

Desarrollo de un pre-prototipo de la membrana del parche transdérmico reservorio a partir de celulosa bacteriana para la administración de insulina glargina.

Pedro Jaramillo, Andrea

2023

<https://hdl.handle.net/20.500.11777/5700>

<http://repositorio.iberopuebla.mx/licencia.pdf>

Desarrollo de un pre-prototipo de la membrana del parche transdérmico reservorio a partir de celulosa bacteriana para la administración de insulina glargina

Arrieta Hernández Javier (tercer semestre en Ingeniería Civil)¹, Cuautle Ortiz Luis Santiago, (tercer semestre en Ingeniería Biomédica)¹, Pedro Jaramillo Andrea (tercer semestre en Ingeniería Biomédica)¹, Ramírez Rodríguez Rocío (profesor responsable)¹, Mellado Pumarino Ramzi del Angel (profesor asesor)¹ y Romero de la Vega Gregorio (profesor asesor).

¹Universidad Iberoamericana Puebla, San Andrés Cholula, Puebla México.

Resumen

La diabetes mellitus es una de las enfermedades más comunes en México, por lo que se han desarrollado distintas vías de administración de fármacos para apoyar en su control, como las inyecciones o bombas de insulina; aunque estos tratamientos suelen presentar repercusiones físicas y psicológicas en los pacientes. Para evitarlas una opción viable es la administración del fármaco a través de parches transdérmicos, que son dispositivos que se adhieren a la piel y liberan los fármacos al torrente sanguíneo durante un período de tiempo. Este proyecto tiene como objetivo elaborar el pre-prototipo de una membrana a base de celulosa bacteriana (CB) que será utilizada como base en la elaboración de un parche transdérmico reservorio. La CB se obtuvo a partir de biorreactores estáticos y fue sometida a dos procesos de purificación con soluciones de NaClO al 5.4% e NaOH al 20% y una posterior neutralización con Na₃C₆H₅O₇ y CH₃COOH. Posteriormente se realizaron pruebas de DNS (ácido 3,5-dinitrobenzoico), para garantizar su pureza. Se liofilizaron cinco placas CB de 60 g cada una, siendo cada placa diferente en tratamiento y con diferente concentración de aditivo. Con las placas se realizó un modelo para medir la absorción y adsorción de cada muestra a través del método de difusión simple en placa. Las placas constituidas de CB + 0.5% lecitina presentaron los mejores resultados, con un valor de 43.92% de absorción y 56.08% de adsorción, por lo que se concluye que las membranas de CB obtenidas, son viables para ser utilizadas con insulina glargina.

Palabras clave: celulosa bacteriana, difusión simple, insulina, parche transdérmico.

*Autor correspondiente: 195915@iberopuebla.mx

Introducción

Los parches transdérmicos son dispositivos que se adhieren a la piel, con el fin de liberar un fármaco hacia el torrente sanguíneo de manera paulatina durante un periodo de tiempo determinado. Son un medio cómodo y efectivo para administrar fármacos de manera controlada, y su aplicación consiste en colocarlo en determinada parte del cuerpo e intercambiarlo por uno nuevo después del tiempo prescrito por el médico.

Décadas atrás, han existido parches transdérmicos denominados como emplastes medicinales o cataplasmas, los cuales son un tratamiento tópico en forma de pasta para uso calmante, antiinflamatorio o emoliente. De igual modo, se han desarrollado parches transdérmicos desde 1970, siendo el primero de ellos utilizado para el tratamiento de náuseas y vómito gracias a la utilización de escopolamina [1].

Actualmente, se encuentran una gran variedad de fármacos y hormonas dosificados por medio de estas vías de administración, por mencionar algunos; la nitroglicerina (angina de pecho), la clonidina (hipertensión), el etinilestradiol (anticonceptivo), el estrógeno y progestina (anticonceptivo), el fentanilo (analgésico y anestésico), testosterona (hormona esteroidea sexual), entre otros [1].

De acuerdo con Schulmeister [2], existen cuatro diferentes tipos de parches (Fig. 1): a) parche con el medicamento en una sola capa en el adhesivo; b) parche con el

medicamento en múltiples capas en el adhesivo; c) parche transdérmico reservorio y el d) parche matriz [2].

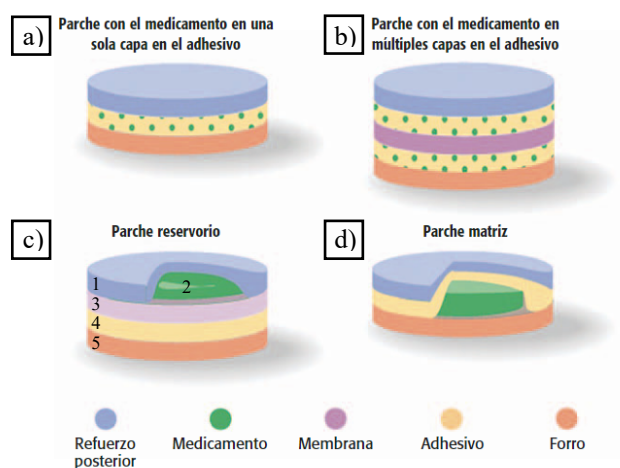


Fig. 1. Tipos de parches transdérmicos editado de [2]

En este trabajo se buscó desarrollar un pre-prototipo de membrana para formar parte de un parche transdérmico reservorio (Fig. 1c), que se encuentra conformado por cinco elementos: 1) refuerzo posterior, el cual protege el parche de daños ambientales, físicos o químicos; 2) el fármaco, 3) la membrana polimérica, encargada de controlar la velocidad de administración; 4) un adhesivo y 5) el forro que se retira antes de su aplicación sobre la piel [2].

La mayoría de los parches transdérmicos están constituidos a base de quitosano, carragenina, poliácridatos, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, siliconas y derivados de celulosa [3].

Debido a esto una opción viable es el uso de CB como base. La celulosa es la molécula natural de mayor abundancia en la naturaleza, debido a que es el principal componente estructural de la pared celular de las plantas. Siendo los recursos maderables de donde la mayor parte de la celulosa se extrae de manera industrial. Asimismo, otra fuente de celulosa en la naturaleza son las bacterias del género *Gluconacetobacter*, en virtud de que son capaces de sintetizarla [4] como una membrana en la superficie de medios líquidos [5].

La CB es un polímero constituido por β -glucosa, que es un metabolito de la bacteria o del proceso en sí mismo, unido por enlaces covalentes formando una cadena lineal. Las cadenas lineales del polímero se asocian por puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals [6]. Por tanto, esta asociación de cadenas forma una red nanométrica de cintas capaces de absorber el agua (> 90 % de su peso), con una porosidad de 200 μm y biocompatibilidad [7]. Incluso, se ha optado por la utilización de la CB como biopolímero por su facilidad para purificación, el control de los parámetros de cultivo (pH, temperatura y grados Brix); además de que esta se puede producir a partir de la reutilización de residuos o lixiviados agroindustriales [5].

La CB presenta ventajas sobre la celulosa vegetal, debido a que es libre de lignina y presenta una red 3D tejida con nanofibras que aumenta la relación de área de superficie a volumen, otorgando una fuerte interacción con los componentes vecinos. Proporciona una resistencia mecánica relativamente excepcional, un alto grado de polimerización y cristalinidad (alrededor del 90%). Del mismo modo, presenta ventaja ante materiales sintetizados, gracias a su ausencia de toxicidad y biodegradabilidad [7]. Generando interés en el campo biomédico.

De manera comercial se ha utilizado en: el desarrollo de membranas para la cicatrización de heridas, andamios para la ingeniería de tejidos, vasos sanguíneos artificiales, y la administración transdérmica de fármacos [8]. Por ello, se han llevado a cabo parches de CB para administrar fármacos como: ibuprofeno, lidocaína, diclofenaco, cafeína, sulfadiazina de plata y amoxicilina, que han tenido éxito en el mercado [9].

Para este caso de estudio, el fármaco de interés es la insulina, utilizada para tratar la diabetes, la cual se presenta cuando el páncreas no produce suficiente insulina o cuando el cuerpo la metaboliza de manera ineficiente. La insulina es una hormona que tiene como función regular la concentración de glucosa en la sangre, también conocida como glucemia [10].

Además, es importante mencionar que conforme a los datos de la IDF (International Diabetes Federation) en el año 2021, se registraron 51 millones de personas con diabetes en Norteamérica y el Caribe, de los cuales México

tiene 14.1 millones [11]. Si bien, de acuerdo con la información proporcionada por el INEGI, se concibe a Puebla como la entidad federativa con el mayor índice de mortalidad en el país, con un 15.7%, seguido de Veracruz (15.6%) y Tlaxcala (14.5%) [12].

Uno de los tratamientos para la diabetes consiste en una inyección diaria de insulina, lo cual después de un largo periodo de tiempo, enrojece, irrita, hincha, engrosa o contrae la piel en los sitios de aplicación [13]. Para evitar el uso frecuente de jeringas desechables se ha recurrido a la bomba de insulina, la cual a pesar de ser un método automatizado, requiere que: se encuentre permanentemente conectada al cuerpo, se recargue constantemente el depósito de insulina, se le dé mantenimiento periódico y, al ser del tamaño de un smartphone, se califica como una opción poco cómoda, además de costosa [14].

De igual modo, la empresa española Medicsen ha desarrollado un *smartpatch* que promete ser una solución eficiente al dejar el método tradicional de inyección por uno indoloro. Sin embargo, aún se encuentra en etapa de financiamiento y permisos para ser usado en humanos [15]. Aunado a que no se ha presentado su precio al público, no se puede afirmar si será costeable para las familias de clase media o baja. Este parche es el único que se ha desarrollado de momento que no hace uso de agujas para administrar fármacos.

Teniendo en cuenta los antecedentes y malestares físicos mencionados; consideramos a la CB como una candidata atractiva para la elaboración de una membrana capaz de absorber y adsorber insulina glargina que posteriormente será utilizada en un parche transdérmico de insulina.

Con el presente trabajo se buscó obtener CB con pH neutro y libre de azúcares reductores, para evaluar la absorción y adsorción de insulina glargina en la CB mediante difusión simple y comparando estas propiedades en CB tratada con NaClO y NaOH sin y con lecitina en distintas concentraciones.

Metodología

Preparación de la celulosa bacteriana

La celulosa bacteriana fue obtenida de los biorreactores estáticos a base de suero de leche proveídos por el Dr. Gregorio Romero de la Vega en el IDIT de la Ibero Puebla, los cuales requieren de al menos una concentración de sólidos del 15% (15°Brix), una acidez inicial de 4.9 pH, e inoculados con 200 ml del consorcio bacteria-levadura con concentración de 1×10^8 UFC/ml. Cabe mencionar que para lograr esa concentración mínima se requiere de un periodo de 20 días, en condiciones ambientales de 1 atm a 25°C sin agitación.

La celulosa bacteriana cosechada de los biorreactores estáticos a base de suero de leche conserva residuos, tales como glóbulos de grasa y lactosa, por ende, supone un problema, ya que los azúcares simples de la CB pueden

interactuar con la insulina. Para evitarlo, se empezó su acondicionamiento al lavarla con agua y jabón, para posteriormente dividirla en dos lotes de CB. El primer lote se purificó sumergiéndolo en una solución de NaClO al 5.4%, a fin de eliminar los residuos del medio de cultivo y los azúcares reductores, por un periodo de 4 - 6 días. Posteriormente, la CB fue enjuagada con agua destilada hasta eliminar el hipoclorito y se neutralizó su pH con ácido acético.

En el segundo lote se eliminaron los azúcares reductores y residuos de cultivo de la CB, sumergiéndola en solución de NaOH al 20%. Se agitó de manera orbital a fin de que toda la celulosa estuviera en contacto con la solución NaOH.

Posteriormente, se dejó reposar por 24 horas y pasado el tiempo, se enjuagó la celulosa con agua destilada tres veces para reducir su pH alcalino a un pH neutro. Empero, fue necesario utilizar 1,400 ml de vinagre blanco comercial con una concentración de 5% de ácido acético para reducir aún más el pH de la CB, a razón de que los lavados lo disminuyeron escasamente.

Después del lavado con vinagre, se enjuagó con agua destilada el kilogramo de CB y se vertió en un matraz con agua destilada suficiente para cubrirla, dejando reposar por un día. Luego de ello, se enjuagó dos veces con 1 L de citrato de sodio al 0.1%, con agitación orbital con el objeto de neutralizar el pH.

Con el objeto de medir el porcentaje de azúcar remanente en ambas muestras tras los tratamientos previamente descritos, se realizó la técnica de Miller para los dos lotes, que consiste en la reducción del reactivo DNS (ácido 3,5-dinitrobenzoico) al reaccionar con la glucosa contenida en la CB procesada y neutralizada. Para dicho proceso, se pesan 1000 mg de CB, se agregan 10 ml de agua destilada en un tubo de centrifuga, para ser centrifugado durante 15 minutos a 5500 rpm, transcurrido dicho tiempo, se toman 0.5 ml de sobrenadante para reaccionar con 0.5 ml de reactivo DNS, durante 5 minutos en agua caliente, deteniendo la reacción con choque térmico en agua fría y reconstituyendo la muestra con 5 ml de agua destilada, dejando reposar por 15 minutos, para después analizar la muestra en el espectrofotómetro ultravioleta-visible (Agilent Technologies modelo Cary 60 UV-Vis) programado a 540 nm junto con el software de análisis de datos Simple Reads para medir la absorbancia (ABS).

Debido a la escasez de información sobre la interacción entre la polaridad de la celulosa bacteriana y la insulina se consideró pertinente caracterizar la utilización de un emulsionante en la CB y se incluyó la lecitina de soya grado reactivo para evaluar sus efectos en el biopolímero. Por consiguiente, una vez asegurada la pureza de la CB, se liofilizó, por tanto, se tomaron tres muestras de 600 mg de CB ya tratadas con NaOH, a las cuales se les añadió lecitina de soya (LTY) en las siguientes concentraciones; a) 98% CB - 2% LTY, b) 99% CB - 1% LTY y c) 99.5% CB - 0.5% LTY; replicando el mismo procedimiento se realizó una placa con las mismas características

únicamente sin LTY. De igual manera se tomó una muestra del primer lote y del mismo gramaje que las anteriores, con la diferencia que a esta muestra no se le añadió LTY.

Cada uno de estos compuestos fueron licuados hasta obtener una papilla como consistencia, para proceder a ser prensadas en una Crayola Paper Maker ©. Después de realizar las placas de CB, se introdujeron al ultracongelador de marca Revco RDE series powered by H-Drive© para pre liofilizarlas a -84°C durante 24 horas. Pasado el tiempo de pre-liofilización, se extrajeron las placas del ultracongelador para moverlas hacia la liofilizadora donde permanecieron 24 horas; al ingresar las muestras de CB a las bandejas de la liofilizadora comenzó el proceso de sublimación tratando al vacío las placas.

Después de este proceso se obtuvieron de cada una de las placas, cinco cuadrados de 5 x 5 cm, de los cuales se midió su espesor con un vernier. A manera de evidenciar su absorción se utilizó el principio de difusión simple en placa; los cuadrados fueron pesados y después sumergidos en 0.65 ml de insulina glargina dentro de cajas Petri; se hizo el seguimiento en intervalos de 30 minutos, hasta 90 minutos. Al cabo de 24 horas, se volvieron a pesar a fin de comparar el peso inicial con el peso final mediante una diferencia de masa.

Resultados y discusión

Se obtuvieron 500 g de CB de los biorreactores estáticos a base de suero de leche.

Al purificar la CB, se observó variación en su pH en cuanto alcalinidad y acidez (Tabla 1). Es importante conservar un pH neutro en la CB debido a que se busca que sea biocompatible con la piel.

Tabla 1. pH de la celulosa bacteriana ($n=3$)

CB	pH
Normal	7.1 ± 0.10
CB tratada con Cloro	4.59 ± 0.26
CB tratada con NaOH	12.79 ± 0.43
CB tratada con vinagre blanco	4.51 ± 0.14
CB tratada con citrato de sodio	6.97 ± 0.05

Gracias a las propiedades químicas de la CB, fue posible acondicionarla, al eliminar la lactosa como su azúcar reductor, por medio de la utilización de a) NaClO 5.4% y b) NaOH 20%. Los resultados que se obtuvieron de la prueba de DNS en un espectrofotómetro fueron los siguientes (Tabla 2 y 3).

Tabla 2. Porcentaje total de azúcar en la CB procesada con NaClO

#	mg de muestra	Promedio de absorbancia (ABS) (n=6)	% de azúcar en CB totales
1	1000.1	0.009	0.112
2	1000.7	0.029	0.505
3	1005.0	0.007	0.068
Promedio:			0.228 ± 0.241

En la Tabla 2, se contempla que la CB tratada con hipoclorito de sodio, denotó ser eficiente, a razón de que redujo el porcentaje promedio de azúcar a un valor prácticamente nulo.

Tabla 3. Porcentaje total de azúcar en la CB procesada con NaOH

#	mg de muestra	Promedio de absorbancia (ABS) (n=6)	% de azúcar en CB totales
1	1005.9	1.192	23.626
2	1002.6	0.038	0.685
3	1003.0	0.007	0.074
4	1002.2	0.001	0.059
5	999.8	0.968	19.286
Promedio:			8.746 ± 11.706

Los resultados de la Tabla 3 demuestran que el porcentaje total de azúcares reductores se encuentra por debajo del 10%, resultado que difiere de lo obtenido por Ludmilla y colaboradores [16], que obtuvieron un porcentaje aproximado al 3% de azúcares reductores, al acondicionar la CB en una solución NaOH a 60°C con agitación magnética durante 90 minutos, a diferencia de nuestro proceso de purificación se realizó de manera estática por 24 horas.

Por otro lado, se observa una discrepancia de la muestra 1 y 5 de la Tabla 3, ya que su porcentaje de azúcares reductores totales se encuentra por arriba del promedio, por lo que, se determinó que estas muestras al ser tomadas del fondo del recipiente donde se realizaban los lavados, reabsorbió los líquidos asentados que contenían los azúcares reductores.

El tratamiento del primer lote con el segundo discrepa mucho, dado que la diferencia entre estos dos es del 8.52%. Por tanto, se concluyó que es más viable la utilización de NaClO para la purificación de la CB.

Con respecto a la liofilización de las muestras de CB se obtuvieron los siguientes resultados (Fig. 2 y Fig. 3).

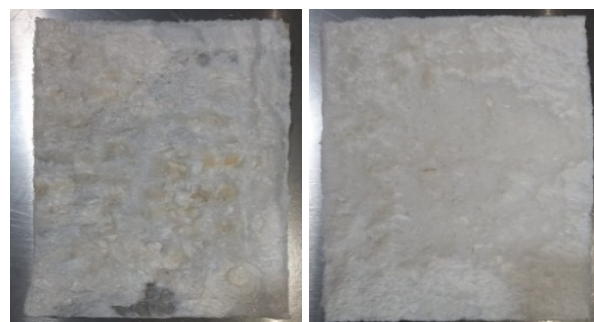


Fig. 2 CB tratada con NaClO (a la izquierda) y tratada con NaOH sin LTY (a la derecha)



Fig. 3 CB tratada con NaOH + LTY al 0.5% (a la izquierda) al 1% (al centro) y al 2% (a la derecha)

Se observa en la Fig. 2 y 3 que la adición de LTY a las placas de CB permite que el espesor de esta sea más constante y lisa, a diferencia de las que carecían de este emulsionante.

Las mediciones con el vernier muestran que la CB tratada con NaClO presentó el nivel más bajo de espesor y la procesada con NaOH + 0.5% LTY la de mayor espesor (Tabla 4). El adicionar un porcentaje mayor del 1% de LTY permitió una placa con un espesor más constante.

Tabla 4. Espesor de las muestras de CB en mm (n=10)

NaClO	NaOH	NaOH+0.5% LTY	NaOH+1% LTY	NaOH+2% LTY
1.51 ± 0.42	5.07 ± 1.28	5.98 ± 1.32	3.97 ± 0.39	4.63 ± 0.42

El método de difusión simple en placa denotó que de los 0.65 ml de insulina suministrados en la CB + 0.5% LTY, se liberaron 26.34% en los primeros 90 minutos del método (Fig. 4) y 56.08% a las 24 horas (Fig. 5), siendo el mayor porcentaje de adsorción con respecto a las demás muestras de CB, en consecuencia, su nivel de absorción transcurrido las 24 horas es de 43.92%, lo cual demuestra que absorbe por completo el fármaco y permite su liberación al medio, otorgando mejores resultados que los obtenidos por [16], debido a que lograron una absorción total de 0.012% de insulina, una razón puede ser que ellos al empapar la membrana de CB con una solución salina imposibilitaron una mayor absorción porque la membrana utilizó una parte de esta propiedad con la solución en lugar de con la insulina. Además, se especula que al agregar lecitina al sistema, esta provee parte de la capacidad de

absorción en conjunto con la CB. De tal modo que la adición de un porcentaje mínimo de lecitina (0.5%) es productivo, ya que retiene parcialmente una mayor cantidad de insulina. Sin embargo, la lecitina interactúa con las soluciones como emulsionante, por tanto, al sobresaturar la CB con 1% o 2% de LTY, es contraproducente, porque aumenta la propiedad de absorción del complejo CB + LTY + Insulina, evitando así la liberación paulatina de insulina, entonces en relación con los datos obtenidos, este complejo es muy estable.

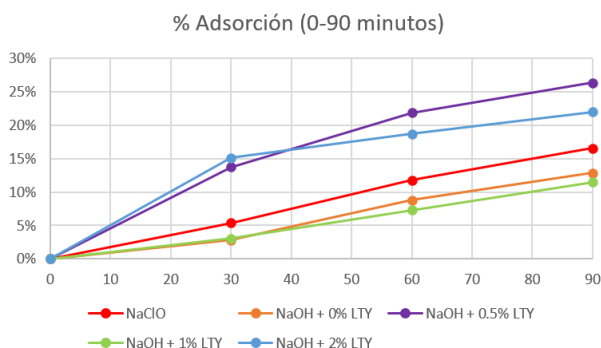


Fig. 4 Adsorción de las muestras de CB con insulina glargina a los 90 minutos. ($n=3$)

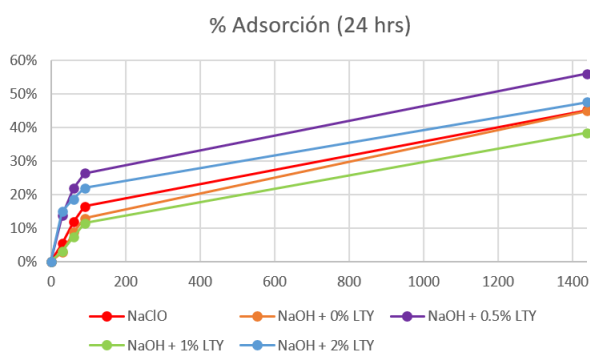


Fig. 5 Adsorción de las muestras de CB con insulina glargina a las 24 horas. ($n=3$)

Referencias

- [1] L. I. Della y G. Pinto, "La vía de absorción transdérmica Fármacos y profármacos", Archivos Argentinos de Dermatología, 2017. Accedido el 15 de abril de 2023. [En línea]. Disponible: <http://www.archivosdermato.org.ar/wp-content/uploads/2019/12/La-vía-de-absorción-transdérmica-2-17-2018.pdf>
- [2] L. Schulmeister, "Parches transdérmicos: Medicamentos con músculo", Nursing (Ed. española), vol. 24, n.º 1, pp. 8–12, enero de 2006. Accedido el 7 de febrero de 2023. [En línea]. Disponible: <https://www.elsevier.es/es-revista-nursing-20-pdf-13084244> (accedido el 4 de febrero de 2023).
- [3] Kanwar, A. (2018). Skin barrier function. Indian Journal of Medical Research, 147(1), 117. <https://doi.org/10.4103/0971-5916.232013>
- [4] J. L. Chávez, S. K. Martínez, M. L. Contreras & J. E. Escamilla. (2004). Celulosa bacteriana en *Gluconacetobacter xylinum*: Biosíntesis y aplicaciones. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 1. <https://www.redalyc.org/pdf/432/43270103.pdf>
- [5] Ramírez Giraldo (2012). La celulosa bacteriana: un mundo de nano posibilidades. <https://revistas.upb.edu.co/index.php/universitas/article/view/1829>

Conclusiones, perspectivas y recomendaciones

Al purificar la CB, se observó variación en su pH, pero fue más sencillo neutralizar la CB tratada con NaClO debido a que se encontraba más próximo a la medida neutra (4.59 ± 0.26) que la CB tratada con NaOH (12.79 ± 0.43).

Por lo tanto, del proceso purificación y de la prueba de DNS, la CB tratada con NaClO denotó mejores resultados al tener un 0.228% de azúcares reductores en su composición química. Se conjetura que puede deberse, a que el cloro comercial es una solución de NaOH (al 0.35%) con cloro líquido o gaseoso y ambas son soluciones que eliminan impurezas.

Las placas de CB tratadas con NaClO poseen menor espesor con respecto a las que fueron tratadas con NaOH. Asimismo, las pruebas muestran que adicionar porcentajes mínimos (0.2% - 0.7%) de LTY mejoran el grosor de las capas.

Los resultados del método de difusión simple demostraron que la CB tratada con NaOH + 0.5% LTY es la más apta para absorber y adsorber el fármaco, con una absorción de más del 50%. Por ende, recomendamos esta composición para la administración de insulina glargina.

Recomendamos experimentar la adición de LTY a la CB tratada con NaClO para caracterizar sus propiedades de absorción y adsorción. Además de realizar las mismas pruebas en CB tratada con NaOH en concentraciones de 0.25% - 0.45%, usando mayores cantidades de LTY para comprobar la estabilidad del complejo. También realizar pruebas a través de un microscopio electrónico de barrido para analizar la porosidad de las membranas, comprobar la concentración de partículas de insulina en el mismo tiempo en que se realizaron las pruebas de absorción y adsorción, realizar pruebas con otros emulsionantes o estabilizantes; a fin de obtener una membrana de CB estable para ser usada en un parche transdérmico reservorio de insulina glargina.

- [6] S. M. Santos, "Aplicación de la celulosa bacteriana a la restauración del patrimonio bibliográfico y documental en papel", Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, 2015. Accedido el 21 de abril de 2023. [En línea]. Disponible: https://oa.upm.es/39035/1/07_2015_SARA_MARIA_SANTOS_DE_DIOS.pdf
- [7] I. F. Almeida, T. Pereira, N. H. C. S. Silva, F. P. Gomes, A. J. D. Silvestre, C. S. R. Freire, J. M. S. Lobo y P. C. Costa, "Bacterial cellulose membranes as drug delivery systems: An in vivo skin compatibility study", *Eur. J. Pharmaceutics Biopharmaceutics*, vol. 86, n. ° 3, pp. 332–336, abril de 2014. Accedido el 13 de abril de 2023. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2013.08.008>
- [8] P. Ossowicz-Rupniewska, R. Rakoczy, A. Nowak, M. Konopacki, J. Klebko, E. Świątek, E. Janus, W. Duchnik, K. Wenelska, L. Kucharski y Adam Klimowicz 3ORCID. *Transdermal Delivery Systems for Ibuprofen and Ibuprofen Modified with Amino Acids Alkyl Esters Based on Bacterial Cellulose*. (2021). MDPI. <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/12/6252>
- [9] S. Swingler, A. Gupta, H. Gibson, M. Kowalczyk, W. Heaselgrave y I. Radecka, "Recent Advances and Applications of Bacterial Cellulose in Biomedicine", *Polymers*, vol. 13, n. ° 3, p. 412, enero de 2021. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.3390/polym13030412>
- [10] "Diabetes". World Health Organization (WHO). Disponible: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>(accedido el 6 de febrero de 2023).
- [11] International Diabetes Federation. "IDF Diabetes Atlas". https://fndiabetes.org/wp-content/uploads/2022/01/IDF_Atlas_10th_Edition_2021-comprimido.pdf(accedido el 5 de febrero de 2023).
- [12] INEGI, "Estadísticas a propósito del día mundial de la diabetes". Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). [https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2022/EAP_DIABETES2022.docx#:~:text=A%20nivel%20nacional,%20la%20tasa,al%20ISSSTE%20\(9%20767\)](https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2022/EAP_DIABETES2022.docx#:~:text=A%20nivel%20nacional,%20la%20tasa,al%20ISSSTE%20(9%20767)). (accedido el 18 de abril de 2023).
- [13] Información sobre el almacenamiento de insulina y el cambio entre productos durante una emergencia | FDA. (2017). U.S. Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/drugs/emergency-preparedness-drugs/informacion-sobre-el-almacenamiento-de-insulina-y-el-cambio-entre-productos-durante-una-emergencia#:~:text=Los%20productos%20de%20insulina%20contenidos,como%20máximo%20y%20continuar%20actuan>do.
- [14] Instituto de Salud Carlos III. "Efectividad de las bombas de infusión de insulina". Repisalud Principal. https://repisalud.isciii.es/bitstream/handle/20.500.12105/5004/Efectivaddelabombas_2000.pdf;jsessionid=332B474E11E69951114E1E6EE6B9753B?sequence=1 (accedido el 8 de febrero de 2023).
- [15] "Medicsen Smartpatch dispositivo que administra fármacos sin agujas". Grupo MAPFRE Corporativo - Acerca de MAPFRE. <https://www.mapfre.com/actualidad/compromiso/medicsen-smartpatch-proyecto-espanol/> (accedido el 4 de febrero de 2023).
- [16] J. Ludmilla, L. K. Harada, E. C. Silva, W. F. Campos, J. M. Oliveira, M. M. Vila, M. Tubino y V. M. Balcao, "Bacterial nanocellulose biomembrane as a support for human insulin aiming at transdermal permeation", *Química Nova*, 2020. Accedido el 18 de abril de 2023. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170522>
- [17] Pluas, M. E. (2004). "Valoración de la calidad en el proceso de obtención del hipoclorito de sodio" (Publicación n.º 1) [Universidad de Guayaquil]. <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/3234/1/Hipoclorito%20de%20sodio%20pluas.pdf>