



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

---

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**

**PROGRAMA DE POSGRADO EN  
CIENCIAS EN BIOPROCESOS**

**EVALUACIÓN DE MATRICES  
POLIMÉRICAS ESTRUCTURADAS A  
BASE DE QUITOSANO/METFORMINA  
PARA LA REGENERACIÓN DE TEJIDOS**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
**MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOPROCESOS**

PRESENTA:

**I.B.P. VÁZQUEZ AYALA LAURA**

DIRECTOR DE TESIS:

**DRA. ALMA GABRIELA PALESTINO ESCOBEDO**

CO-DIRECTOR DE TESIS

**DRA. DIANA MARÍA ESCOBAR GARCÍA**

---

SAN LUIS POTOSÍ, S.L.P.

08 DE AGOSTO DE 2022

**Proyecto realizado en:**

el Laboratorio de Biopolímeros y Nanoestructuras de la Facultad de Ciencias Químicas al igual que en el Laboratorio de Ciencias Básicas de la Facultad de Estomatología de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí y en la sección de Biotecnología del Centro de Investigación en Ciencias de la Salud y Biomedicina.

**Con financiamiento de:**

Proyecto de Ciencia Básica 2017-2018, No. A1-S-31287,  
“Síntesis, caracterización y evaluación de propiedades de  
compositos funcionales de nueva generación”  
Beca-Tesis del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología  
(CONACYT): 1070706

“El programa de Maestría en Ciencias en Bioprocesos de la  
Universidad Autónoma de San Luis Potosí  
Pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC)  
del CONACyT, registro 000588, en el Nivel Maestría (Consolidado)”



Evaluación de matrices poliméricas estructuradas a base de quitosano/metformina para la regeneración de tejidos por Vázquez Ayala Laura se distribuye bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**

**PROGRAMA DE POSGRADO EN  
CIENCIAS EN BIOPROCESOS**

**EVALUACIÓN DE MATRICES  
POLIMÉRICAS ESTRUCTURADAS A  
BASE DE QUITOSANO/METFORMINA  
PARA LA REGENERACIÓN DE TEJIDOS**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
**MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOPROCESOS**

PRESENTA:

**I.B.P. VÁZQUEZ AYALA LAURA**

DIRECTOR DE TESIS:

**DRA. ALMA GABRIELA PALESTINO ESCOBEDO**

CO-DIRECTOR DE TESIS

**DRA. DIANA MARÍA ESCOBAR GARCÍA**

**SINODALES**

**PRESIDENTE:**

**DRA. ALMA GABRIELA PALESTINO ESCOBEDO** \_\_\_\_\_

**SECRETARIO:**

**DRA. DIANA MARÍA ESCOBAR GARCÍA** \_\_\_\_\_

**VOCAL:**

**DR. SERGIO ROSALES MENDOZA** \_\_\_\_\_

**VOCAL**

**DR. AMAURY DE JESÚS POZOS GUILLÉN** \_\_\_\_\_

SAN LUIS POTOSÍ, S. L. P.

08 DE AGOSTO DE 2022



POSGRADO EN CIENCIAS EN BIOPROCESOS  
Tel: 826-23-00 ext. 6485 y 6542

San Luis Potosí, S.L.P.  
Julio 08, 2022

**Comité Académico del Posgrado  
En Ciencias En Bioprocesos  
Facultad de Ciencias Químicas / UASLP  
Presente.\_**

Por medio de la presente comunicamos que la tesis llevada a cabo por la alumna de Maestría IBP. Laura Vázquez Ayala, titulada **“Evaluación de matrices poliméricas estructuradas a base de quitosano/metformina para la regeneración de tejidos”**, ha sido concluida y aprobada por el comité tutorial para dar inicio a los trámites correspondientes para su titulación, la cual tendrá lugar el próximo día 8 de Agosto de 2022 a las 10:00 hrs. en el Auditorio Chico (G203), de la Facultad.

ATENTAMENTE

Dra. Alma Gabriela Palestino Escobedo \_\_\_\_\_  
Director de Tesis

Dra. Diana María Escobar García \_\_\_\_\_  
Co-Director

Dr. Sergio Rosales Mendoza \_\_\_\_\_  
Miembro Comité Tutorial

Dr. Amaury de Jesús Pozos Guillén \_\_\_\_\_  
Miembro Comité Tutorial

[www.uaslp.mx](http://www.uaslp.mx)

Av. Dr. Manuel Nava Núm. 6  
Zona Universitaria • CP 78210  
San Luis Potosí, S.L.P.  
tel. (444) 826 24 40 al 46  
fax (444) 826 23 72

## **Agradecimientos Académicos**

A las Doctoras Alma Gabriela Palestino Escobedo y Diana María Escobar García por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento, por sus consejos y apoyo, así como también por tener toda la paciencia y confianza del mundo para guiarme en el desarrollo de este trabajo de investigación.

A los Doctores Sergio Rosales Mendoza y Amaury de Jesús Pozos Guillén por sus conocimientos e incondicional orientación y apoyo a lo largo de este proyecto.

Por su amabilidad y apoyo técnico al Dr. Fernando Azael Gómez Durán del Laboratorio de Biopolímeros y Nanoestructuras, a la IQ. Olga Dávalos Montoya y a la IQ. Ana Lourdes Rodríguez Villanueva del Laboratorio de Procesamiento de Polímeros.

Al Dr. Fidel Martínez Gutiérrez, al M.V.Z Roberto Torres Ramírez y al personal de apoyo de la Unidad de Biociencias de la Facultad de Ciencias Químicas.

Al Dr. Cuauhtémoc Oros Ovalle, Jefe del departamento de Anatomía Patológica de la Beneficencia Española.

Al Dr. César Manuel del Ángel Olarte por brindarme sus consejos y apoyo durante el tiempo de realización de este proyecto.

Gracias a la Facultad de Ciencias Químicas y al Posgrado en Ciencias en Bioprocesos de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí por proporcionarme los conocimientos necesarios en todo lo referente a mi vida como estudiante posgrado.

## **Agradecimientos Personales**

Gracias a mis padres Ofelia y Martín por ser los principales impulsores de mis sueños, por brindarme la confianza para seguir siempre adelante, gracias por cada consejo y cada palabra de aliento en los momentos más difíciles, por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad, cada uno de mis logros se los debo a ustedes.

Gracias a mi madre que siempre me acompañó en cada larga noche de estudio, así como en cada momento preciso para extenderme su mano y guiarme por el camino correcto, por ser mi cómplice y apoyo en cada aventura.

Gracias a mi padre por escucharme, por sus palabras de aliento, por cuidarme en cada paso y guiar mi vida con energía, por toda su ayuda y por estar cuando más lo necesitaba.

A Manuel por ser mi compañero de vida y de aventuras, por brindarme siempre su amor, apoyo, paciencia y comprensión en todo momento.

A mis compañeros del Laboratorio de Biopolímeros y Nanoestructuras, César, Ashanti, Valeria, Miguel, Azael, Anahí, Abygail, Ileana, Fide y Uriel por su constante apoyo y disposición cuando lo necesite.

A mis amigos Fernanda, Diana, Arianna, Ángel, Edgar, Miriam por su amistad y apoyo moral en todo momento. Gracias a Sofía, María José, Abril, Nicole, Eduardo y en especial a Carlo y Alejandra por apoyarme en las diversas actividades para llevar a cabo este proyecto.

A mis abuelos que desde el cielo me iluminan para seguir adelante con mis proyectos y a toda mi familia por ser parte de mi vida y permitirme ser parte de su orgullo.

## Contenido

Abstract .....	3
Abstract (español).....	4
Artículo enviado .....	5
1. Introduction.....	6
2. Methodology.....	8
2.1 Materials.....	8
2.2 Sponge synthesis.....	8
2.3 Physicochemical characterization .....	9
2.3.1 Infrared spectroscopy (FTIR).....	9
2.3.2 Thermogravimetric analysis (TGA).....	9
2.3.3 Mechanical properties .....	9
2.3.4 Scanning electron microscopy (SEM).....	9
2.3.5 Porosity.....	10
2.3.6 Swelling capacity.....	10
2.3.7 Moisture retention .....	10
2.3.8 Water Vapor Transmission Rate (WVTR).....	11
2.3.9 <i>In vitro</i> degradation .....	11
2.3.10 <i>In vitro</i> release tests .....	12
2.4. Antibacterial activity.....	12
2.5 Biocompatibility assay.....	13
2.5.1 Cell culture and treatment.....	13
2.5.2 Cytotoxicity (qualitative).....	13
2.5.3 Proliferation assay (quantitative).....	14
2.5.4 Hemocompatibility assay .....	14
Sample preparation .....	14
Hemocompatibility evaluation.....	15
Hemolysis test.....	15
2.6 <i>In vivo</i> chronic wound healing tests.....	15
2.6.1 <i>In vivo</i> wound healing.....	15

2.6.2 Histology.....	16
2.7 Statistical analysis .....	17
3. Results and discussion.....	18
3.1 Chemical analysis.....	18
3.2 Chemical composition by thermal degradation.....	23
3.3 Mechanical properties.....	24
3.4 Morphological characterization.....	27
3.5 Porosity.....	29
3.6 Swelling and moisture retention .....	30
3.7 Water vapor transmission rate (WVTR).....	31
3.8 <i>In vitro</i> degradation.....	31
3.9 <i>In vitro</i> release of metformin.....	33
3.10 Antibacterial activity.....	35
3.11 Biocompatibility assay.....	36
3.11.1 Cytotoxicity (qualitative).....	36
3.11.2 Proliferation assay (MTS).....	37
3.11.3 Hemocompatibility assay.....	38
Hemocompatibility.....	38
Hemolysis.....	39
3.12 <i>In vivo</i> chronic wound healing test.....	40
3.12.1 <i>In vivo</i> wound closure.....	40
3.12.2 Histological analysis.....	42
4. Conclusions.....	43
Acknowledgments.....	44
5. References .....	44

## Abstract (español)

El impacto de las heridas crónicas en los diabéticos se considera un problema de salud mundial porque esta condición retrasa el proceso de curación. En este sentido, la fabricación y aplicación de apósitos para heridas durante el proceso de cicatrización es esencial para una recuperación satisfactoria, ya que proporciona un microambiente adecuado para evitar las infecciones de la herida. En este trabajo, se diseñaron esponjas de quitosano para que fueran adecuadas como apósitos para heridas, los materiales se cargaron con metformina, así como con fucoidan y con exopolisacárido *Porphyridium Purpureum* (*P. purpureum*) aprovechando sus propiedades antibacterianas. El FTIR verificó la composición química y el mecanismo de formación de las esponjas de quitosano. Además, se comprobó que los agentes curativos sólo eran absorbidos por la matriz, lo que fue corroborado por TGA. Además, la porosidad, las propiedades de barrera y la degradación *in vitro* se determinaron por gravimetría, resultando una buena porosidad y materiales estables. Finalmente, la liberación de metformina siguió una cinética de primer orden. Las pruebas biológicas confirmaron que los materiales no son citotóxicos, ni hemolíticos y tienen una buena actividad antibacteriana contra *S. aureus*. La cicatrización de heridas *in vivo* demostró que las esponjas de quitosano cargadas con metformina regeneraron el tejido cutáneo tras 21 días de tratamiento, destacando igualmente la tasa de cicatrización proporcionada cuando se añadió el exopolisacárido para promover la regeneración del tejido, lo que también se corroboró con el análisis histológico. Estos resultados hacen que los compuestos de esponja de quitosano sean apósitos prometedores para ser utilizados en el tratamiento de heridas en pies diabéticos.

**Palabras clave:** apósito para heridas, citotoxicidad, diabetes, esponja, hemocompatibilidad, *in vivo*, quitosano.

## Abstract

The impact of chronic wounds on diabetics is considered a world health problem because this condition retards the healing process. In this sense, fabricating and applying wound dressings during the healing process is essential for a successful recovery because it provides an appropriate microenvironment to avoid wound infections. In this work, chitosan sponges were designed to be suitable as wound dressings, the materials were loaded with metformin as well as fucoidan and the exopolysaccharide *Porphyridium. Purpureum* (*P. purpureum*) taking advantage of its antibacterial properties. FTIR verified the chemical composition and mechanism of chitosan sponges' formation. Moreover, the healing agents were found to be only absorbed into the matrix, which was corroborated by TGA. Additionally, the porosity, barrier properties, and in vitro degradation were determined by gravimetry, resulting in good porosity and stable materials. Finally, the release of metformin followed a first-order kinetic. Biological tests confirmed that the materials are not cytotoxic, non-hemolytic, and have good antibacterial activity against *S. aureus*. The *in vivo* wound healing showed that the chitosan sponges loaded with metformin regenerated the skin tissue after 21 days of treatment, highlighting the healing rate provided when exopolysaccharide was added to promote tissue regeneration was also corroborated with the histological analysis. These outcomes make the chitosan sponge composites promising dressings to be used in treating wounds in diabetic feet.

**Keywords:** chitosan, cytotoxicity, diabetes, hemocompatibility, *in vivo*, sponge, wound dressing.