majd, et al., 2008; Souza, et al., 2009). La reflexión a  $20^\circ$  corresponde al latice cristalino regular de la quitosana (110) (Souza, et al., 2009). Además, se ha reportado que la disolución de la quitosana en ácido acético causa una disminución en su cristalinidad (Schiffman, et al., 2009), y quizá ocasiona la poca cristalinidad mostrada.

El patrón de difracción correspondiente al ZnO es mostrado en ligeros picos alrededor de  $2\theta=31.7^\circ$  y  $2\theta=34.4^\circ$ , y pertenecen a los planos 100 y 002 respectivamente, como fue reportado previamente por Dinish (2014). Como se puede ver, la cristalinidad de las muestras no fue afectada ni por el proceso de radiación, ni por la biodegradación a cortos tiempos.

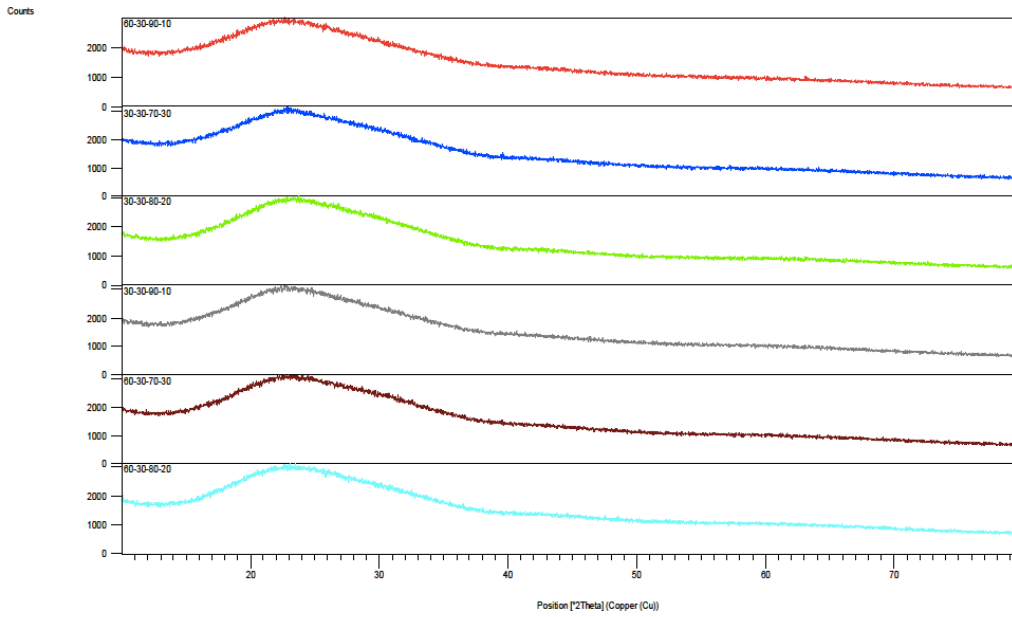


Figura 3. Cristalinidad de las muestras posteriores a una biodegradación de 30 minutos, con diferentes tiempos de radiación UV.

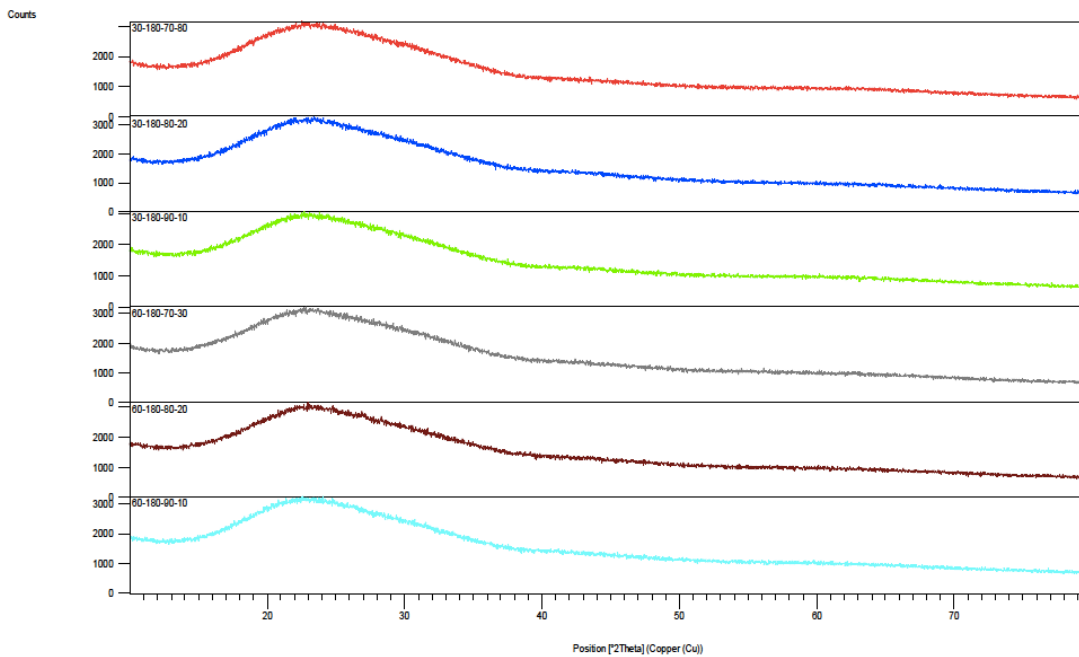


Figura 4. Cristalinidad de las muestras posteriores a una biodegradación de 30 minutos, con diferentes tiempos de radiación UV.

#### 9.4. Estudio de biodegradación

De acuerdo a su habilidad para deteriorarse, los polímeros se clasifican en biodegradables y no biodegradables. Los polímeros biodegradables pueden clasificarse en cuatro categorías principales (Saucedo, 2012):

- 1) Polímeros biodegradables naturales.
- 2) Polímeros biodegradables naturales modificados.
- 3) Materiales compuestos que combinan partículas biodegradables con polímeros sintéticos.
- 4) Polímeros biodegradables sintéticos, como los poliésteres, poliesteramidas y los poliuretanos, entre otros.

Actualmente, los polímeros biodegradables son los materiales de mayor uso en la ingeniería de tejidos, lo cual se debe a que en la elección o diseño para uso biomédico deben tenerse en cuenta las siguientes características que dichos polímeros proporcionan (Saucedo, 2012):

- 1) Propiedades mecánicas que corresponden a la aplicación deseada mientras el tejido cicatriza o se regenera.
- 2) No provocar algún proceso inflamatorio o tóxico.
- 3) Ser absorbidos en el organismo después de cumplir su función.
- 4) Fácil procesamiento.
- 5) Durabilidad aceptable.
- 6) Fácil esterilización.

Los factores que influyen en la velocidad de degradación de estos polímeros son (Galaev y Mattiasson, 1999):

- 1) Las características del polímero: presencia de enlaces químicos susceptibles a la hidrólisis, estereoquímica, hidrofobicidad, peso molecular, cristalinidad, características específicas de la superficie, temperatura de transición vítrea y de fusión, presencia de monómero residual o aditivos, y distribución de la secuencia.
- 2) Las condiciones del medio como: temperatura, humedad y pH

En el uso biomédico se consideran cinco mecanismos básicos de degradación que pueden interactuar entre sí, produciendo un efecto sinérgico: fotodegradación, oxidación mediante aditivos químicos, degradación térmica, degradación hidrolítica y degradación por microorganismos (Park y Bronzino, 2003).

El mecanismo por el cual transcurre el proceso de degradación, implica la participación de diferentes tipos de reacciones químicas: hidrólisis de poliamidas y poliésteres, oxidación-reducción, descarboxilación y reducción de dobles enlaces,

y las que implican la participación de radicales libres. Todas estas reacciones, junto con procesos catalizados enzimáticamente, pueden degradar al polímero mediante un mecanismo de ruptura al azar o por despolimerización de las cadenas constituyentes del mismo (Saucedo, 2012). Al penetrar el agua en una matriz polimérica, se produce la degradación hidrolítica, que es aquella que provoca la ruptura de puentes de hidrógeno intermoleculares, hidratación de las moléculas y la hidrólisis de los enlaces inestables (Olivas et al., 2009).

El proceso de biodegradación conlleva, entonces, la hidrólisis del polímero, la actividad fagocítica de macrófagos y la actividad lítica de células gigantes de respuesta a cuerpo extraño. Particularmente para el caso de los polímeros empleados en la regeneración tisular, una simple hidrólisis química de los enlaces de las cadenas poliméricas es el mecanismo que inicia la degradación. En la primera fase de este fenómeno, el agua o los fluidos corporales se introducen en el material, atacando los enlaces químicos de algunas partes como las amorfas, provocando la ruptura de las cadenas largas y volviéndolas cortas, originando que el peso molecular disminuya, pero sin que se pierdan por completo las propiedades mecánicas debido a que el material aún conserva regiones cristalinas. Si el ataque a los enlaces continúa, seguirá dándose la disminución de peso molecular y la pérdida parcial de las propiedades físicas, por eso es importante realizar pruebas de deterioro con respecto a la tiempo, para evaluar el deterioro del polímero y tratar de predecir su degradación, adecuándolo a las necesidades que se presenten (Vert, 1992).

La segunda fase se denomina erosión, debida al ataque enzimático y a la adsorción de los fragmentos, dando como resultado la pérdida de la masa polimérica, ya que la velocidad con que los fluidos penetran en el material excede a aquella en la cual el polímero es convertido en fragmentos solubles en agua (Park y Bronzino, 2003).

La mayoría de los polímeros sintéticos biodegradables contienen enlaces hidrolizables a lo largo de las cadenas. Por ejemplo, aquellos que contienen grupos amida, enamida, urea, uretano o éster. Estos enlaces son susceptibles a la degradación por microorganismos y enzimas hidrolíticas. Las enzimas proteolíticas catalizan la hidrólisis de los enlaces peptídicos adyacentes a grupos sustituyentes, por lo que si en el polímero existen diferentes grupos laterales, como los bencílico, fenílico, hidroxílico y carboxílico, se mejora notablemente la degradación. Por otra parte, es necesario conferir al polímero propiedades hidrofóbicas para asegurar una buena biointegración en el tejido, provocando que las células y las moléculas biológicas puedan adherirse al material e iniciar la regeneración (Park y Bronzino, 2003).

Cuando se considera biopolímeros es importante tener en cuenta que algo que es biodegradable no se traduce necesariamente a ser bioreabsorbible, es decir cómo se degrada y se aleja de su sitio de acción *in vivo*, no necesariamente son eliminados del cuerpo. En contraste, la bioreabsorbilidad es un concepto que refleja la eliminación total de los materiales iniciales y productos extraños y la

degradación de los subproductos (compuestos de bajo peso molecular), sin tener efectos secundarios residuales (Vert, 1992). La degradación o erosión superficial implica la escisión hidrolítica de la cadena principal del polímero solo en la superficie. Esta situación surge cuando la tasa de escisión de la cadena hidrolítica y la producción de oligómeros y monómeros se difunden en el entorno más rápido que la velocidad de la intrusión de agua en el polímero. La degradación se produce cuando el agua penetra la mayor parte del polímero causando la hidrólisis a lo largo de toda la matriz del polímero, si las moléculas de agua se difunden en el polímero, la erosión se producirá gradualmente y se tendría un equilibrio para esta reacción de difusión; si este equilibrio se altera, el mecanismo de degradación interna podría provocar auto catálisis, a través del grupo terminal carboxilo e hidroxilo de los subproductos (Bergsman, 1995).

En este sentido, los polímeros degradables son los materiales más prometedores para restaurar el tejido. Los polímeros biodegradables presentan gran interés en el sector biomédico debido a sus dos características principales: a) la posibilidad de que el material se elimine de forma natural una vez que ha terminado su función y b) la mayor severidad en los requerimientos de seguridad y biocompatibilidad que presentan los biomateriales (Duan et al., 2006).

El grado de degradación se puede determinar normalmente por la observación de crecimiento de colonias de microorganismos, el consumo de oxígeno, el aumento de la cuenta de células y la producción de dióxido de carbono (Seymour *et al.*, 1995).

Según Navarro, (2005), un soporte debe ser: biocompatible y sus productos de degradación deben ser no-citotóxicos, biodegradable, y a su vez la velocidad de degradación debe adecuarse a la velocidad de formación del nuevo tejido, poseer un grado elevado de porosidad interconectada, formada por una variedad de macro y microporos, de forma tal que permita el crecimiento celular en su interior, así como la vascularización del tejido y el transporte de nutrientes. También debe poseer propiedades mecánicas suficientes para regenerar el tejido óseo, en zonas donde deban soportarse cargas y además el material debe mantener su integridad estructural al menos durante el período de neoformación ósea.

En el caso del presente estudio se encontró que el material compuesto es más susceptible a la degradación en la medida en que se aumenta la cantidad de *Mimosa Tenuiflora* en el mismo, tal y como lo muestra la Figura 5.

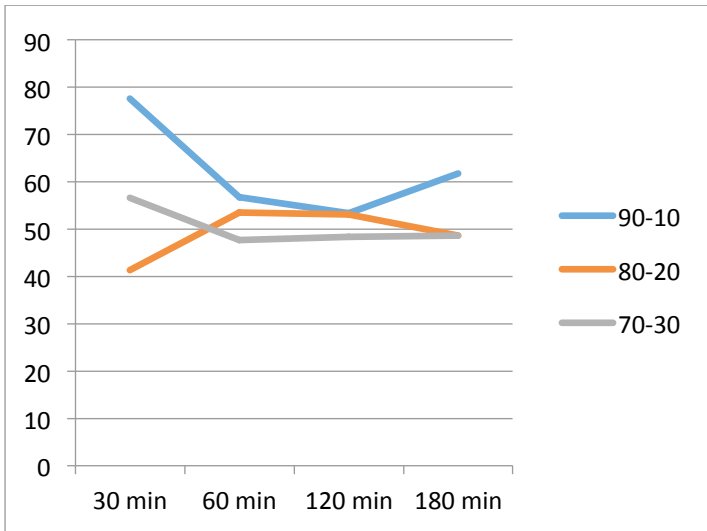


Figura 5. Biodegradación de los materiales compuestos Quitosana/Mimosa Tenuiflora radiados por 30 min con radiación UV.

No obstante, esta diferencia entre los materiales compuestos no mostró ser significativa cuando el estudio de biodegradación fue realizado con materiales radiados por 60 min, como lo muestra la Figura 6.

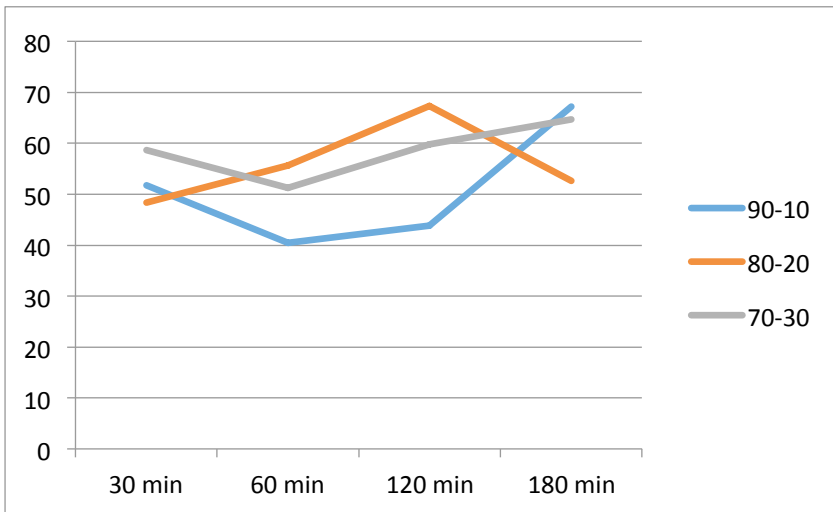


Figura 6. Biodegradación de los materiales compuestos Quitosana/Mimosa Tenuiflora radiados por 60 min con radiación UV.

Anteriormente fue mostrado por Martel (2014), que el comportamiento de las muestras bajo radiación puede ser explicado como a continuación se explica. La radiación actúa sobre las cadenas del material compuesto directamente,



rompiendo los enlaces 1,4 glicosídicos de la quitosana, formando grupos carbonilos y carboxílicos (Figura 7). Aunque este comportamiento se da con dosis de radiación de alta energía, se puede ver en ambas figuras que si bien es cierto, a 60 minutos de radiación se muestra que no hay una diferencia significativa con el porcentaje de quitosana, esto se podría deberse a que en la presencia del óxido de zinc, el material realiza un entrecruzamiento de cadenas, que le permite mayor estabilidad a la degradación hidrolítica (Figura 8).

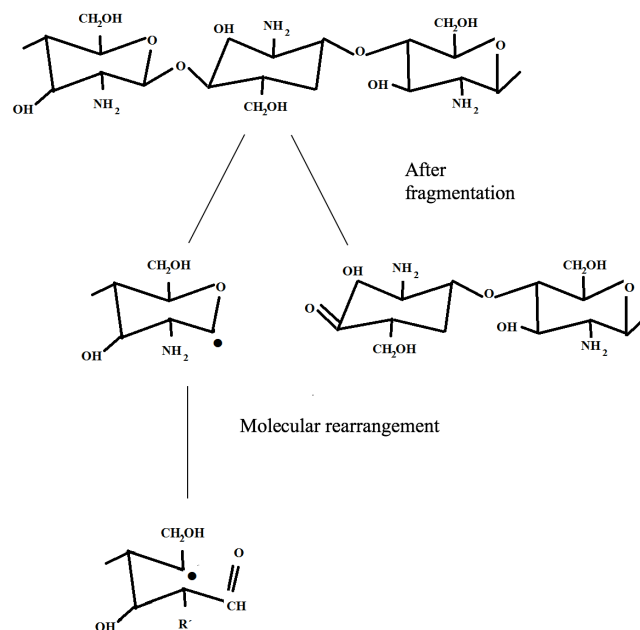


Figura 7. Fragmentación molecular de la quitosana debido a la radiación (Fuente: Martel, 2014)

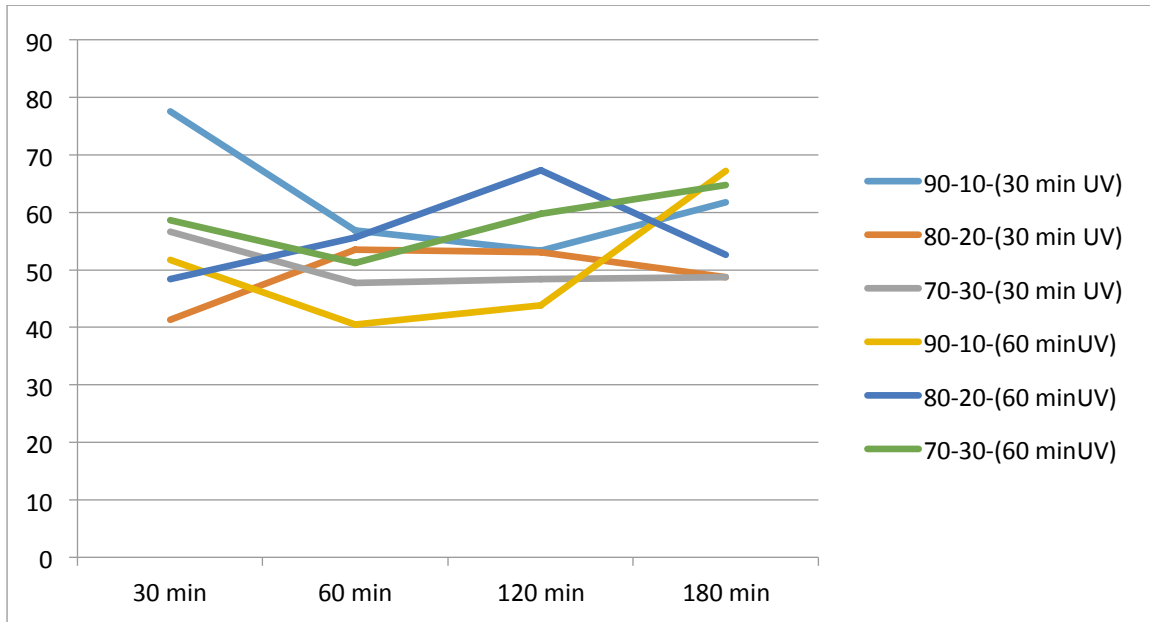


Figura 8. Degradación de los materiales compuestos radiados con UV por 30 y 60 minutos.

Por otro lado, el quitosano al ser un material muy soluble, se degrada de forma muy lenta en los fluidos fisiológicos sin estimular la formación de tejido. A diferencia de un material que tiene un grado de solubilidad adecuado, éste se puede reabsorber activamente, donde las células interactúan con el material y permiten el proceso de regeneración ósea de una manera lo más parecida a lo que sería el mecanismo natural o biológico del hueso. La solubilidad puede ser ajustada modificando proporciones de los modificadores de red, dentro de un amplio rango de composiciones, de forma continua (Navarro, 2005).

Es importante destacar que el quitosano puede ser degradado por enzimas que hidrolizan la glucosamina-glucosamina, la glucosamina-N-acetil-glucosamina y los enlaces N-acetil-glucosamina-N-acetil-glucosamina. Se han realizado ensayos de caracterización química (*In vitro*) que determinaron la degradación del quitosano utilizando viscosimetría y cromatografía de permeación de gel para evaluar una disminución del peso molecular promedio (Mw). Se encontró que la lisozima sirve para degradar eficientemente el quitosano, el 50% de quitosano acetilado tuvo el 66% de pérdida de la viscosidad después de una incubación de 4 horas *in vitro* a pH 5.5 (0,1 M de fosfato tampón, 0,2 M NaCl, 37 ° C). Esta degradación pareció ser dependiente del grado de acetilación con la degradación del quitosano acetilado (más como quitinas) que muestra la tasa más rápida (Kean, 2010).

Una serie de proteasas se han encontrado para degradar las películas de quitosano en diferentes grados, la más efectiva ha sido la leucina aminopeptidasa, degradando la película un 38% en 30 días. Se ha demostrado también que la pectinasa isozima de *Aspergillus niger* digiere el quitosano a un pH bajo, proporcionando quitosanos de Mw bajos (Neamark et al., 2006).

El quitosano puede ser degradado enzimáticamente por quitinasas y quitosanasas (Tracey, 1995). Se ha reportado por Zhang y Neau (2001), que una preparación comercial de emulsina de almendra con  $\beta$ -glucosidasa posee actividad quitobiosa, y puede hidrolizar sustratos de quitina debido a una quitinasa presente en la preparación de la enzima. Esta preparación  $\beta$ -glucosidasa fue utilizada para investigar la actividad hidrolítica en cinco muestras de quitosano con diferente peso molecular y grado de desacetilación. El grado de desacetilación y peso molecular de las muestras de quitosano se determinó usando un dicroísmo circular y un método viscosimétrico respectivamente. Se prepararon soluciones de quitosano en un buffer de acetato pH 5.0, usando los distintos grados de viscosidad del quitosano. La viscosidad específica, medida después de la adición de  $\beta$ -glucosidasa a las soluciones anteriores, se redujo drásticamente a través del tiempo en comparación a la respectiva mezcla de control sin enzima. Los resultados mostraron que un alto peso molecular y un alto grado de desacetilación poseído por el quitosano, conllevan a una menor afinidad por la enzima y una velocidad de degradación más lenta. Entonces, velocidades rápidas de degradación, se esperan con pesos moleculares bajos y bajos grados de desacetilación del quitosano (Zhang y Neau, 2001).

## 10. BIBLIOGRAFÍA

- Amidi, M., Hennink, W. (2010). Chitosan-based formulations of drugs, imaging agents and biotherapeutics. Preface. *Adv Drug Deliv Rev*, 62(1), 1-2.
- Anbinder, P., Macchi, C., Amalvy, J., & Somoza, A. (2016). Chitosan-graft-poly(n-butyl acrylate) copolymer: Synthesis and characterization of a natural/synthetic hybrid material. *Carbohydr Polym*, 145, 86-94. doi:10.1016/j.carbpol.2016.02.072
- Basha, S. K., Lakshmi, K. V., & Kumari, V. S. (2016). Ammonia sensor and antibacterial activities of green zinc oxide nanoparticles. *Sensing and Bio-Sensing Research*, 10, 34-40. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.sbsr.2016.08.007>
- Dinesh, V. (2014). Plasmon-mediated highly enhanced photocatalytic degradation of industrial textile effluent dyes using hybrid ZnO Ag Core shell nanorods. RSC Advances. The Royal Society of Chemistry. Disponible el 1 de abril de 2018 en <http://www.rsc.org/suppdata/ra/c4/c4ra09405k/c4ra09405k1.pdf>
- Kean, T., & Thanou, M. (2010). Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. *Adv Drug Deliv Rev*, 62(1), 3-11. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2009.09.004>
- Martel-Estrada, S. A., Olivas-Armendáriz, I., Santos-Rodríguez, E., Martínez-Pérez, C. A., García-Casillas, P. E., Hernández-Paz, J., . . . Chapa-González, C. (2014). Evaluation of in vitro bioactivity of Chitosan/Mimosa tenuiflora composites. *Materials Letters*, 119, 146-149. doi:10.1016/j.matlet.2014.01.004
- Martínez-Camacho, A. P., Cortez-Rocha, M. O., Ezquerro-Brauer, J. M., Graciano-Verdugo, A. Z., Rodríguez-Félix, F., Castillo-Ortega, M. M., . . . Plascencia-Jatomea, M. (2010). Chitosan composite films: Thermal, structural, mechanical and antifungal properties. *Carbohydrate Polymers*, 82(2), 305-315. doi:10.1016/j.carbpol.2010.04.069
- Martinez-Camacho, A. P., Cortez-Rocha, M. O., Graciano-Verdugo, A. Z., Rodriguez-Felix, F., Castillo-Ortega, M. M., Burgos-Hernandez, A., . . . Plascencia-Jatomea, M. (2013). Extruded films of blended chitosan, low density polyethylene and ethylene acrylic acid. *Carbohydr Polym*, 91(2), 666-674. doi:10.1016/j.carbpol.2012.08.076
- Rivera-Arce, E., Gattuso, M., Alvarado, R., Zarate, E., Aguero, J., Fera, I., & Lozoya, X. (2007). Pharmacognostical studies of the plant drug Mimosae tenuiflorae cortex. *J Ethnopharmacol*, 113(3), 400-408. doi:10.1016/j.jep.2007.06.023
- van der Lubben, I. M., Verhoef, J. C., Borchard, G., & Junginger, H. E. (2001). Chitosan and its derivatives in mucosal drug and vaccine delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(3), 201-207. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0928-0987\(01\)00172-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0928-0987(01)00172-5)
- Zhong Lin, W. (2004). Zinc oxide nanostructures: growth, properties and applications. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 16(25), R829.
- Zippel, J., Deters, A., & Hensel, A. (2009). Arabinogalactans from Mimosa tenuiflora (Willd.) Poiret bark as active principles for wound-healing properties: specific enhancement of dermal fibroblast activity and minor influence on HaCaT keratinocytes. *J Ethnopharmacol*, 124(3), 391-396. doi:10.1016/j.jep.2009.05.034