



**UNIVERSIDAD DE SONORA**

**DIVISIÓN DE INGENIERÍA**

**DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN  
EN POLÍMEROS Y MATERIALES**

**“Preparación por Electrohilado y Electroaspersión de  
Materiales Poliméricos, su Caracterización y Aplicación en el  
Área de la Salud”**

**TESIS**

**Presentada como requisito parcial para obtener el grado de:**

**DOCTOR EN CIENCIA DE MATERIALES**

**Por:**

**M.C. ITZEL YANIRA LÓPEZ PEÑA**

**HERMOSILLO, SONORA**

**2019**

# Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"



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

## **FORMA DE APROBACIÓN**

Los miembros del jurado designado a revisar la Tesis Doctoral de Itzel Yanira López Peña, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el título de Doctor en Ciencia de Materiales.

---

**Dra. María Mónica Castillo Ortega**  
**Presidente**

---

**Dra. Dora Evelia Rodríguez Félix**  
**Secretaria**

---

**Dra. Terea del Castillo Castro**  
**Sinodal**

---

**Dr. José Carmelo Encinas Encinas**  
**Sinodal**

---

**Dra. Hisila del Carmen Santacruz Ortega**  
**Sinodal**

---

**Dr. Juan Valerio Cauch Rodríguez**  
**Sinodal Externo**

**A Dios**

*Por no darme la fuerza y no dejarme flaquear  
en los momentos difíciles, por siempre acompañarme*

**A mi Familia**

*A mis padres y mi hermano porque sin su gran apoyo incondicional esto no hubiera  
sido posible, por su ayuda, consejos, ánimos, tiempo y por acompañarme.*

**GRACIAS**

**A mi Hija**

*Porque tú corazón, eres la razón y el motor de cada cosa  
que emprendo, que en realidad resulta en un viaje que  
recorremos siempre juntas,  
por tu paciencia y apoyo incondicional.*

**GRACIAS**

## AGRADECIMIENTOS

Al Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales de la Universidad de Sonora, por brindarme la oportunidad de estudiar en su programa de doctorado.

A mi directora de tesis, la Dra. María Mónica Castillo Ortega, por todo su apoyo, sus consejos, enseñanzas y paciencia.

A mis sinodales Dra. Dora Rodriguez, Dra. Teresa del Castillo, Dra. Hisila Santacruz, Dr. Carmelo Encinas, Dr. Juan Caiuch, por tu valiosa contribución a la realización de este trabajo, así como todos sus consejos y conocimientos compartidos.

A la dra. Silvia Burruel, Dr. Judith Tanori, Dr. Refugio Pérez, Dra. Lorena Armenta, Dr. Francisco Rodríguez, Dr. Ramsés Galaz, Dra. Irela Saucedo, Dr. Diego Hernández, M.C. Damian Plascencia, Dra. Irlanda Lagarda, Dra. Erika Silva, por su apoyo con reactivos, materiales y en las diferentes caracterizaciones de los materiales obtenidos en este trabajo.

A la Dra. Lerma Chan Chan por permitirme trabajar en sus laboratorios, durante mi estancia de investigación, lo que me permitió desarrollar los estudios celulares de los materiales.

A mis compañeros Damian, Abraham, Lauren, Paola, Ana, Danai, Gina, Yaniris, todos los estudiantes del equipo de Química de polímeros, por su apoyo, por acompañarme y por sus consejos, por hacer este camino más llevadero muchas Gracias.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico otorgado dentro del programa de Becas Nacionales.

## ÍNDICE

<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	<b>vii</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>viii</b>
<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	<b>x</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>Xi</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>Xiii</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>4</b>
Antecedentes Generales .....	<b>6</b>
Técnica de electrohilado .....	<b>6</b>
Generalidades .....	<b>6</b>
Técnica de electroaspersión .....	<b>8</b>
Generalidades .....	<b>8</b>
Sistemas de liberación de fármacos .....	<b>9</b>
Electrohilado y electroaspersión en los sistemas de liberación de fármacos .....	<b>11</b>
<b>CAPITULO I</b> .....	<b>12</b>
<b>1.1 ANTECEDENTES</b> .....	<b>13</b>
Acetato de celulosa .....	<b>13</b>
Poli (vinil pirrolidona) .....	<b>14</b>
Epicatequina .....	<b>15</b>
<b>1.2 EXPERIMENTAL</b> .....	<b>17</b>
Materiales .....	<b>17</b>
Preparación de los sistemas poliméricos de Acetato de celulosa, PVP y Epicatequina (AC/PVP-Epi/AC) .....	<b>17</b>
Caracterización morfológica de los materiales .....	<b>20</b>
Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) .....	<b>20</b>
Análisis termogravimétrico .....	<b>20</b>
Calorimetría diferencial de barrido .....	<b>21</b>
Ensayos de liberación de epicatequina en sistemas de fibras, esferas y fibra/esfera .....	<b>21</b>
Ajuste a modelos de liberación .....	<b>22</b>
<b>1.3 RESULTADOS Y DISCUSIONES</b> .....	<b>23</b>
Preparación de los sistemas poliméricos de Acetato de celulosa, PVP y Epicatequina .....	<b>23</b>
Microscopia Electrónica de Barrido .....	<b>24</b>
Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier .....	<b>25</b>
Análisis Térmicos .....	<b>29</b>
Análisis termogravimétrico .....	<b>29</b>
Calorimetría diferencial de barrido .....	<b>32</b>
Ensayos de liberación de (-) epicatequina .....	<b>33</b>

	Ajuste de los datos experimentales a modelos matemáticos .....	38
	Microscopia electrónica de barrido .....	43
<b>1.4</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>46</b>
	<b>CAPITULO II</b> .....	<b>47</b>
<b>2.1</b>	<b>ANTECEDENTES</b> .....	<b>48</b>
	Ingeniería de tejidos .....	48
	Poli (ácido láctico) .....	49
	Elastina .....	51
	Gelatina .....	51
	Clindamicina .....	52
<b>2.2</b>	<b>EXPERIMENTAL</b> .....	<b>54</b>
	Materiales .....	54
	Preparación de membranas de PLA:Eln:Clín/PLA:Gel .....	54
	Microscopía electrónica de barrido .....	55
	Microscopía electrónica de transmisión .....	55
	Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier .....	55
	Reflectancia total atenuada .....	56
	Análisis termogravimétrico .....	56
	Calorimetría diferencial de barrido .....	55
	Propiedades mecánicas .....	56
	Estudio de liberación .....	57
	Ajuste de los datos experimentales a modelos matemáticos .....	57
	Ángulo de contacto .....	58
	Estudios de biocompatibilidad .....	59
	Cultivo celular .....	59
	Prueba de citotoxicidad por contacto directo .....	60
	Ensayo de adhesión celular .....	61
	Estudios de actividad antibacteriana .....	61
<b>2.3</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES</b> .....	<b>62</b>
	Microscopía electrónica de barrido .....	62
	Microscopía electrónica de transmisión .....	63
	Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier .....	64
	Análisis termogravimétrico .....	65
	Análisis de calorimetría diferencial de barrido .....	66
	Propiedades mecánicas .....	67
	Ensayos de liberación .....	68
	Ajuste de los datos experimentales a los modelos matemáticos .....	69
	Ángulo de contacto .....	70
	Ensayos de viabilidad celular .....	71
	Ensayos de adhesión celular .....	72
	Estudios de actividad antibacteriana .....	74
<b>2.4</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>75</b>
	<b>CONCLUSIONES GENERALES</b> .....	<b>76</b>
	<b>PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES</b> .....	<b>78</b>

<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>79</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>88</b>

### **LISTA DE ABREVIATURAS**

<b>AC</b>	Acetato de celulosa
<b>PVP</b>	Poli (vinilpirrolidona)
<b>Epi</b>	Epicatequina
<b>FTIR</b>	Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier.
<b>ATR</b>	Reflectancia total atenuada
<b>MEB</b>	Microscopia Electrónica de Barrido
<b>Tg</b>	Temperatura de transición vitrea
<b>PLA</b>	Poli (ácido láctico)
<b>Eln</b>	Elastina
<b>Gel</b>	Gelatina
<b>Clin</b>	Clindamicina

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
<b>1 Representación</b> esquemática del método de electrohilado .....	<b>7</b>
<b>2</b> Representación esquemática del método de electroaspersión .....	<b>8</b>
<b>3</b> Estructura química del Acetato de celulosa .....	<b>14</b>
<b>4</b> Estructura química del poli (vinilpirrolidona) .....	<b>15</b>
<b>5</b> Estructura química de la epicatequina .....	<b>16</b>
<b>6</b> Micrografías a 5000X de los sistemas coaxiales de AC/PVP-Epi/AC (a) fibras, (b) esferas, (c) fibra/esfera. Sistemas simples AC/Epi (d) fibras, (e) esferas y (f) fibra/esfera .....	<b>25</b>
<b>7</b> Espectros FTIR de los componentes individuales (a) (-) Epi, (b) PVP, (c) CA, los sistemas coaxiales AC/PVP-Epi/AC (d) fibras, (e) esferas, (f) fibra/esfera y sistemas simples CA/Epi, (g) fibras, (h) esferas y (i) fibra/esfera .....	<b>28</b>
<b>8</b> Espectros de FTIR de los componentes individuales (a) CA, (b) CA-Epi, (c) PVP y (d) PVP-Epi .....	<b>29</b>
<b>9</b> Termogramas de los componentes individuales de las membranas (a) AC, PVP, y (-) Epi, (b) termogramas de los sistemas coaxiales y (c) termogramas de los sistemas sencillos .....	<b>31</b>
<b>10</b> Curvas de CDB del AC, PVP, AC-Epi y PVP-Epi .....	<b>32</b>
<b>11</b> Cinética de liberación de los sistemas AC, PVP y (-) Epi, (AC/PVP-Epi/AC) en disposición coaxial (a) fibras, (b) esferas y (c) fibra/esfera .....	<b>35</b>
<b>12</b> Cinética de liberación de los sistemas (CA/Epi) en arreglo sencillo (a) fibras, (b) esferas y (c) fibra/esfera .....	<b>36</b>
<b>13</b> Cinética de liberación de los sistemas (CA / PVP-Epi) en arreglo sencillo (a) fibras, (b) esferas y (c) fibra/esfera .....	<b>37</b>
<b>14</b> Ajuste a los modelos para los sistemas, en arreglo coaxial AC/PVP-Epi/AC (a) fibras, (b) esferas y (c) fibra/esfera .....	<b>39</b>
<b>15</b> Ajuste a los modelos para los sistemas en arreglo sencillo CA/Epi, (a) fibra, (b) esfera y (c) fibra/esfera .....	<b>40</b>
<b>16</b> Ajuste a los modelos para los sistemas en arreglo sencillo AC/PVP-Epi, (a) fibra, (b) esfera, y (c) fibra/esfera .....	<b>41</b>
<b>17</b> Micrografías a 5000X de los diferentes sistemas después de los ensayos de liberación (a) fibras de AC/PVP-Epi/AC, (b) fibras AC/Epi, (c) fibras AC/PVP-Epi, (d) esferas AC/PVP-Epi/AC, (e) esferas AC/Epi, (f) esferas AC/PVP-Epi.	

<b>18</b>	Diagrama de los diferentes sistemas, su porcentaje de liberación y el tiempo para alcanzar el equilibrio (a) sistema AC/PVP-Epi/AC, (b) sistema CA/Epi y (c) sistema AC/PVP-Epi. Estructuras químicas que indican la formación de enlaces de hidrógeno entre los componentes entre (d) AC y Epi y (e) PVP y Epi .....	<b>44</b>
<b>19</b>	Estructura química del PLA .....	<b>49</b>
<b>20</b>	Estructura química de la gelatina .....	<b>51</b>
<b>21</b>	Estructura química de la clindamicina .....	<b>52</b>
<b>22</b>	Micrografías SEM de membranas de PLA:Eln:Clin/PLA:Gel obtenidas por electrohilado coaxial .....	<b>62</b>
<b>23</b>	Micrografías TEM de membranas de PLA: Eln/PLA:Gel obtenidas por electrohilado coaxial .....	<b>62</b>
<b>24</b>	Espectros de infrarrojo (a) clindamicina, (b) gelatina, (c) elastina, (d) PLA, (e) membrana PLA:Eln/PLA:Gel y (f) PLA:ELn:Cli/PLA:Gel .....	<b>64</b>
<b>25</b>	Termogramas correspondientes a PLA, gelatina, elastina y membrana PLA:ELn:Cli/PLA:Gel .....	<b>65</b>
<b>26</b>	Curvas de CDB de PLA, gelatina y elastina y membranas PLA:Eln:Clin/PLA:Gel .....	<b>66</b>
<b>27</b>	Cinética de liberación de las membranas de PLA:Eln:Cli/PLA:Gel .....	<b>68</b>
<b>28</b>	Prueba de ángulo de contacto con agua para PLA, gelatina y membrana PLA:Eln:Cli/PLA:Gel .....	<b>69</b>
<b>29</b>	Ensayos de viabilidad celular con resazurina de las membranas PLA:Eln:Clin/PLA:Gel .....	<b>70</b>
<b>30</b>	Prueba de Calceína-AM a las 1, 2 y 24 h de incubación sobre las fibras de PLA:Eln:Cli/PLA:Gel (a-c) y membranas de PLA (d-f) .....	<b>72</b>
<b>31</b>	Imágenes de las zonas de inhibición contra <i>S. aureus</i> de las membranas PLA (a), PLA:Eln/PLA:Gel (b) y PLA:Eln:Clin/PLA:Gel (c) .....	<b>73</b>

## LISTA DE TABLAS.

		<b>Pag.</b>
<b>1</b>	Características de los diferentes sistemas de CA, PVP y Epicatequina .....	<b>19</b>
<b>2</b>	Ecuaciones de los modelos matemáticos en la liberación de fármacos .....	<b>22</b>
<b>3</b>	Condiciones de preparación para los diferentes sistemas de CA, PVP y Epicatequina .....	<b>23</b>
<b>4</b>	Porcentaje de liberación, tiempo de equilibrio y resultados de ajuste a modelos para los diferentes sistemas: fibra, esfera y fibra/esfera .....	<b>42</b>
<b>5</b>	Parámetros de preparación de las membranas .....	<b>61</b>
<b>6</b>	Propiedades mecánicas de membranas de PLA, Gelatina y PLA:Eln:Clin/PLA:Gel .....	<b>67</b>
<b>7</b>	Ajuste a modelos matemáticos de los datos experimentales .....	<b>68</b>

## RESUMEN

Actualmente se han intensificado las investigaciones para el mejoramiento de la administración de fármacos, debido a las desventajas que presentan las formas tradicionales, el diseño de sistemas de liberación que permitan modular la tasa de liberación, así como dirigir esta liberación en sitios específicos en el organismo, ha resultado de gran importancia. Uno de los principales objetivos de estos estudios y diseño de nuevos dispositivos es garantizar una buena biodisponibilidad de los fármacos, que permitan un adecuado efecto terapéutico dirigido a un padecimiento específico. Otro de los enfoques de las investigaciones actuales en el campo de la biomedicina es el diseño de sistemas poliméricos y su uso como andamios para cultivo celular, debido a las propiedades que presentan estos materiales que cubren las necesidades para dichas aplicaciones. En el presente trabajo consta de dos capítulos enfocados en el diseño y evaluación de sistemas poliméricos dirigidos hacia las aplicaciones de sistemas de liberación, así como andamio para cultivo celular.

En el primer capítulo, se realizó un estudio de ensayos de liberación y sus ajustes correspondientes a los modelos para determinar el mecanismo de liberación de epicatequina en el sistema de acetato de celulosa (AC) y poli (vinilpirrolidona) (PVP). Se consideró la morfología del material, fibras o esferas, así como las posibles interacciones químicas entre la epicatequina, PVP y AC. Se observó que en los sistemas en los que está presente el PVP, se observa una liberación alta en comparación con aquellos que solo contenían AC y epicatequina, que mostraron una liberación muy baja. Esta diferencia puede explicarse considerando la posible interacción por puentes de hidrógeno entre AC y epicatequina, así como la insolubilidad de AC, en el medio de liberación. Los factores que tienen un efecto importante sobre la liberación de epicatequina en los diferentes sistemas son: morfología, una liberación más rápida en morfologías con mayor área de superficie, y las interacciones químicas que pueden formarse entre la epicatequina y el componente de la

matriz. Otro factor es la solubilidad de los componentes en el medio de liberación, lo que permite observar simultáneamente los fenómenos de difusión y arrastre.

En el segundo capítulo del presente trabajo, se prepararon sistemas poliméricos para evaluar sus propiedades como sistema de liberación de clindamicina, así como su posible aplicación como un andamio para cultivo celular. Las fibras de PLA, elastina y gelatina, que contienen clindamicina, se prepararon para probar su posible aplicación como apósitos para heridas. Se sometieron a estudios de liberación para determinar el mecanismo de liberación, esto a través de modelos matemáticos. Además, se evaluaron sus propiedades mediante diferentes caracterizaciones. Las fibras presentaron una morfología homogénea, sin poros. Los estudios de FTIR y el análisis térmico confirmaron la presencia de cada uno de los componentes en las fibras, sus propiedades mecánicas mostraron que están dentro del rango de materiales adecuados para su uso como apósitos, los resultados de las pruebas de viabilidad mostraron porcentajes alentadores con una viabilidad del 82% después de 7 días de contacto directo de las células HUVEC con las membranas. De manera similar, los ensayos de adhesión celular mostraron buenos resultados con la presencia de células viables y estiradas en las fibras, se observó la tendencia de las células a posicionarse en las fibras y seguir esta conformación. Por otro lado, los estudios de actividad antimicrobiana contra *S. aureus* nos muestran que en las fibras cargadas con clindamicina tienen halos de inhibición mayores de 7 mm.

## ABSTRACT

Currently, research has been intensified to improve the administration of drugs, due to the disadvantages of traditional forms, the design of release systems that allow modulating the release rate, as well as directing this release at specific sites in the body, has been of great importance. One of the main objectives of these studies and design of new devices is to guarantee a good bioavailability of the drugs, which allow an adequate therapeutic effect directed to a specific condition.

Another approach of current research in the field of biomedicine is the design of polymeric systems and their use as scaffolds for cell culture, due to the properties of these materials that cover the needs for such applications. In the present work which consists of two chapters focused on the design and evaluation of polymer systems directed towards the applications of release systems, as well as scaffolding for cell culture.

In the first chapter, a study of release assays and their corresponding adjustments to the models to determine the mechanism of release of epicatechin in the cellulose acetate (CA) and poly (vinylpyrrolidone) (PVP) system was carried out. The morphology of the material, fibers or spheres was considered, as well as the possible chemical interactions between epicatechin, PVP and CA. It was observed that in the systems in which PVP is present, a high release is observed compared to those that only contained CA and epicatechin, which showed a very low release. This difference can be explained by considering the possible hydrogen bond interaction between CA and epicatechin, as well as the insolubility of CA, in the release medium. The factors that have an important effect

on the release of epicatechin in the different systems are: morphology, a faster release in morphologies with greater surface area, and the chemical interactions that can be formed between the epicatechin and the matrix component. Another factor is the solubility of the components in the release medium, which allows the diffusion and drag phenomena to be observed simultaneously.

## INTRODUCCIÓN

Actualmente, una gran parte de la población padece enfermedades crónico-degenerativas, como la diabetes. Comúnmente, estos pacientes tienen diferentes complicaciones que comprometen su salud, una de las más comunes es la lesión cutánea, que generalmente se derivan de múltiples factores, lo que dificulta su erradicación.<sup>1-5</sup> La ingeniería de tejidos se distingue por tener un enfoque biomédico interdisciplinario con el objetivo de regenerar, reconstruir o reparar tejidos dañados con la ayuda de un andamio 3D, con suficiente permeabilidad al oxígeno, pero también con las características estructurales y biológicas similares de la matriz extracelular (MEC) de tejido nativo.<sup>6-10</sup>

Las nanofibras son muy similares a la matriz extracelular nativa, ya que ofrecen protección física y mecánica a las heridas, incluso contra las invasiones bacterianas, actuando como barrera. Los sistemas de administración de medicamentos de manera controlada representan una herramienta útil para contribuir a la atención médica. En el caso de estos dispositivos, los medicamentos pueden estar dentro o en la superficie de ellos. Las nanofibras, debido a su estructura y características únicas, como su gran área de superficie y alta eficiencia de encapsulación, representan una buena opción para el desarrollo de sistemas de liberación y como andamios para el crecimiento celular.<sup>11-17</sup> El electrohilado es una técnica para la formación de nanofibras de escalas micro y nanométricas, sus aplicaciones van desde el área textil, andamios de ingeniería de tejidos, filtración, biomedicina, farmacia, electrónica óptica, biotecnología e ingeniería ambiental, por nombrar algunos. Otra ventaja de esta técnica es que puede aplicarse con una gran

cantidad de polímeros, ya sean naturales, sintéticos o semisintéticos, por lo tanto, tiene una gran variedad de aplicaciones.<sup>18-21</sup> La técnica de electrohilado consiste en someter una solución polimérica a un campo eléctrico, al sobrepasar la tensión superficial de la solución se forma una estructura conocida como el cono de Taylor, a partir del cual se genera la fibra continua que dirige el colector mientras se evapora el solvente. , generando así fibras ultrafinas<sup>22-25</sup>

Como se mencionó, es posible utilizar una amplia variedad de polímeros en la técnica de electrohilado, la elección dependerá de la aplicación de las fibras obtenidas, los polímeros naturales, que son los que provienen de la naturaleza, como las proteínas (colágeno, gelatina, zeína, entre otros.), polisacáridos (quitosano, celulosa, almidón, entre otros.)<sup>26-28</sup> Este tipo de polímeros son adecuados para aplicaciones biológicas ya que, debido a su composición, tienen cualidades que imitan el ambiente químico nativo, lo que resulta en una buena biocompatibilidad.

Estas características de biocompatibilidad, biodegradabilidad y baja o nula toxicidad son necesarias para cualquier aplicación biomédica. Sin embargo, este tipo de biopolímeros, generalmente presentan malas propiedades mecánicas, en comparación con los polímeros sintéticos. En el presente trabajo se trabajó con ácido poliláctico (PLA), el cual es uno de los biopolímeros más utilizados para este tipo de aplicaciones, es un poliéster, termoplástico derivado de recursos renovables como el almidón de maíz, es biodegradable y sus productos de degradación no son tóxicos ni cancerígenos. Además, se incluyó a la gelatina, un polímero natural, producto de la hidrólisis del colágeno, es altamente biocompatible debido a sus numerosos sitios de unión celular. Se trabajó

también con elastina, una proteína importante presente en la MEC, es la segunda más abundante, su función principal es la de proporcionar elasticidad y resistencia; También interactúa con las células a través de mecanismos bioquímicos específicos.<sup>9, 28-32</sup>

En el presente trabajo se presenta la preparación y caracterización de membranas de PLA, gelatina y elastina para la liberación de Clindamicina y su uso potencial como andamio para el cultivo celular.

## OBJETIVOS

### GENERAL:

Preparar por electrohilado y electroaspersión materiales poliméricos, para su caracterización y evaluación de su aplicación potencial como sistema de liberación y como andamios para cultivo celular.

### PARTICULARES:

- Preparar por la técnica de electrohilado y electroaspersión materiales poliméricos a base de acetato de celulosa, PVP y epicatequina en arreglo sencillo.
- Preparar por la técnica de electrohilado y electroaspersión materiales poliméricos a base de acetato de celulosa, PVP y epicatequina en arreglo coaxial.
- Evaluar las propiedades de los materiales de acetato de celulosa, PVP y epicatequina mediante espectroscopía de infrarrojo, calorimetría diferencial de barrido, análisis termogravimétrico, propiedades mecánicas, microscopia electrónica de barrido y microscopia electrónica de transmisión.
- Evaluar las propiedades de liberación de (-) epicatequina de cada uno de los sistemas preparados.
- Determinar el mecanismo de liberación de (-) epicatequina para cada uno de los sistemas preparados.
- Preparar por la técnica de electrohilado y electroaspersión materiales basados en PLA, elastina y gelatina cargados con clindamicina
- Evaluar las propiedades de los materiales de PLA, elastina y gelatinas cargados con clindamicina, mediante espectroscopía de infrarrojo, calorimetría diferencial de barrido, análisis termogravimétrico, propiedades mecánicas, microscopia electrónica de barrido y microscopia electrónica de transmisión.
- Evaluar las propiedades de liberación de clindamicina en el medio adecuado.

- Determinar el mecanismo de liberación de clindamicina para los sistemas preparados.
- Realizar pruebas de viabilidad y toxicidad celular de las membranas en los cultivos seleccionados.

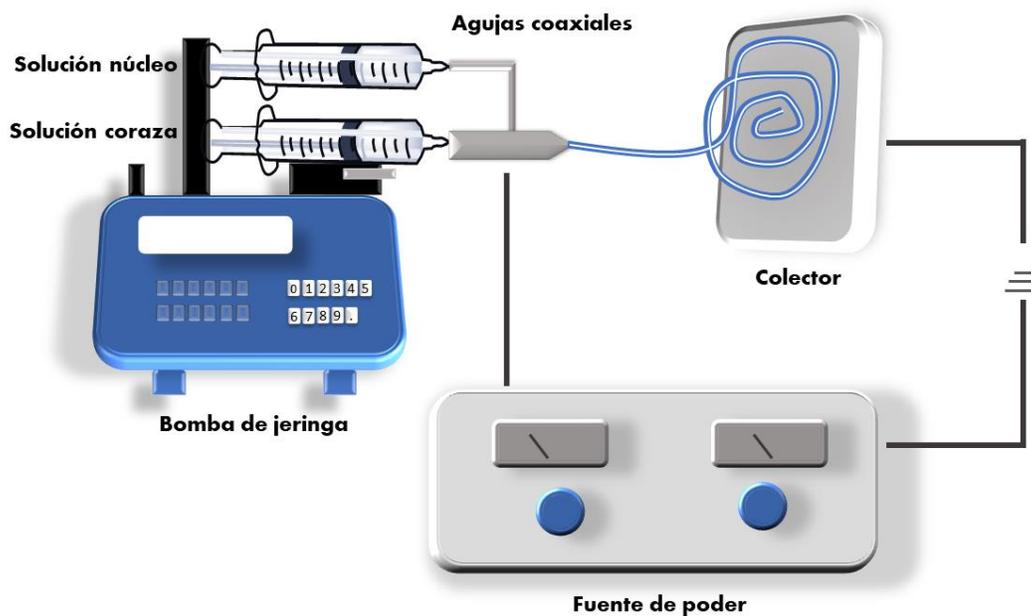
## **ANTECEDENTES GENERALES**

### **Técnica de electrohilado**

#### **Generalidades**

Se sabe que la formación de nanofibras a través del electrohilado se basa en el estiramiento o alargamiento uniaxial de un chorro viscoelástico derivado de una solución o fusión de polímero. Una configuración típica de un equipo de electrohilado se compone principalmente de una fuente de poder de alto voltaje, una bomba de jeringa que permita controlar la velocidad de salida de las soluciones poliméricas de las agujas y un colector conductor conectado a tierra. Durante el proceso de electrohilado, cuando se suministra alto voltaje, la gota de solución de polímero en la punta de la aguja se deforma en forma de cono (generalmente llamado cono de Taylor) bajo las fuerzas electrostáticas. La fuerte fuerza electrostática ha sido considerada como la fuerza impulsora para iniciar el proceso de electrohilado. Bajo la fuerza de un fuerte campo electrostático, el chorro de solución cargada en la punta de la aguja cambia su tamaño para mantener el equilibrio de la fuerza. Con el aumento de la intensidad del campo electrostático, las cargas de inducción en la superficie se repelen entre sí y producen tensiones de corte. Estas fuerzas repulsivas actúan en la dirección opuesta a la tensión superficial, lo que lleva a la extensión de la solución a caer en un cono de Taylor. Cuando el campo electrostático alcanza el voltaje crítico, se rompe el equilibrio de las fuerzas repulsivas y, por lo tanto, se expulsa un chorro cargado desde la punta de la gota cónica, generando fibras de escalas de algunas micras e incluso generado fibras nanométricas.<sup>33-36</sup>

Siendo este el principio de la técnica de electrohilado, representa una alternativa atractiva para generar materiales con características específicas, tales como, fibras de escalas micro y nanométrica, con una alta área superficial y con la capacidad de modificar su estructura, ya que se pueden encontrar diferentes variantes de la técnica de electrohilado, como el de disposición sencilla, de tipo coaxial, e incluso triaxial. Este tipo de materiales que constan de varias capas, representan es una gran alternativa para la obtención de materiales adecuados para utilizar en aplicaciones como dispositivos de liberación.<sup>37-41</sup> En la Figura 1 se presenta una representación esquemática del sistema de electrohilado.



**Figura 1.** Representación esquemática del método de electrohilado.

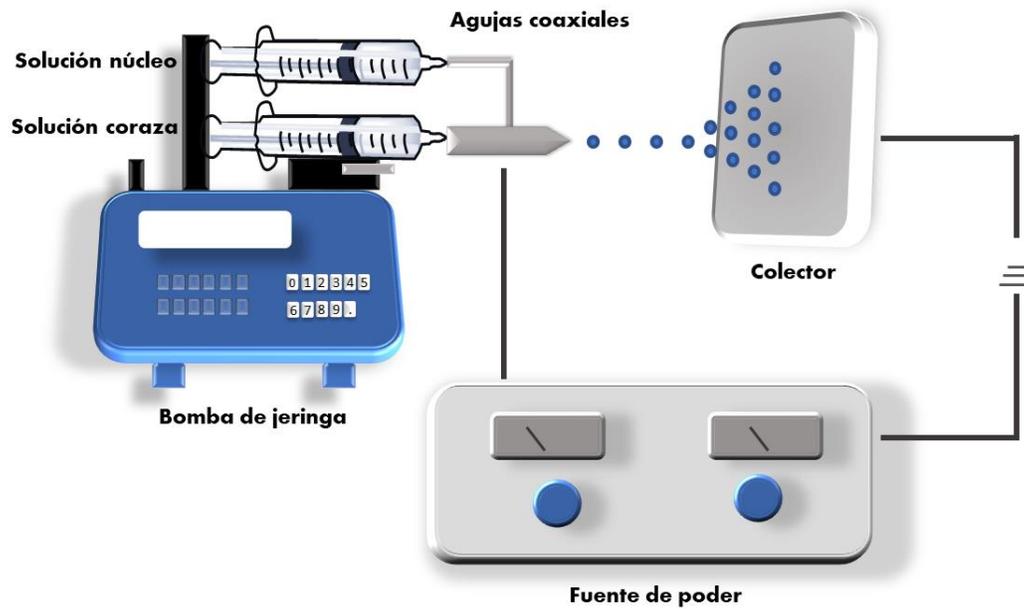
## Técnica de electroaspersión

### Generalidades

La electroaspersión es una técnica que se encuentra dentro de las llamadas técnicas de electrohidrodinámica, esta involucra la aplicación de alto voltaje a un capilar o

aguja por medio del cual fluye la solución polimérica, generando un chorro fino que posteriormente se desintegra en forma de gotas, las cuales mediante la evaporación del solvente permite la obtención de partículas, el tamaño de estas puede variar desde cientos de micrómetros a varias decenas de nanómetros. La distribución del tamaño de las partículas puede ser casi monodispersas debido a la carga que poseen al ser sometidas al campo eléctrico generado por el alto voltaje, este tipo de partículas son de gran interés para una gran gama de aplicaciones como son el desarrollo de sistemas de liberación de fármacos, administración dirigida de agentes terapéuticos, encapsulación de aditivos u otro tipo de sustancias de interés en las industrias cosmética y alimentaria, entre otros.

<sup>26,42-45</sup>La electroaspersión representa de entre las técnicas de generación de micro y nano partículas una gran alternativa, ya que ofrece múltiples ventajas, como por ejemplo permite obtener materiales capaces de encapsular ciertos agentes, de manera que les confiere cierta protección, es posible obtener partículas con una alta capacidad de carga y eficiencia de encapsulación, y por lo tanto se obtiene un mejor aprovechamiento de la sustancia encapsulada. <sup>46,47</sup> En la Figura 2 se muestra una representación esquemática del sistema de electroaspersión.



**Figura 2.** Representación esquemática del método de electroaspersión.

### **Sistemas de liberación de fármacos.**

Actualmente la investigación sobre cómo mejorar los métodos de administración de fármacos se está dirigiendo hacia la búsqueda de dispositivos a micro o nano escala. Un sistema ideal de suministro de fármacos debe ser capaz de controlar o modular la liberación de este, así como dirigirlo hacia zonas específicas. La focalización asegurará una alta eficiencia del fármaco y reducirá los efectos secundarios de este, especialmente cuando se trata de medicamentos que, al llevar a cabo su efecto terapéutico, suelen tener una selectividad sobre sus sitios de acción y pueden causar daños colaterales o efectos secundarios. La reducción o prevención de estos efectos se puede lograr mediante la liberación controlada de los fármacos. La formulación de este tipo de sistemas de tamaño

nanométrico es muy atractiva por diferentes razones, una de las más importantes es el aumento en el área superficial, ayudando a unir, adsorber o transportar compuestos tales como fármacos, enzimas, proteínas, etc.<sup>48-50</sup>

Las tecnologías de administración de fármacos se pueden clasificar de acuerdo con el método de administración y el sitio de acción previsto. Ambos pueden ser locales o sistémicos. El método de administración se denota a la forma en cómo se introduce un agente en el cuerpo, mientras que el sitio de acción se relaciona con el lugar del cuerpo en el que termina el agente. El efecto sistémico generalmente se logra después de la administración intravenosa u oral de los fármacos: el medicamento se distribuye por todo el cuerpo, incluso si el objetivo es una parte relativamente pequeña del cuerpo. En el caso, de los fármacos administrados de manera sistémica, el fármaco se distribuye por todo el cuerpo para lograr una concentración terapéutica en el sitio de interés. La presencia de altas concentraciones de fármacos en sitios fuera del objetivo como se ha mencionado anteriormente provoca efectos secundarios. Para lograr la mayor eficiencia dentro de un sistema de liberación es importante hablando de la concentración de fármaco cumplir con puntos importantes, estos son que la concentración de fármaco esté por encima del nivel mínimo eficaz y debajo de la concentración máxima segura<sup>51-53</sup>

Por otra parte, la administración controlada de fármacos mejora la biodisponibilidad de los fármacos mediante la prevención de la degradación prematura y a su vez mejora la absorción de estos, un sistema de liberación controlada se enfoca en mantener la concentración de fármaco dentro de la ventana terapéutica adecuada para cada tipo de fármaco.<sup>54-56</sup>

## **Electrohilado y electroaspersión en los sistemas de liberación de fármacos.**

Los materiales obtenidos por los métodos de electrohilado y electroaspersión se consideran dispositivos con capacidades potenciales para el desarrollo de sistemas para la administración de fármacos. La versatilidad de los materiales que pueden someterse a estas técnicas es otra de las razones por las que son consideradas adecuadas, ya que pueden generar materiales que cumplan con los requerimientos específicos para esta aplicación. Polímeros biodegradables y biocompatibles son los usados generalmente para el diseño de dispositivos de administración de fármacos debido que estas características son indispensables, no representan daño al paciente durante su uso y garantizan una eliminación sin ningún efecto nocivo. <sup>55,57,58</sup>

Actualmente el uso del electrohilado coaxial para incorporar fármacos a las fibras ha tomado un auge importante. Esto se debe a que las fibras de cierta forma protegen a estos agentes encapsulados de la reacción de su entorno circundante donde se liberan. Además, tiene la capacidad de atrapar el agente encapsulado hasta que sea necesario liberarlo y, esta liberación se puede dar de manera controlada, ya que las fibras están diseñadas para proporcionar una liberación controlada del agente encapsulado. <sup>59-61</sup>

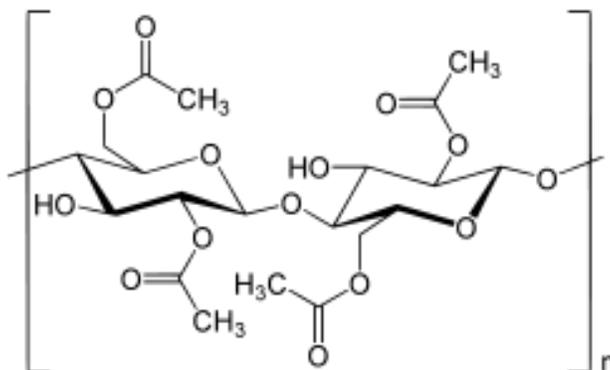
# **CAPITULO I**

## 1.1. ANTECEDENTES

### Acetato de celulosa (AC)

Debido al creciente interés en los problemas ambientales asociados con los polímeros sintéticos, hay una tendencia emergente hacia el uso de polímeros de origen natural en lugar de los sintéticos. Entre estos polímeros naturales, la celulosa, que se forma de unidades repetitivas de  $\beta$ -glucopiranosas unidas mediante enlaces  $\beta$ -1,4-O-glucosídico, es un polímero de estructura fibrosa con alto cristalinidad, además posee la ventaja de ser el biopolímero más abundante en la tierra.<sup>62,63</sup> En la Figura 3 se muestra la estructura química del acetato de celulosa.

El acetato de celulosa (AC) es un derivado bien conocido de celulosa y se ha utilizado en un amplio campo de aplicaciones, como un adhesivo, base de la película en la fotografía o en procesos de separación (por ejemplo, filtración, ósmosis inversa), para el desarrollo de materiales con uso en la biomedicina se convierte en uno de los candidatos ideales ya que posee dos de las cualidades esenciales que son biocompatibilidad y biodegradabilidad. El acetato de celulosa se produce por la acetilación de celulosa, esta puede ser de manera heterogénea u homogénea. En contraste con la celulosa, el acetato de celulosa posee una estructura mucho menos cristalina y por lo tanto exhibe una mejor solubilidad en disolventes orgánicos comunes como la acetona.<sup>39</sup>



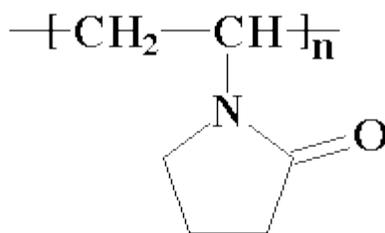
**Figura 3.** Estructura química del acetato de celulosa.

### **Poli (vinilpirrolidona) (PVP)**

El poli (vinilpirrolidona) (PVP) es un polímero sintético, higroscópico, muy soluble en agua, su unidad estructural repetitiva es  $(C_6H_9NO)_n$ . Actualmente el poli (vinilpirrolidona) es ampliamente utilizado en el área de la biomedicina, esto debido a sus buenas propiedades de, bio y hemocompatibilidad, no toxicidad, buenas propiedades formadoras de complejos, habilidad para generar diferentes estructuras, alta resistencia química y térmica, afinidad por el complejo tanto de sustancias hidrofílicas como hidrofóbicas, muy buena solubilidad en agua y muchos solventes orgánicos, además diversos estudios han demostrado que la PVP de bajo peso molecular se elimina fácil y completamente a través de los riñones tras su administración oral.<sup>64,65</sup> En la Figura 4 se presenta la estructura química del PVP.

El PVP es un componente útil para aumentar la velocidad de disolución de muchos fármacos hidrófobos, ya que puede funcionar como un inhibidor de la recristalización. Por esta razón, se ha propuesto utilizar este polímero junto a fármacos hidrófobos para mejorar su biodisponibilidad en varios procesos. Recientemente el PVP se ha propuesto

para la producción de ciertas estructuras como fibras y partículas poliméricas cargadas con fármaco, de manera que estas estructuras funcionen como sistemas capaces de liberar cantidades controladas de una amplia gama de agentes bioactivos.<sup>66-68</sup>

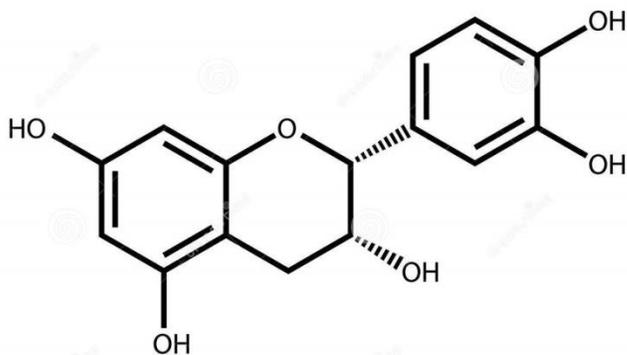


**Figura 4.** Estructura química del poli (vinilpirrolidona).

### **Epicatequina**

Actualmente se ha estudiado y promovido el consumo de alimentos con ciertos valores agregados, es decir aquellos que poseen componentes que además de participar como nutrientes aporten algo más. Tal es el caso del cacao, su alto contenido de flavonoides ayuda a tener una vasodilatación dependiente de la síntesis de óxido nítrico. Este tipo de estructuras, pueden actuar como antioxidantes y pueden inhibir la agregación plaquetaria, la oxidación de lipoproteínas de baja densidad, inflamación, generación de especies reactivas de oxígeno, además pueden aumentar la resistencia a la insulina.<sup>69,70</sup> Existe un amplio grupo de flavonoides presentes en la naturaleza, entre ellos se encuentra la Epicatequina, esta proviene del cacao, en estudios realizados se encontró que los

efectos vasculares del cacao pueden ser reproducidos por la Epicatequina, por lo que al cacao se le confieren propiedades vasodilatadoras debido a la presencia de este tipo de moléculas. La epicatequina tiene tres anillos de hidrocarburos que consisten en seis grupos hidroxilo en diferentes posiciones. En la Figura 5 se presenta la estructura química de la epicatequina. Estudios afirman que la Epicatequina induce la relajación de los anillos aórticos y estimula la producción de óxido nítrico, por medio de la activación de la óxido nítrico sintasa. Por otro lado, se ha demostrado que el consumo de Epicatequina de forma oral previene la formación de especies reactivas de oxígeno.<sup>71,72</sup>



**Figura 5.** Estructura química de la Epicatequina.

## 1.2. Experimental

### Materiales

Los materiales utilizados en este trabajo se presentan a continuación:

- Acetato de celulosa (AC) 39.7 wt % de acetilación, peso molecular (Mw) = 50 000 (Aldrich)
- Poli vinilpirrolidona (PVP) Mw = 360 000 (Aldrich)
- Etanol (Fagalab)
- Acetona (Fagalab)
- (-) Epicatequina Mw= 290.27 (Aldrich)
- Agua Mili-Q.

Todos los reactivos grado reactivo fueron utilizados sin ningún tratamiento previo.

### **Preparación de los sistemas poliméricos de Acetato de celulosa, PVP y Epicatequina (AC/PVP-Epi/AC).**

Se prepararon diferentes sistemas poliméricos, con diferentes morfologías y arreglos; fibras y esferas, así como sistemas combinando fibras y esferas en arreglo coaxial y sencillo. Los polímeros utilizados fueron acetato de celulosa (AC), poli (vinil pirrolidona) (PVP) y (-) epicatequina (Epi) como agente para liberar. Se prepararon soluciones en

concentraciones de 1% y 8% (p/v) respectivamente para cada una de las diferentes morfologías.

Se preparó una solución de AC al 1% para lo cual se pesaron 0.179 gramos, y para la solución al 8% en peso, se pesaron 1.43 gramos. Para ambas soluciones se utilizó una mezcla de solventes de acetona-agua en una proporción 80:20, para lo cual se midieron 16.7 ml de acetona y 3.3 ml de agua destilada. Las soluciones se mantuvieron en agitación magnética constante a temperatura ambiente. Para la solución de PVP al 1 % se pesaron 0.2 gramos y para la solución al 8% en peso, se pesaron 1.6 gramos. Para ambas soluciones se utilizó una mezcla de solventes etanol-agua, en una proporción 85:15, para lo cual se midieron 17 ml de etanol y 3 ml de agua destilada. De igual manera la solución se mantuvo en agitación magnética a temperatura ambiente. En la Tabla 1 se muestra las condiciones de las soluciones preparadas. Una vez listas las soluciones de PVP al 8% y 1%, se tomaron 5 ml de cada una a los que se les agregaron directamente 0.05 gramos de (-) epicatequina, y se mantuvieron en agitación magnética constante a temperatura ambiente.

Para determinar las condiciones de preparación de los materiales se modificaron diferentes parámetros del proceso de electrohilado, que fueron: voltaje aplicado, velocidad del flujo de salida de las soluciones poliméricas y la distancia de la punta de la aguja a la placa colectora.

Se prepararon diferentes sistemas, con morfologías de fibras, esferas, así como sistemas combinados fibra/esfera en disposición simple o coaxial, que contenían los tres

componentes, AC, PVP y Epi. También se prepararon materiales con esas características, pero sin la presencia de PVP, con el objetivo de evidenciar el efecto de este en los diferentes sistemas. Una vez obtenidas las soluciones se colocaron en jeringas de plástico de 6 ml se utilizaron agujas concéntricas para el arreglo coaxial con diámetros de 0.8 y 1.5 mm. En el caso de arreglo sencillo se utilizó la aguja de mayor diámetro para la obtención de los materiales. Para el arreglo coaxial la solución de AC correspondía a la fibra coraza, mientras que la solución de PVP + (-) epicatequina a la fibra núcleo. Para la obtención de estos materiales se varió el rango del voltaje aplicado en un intervalo de 12 – 17 Kv de una fuente de poder de alto voltaje marca Spellman, modelo CZE 1000R. La velocidad de salida de las soluciones poliméricas se varió en un rango de 0.1 – 4.0 mLh<sup>-1</sup>, empleando una bomba para jeringa kdsCientific. La distancia de la punta de la aguja a la placa colectora se varió de 12 – 15 cm. La placa colectora fue una lámina de aluminio de 10 x 10 cm.

**Tabla 1.** Características de los diferentes sistemas de CA, PVP y Epicatequina.

<b>Muestra</b>	<b>Arreglo</b>	<b>Morfología</b>	<b>Solución</b>	<b>Concentración (%)</b>	<b>Contenido de Epicatequina (mg)</b>
<b>AC/PVP-Epi/AC</b>	Coaxial	Fibra	AC, PVP	8	40
<b>AC/PVP-Epi/AC</b>	Coaxial	Esfera	AC, PVP	1	40
<b>AC/PVP-Epi/AC</b>	Coaxial	Fibra/esfera	AC, PVP	8 y 1	40
<b>AC/PVP-Epi</b>	Sencillo	Fibra	AC, PVP	8	40
<b>AC/PVP-Epi</b>	Sencillo	Esfera	AC, PVP	1	40
<b>AC/PVP-Epi</b>	Sencillo	Fibra/esfera	AC, PVP	8 y 1	40
<b>AC-Epi</b>	Sencillo	Fibra	AC	8	40
<b>AC-Epi</b>	Sencillo	Esfera	AC	1	40
<b>AC-Epi</b>	Sencillo	Fibra/esfera	AC	8 y 1	40

### **Caracterización morfológica de los materiales.**

Los materiales obtenidos de cada sistema, fibras, esferas y fibra-esfera, se caracterizaron morfológicamente, con un SEM, JEOL 5410LV. Un haz de electrones de 15 y 20 kV de intensidad fue utilizado en alto vacío; Las muestras fueron recubiertas con una película de oro previamente a ser observadas. Se midieron los diámetros promedio de las fibras y esferas, utilizando el software ImageJ con un recuento de 50 unidades.

### **Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier. (FTIR)**

Para confirmar la presencia de todos los componentes en los sistemas, se realizó una evaluación espectroscópica utilizando un modelo PerkinElmer Frontier, utilizando la técnica de pastilla de bromuro de potasio (KBr); Las sustancias fueron analizadas sin ningún tratamiento previo. Para obtener los espectros infrarrojos (IR) por reflectancia total atenuada (ATR), se utilizó el mismo equipo, pero utilizando el accesorio para ATR, esta técnica se utilizó para los materiales que contienen fibras. Los estudios de FTIR se realizaron antes y después de los ensayos de liberación.

### **Análisis termogravimétrico.**

El análisis termogravimétrico se llevó a cabo utilizando un equipo Perkin Elmer Pyris 1 TGA. Se pesaron muestras de aproximadamente 4 mg y se sometieron a calentamiento de 25 a 600 °C, con una velocidad de calentamiento y enfriamiento de 10 °C min<sup>-1</sup> bajo una atmósfera de nitrógeno.

### **Calorimetría diferencial de barrido.**

Para las pruebas de calorimetría diferencial de barrido, se colocaron 8 mg de muestra en cestas de aluminio y se calentaron de 25 a 600 °C con una velocidad de calentamiento de 10 °C min<sup>-1</sup> en atmósfera de nitrógeno en un equipo Perkin Elmer DSC 8500.

### **Ensayos de liberación de epicatequina en sistemas de fibras, esferas y fibra/esfera.**

Para evaluar la capacidad de liberación de epicatequina de los diferentes sistemas de AC, PVP-Epicatequina en el caso de los materiales fibrosos se colocaron las membranas completas tal y como se obtuvieron, en el caso de las esferas se recolectaron los polvos, una vez pesados se formaron pastillas de 1.3 cm de diámetro. Una vez que se tuvieron las muestras se colocaron en 400 mL de agua grado mili-Q como medio de liberación, se mantuvieron en agitación magnética constante. En intervalos de tiempo determinados se tomaron alícuotas de 3 mL, para el monitoreo de la cantidad de epicatequina presente en el medio de liberación. Se mantuvo un volumen constante en el medio, una vez tomada la lectura de la cantidad de epicatequina en la alícuota, esta fue regresada al medio de liberación. Las alícuotas se colocaron en una celda de cuarzo, y se usó un espectrofotómetro UV-vis marca Perkin Elmer modelo Lambda 20, para obtener los valores de absorbancia utilizando una longitud de onda de 278.82 nm. Las mediciones se

hicieron hasta alcanzar el equilibrio de la liberación en el sistema. Se siguió este mismo procedimiento para todos los ensayos de liberación de los diferentes sistemas.

Para obtener la cinética de liberación, se graficó la absorbancia contra el tiempo. Dichos valores se interpolaron en una curva de calibración previamente realizada para conocer la cantidad de epicatequina liberada en el medio. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

### Ajuste a modelos de liberación.

Con los datos obtenidos de los ensayos de liberación se realizó un ajuste a los siguientes modelos de liberación: Korsmeyer and Peppas, Higuchi y orden Zero mediante los cuales se determinó, el mecanismo que rige la liberación de los diferentes sistemas. En la Tabla 2 se muestran los modelos con sus fórmulas correspondientes.

**Tabla 2.** Ecuaciones de los modelos matemáticos en la liberación de fármacos.

Modelo	Ecuación
Korsmeyer & Peppas	$\frac{Mt}{M_{\infty}} = K_p t^n$
Higuchi	$\frac{Mt}{M_{\infty}} = K t^{1/2}$
Orden Zero	$\frac{Mt}{M_{\infty}} = K t$

### 1.3. Resultados y discusiones

#### Preparación de los sistemas poliméricos de Acetato de celulosa, PVP y Epicatequina.

Se determinaron los parámetros para la preparación de los diferentes sistemas, para el caso de fibras se utilizaron soluciones al 8% en peso de los polímeros AC y PVP con un contenido de Epicatequina del 1%. Para el caso de las fibras tanto sencillas como coaxiales los valores de flujo aplicado fueron de 3.5 mLh<sup>-1</sup>, 15 kV de voltaje y una distancia de la punta de la aguja a la placa colectora de 15 cm. Mientras que para las esferas tanto coaxiales como sencillas se utilizaron los siguientes parámetros, un flujo de 0.5 mLh<sup>-1</sup>, 17 kV de voltaje y una distancia de la punta de la aguja a la placa colectora de 12 cm. En la Tabla 3 se muestran los parámetros y características de cada uno de los materiales preparados.

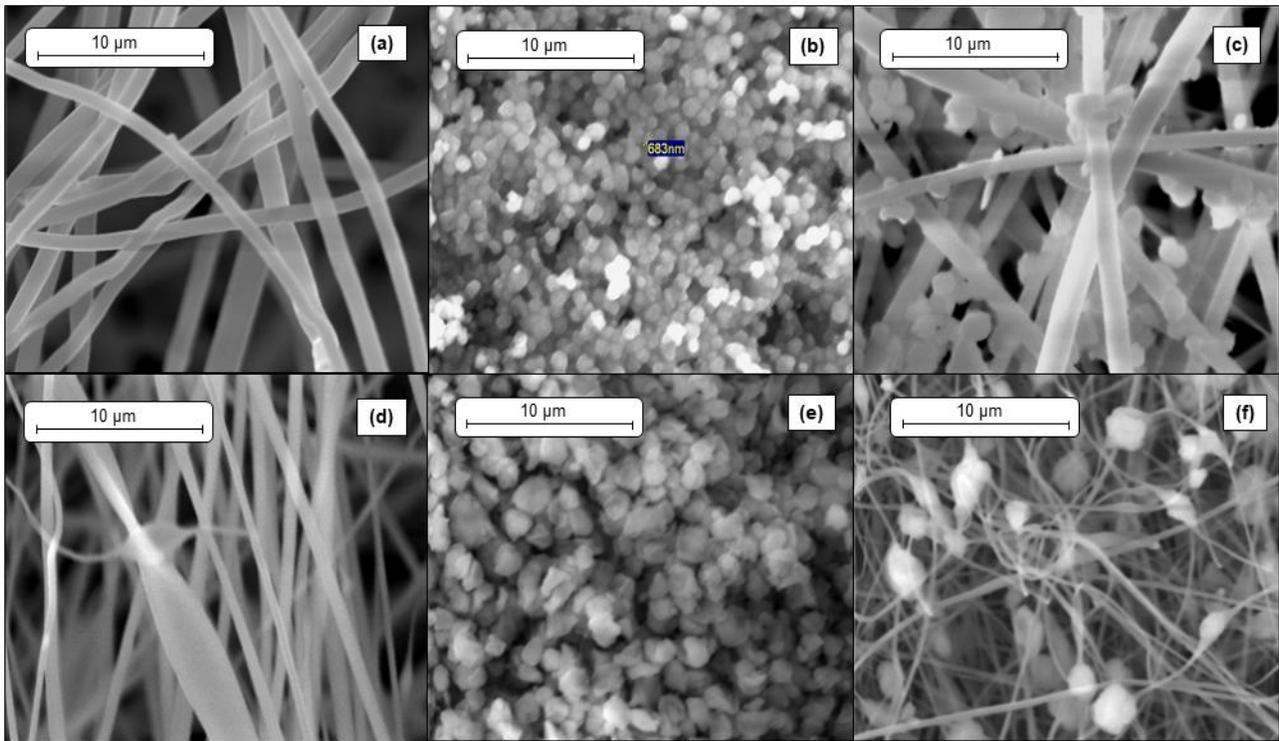
**Tabla 3.** Condiciones de preparación para los diferentes sistemas de CA, PVP y Epicatequina.

Material	Arreglo	Concentración (mg mL <sup>-1</sup> )			Flujo (mLh <sup>-1</sup> )	Distancia (cm)	Voltaje (kV)
		AC	PVP	Epi			
Fibra	Coaxial	80	80	10	3.5	15	15
Esfera	Coaxial	10	10	10	0.5	12	17
Fibra	Sencillo	80	80	10	3.5	15	15
Esfera	Sencillo	10	10	10	0.5	12	17
Fibra	Sencillo	80	--	10	3.5	15	15
Esfera	Sencillo	10	--	10	0.5	12	17

### **Microscopia Electrónica de Barrido. (MEB)**

La caracterización morfológica fue realizada por MEB. La Figura 6 muestra las micrografías obtenidas de los diferentes sistemas, la sección (a) corresponde a las fibras obtenidas por electrohilado coaxial, se muestran fibras con una superficie lisa, sin poros, y con un diámetro promedio de  $1.2 \pm 0.20 \mu\text{m}$ . La sección (b) muestra las esferas obtenidas por electroaspersión coaxial, donde se observa la forma esférica y la superficie lisa de las esferas, no se observa la presencia de poros o alguna otra irregularidad en su superficie, es posible apreciar una distribución estrecha del tamaño, el tamaño promedio de las esferas corresponde a  $680 \pm 70.1 \text{ nm}$ . En el caso de los sistemas de fibra/esferas, en las secciones (c), se observa la presencia de fibras lisas, de forma visiblemente cilíndrica, con ausencia de poros, con un diámetro promedio de  $830 \pm 41.2 \text{ nm}$ , también se pueden observar esferas de una forma redondeada, superficie lisa y sin poros o alguna otra irregularidad, con un tamaño promedio de  $711 \pm 25.0 \text{ nm}$ . Nos encontramos con estas estructuras con características muy similares a los materiales solos y es de esperar ya que para obtener los sistemas combinados fibra/esfera, se preparó una capa de fibras y sobre ella se colocó una capa de esferas, como se describe en la sección experimental. Las secciones (d-f) muestran los sistemas CA/Epi en una disposición sencilla. El inciso (d) corresponden a las fibras AC/Epi, se observan sin presencia de gotas o poros, y con un diámetro promedio de  $879 \pm 57.2 \text{ nm}$ . El inciso (e), se presentan las esferas de AC/Epi, las

cuales tienen una forma redondeada, y una superficie lisa con ausencia de poros, su diámetro promedio es  $987 \pm 70.1$  nm. Finalmente, el inciso (f) nos muestra el sistema combinado de fibras/esferas, AC/Epi, se observan fibras cilíndricas, con superficie lisa y un diámetro promedio de  $366 \pm 20.1$  nm, y partículas de forma esférica y diámetro promedio de  $1.5 \pm 0,25$   $\mu$ m.



**Figura 6.** Micrografías a 5000X de los sistemas coaxiales de AC/PVP-Epi/AC (a) fibras, (b) esferas, (c) fibra/esfera. Sistemas simples AC/Epi (d) fibras, (e) esferas y (f) fibra/esfera.

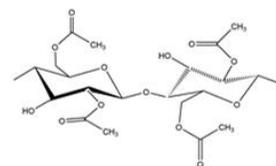
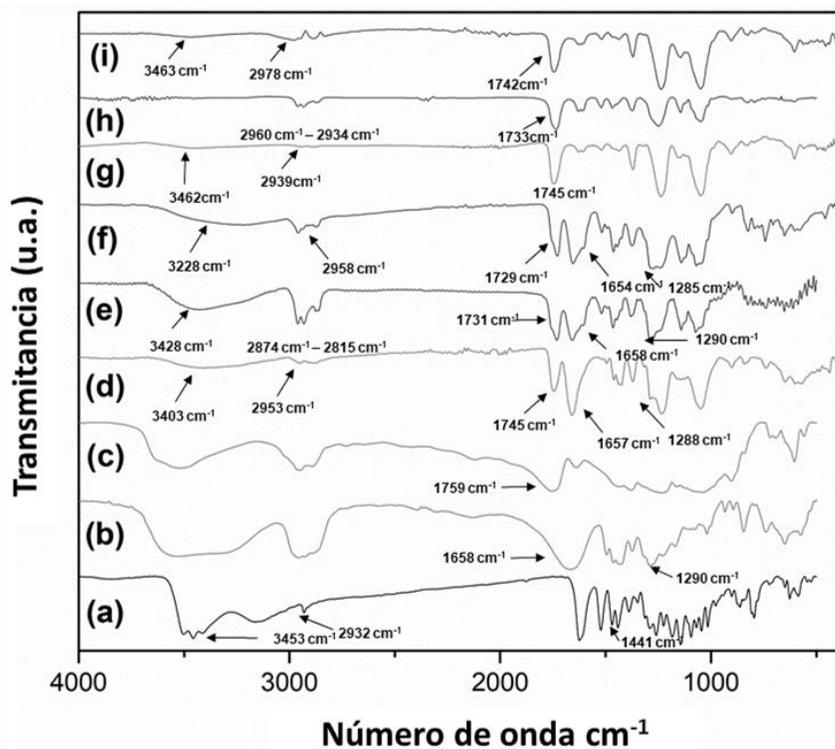
#### **Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR).**

La espectroscopía FTIR se llevó a cabo con el propósito de identificar las señales características de los componentes de los diferentes sistemas y poder demostrar la presencia o ausencia de estos componentes, así como alguna posible interacción entre ellos. En la Figura 7, se muestran los espectros IR de cada uno de los componentes, el inciso (a) corresponde al espectro de epicatequina, a  $3453\text{ cm}^{-1}$  se observa la señal correspondiente a los estiramientos de los grupos OH, así como el estiramiento olefínico C-H presente en la molécula en  $2932\text{ cm}^{-1}$ , a  $1441\text{ cm}^{-1}$ , el doblez olefínico C-H está presente, y a  $1100\text{ cm}^{-1}$ , se observó la señal asignada al C-O del grupo éter. La sección (b) corresponde al espectro PVP, donde se puede observar la señal del grupo C=O correspondiente al grupo amida que aparece a  $1658\text{ cm}^{-1}$ , así como la señal de vibración C-N a  $1290\text{ cm}^{-1}$ . El espectro AC (c) muestra su señal característica de la vibración del grupo éster del grupo C=O a  $1759\text{ cm}^{-1}$ . La Figura 7 muestra también los espectros correspondientes a cada uno de los sistemas estudiados, en la parte (d), se muestra en el espectro de fibra coaxial de AC/PVP-Epi/AC, donde se pueden observar las señales características del grupo C=O : a  $1745\text{ cm}^{-1}$  en la AC, así como a  $1657\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al grupo amida presente en la molécula PVP, y las señales del (-) Epi se observan en  $3403$  y  $2953\text{ cm}^{-1}$ , esas son atribuido a las vibraciones de estiramiento de los grupos -OH y C=CH, respectivamente, así como a la señal de vibración C-N presente en la molécula a  $1288\text{ cm}^{-1}$ , en secciones (e, f), los espectros de las esferas y la fibra combinada / esfera del sistema de AC/PVP-Epi/AC en disposición coaxial se presentan respectivamente, donde de manera similar se pueden observar estas señales características de cada uno de los componentes.

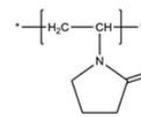
Por otro lado, la sección (g) corresponde a las fibras de AC/Epi en disposición simple, las señales características de estos componentes se presentan en 3462 y 2939  $\text{cm}^{-1}$ , correspondientes a las vibraciones de estiramiento de los grupos -OH y -C = CH respectivamente, así como la señal del grupo C=O a 1745  $\text{cm}^{-1}$ , atribuido al AC. Las secciones (h, i) corresponden a los sistemas en disposición simple, esferas y fibra/esfera de CA/Epi, respectivamente. En cada uno de ellos, podemos encontrar las señales características de los diferentes grupos funcionales presentes en las moléculas de los componentes puros, que indican la presencia de estos en los diferentes sistemas. Se observan algunos cambios en la posición de estas señales, esto es indicativo de posibles interacciones entre los componentes. Las muestras (d-f) contienen los tres componentes, sin embargo, están presentes en diferentes proporciones como se muestra en la Tabla 1, y esto modifica el número de interacciones que se refleja en los desplazamientos de las bandas características de cada componente. Además, los espectros (d) y (f) se obtuvieron usando la técnica ATR y (e) el espectro se obtuvo usando la técnica de pastilla de KBr.

La Figura 8 muestra las ampliaciones de algunos espectros de la Figura 7 para mostrar mejor la posible interacción por puente de hidrógeno entre la epicatequina y el AC, y entre epicatequina y PVP, siguiendo la señal del grupo carbonilo presente en ambos polímeros. Como se sabe, los desplazamientos de esta señal son evidencia de interacciones moleculares como son los puentes de hidrogeno. Se puede observar que la señal de carbonilo en el AC puro aparece a 1759  $\text{cm}^{-1}$ , por otro lado, en presencia del Epi aparece a 1745  $\text{cm}^{-1}$ . La señal del grupo carbonilo en el PVP aparece a 1658  $\text{cm}^{-1}$  y la misma señal aparece a 1657  $\text{cm}^{-1}$  cuando la epicatequina está presente. El

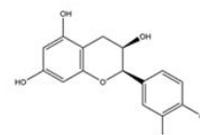
desplazamiento del grupo carbonilo para el AC fue de  $14\text{ cm}^{-1}$  y el cambio de señal de carbonilo en el PVP fue de  $1\text{ cm}^{-1}$ , ambos desplazamientos fueron hacia el rojo, un desplazamiento batocromático, a energías más bajas, lo que concuerda con lo que ya se ha informado. para grupos carbonilo que forman un enlace de hidrógeno. La diferencia en la magnitud de los desplazamientos puede explicarse porque cada monómero AC tiene tres sitios posibles para formar puentes de hidrógeno, mientras que el monómero PVP tiene solo un sitio posible para la interacción del enlace de hidrógeno con el (-) Epi. También debe considerarse que la muestra en la sección (d) de la Figura 7 también contiene AC.



**Acetato de celulosa  
3.9% wt. acetilación**

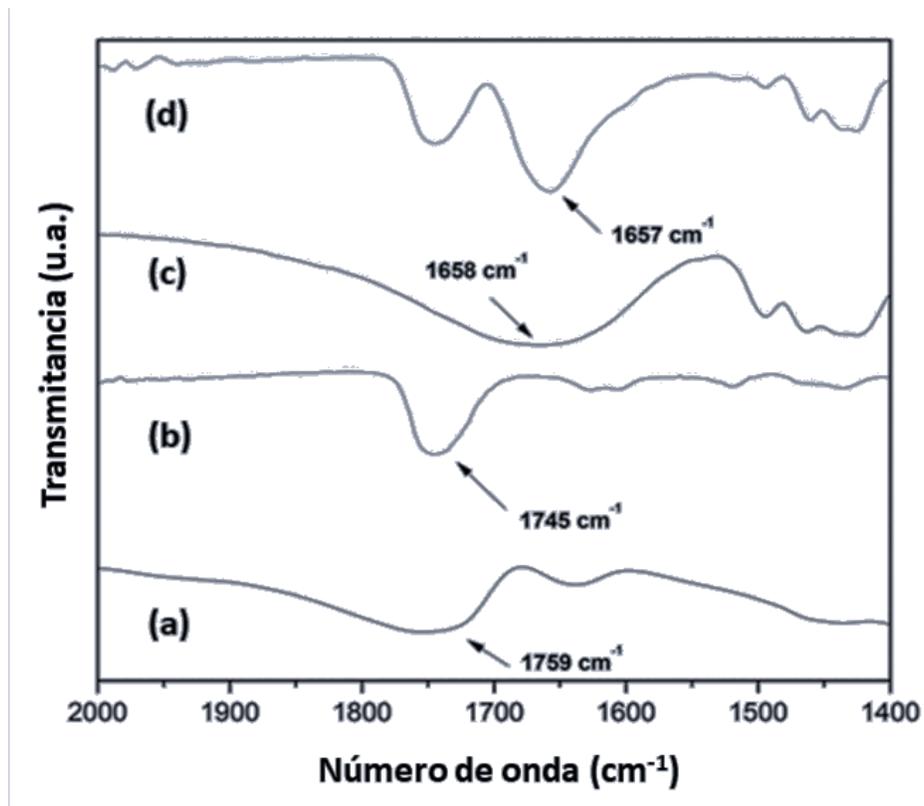


**Poli (vinilpirrolidona)**



**Epicatequina**

**Figura 7.** Espectros FTIR de los componentes individuales (a) (-) Epi, (b) PVP, (c) CA, los sistemas coaxiales AC/PVP-Epi/AC (d) fibras, (e) esferas, (f) fibra/esfera y sistemas simples CA/Epi, (g) fibras, (h) esferas y (i) fibra/esfera.

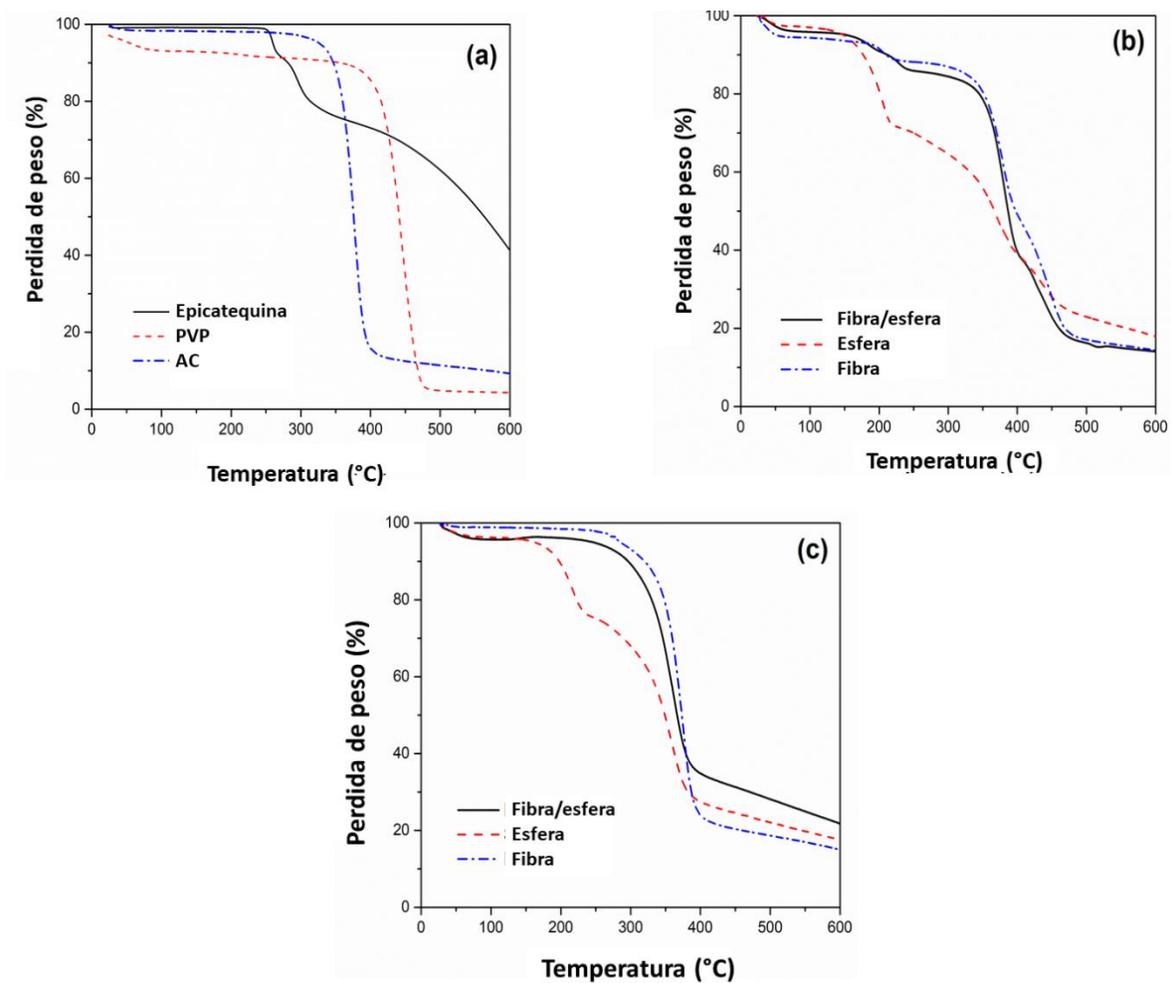


**Figura 8.** Espectros de FTIR de los componentes individuales (a) AC, (b) AC-Epi, (c) PVP y (d) PVP-Epi.

#### Análisis Térmicos.

### **Análisis termogravimétrico.**

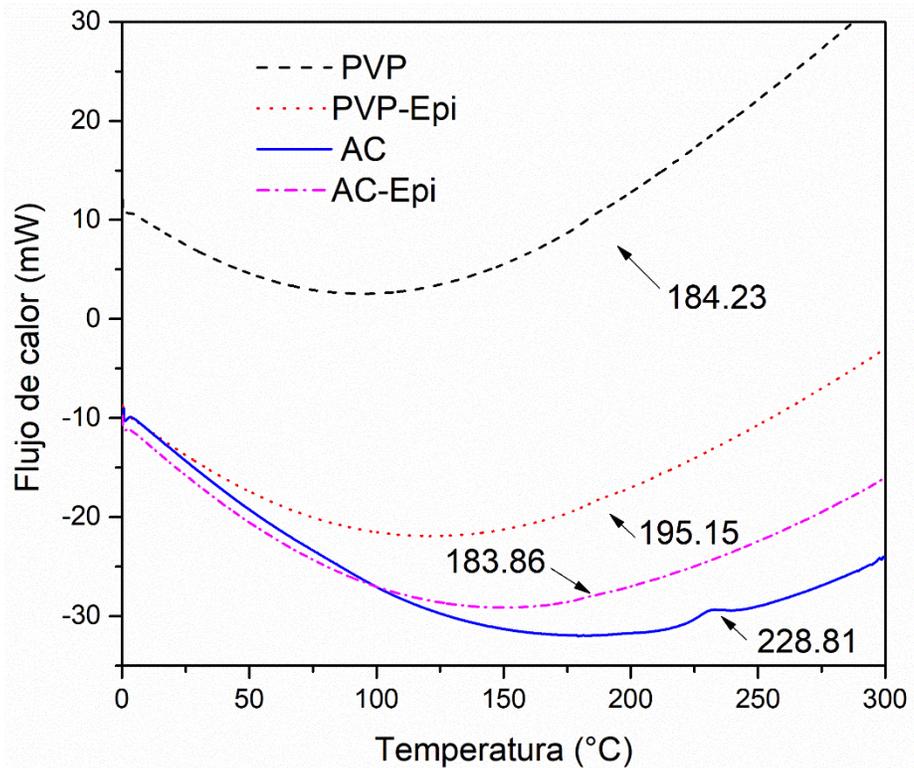
En la Figura 9 (a), los termogramas para AC, PVP y (-) Epi se muestran individualmente. Se observa que el AC y PVP presentan una degradación de un solo paso, las pérdidas de peso más significativas ocurren a 300 °C y 400 °C para AC y PVP, respectivamente. (-) Epi muestra una primera pérdida de peso entre 250 °C y 278 °C. En la sección (b), se presentan los termogramas de los sistemas de disposición coaxial, todas las muestras presentan una primera inflexión o pérdida de peso alrededor de 40 °C, atribuida a los solventes que quedan en la muestra, en el caso de fibras de AC/PVP-Epi/AC se observaron pérdidas de peso, a los 206 °C, 377 °C y 445 °C, atribuidas a (-) Epi, AC y PVP, respectivamente. De tal manera, que se confirma la presencia de cada uno de los componentes en el sistema. Las esferas de AC/PVP-Epi/AC tienen tres pérdidas de peso entre 202 °C y 435 °C, mientras que la fibra/esfera combinada solo tiene dos caídas a 424 °C y 440 °C, la pérdida de peso atribuida a la (-) Epi podría ser superpuesta con la del AC. La sección (c) muestra los termogramas correspondientes a los sistemas en una disposición simple. En estos casos, las pérdidas de peso relacionadas con (-) Epi no se observan debido a una superposición con las del AC. El sistema fibroso de AC-Epi muestra una pérdida de peso a 371 °C, las esferas muestran caídas a 216 °C y 358 °C, mientras que el sistema de fibra/esfera muestra una pérdida de peso a 361 °C. Por medio de los estudios termogravimétricos, se pudo verificar la presencia de cada componente en el material, los porcentajes en peso que aparecen, concuerdan con las cantidades utilizadas para la preparación de cada muestra.



**Figura 9.** Termogramas de los componentes individuales de las membranas (a) AC, PVP, y (-) Epi, (b) termogramas de los sistemas coaxiales y (c) termogramas de los sistemas sencillos.

### Calorimetría diferencial de barrido.

Se realizaron estudios de calorimetría diferencial de barrido para demostrar las interacciones de enlace de hidrógeno que se producen entre el fármaco y los otros dos componentes de las muestras, que se reflejan en los cambios en la Tg de los polímeros puros. La Figura 10 muestra el DSC de AC, PVP, AC-Epi y PVP-Epi. Los cambios en la Tg se pueden observar en la Figura 10, se observaron cambios en la Tg de ambos polímeros cuando (-) Epi está presente, lo que confirma la hipótesis de que se producen interacciones de enlace de hidrógeno entre los componentes de cada sistema, estos resultados coinciden con los obtenidos por FTIR y ATR.



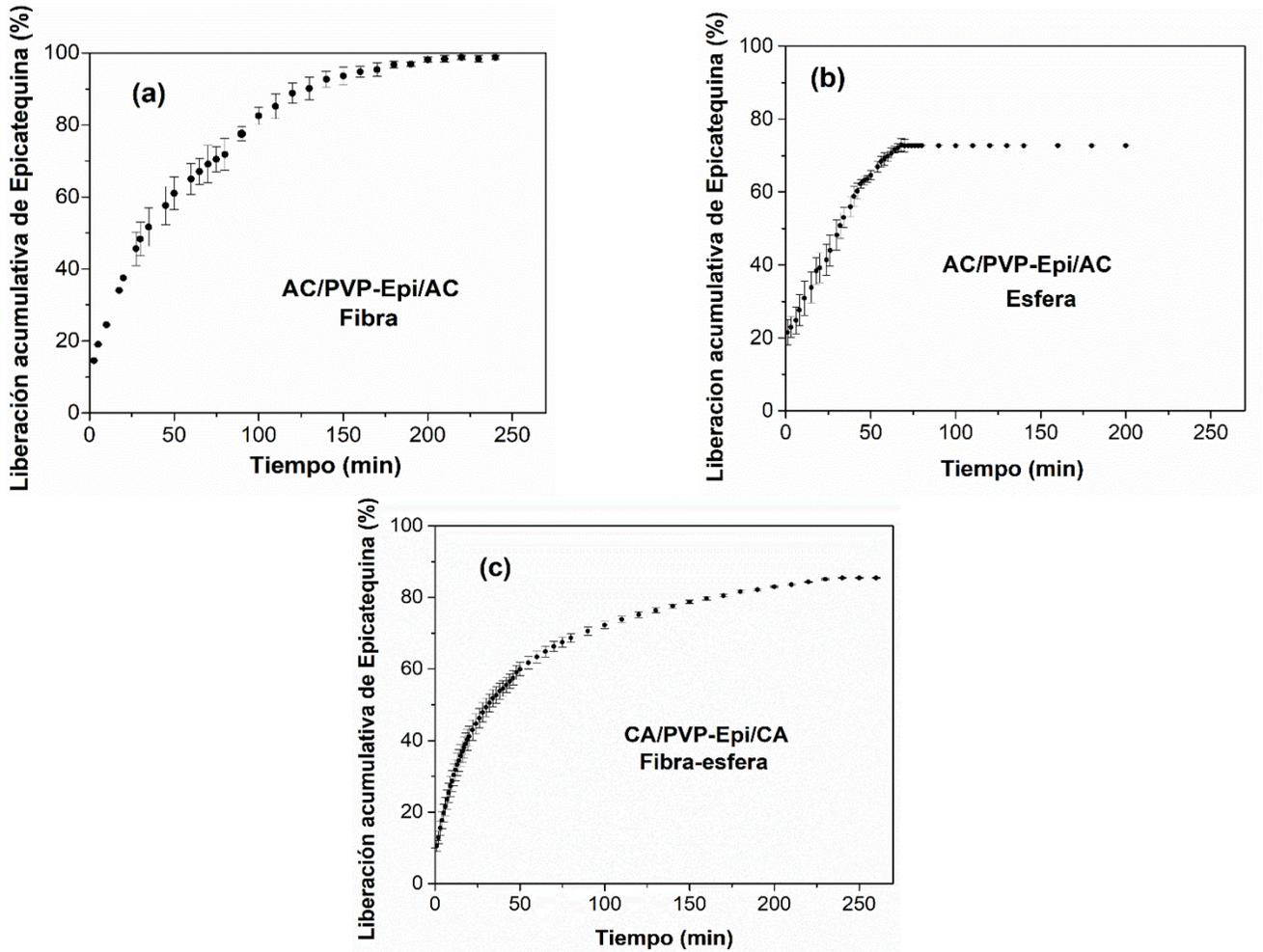
**Figure 10.** Curvas DSC de AC, PVP, AC-Epi y PVP-Epi.

### **Ensayos de liberación de (-) epicatequina.**

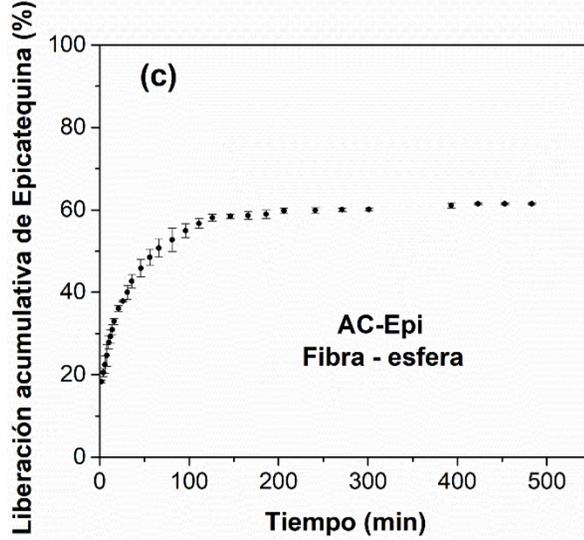
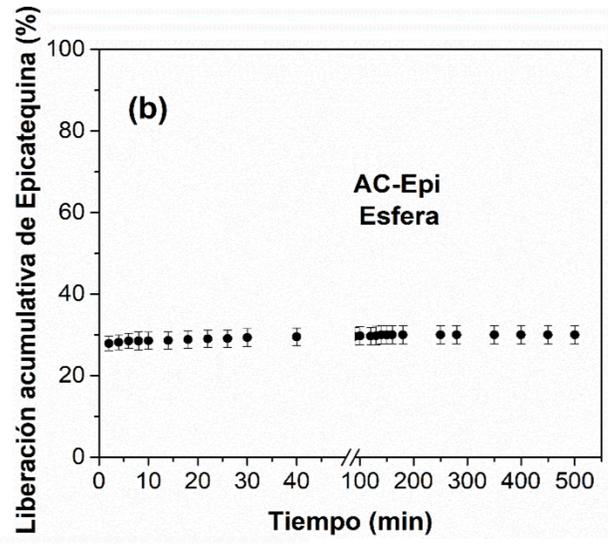
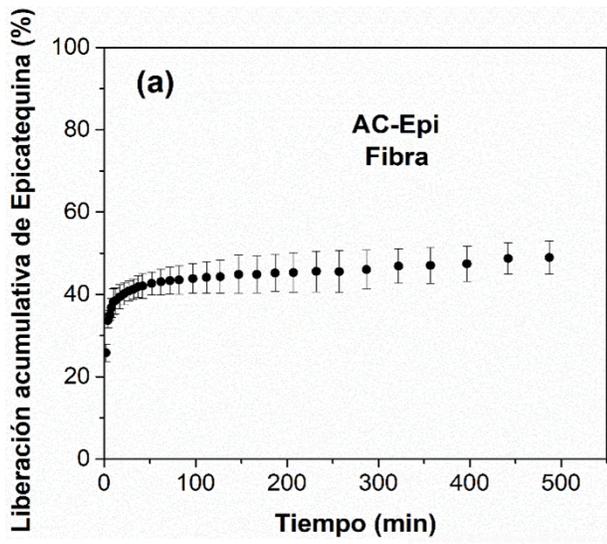
Para evaluar la cinética de liberación, fue necesario preparar sistemas simples y coaxiales de fibras, esferas y fibra/esfera. Se evaluó la capacidad de liberación de epicatequina de todos los diferentes sistemas; se realizaron ensayos de liberación en agua milli Q como medio de liberación. En la Figura 11, se muestran las cinéticas de liberación para los sistemas coaxiales, la sección (a) corresponde a la membrana fibrosa de AC/PVP-Epi/AC. Se observó una liberación continua, en la que se alcanzó el equilibrio a los 210 minutos, después de una liberación del 98.8% de la epicatequina contenida inicialmente en la membrana. En la parte (b), se presenta la cinética de liberación de las esferas AC/PVP-Epi/AC, donde encontramos una liberación en dos etapas: la primera corresponde a los primeros 46 minutos, donde se liberó aproximadamente el 63% del flavonoide, y la segunda etapa con una liberación más lenta, el equilibrio se alcanzó a los 64 minutos con una cantidad total de liberación del 72.8% del contenido inicial de epicatequina. La sección (c) muestra la cinética de la liberación del sistema de fibra/esfera, AC/PVP-Epi/AC, se observó una liberación continua, donde el equilibrio se alcanza a los 230 minutos con un porcentaje de liberación del 85.4% del contenido inicial. La Figura 12 inciso (a) muestra la cinética de liberación de las fibras AC-Epi en una disposición sencilla, que alcanza el equilibrio en un tiempo de 200 minutos con un porcentaje de liberación del 45% de su cantidad inicial, el inciso (b) presenta la cinética de liberación de las esferas de AC-Epi también en una disposición sencilla, alcanzando el equilibrio a los 120 minutos con un porcentaje de liberación del 30%. En el caso del sistema de fibra/esfera en una disposición sencilla, que se muestra en el inciso (c), el equilibrio se alcanzó a los 483 minutos con un

porcentaje de liberación del 61%. En ninguno de estos sistemas de disposición sencilla, se observa una liberación de ráfaga; por el contrario, la liberación es continua. La Figura 13 (a) muestra la cinética de liberación de las fibras AC/PVP-Epi en una disposición sencilla, que alcanza el equilibrio en un tiempo de 186 minutos con un porcentaje de liberación del 98.1% con respecto a su cantidad inicial, el inciso (b) presenta La cinética de liberación de las esferas de AC/PVP-Epi en arreglo sencillo, alcanza el equilibrio a los 120 minutos con un porcentaje de liberación del 78%. En el caso del sistema de fibra/esfera en arreglo sencillo, se muestra en el inciso (c), el equilibrio se alcanzó a 141 minutos con un porcentaje de liberación del 89%. También se observa una liberación continua para todos estos casos. Los sistemas estudiados mostraron una tasa de liberación entre 0.05 y 0.56 mg/min. La morfología del material, fibra o esfera, así como la ubicación del flavonoide en cada morfología, coaxial o simple, determinan la cinética de liberación, es decir, porcentajes de liberación y tiempo para alcanzar el equilibrio, estos son factores importantes para la administración de fármacos. Usando la morfología de la fibra, tanto coaxial como simple, se observaron porcentajes de liberación mayores y tiempos más largos para alcanzar el equilibrio que las esferas para cada sistema, como se resume en la Tabla 4. En el caso de las fibras, el sistema coaxial mostró un mayor tiempo para alcanzar el equilibrio en comparación con el sistema simple, ambos con PVP, esto puede deberse a que la epicatequina permacene confinada en el núcleo de la fibra. Para todos los casos, la presencia de PVP aumenta en aproximadamente un 50% el porcentaje de liberación en comparación con aquellos que no contienen PVP, porque es soluble en el medio de liberación. En general, se recomienda usar fibras para lograr porcentajes más altos de

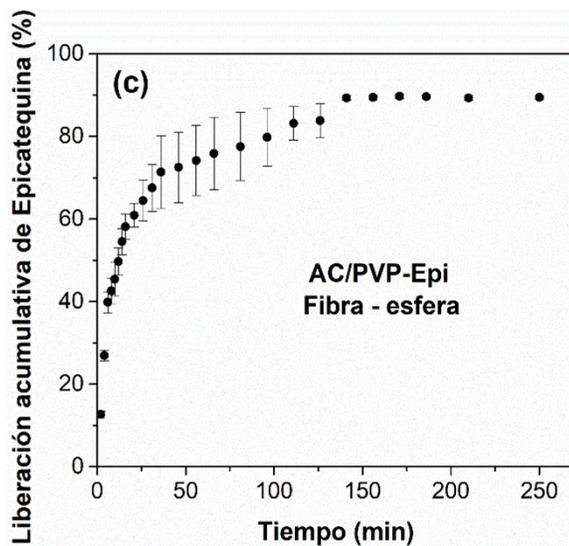
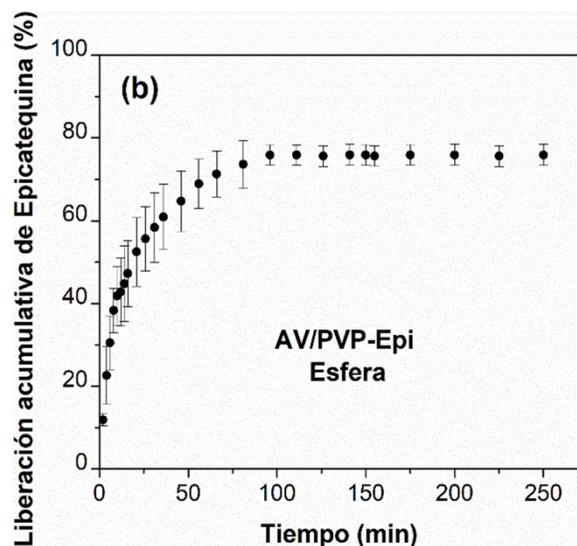
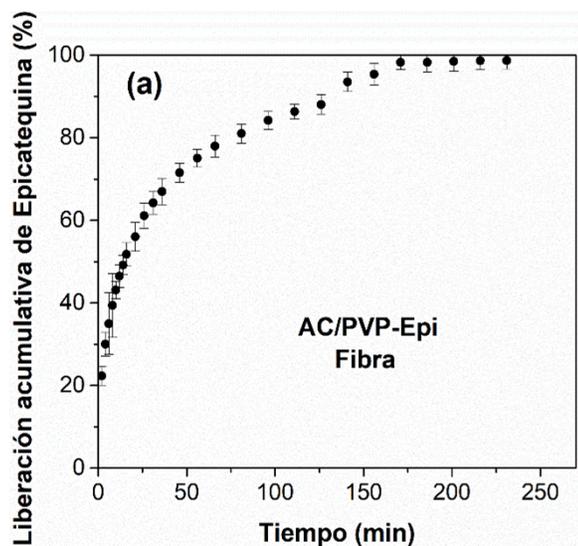
liberación de fármacos y, por otro lado, usar esferas para tener tiempos más cortos de liberación de fármacos



**Figura 11.** Cinética de liberación de los sistemas AC, PVP y (-) Epi, (AC/PVP-Epi/AC) en arreglo coaxial (a) fibras, (b) esferas y (c) fibra / esfera.



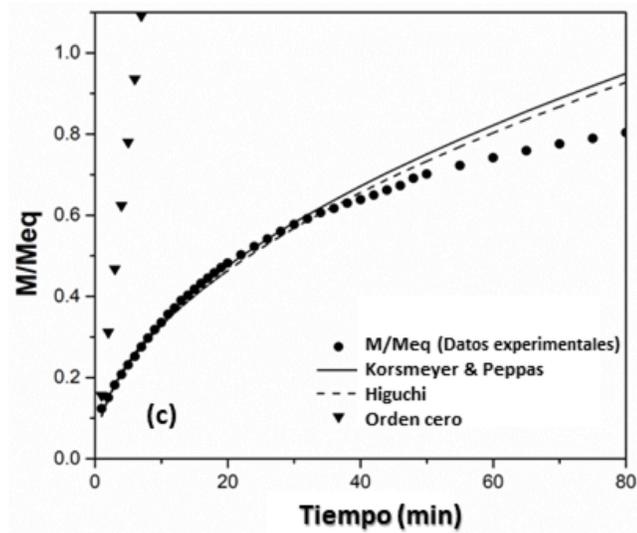
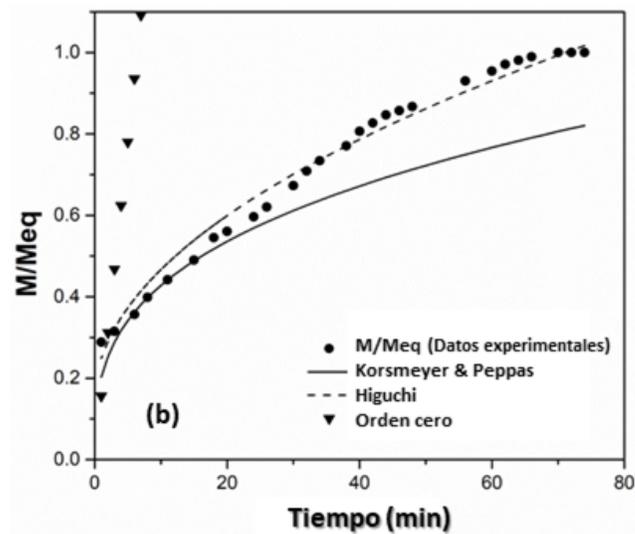
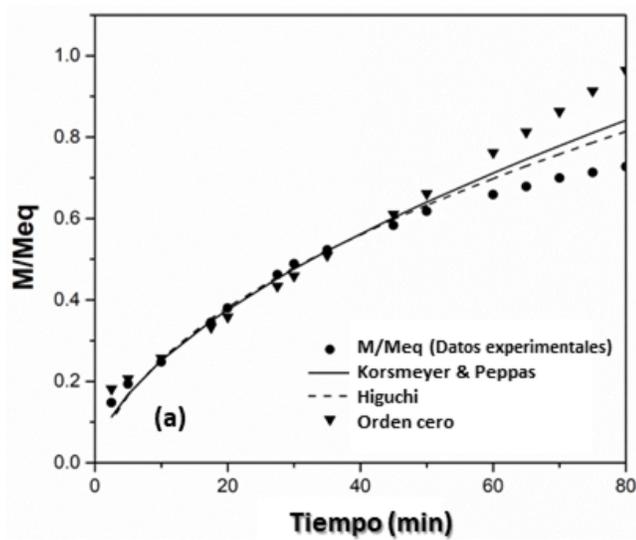
**Figura 12.** Cinética de liberación de los sistemas (CA/Epi) en arreglo sencillo (a) fibras, (b) esferas y (c) fibra/esfera.



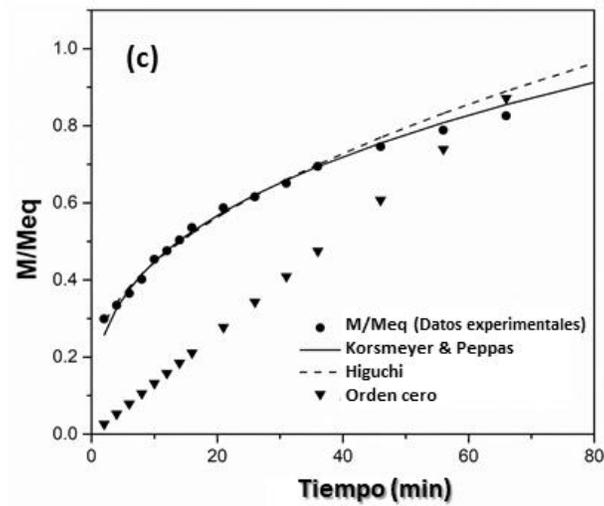
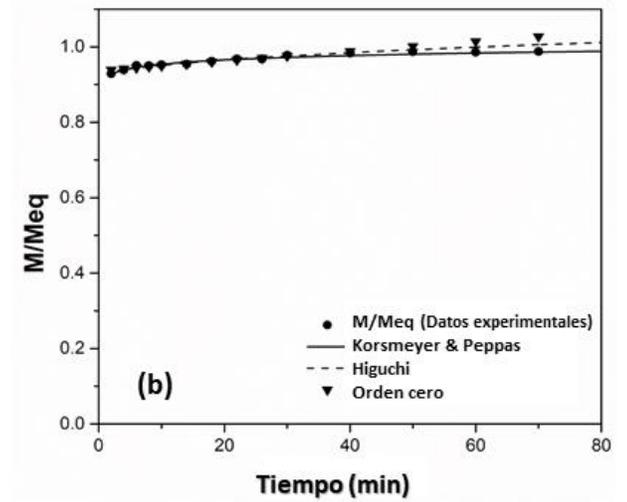
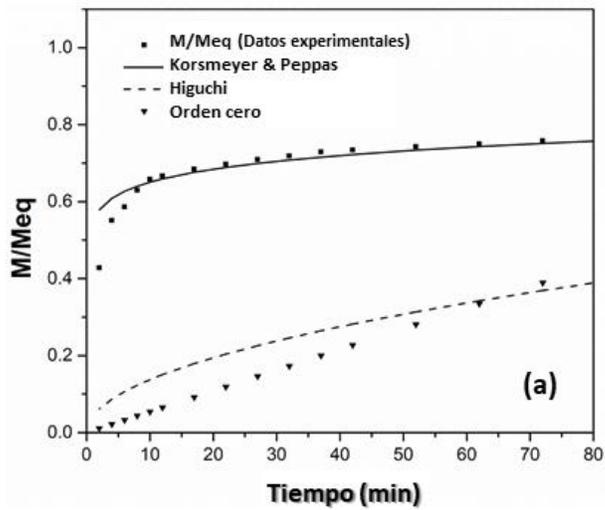
**Figura 13.** Cinética de liberación de los sistemas (AC/PVP-Epi) en arreglo sencillo (a) fibras, (b) esferas y (c) fibra/esfera.

### **Ajuste de los datos experimentales a modelos matemáticos.**

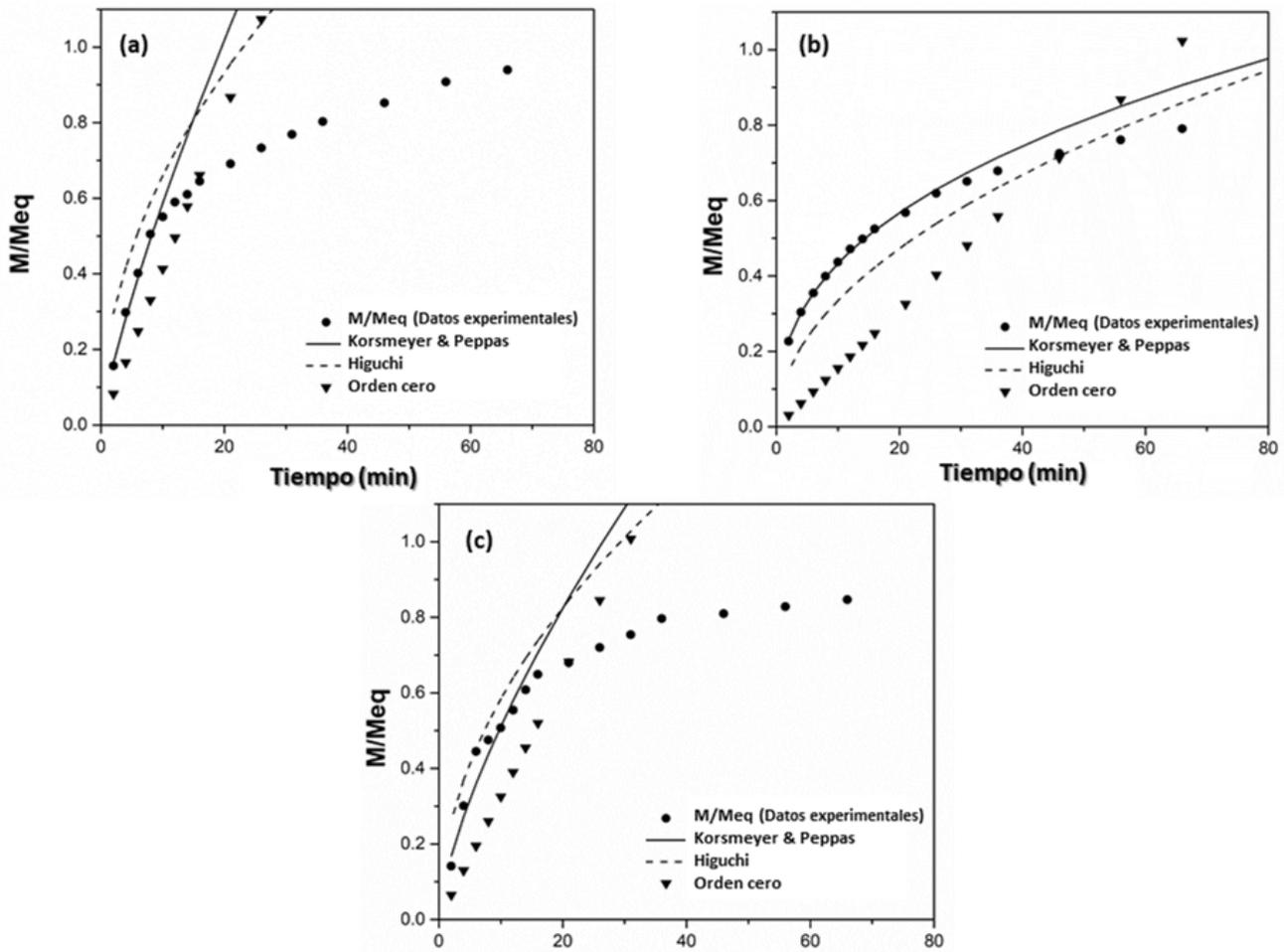
Las Figuras 14, 15 y 16 muestra los ajustes de las cinéticas de liberación para los diferentes sistemas que contienen AC y PVP para la liberación de (-) epicatequina. Se utilizaron los modelos, Korsmeyer & Peppas, Higuchi y de orden cero. En el modelo Korsmeyer & Peppas, el parámetro  $K_p$  representa la constante cinética de liberación y el parámetro exponencial  $n$  representa el mecanismo de liberación. En el modelo de Higuchi, el parámetro  $k$  representa la constante cinética. En el modelo de orden cero,  $k$  también representa la constante cinética. La Tabla 4 muestra los  $n$  valores para el modelo Korsmeyer-Peppas y su interpretación, los valores cercanos a 0.43 describen la liberación por difusión y cerca de 0.85 la liberación se explica por arrastre. La Tabla 4 resume la información obtenida de cada modelo; Los resultados pueden indicar el mecanismo que rige la liberación en los diferentes sistemas estudiados. El mecanismo de liberación que mejor se ajusta es el modelo de Korsmeyer y Peppas, siendo sus valores  $R^2$  (coeficiente de correlación) los más cercanos a 1. Los valores obtenidos son indicativos de que la liberación del (-) Epi se produjo principalmente por un mecanismo de difusión, dado que los valores del parámetro  $n$  está más cerca de 0.45 que de 0.85. La Tabla 4 también muestra los resultados del porcentaje de liberación y el tiempo requerido para alcanzar el equilibrio.



**Figura 14.** Ajuste a los modelos para los diferentes sistemas, en disposición coaxial AC/PVP-Epi/AC (a) fibras, (b) esferas y (c) fibra/esfera.



**Figura 15.** Ajuste a los modelos para los diferentes sistemas, en disposición sencilla CA/Epi, (d) fibra, (e) esfera y (f) fibra/esfera.



**Figura 16.** Ajuste a los modelos para los diferentes sistemas, en disposición sencilla AC/PVP-Epi, (g) fibra, (h) esfera, y (i) fibra/esfera.

**Tabla 4.** Porcentaje de liberación, tiempo de equilibrio y resultados de ajuste a modelos para los diferentes sistemas: fibra, esfera y fibra/esfera.

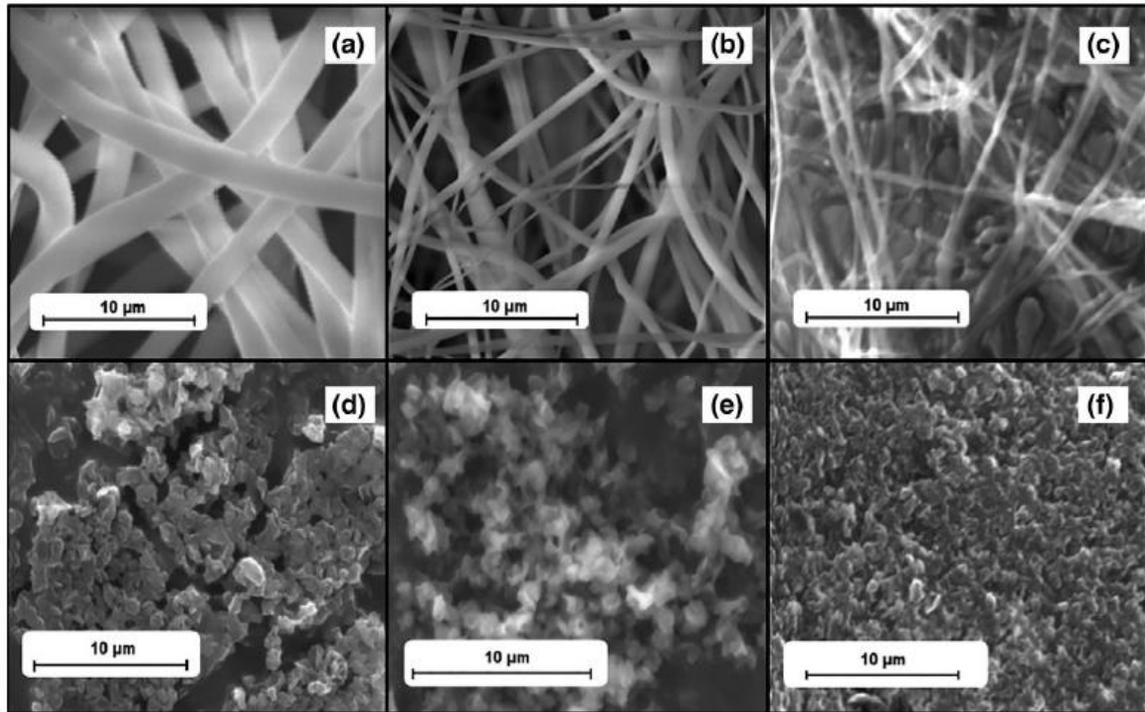
Morfología	Arreglo	Componentes	Porcentaje de liberación (%)	Tiempo al equilibrio	Modelo	Parámetros		R <sup>2</sup>	Mecanismo Propuesto
<b>Fibra</b>	Coaxial	AC, PVP, Epicatequina	98.8	210	Korsmeyer & Peppas	n	0.5805	<b>0.9917</b>	Difusión y arrastre
						Kp	0.0661		
					Higuchi	k	0.09966	0.9882	
					Orden cero	k	0.0101	0.9739	
<b>Fibra</b>	Sencillo	AC, Epicatequina	45	200	Korsmeyer & Peppas	n	0.0729	<b>0.9966</b>	Difusión lenta
						Kp	0.5500		
					Higuchi	k	0.0435	0.7864	
					Orden cero	k	0.0054	0.6608	
<b>Fibra</b>	Sencillo	AC, PVP, Epicatequina	98.1	186	Korsmeyer & Peppas	n	0.3916	<b>0.9983</b>	Difusión y arrastre
						Kp	0.1757		
					Higuchi	K	0.1058	0.9927	
					Orden cero	k	0.0155	0.9353	
<b>Esfera</b>	Coaxial	AC, PVP, Epicatequina	72.8	64	Korsmeyer & Peppas	n	0.3257	<b>0.9961</b>	Difusión
						Kp	0.2020		
					Higuchi	K	0.1011	0.9883	
					Orden cero	k	0.0156	0.9896	
<b>Esfera</b>	Sencillo	AC, Epicatequina	30	120	Korsmeyer & Peppas	n	0.0170	<b>0.9478</b>	Difusión
						Kp	0.9175		
					Higuchi	K	0.0104	0.9471	
					Orden cero	k	0.0013	0.9152	
<b>Esfera</b>	Sencillo	AC, PVP, Epicatequina	78	120	Korsmeyer & Peppas	n	0.7953	<b>0.9904</b>	Difusión y arrastre
						Kp	0.0940		
					Higuchi	K	0.2086	0.9739	
					Orden cero	k	0.0413	0.927	
<b>Fibra/esfera</b>	Coaxial	AC, PVP, Epicatequina	85.4	230	Korsmeyer & Peppas	n	0.4991	<b>0.9962</b>	Difusión y arrastre
						Kp	0.1065		
					Higuchi	K	0.1037	0.9959	
					Orden cero	k	0.1560	0.9886	
<b>Fibra/esfera</b>	Sencillo	AC, Epicatequina	61	483	Korsmeyer & Peppas	n	0.3435	<b>0.9941</b>	Difusión
						Kp	0.2027		
					Higuchi	K	0.0895	0.9927	
					Orden cero	k	0.0132	0.975	
<b>Fibra/esfera</b>	Sencillo	AC, PVP, Epicatequina	89	141	Korsmeyer & Peppas	n	0.6900	<b>0.9609</b>	Difusión y arrastre
						Kp	0.1043		
					Higuchi	K	0.0979	0.9449	

La Figura 17 muestra un esquema que resume los resultados obtenidos para el porcentaje de liberación y el tiempo para alcanzar el equilibrio de los tres sistemas evaluados (a – c). Las secciones (d, e) muestran las estructuras químicas de los componentes del material, elaboradas con el software Chem Bio Draw, versión 14.0. Este diagrama indica las posibles interacciones químicas entre los componentes del material, principalmente interacciones de enlaces de hidrógeno. Según los resultados obtenidos, la interacción de (-) Epi con PVP se ve más favorecida por el menor impedimento estérico, en comparación con la interacción de (-) Epi con CA. Los sistemas que contienen PVP mostraron una tasa de liberación más alta y los mecanismos de liberación propuestos incluyen arrastre, especialmente en el caso de las fibras, ya que el PVP es soluble en el medio de liberación.

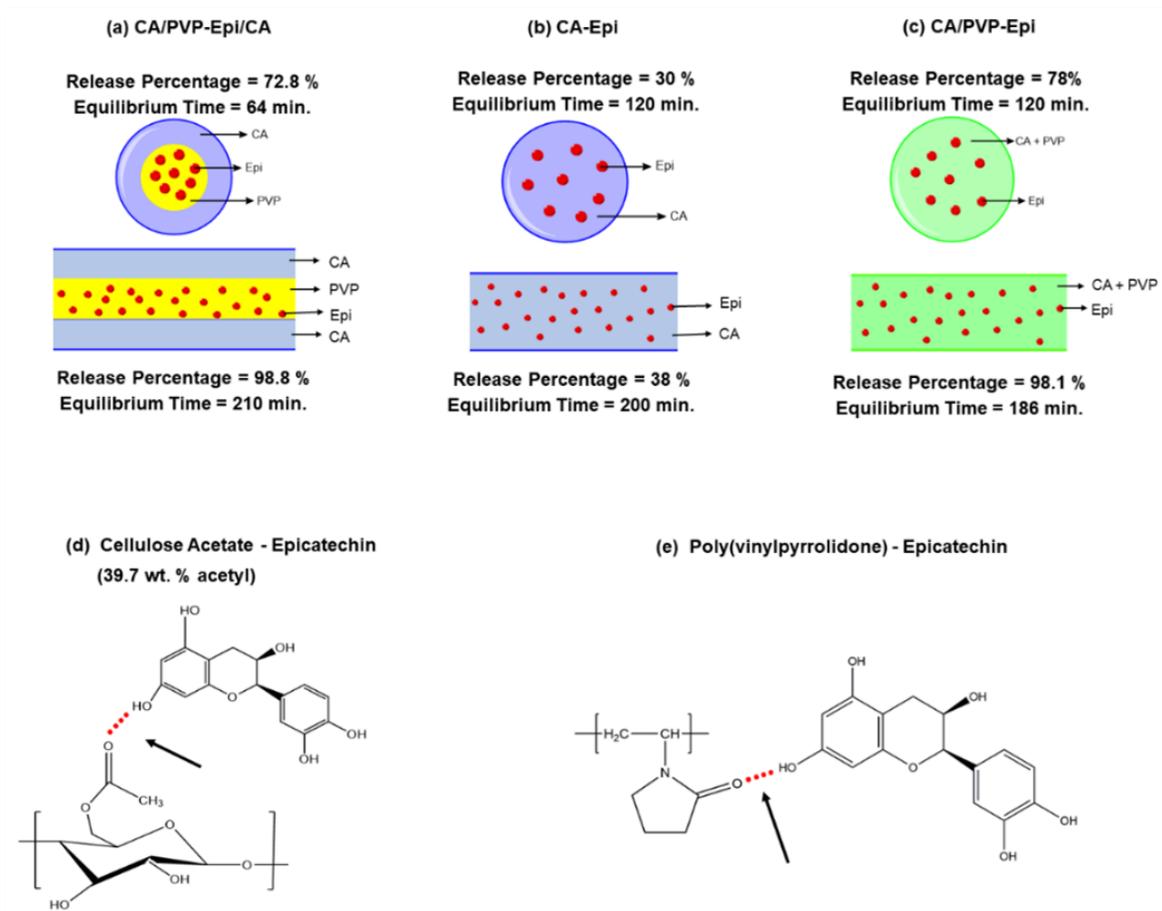
### **Microscopia electrónica de barrido**

Se realizaron análisis de MEB después de los ensayos de liberación con la finalidad de observar si estos tenían algún efecto sobre los materiales. En la Figura 17 observamos las micrografías a 5000 X de los diferentes materiales en cada una de ellas podemos ver un cambio de tamaño, pero los cambios estructurales son los más significativos que en cada caso podemos observar la pérdida de la integridad de la estructura en el caso de las fibras estas se muestran irregulares, de forma plana, y en las que tenemos presente el PVP en arreglo sencillo es evidente la salida de este, debido a su alta solubilidad en el medio. En el caso de las esferas en todos los casos vemos una pérdida de su morfología inicial, no es

posible determinar la barrera de las estructuras, es decir no podemos decir donde termina y comienza otra esfera, se muestran en una forma de hojuela hueca.



**Figura 17.** Micrografías a 5000X de los diferentes sistemas después de los ensayos de liberación (a) fibras de AC/PVP-Epi/AC, (b) fibras AC/Epi, (c) fibras AC/PVP-Epi, (d) esferas AC/PVP-Epi/AC, (e) esferas AC/Epi, (f) esferas AC/PVP-Epi.



**Figura 18.** Diagrama de los diferentes sistemas, su porcentaje de liberación y el tiempo para alcanzar el equilibrio (a) sistema AC/PVP-Epi/AC, (b) sistema CA/Epi y (c) sistema AC/PVP-Epi. Estructuras químicas que indican la formación de enlaces de hidrógeno entre los componentes entre (d) AC y Epi y (e) PVP y Epi.

#### **1.4. .Conclusiones.**

Después de los diferentes ensayos de liberación y sus ajustes correspondientes a los modelos, se concluye que la cinética de liberación se rige por la interacción entre (-) Epi y PVP, considerando que en los sistemas en los que se encuentra PVP, se observa un alto porcentaje de liberación en comparación con los que solo están presentes AC y (-) Epi, en los que se observan porcentajes muy bajos de liberación, esto se debe a la interacciones de puentes de hidrógeno entre el acetato y la epicatequina, la formación de estos enlaces se evidenció por medio de las técnicas de FTIR y CDB. La insolubilidad del AC en el medio de liberación, en este caso agua, también es responsable de los bajos porcentajes de liberación, dejando confinado al flavonoide. Por lo tanto, podemos concluir que los factores que tienen un efecto importante sobre la liberación de epicatequina en los diferentes sistemas son la morfología, siendo una liberación más rápida en morfologías con mayor área de superficie, en este caso las esferas y, por otro lado , las interacciones químicas que la sustancia contenida puede formar con los componentes de la matriz, que, siendo en este caso soluble en el medio de liberación, permite que los fenómenos de difusión y arrastre del PVP estén presentes simultáneamente. La selección adecuada de los componentes en todo el sistema de administración de medicamentos permitirá controlar la velocidad de liberación, así como las dosis requeridas para cada caso.

## **CAPITULO II**

## **2.1. Antecedentes**

### **Ingeniería de tejidos.**

La ingeniería de estructuras 3D clínicamente relevantes es una solución prometedora para responder de manera adecuada y efectiva a esta necesidad no satisfecha. Específicamente, la ingeniería de tejidos tiene como objetivo restaurar o mejorar la funcionalidad de los tejidos utilizando tecnologías de biomateriales que pueden integrarse con el microambiente nativo. Los avances recientes en materiales biomiméticos demuestran propiedades favorables tales como porosidad, hinchazón, degradación, biocompatibilidad y resistencia mecánica. Los materiales biomiméticos ofrecen enfoques prometedores que a menudo utilizan polímeros, metales, cerámicas y compuestos como base para andamios.<sup>73-75</sup>

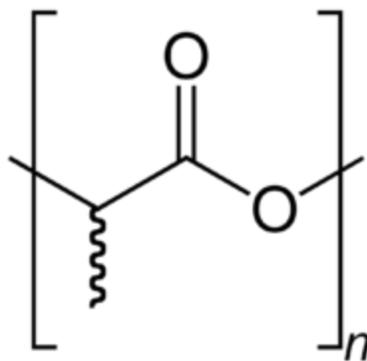
La caracterización extensa de estos materiales ha permitido la adaptación de estos andamios y sustratos de cultivo celular para aplicaciones especializadas en ingeniería de tejidos óseos, musculoesqueléticos, neurales, cardiovasculares y pancreáticos. Las propiedades de estos andamios generalmente poseen un ajuste relativamente fácil, pero a menudo requieren procesos de fabricación complejos. Además, las capacidades actuales in vitro e in vivo no siempre son proporcionales a las necesidades del tejido u órgano específico. Un desafío importante y recurrente en la ingeniería de tejidos es la incapacidad de escalar biomateriales a construcciones 3D que imitan las propiedades biológicas, químicas y mecánicas del microambiente de tejidos. La integración de un biomaterial con la vasculatura del huésped o la red vascularizada es vital para el transporte maximizado de

nutrientes y otras moléculas esenciales, se dice que se considera exitoso el implante de un material cuando se genera, vascularización en el medio. Otra de las características es que el biomaterial debe mantener sus propiedades en condiciones fisiológicas sin provocar una respuesta inmunológica en el huésped.<sup>76-79</sup>

### **Poli (ácido láctico). (PLA)**

El poli (ácido láctico) (PLA) es un polímero biocompatible y biodegradable, y puede descomponerse fácilmente mediante una reacción de hidrólisis. El PLA se deriva de recursos agrícolas renovables, como el maíz y la yuca. La producción en masa de PLA puede conducir a un alto consumo de productos agrícolas, lo que beneficia a la economía agrícola. Además, la producción de PLA ayuda a reducir las emisiones de CO<sub>2</sub> cuando se usa en lugar de los plásticos convencionales a base de petróleo, ya que las actividades agrícolas implican una importante fijación de carbono. El PLA por su característica de ser un polímero biodegradable ha sido ampliamente estudiado y se utiliza para la fabricación de envases domésticos y aplicaciones biomédicas, como suturas reabsorbibles, implantes quirúrgicos, andamios para ingeniería de tejidos y dispositivos controlados de administración de fármacos. El PLA puede existir como dos estereoisómeros, designados como D y L, o como una mezcla racémica, designada como DL. Las formas D y L son ópticamente activas, mientras que las formas DL son ópticamente inactivas.<sup>80</sup> En la Figura 18 se presenta la estructura química del PLA.

El PLA pertenece a la familia de poliésteres alifáticos comúnmente hechos de ácidos  $\alpha$ -hidroxílicos, que también incluyen ácido poliglicólico, policaprolactona y polidioxanona. Es uno de los pocos polímeros que tiene una estructura estereoquímica que puede modificarse fácilmente mediante la polimerización de una mezcla controlada de isómeros L y D para producir un polímero amorfo o semicristalino de alto peso molecular. Las propiedades del PLA pueden modificarse tanto mediante la variación de los isómeros (relación L / D) como mediante la copolimerización con otros monómeros, como el glicólido y la caprolactona. El PLA también se puede adaptar mediante una formulación que implica la adición de plastificantes, otros biopolímeros y cargas. La biodegradabilidad de las mezclas de PLA significa que son muy adecuadas para materiales de empaque a corto plazo, y también amplían aún más las aplicaciones de PLA en el campo biomédico, donde las características biocompatibles son esenciales, para su uso como implantes, suturas y encapsulados de medicamentos.<sup>80-84</sup>



**Figura 19.** Estructura química del PLA.

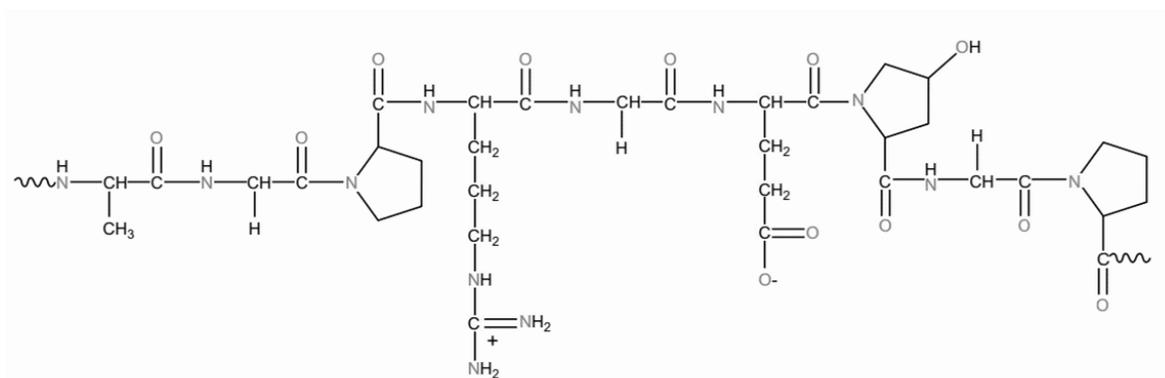
## **Elastina.**

La elastina es una proteína altamente polimerizada. Se forma en los vasos láminas elásticas que confieren la elasticidad a la pared del vaso sanguíneo. Generalmente contiene dos tipos de secuencias de aminoácidos, una de las cuales es responsable de la reticulación y la otra de la hidrofobicidad. La elastina es la proteína natural más elástica y puede estirarse reversiblemente hasta ocho veces la longitud de su monómero. También es altamente estable, con una vida media de más de 70 años. Esta extensibilidad y durabilidad superiores son esenciales para mantener la distorsión mecánica de los tejidos elásticos durante toda la vida. La abundancia de elastina en la MEC se adapta específicamente al tipo de tejido y las demandas biomecánicas. La distribución de elastina puede ser heterogénea incluso dentro de un solo órgano.<sup>85-88</sup>

## **Gelatina.**

La gelatina se produce a través de la hidrólisis parcial alcalina o ácida del colágeno a partir de piel de animal, piel de cerdo y tejidos óseos. Es por eso que la gelatina es una mezcla de fracciones compuestas de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos para formar polímeros con una masa molecular que varía de 15,000 a 400,000 Da lo que permite obtener una composición química distinta. En la Figura 19 se muestra la estructura química de la gelatina. Según las condiciones de hidrólisis, hay dos tipos de gelatina. Gelatina tipo A (catiónica) que se obtiene por hidrólisis ácida y tiene un alto

punto isoeléctrico. En contraste, la hidrólisis alcalina da lugar a gelatina tipo B (aniónica) que tiene un punto isoelectrico más bajo de 4–5. La gelatina A generalmente se deriva de la piel de cerdo y la gelatina B de la piel de vaca. La hidrólisis enzimática de la gelatina se realiza mediante metaloproteinasas de matriz. La gelatina es altamente higroscópica y, como resultado, absorbe agua de acuerdo con la humedad relativa donde se seca y se mantiene. La resistencia y la viscosidad del gel de gelatina se consideran sus propiedades



físicas más vitales. Por el hecho de ser un derivado del colágeno, ser biocompatible y biodegradable es ampliamente utilizada en el área del desarrollo de dispositivos biomédicos.<sup>89–91</sup>

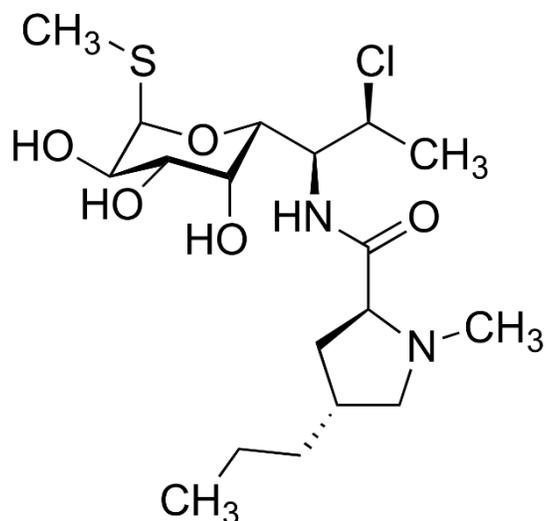
**Figura 20.** Estructura química de la gelatina

### Clindamicina.

La clindamicina es un derivado de lincomicina producido por *Streptomyces lincolnensis*. Su mecanismo de acción es la inhibición de la síntesis de proteínas

bacterianas debido a la unión a la subunidad 23S RNA, lo que interfiere con la peptidación trans y la terminación temprana de la cadena. Es activo contra bacterias gramnegativas aerobias, así como bacterias gramnegativas aerobias y anaerobias, y tiene una amplia gama de aplicaciones terapéuticas, como en el tratamiento de infecciones cutáneas, respiratorias, genitales, pélvicas y óseas. La clindamicina a menudo se prescribe como agente profiláctico antimicrobiano de elección para pacientes hipersensibles a los medicamentos  $\beta$ -lactámicos. Las infecciones del sitio quirúrgico pueden desarrollarse dentro de los 30 días posteriores a un procedimiento, afectando la piel y / o el tejido subcutáneo en el sitio de la incisión. En la Figura 20 se muestra la estructura química de la clindamicina.

La profilaxis eficiente depende de alcanzar y mantener concentraciones antimicrobianas adecuadas en el sitio afectado. Las concentraciones de antimicrobianos farmacológicamente activos no unidos (libres) en el tejido subcutáneo son responsables del efecto profiláctico, y el monitoreo de estas concentraciones es un paso esencial en el esfuerzo para asegurar el éxito de la profilaxis.<sup>92</sup>



**Figura 21.** Estructura química de la clindamicina.

## **2.2. Experimental.**

### **Materiales.**

Los materiales utilizados fueron: PLA fue suministrado por NatureWorks, Elastina del ligamento de cuello bovino (Sigma Aldrich), Gelatina de piel porcina Tipo A (Sigma Aldrich), 2,2,2-trifluoroetanol (Sigma Aldrich), 1,1,1, 3,3,3-hexafluoro-2-propanol (Sigma Aldrich), clorhidrato de clindamicina (Sigma Aldrich), agua Mili-Q.

### **Preparación de membranas de PLA:Eln:Clin/PLA:Gel.**

Se prepararon soluciones de PLA al 13% (p / v) y una solución de gelatina al 10% (p/v) usando 2,2,2-trifluoroetanol como disolvente, además, se preparó una solución de elastina al 5% (p/v), el disolvente utilizado fue 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2- propanol. Todas las soluciones se mantuvieron en agitación durante 24 ha temperatura ambiente. Para obtener las membranas, se preparan mezclas de soluciones de PLA: Eln y PLA: Gel en una relación 1: 1 y se mantienen bajo agitación durante 4 h. En el caso de membranas cargadas con clindamicina, a las soluciones de PLA: Eln se añadieron 5 mg del fármaco y se mantuvo en agitación magnética durante 8 h.

Para la preparación de las fibras, las soluciones se transfieren a jeringas de plástico de 6 ml y se montan en una bomba peristáltica KDS Scientific, en una configuración coaxial. La solución de PLA:Eln:Clin representa el núcleo de la fibra, mientras que la

solución de PLA: Gel sería su caparazón. El flujo de las soluciones se varió en un rango de 0.5 - 3 mLh<sup>-1</sup>, el voltaje de trabajo de 12-18 kV, suministrado por una fuente de alta potencia Spellman modelo CZE 1000R, mientras que la distancia se manejó en un rango de 10- 16 cm, las fibras obtenidas se recogieron en una placa de aluminio (7 cm x 7 cm).

### **Microscopía electrónica de barrido.**

Las muestras se caracterizaron morfológicamente, con un microscopio electrónico de barrido, marca JEOL 5410LV. Se usó un haz de electrones de 15 kV y 20 kV de intensidad a alto vacío, las muestras se recubrieron con una película de oro.

### **Microscopía electrónica de transmisión.**

Se usó microscopía electrónica de transmisión para determinar la disposición coaxial núcleo-capa de las fibras. Este análisis se realizó con un microscopio electrónico de transmisión JEOL jem-2010f. Las muestras se recogieron directamente de la placa de aluminio, luego se colocaron en las rejillas de malla de cobre, para su análisis.

### **Espectroscopía de transmisión infrarroja con transformada de Fourier.**

Para confirmar la presencia de todos los componentes del sistema, se realizó una evaluación espectroscópica utilizando un modelo Perkin Elmer Frontier, utilizando la

técnica de tableta de bromuro de potasio (KBr), donde los reactivos se analizaron sin ningún tratamiento previo.

### **Reflectancia total atenuada.**

Para obtener los espectros infrarrojos por reflectancia total atenuada, se usó el mismo equipo que en FTIR, pero usando el accesorio para ATR, colocando las muestras sin ningún tratamiento y haciendo las lecturas en la superficie de las membranas.

### **Análisis termogravimétrico.**

El análisis termogravimétrico se realizó utilizando un equipo Perkin Elmer Pyris 1 TGA. Se pesaron muestras de aproximadamente 4 mg, y se sometieron a calentamiento de 25 ° C a 600 ° C, con una velocidad de calentamiento y enfriamiento de 10 ° C min<sup>-1</sup> bajo una atmósfera de nitrógeno.

### **Calorimetría diferencial de barrido.**

Para las pruebas DSC, se colocaron 8 mg de muestra en cestas de aluminio y se calentaron de 0 a 300 ° C con una velocidad de calentamiento de 10 ° C min<sup>-1</sup> en atmósfera de nitrógeno. en un dispositivo Perkin Elmer DSC 8500.

### **Propiedades mecánicas.**

Las propiedades mecánicas de las membranas se determinaron usando un ensayo de tracción uniaxial; se utilizaron muestras cortadas en forma rectangular con una longitud inicial de 3 cm y 5 mm de ancho. Las pruebas se realizaron en una máquina de prueba microtensil. WinTest 7 TA Instrumets. a temperatura ambiente a una velocidad de cruceta de 1 mm / min. La prueba se ejecutó hasta que falló la muestra mientras se registra la fuerza y el alargamiento. Para confirmar la reproducibilidad de la prueba, se analizaron 10 muestras.

### **Estudio de liberación.**

Para determinar la liberación de clindamicina las membranas de PLA:ElN:Cli/PLA:Gel, se colocaron como se obtuvieron en 400 ml de agua MiliQ que se usó como medio de liberación, se tomaron alícuotas del medio de liberación a intervalos de tiempo establecidos, para determinar la concentración de clindamicina liberada a diferentes tiempos en volumen del medio de liberación, el cual permaneció constante, es decir, una vez que se realizó la lectura, se devolvió la alícuota. Para realizar la determinación de liberación acumulativa de clindamicina, se usó un instrumento Lambda 20, las mediciones se realizaron a una longitud de onda de 200 nm. Las medidas se tomaron hasta que el sistema alcanzó el equilibrio. Para determinar el porcentaje total liberado, los datos obtenidos se extrapolaron con una curva de calibración realizada previamente. Todas las determinaciones se hicieron por triplicado.

## **Ajuste de los datos experimentales a modelos matemáticos.**

Se utilizaron tres modelos matemáticos para ajustar los datos experimentales obtenidos en los estudios de liberación, con el objetivo de determinar el mecanismo de liberación de clindamicina. Las ecuaciones de los diferentes modelos se enumeran a continuación:

### **Orden cero**

$$M_t / M_\infty = Kt$$

donde  $M_t$  es la fracción de fármaco liberado en el tiempo  $t$ ,  $M_\infty$  es la cantidad de fármaco liberado en equilibrio,  $K$  es la constante de liberación y  $t$  es el tiempo.

### **Higuchi**

$$M_t / M_\infty = Kt^{1/2}$$

donde  $K$  es la constante de liberación. <sup>93</sup>

### **Korsmeyer y Peppas**

$$M_t / M_\infty = K_p t^n$$

donde  $K$  es la constante de liberación,  $n$  es el exponente que determina el mecanismo por el cual se da la liberación. <sup>9495</sup>

### **Ángulo de contacto.**

Las mediciones del ángulo de contacto se realizaron mediante el método de caída sésil utilizando un medidor de ángulo de contacto CAM-PLUS de ChemInstrument. Se colocaron muestras de las membranas de PLA, gelatina y PLA:Eln:Cl/PLA:Gel, para comparar entre ellas, a cada una se le colocó una gota de agua MiliQ de aproximadamente 5  $\mu$ l en su superficie, después de un tiempo de medición de 5 segundos. Para determinar el valor del ángulo de contacto de cada muestra, se tomó un total de 10 mediciones por muestra.

### **Estudios de biocompatibilidad.**

#### **Cultivo celular.**

Las células endoteliales vasculares de la vena umbilical humana (HUVEC, ATCC<sup>®</sup> CRL-1730<sup>™</sup>) se cultivaron en placas de cultivo tratadas con cultivo de tejidos (D x H 60 mm x 15 mm, Sigma-Aldrich) a 37 ° C y 5% de CO<sub>2</sub>, en medio de cultivo celular de Medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) con alto contenido de glucosa, piruvato de sodio y L-glutamina (Calson, EE. UU.). El medio de cultivo se complementó con 3700 mg/ml de bicarbonato de sodio (Sigma), 15 mg/ml de rojo fenol (Sigma), suero bovino fetal al 10% (Biowest, México) y antibióticos (penicilina G sódica 100 U / ml, estreptomina 100 g/ml, Sigma). Cuando se alcanzó un crecimiento confluyente, las células se separaron con solución de tripsina-EDTA al 0,25% durante 1-2 minutos. La suspensión celular se

centrifugó (5 min, 1000 rpm), el sobrenadante se separó y las células se resuspendieron en medio de cultivo fresco a la concentración deseada.

### **Prueba de citotoxicidad por contacto directo.**

Primero, las membranas de PLA: Eln: Cli / PLA: gel se cortaron en discos de 7 mm de diámetro, se esterilizaron con radiación UV (30 minutos por lado), luego se colocaron en placas de 96 pocillos, se colocaron un total de  $5 \times 10^3$  células por pocillo y se incubaron. Las pruebas de viabilidad se realizaron a los 1, 3 y 7 días.

La resazurina se usó para determinar la viabilidad celular. Este colorante se metaboliza para la mitocondria de las células viables a la resofurina. Los cambios en las concentraciones de resazurina (estado oxidado) a resofurina (estado reducido) se pueden medir tanto por fluorescencia como por colorimetría. El estado oxidado es azul y no emite ningún tipo de fluorescencia, pero en su estado reducido como resorción toma un color rosa que es altamente fluorescente. Se preparó una solución madre concentrada de sal de resazurina sódica (Aldrich) sobre agua (100 mg / ml) y se esterilizó por filtración con un poro de membrana de nylon de  $0,22 \mu\text{m}$ . Se preparó una solución de trabajo de resazurina inmediatamente antes de la prueba diluyendo el material concentrado 1: 400 en medio de cultivo suplementado sin rojo fenol.

Después del tiempo determinado en contacto directo de las muestras y las células, se retiró el medio de cultivo y se reemplazó por 100  $\mu\text{l}$  de la solución de trabajo de resazurina y se incubó a  $37^\circ \text{C}$  durante 8 horas. Luego, se midió la absorbancia a 570 y 600 nm en un lector de microplacas multimodo Synergy HTX (BioTek Instruments). El

porcentaje de viabilidad celular se obtuvo siguiendo la ecuación utilizada por Zapata-Catzin et al (2018).

### **Ensayo de adhesión celular.**

Las membranas PLA:ElN:Cli/PLA:Gel y PLA se cortaron y esterilizaron como se mencionó anteriormente y se colocaron en placas de 96 pocillos. Se sembraron  $1 \times 10^4$  células por pocillo y se incubaron. La prueba de adhesión celular se realizó a las 1, 2 y 24 h.

Las pruebas de adhesión celular se realizaron con el kit Calcein-AM (Sigma-Aldrich), siguiendo las indicaciones del proveedor. En momentos determinados después de la siembra, la membrana se retiró del pozo y se tiñó con calceína, después del tiempo de observación de 15 minutos de incubación en un microscopio confocal Nikon A1R.

### **Estudios de actividad antibacteriana.**

Se activó la cepa de *Staphylococcus aureus* por primera vez durante 24 h en medio de infusión de cerebro y corazón (BHI) (DIFCO, EE. UU.), Durante 24 ha  $37^\circ \text{C}$ . La prueba de agar de difusión de pozos se realizó de acuerdo con el método de González-Pérez et al. (2019). Las células se centrifugaron durante 15 minutos a 4000 rpm y  $4^\circ \text{C}$  y se lavaron con solución salina (0,9 NaCl). La suspensión celular se usó para inocular agar blando de infusión cerebro-corazón (BHI) (1%) en una concentración final de  $1 \times 10^5$  UFC / ml (determinada a partir de la densidad óptica a 600 nm) y se colocó en placas de Petri. Cada membrana se colocó en el centro de cada placa de Petri. Antes de su uso, las membranas

se esterilizaron con luz UV. Después de las 18 h de incubación a 37 °C, se midieron las zonas de inhibición del crecimiento bacteriano. Los análisis se realizaron por triplicado.

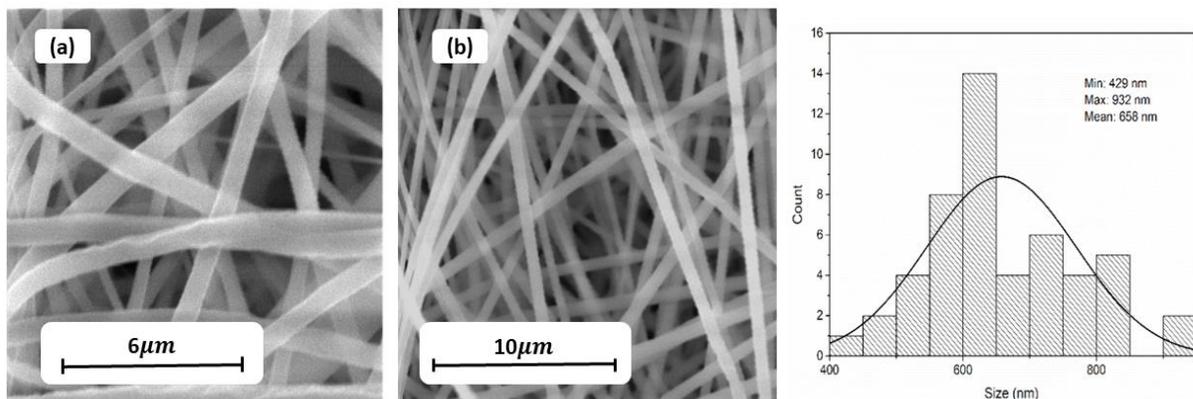
### 2.3. Resultados.

#### Microscopía electrónica de barrido.

Fue posible encontrar los parámetros de electrohilado para obtener fibras, el voltaje aplicado fue de 15 kV, un flujo de 1 ml/h, y una distancia desde la punta de la aguja hasta la placa colectora de 16 cm. Las fibras obtenidas muestran una textura suave, sin la presencia de imperfecciones o perlas, lo que indica una buena integración de los materiales, no se observaron poros en las fibras, se obtuvieron fibras con un diámetro promedio de 680 nm y una distribución de diámetro muy estrecha. La Figura 21 muestra las micrografías de MEB, así como el histograma del PLA:Eln:Clin/PLA:Gel. Los diámetros de las fibras se midieron utilizando el software Image J.

**Tabla 5.** Parámetros de preparación de las membranas.

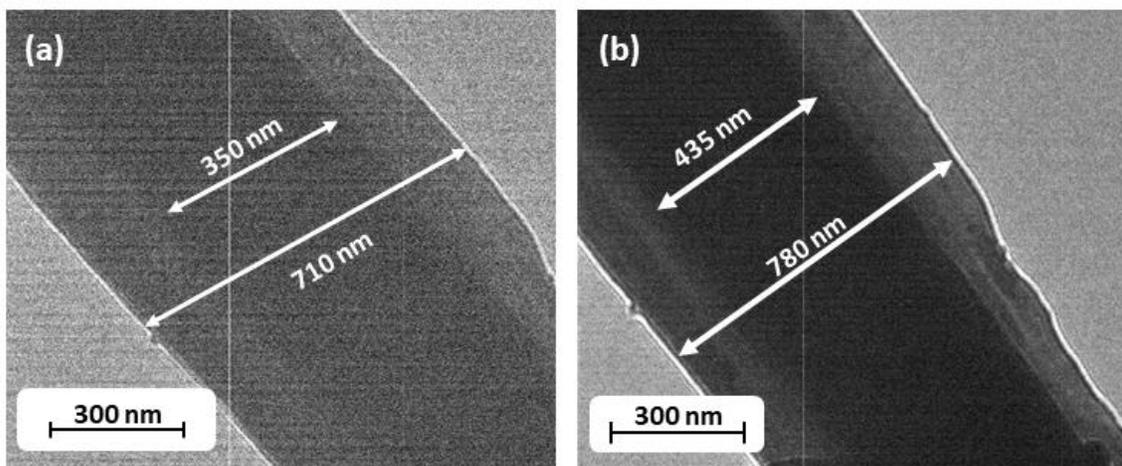
Muestra	Morfología	Concentración (%)	Voltaje (kV)	Flujo (mLh <sup>-1</sup> )	Distancia (cm)
PLA:Eln:Clin/PLA:Gel	Fibra	PLA (13%), Eln (5%), Gel (10%)	15 kV	1 mLh <sup>-1</sup>	16 cm



**Figura 22.** Micrografías de MEB de membranas de PLA:EIn:Clín/PLA:Gel obtenidas por electrohilado coaxial

### Microscopía electrónica de transmisión.

Las micrografías de MET permitieron demostrar la disposición coaxial de las fibras, la Figura 22 presenta las micrografías, donde podemos observar las fibras concéntricas, podemos observar una integración adecuada de los materiales, ya que no se observan cristales correspondientes al fármaco, o algún tipo de imperfección en las fibras.



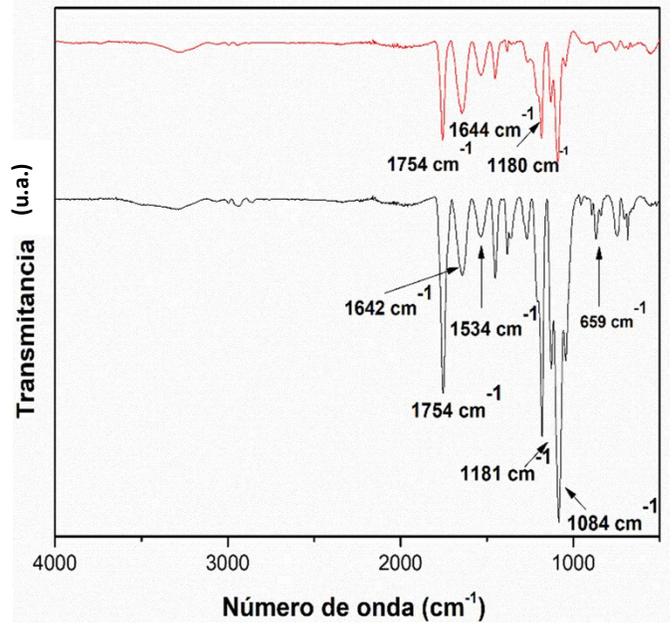
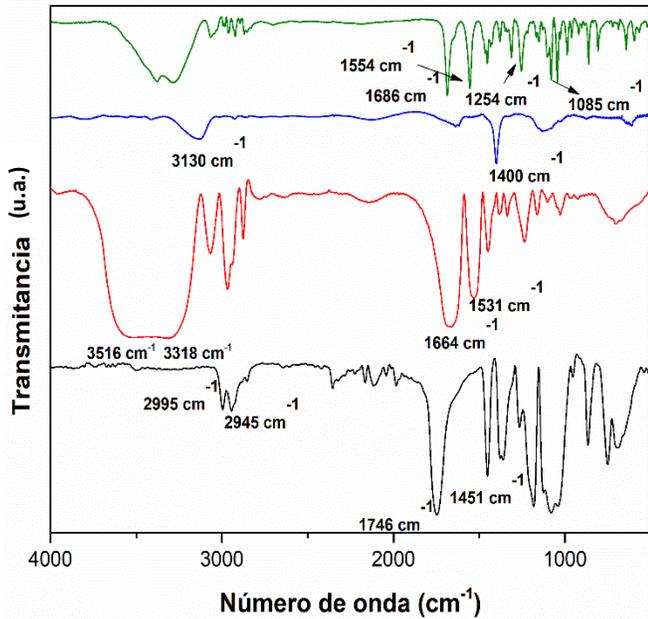
**Figura 23.** Micrografías de MET de membranas de PLA:EIn/PLA:Gel obtenidas por electrohilado coaxial.

### Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR).

Los espectros infrarrojos se muestran en la Figura 23. Nos muestran las señales características según sus grupos funcionales, para cada uno de los componentes la subsección (a) corresponde al espectro de clindamicina que presenta una señal a  $1686\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al grupo C=O, a  $1554\text{ cm}^{-1}$  la señal del enlace C=C, a  $1085\text{ cm}^{-1}$  señal característica para el estiramiento de la vibración de CO y la banda a  $642\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a los grupos C-Cl. En las subsecciones (b) y (c) los espectros de gelatina y

elastina se presentan respectivamente, debido a su naturaleza proteica, estos polímeros presentan las bandas típicas para este tipo de moléculas, las llamadas bandas de aminas que son las asociadas a los modos vibracionales. enlaces del enlace peptídico. En el caso de la gelatina (b) podemos observar estas señales, la amida I a  $1637\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a los estiramientos C=O, la amida II a  $1400\text{ cm}^{-1}$  y la amida III a  $1131\text{ cm}^{-1}$ . La elastina (c) presenta las bandas de aminas de la siguiente manera, amida I a  $1164\text{ cm}^{-1}$ , amida II a  $1531\text{ cm}^{-1}$  y amida III a  $1236\text{ cm}^{-1}$ .<sup>96,97</sup> En la parte (d) corresponde al PLA donde podemos observar sus bandas características, para el grupo C=O a  $1750\text{ cm}^{-1}$  y a  $1451\text{ cm}^{-1}$  la señal atribuida a los estiramientos de C-H.<sup>98</sup> En el inciso (e), se muestra el espectro de las membranas de PLA:ELn/PLA:Gel donde observamos las señales del grupo C=O a  $1754\text{ cm}^{-1}$  atribuidas a la presencia del PLA y las señales de las bandas de aminas, a  $1644\text{ cm}^{-1}$  para la amida I,

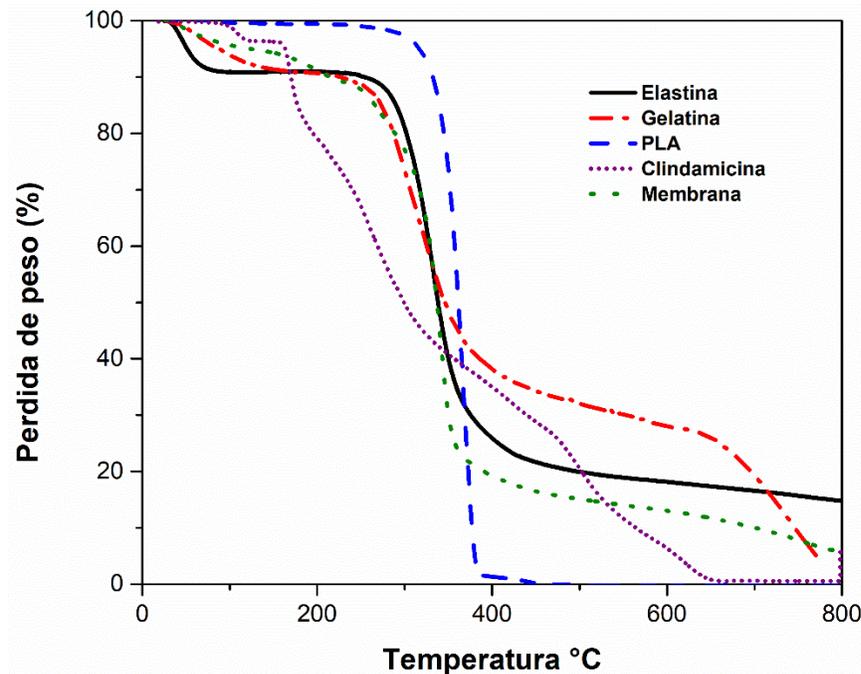
$1534\text{ cm}^{-1}$  para la amida II y  $1180\text{ cm}^{-1}$  para la amida III, lo que corrobora la presencia de los polímeros de gelatina y elastina. Finalmente, la parte (f) corresponde a la membrana cargada, donde se pueden observar las bandas características para cada uno de los componentes, PLA, elastina y gelatina, así como una banda a  $659\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a los grupos C-Cl presentes en La molécula de clindamicina.<sup>99</sup>



**Figura 24.** Espectros de infrarrojo (a) clindamicina, (b) gelatina, (c) elastina, (d) PLA, (e) membrana PLA:Eln/PLA:Gel y (f) PLA:ELn:Cl/PLA:Gel.

### Análisis termogravimétrico.

En un análisis termogravimétrico, la pérdida de peso del material se muestra en función de un aumento de la temperatura, en la Figura 24, los termogramas para PLA, Eln y Gelatina se muestran individualmente. Los termogramas correspondientes al PLA presentan una degradación de un solo paso, la pérdida de peso más significativa ocurre a los 300 °C. Mientras que la elastina tiene una degradación con diferentes caídas, que ocurren a 38 °C y 275 °C. Mientras que para la gelatina se observa una degradación con varias caídas, la primera se observa a 37 °C, 246 °C y 635 °C

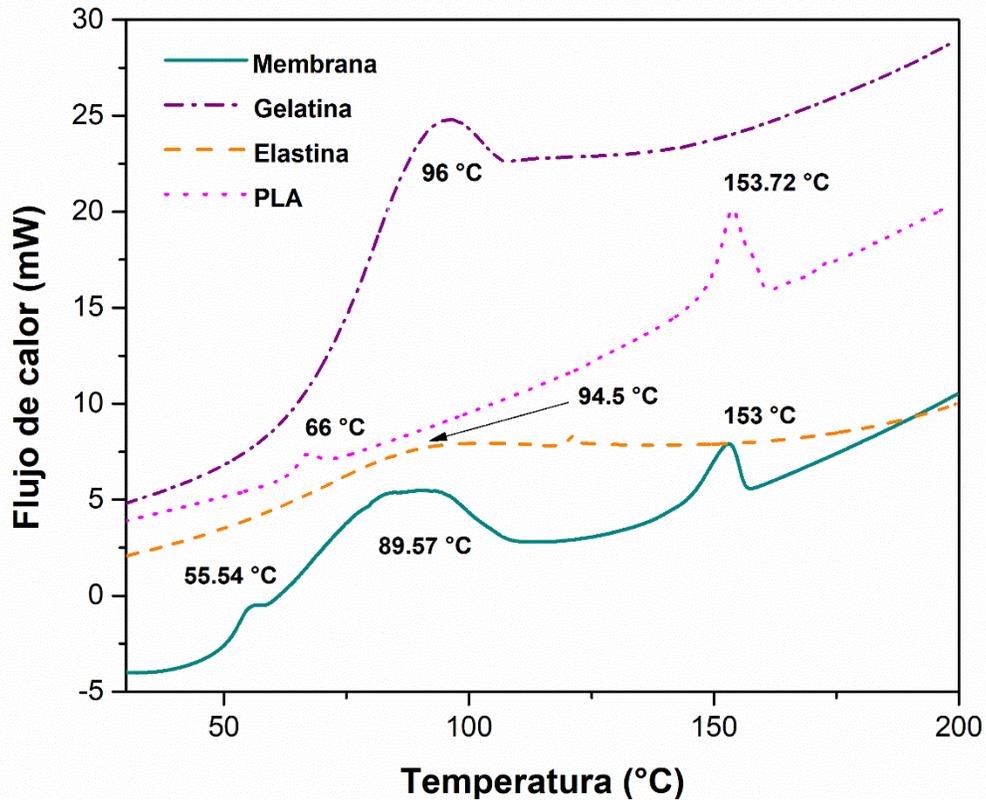


**Figura 25.** Termogramas correspondientes a PLA, gelatina, elastina y membrana PLA: ELn:Cli/PLA:Gel.

#### **Análisis de calorimetría diferencial de barrido.**

En las determinaciones realizadas podemos observar lo siguiente, en la Figura 25 se muestran las curvas de CDB para los materiales individuales PLA, elastina y gelatina, en el caso de los picos de PLA, el primero a 66 °C correspondiente a su temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) y otra a 153.72 °C asignada a su temperatura de fusión. En el caso de la gelatina, se observa una señal alrededor de 96 °C asignada a su fusión, mientras que para elastina esta señal se presenta a los 94.5 °C. En el caso de las membranas, estas señales están ligeramente desplazadas, se observan tres señales, a 55.4 °C correspondientes a la  $T_g$  del PLA, a 89.57 °C se presenta una señal amplia que

corresponde a la temperatura de fusión de gelatina y elastina que son superpuestos, y finalmente se observa una señal a 153 °C que se atribuye a la fusión del PLA.



**Figura 26.** Curvas de CDB de PLA, gelatina y elastina y membranas PLA:Eln:Clin/PLA:Gel.

### Propiedades mecánicas.

Se evaluaron las propiedades mecánicas de las membranas PLA:Eln:Clin/PLA:Gel. Se determinó el módulo de Young, el esfuerzo de tensión y la tensión a la ruptura, con el fin de revelar cierta interacción entre estos componentes, ya que estos podrían influir en la cinética de liberación del medicamento, así como definir su aplicación potencial como apósito para heridas. Los resultados de las pruebas de las propiedades mecánicas de las membranas de PLA:Eln:Clin/PLA:Gel se muestran en la Tabla 6, donde podemos observar

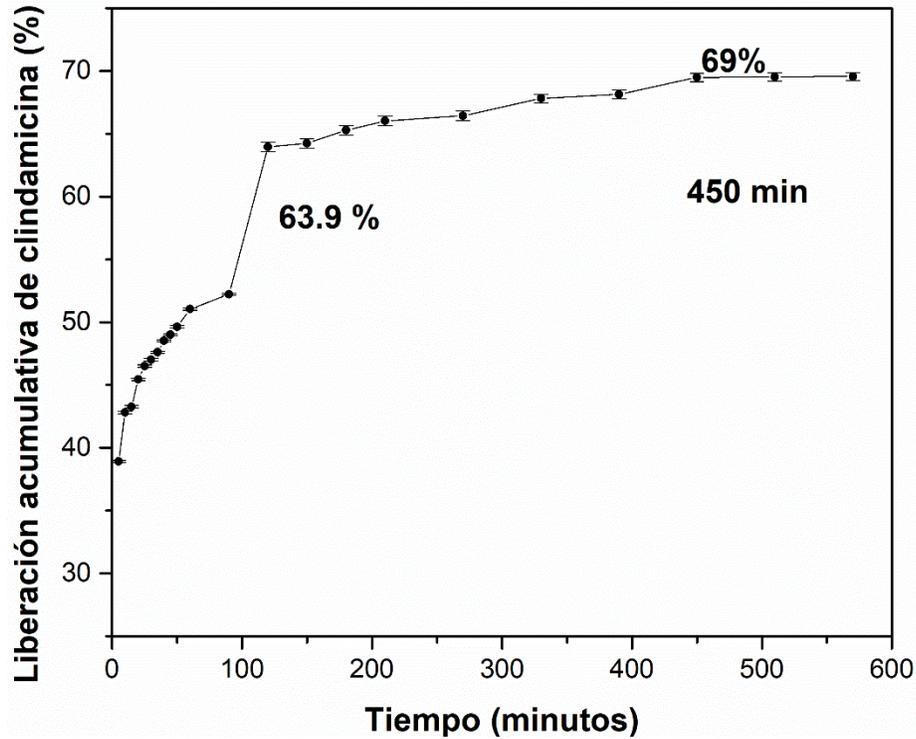
un aumento significativo en la resistencia a la tensión, esto con respecto a las fibras de solo PLA y solo gelatina, respectivamente, obteniendo un valor de  $1210 \pm 125$  MPa, mientras que las fibras PLA y Gelatina presentaron un valor de  $57.7 \pm 50$  y  $77.9 \pm 100$  respectivamente.

**Tabla 6.** Propiedades mecánicas de membranas de PLA, Gelatina y PLA:Eln:Cli/PLA:Gel.

<b>PROPIEDADES MECANICAS</b>			
<b>Membrana</b>	<b>Tensile stress (Mpa)</b>	<b>Young's modulus (Mpa)</b>	<b>Strain at break (%)</b>
PLA	$57.7 \pm 50$	$3.3 \pm 40$	$68 \pm 2.1$
Gel	$77.9 \pm 100$	$58 \pm 8$	$15 \pm 2.2$
PLA:Eln:Cli/PLA:Gel	$1210 \pm 125$	$150 \pm 40$	$25 \pm 0.63$

#### **Ensayos de liberación.**

Las fibras de PLA:Eln:Cli/PLA:Gel mostraron el siguiente comportamiento en su liberación, este sistema presenta una rápida liberación inicial o efecto burst en los primeros minutos, alcanzando una liberación de aproximadamente 63.9% a los 110 minutos. En la Figura 26 se presenta el gráfico de liberación tiempo contra porcentaje liberado. Después de esta etapa, la liberación se vuelve más lenta alcanzando el equilibrio a los 450 min. Con una liberación total del 69% con respecto a su contenido inicial.



**Figura 27.** cinética de liberación de las membranas de PLA:El:Cl/PLA:Gel.

**Ajuste de los datos experimentales a los modelos matemáticos.**

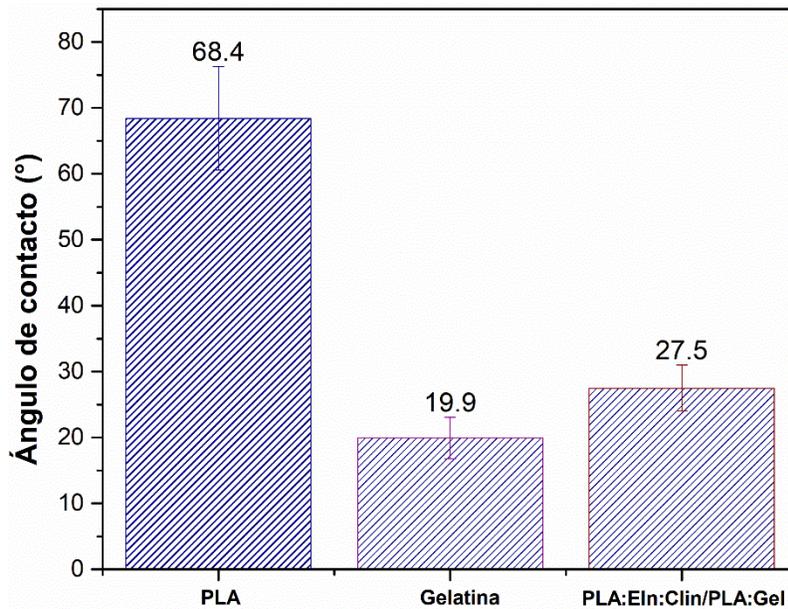
Los valores de las constantes se obtuvieron a partir de los datos experimentales obtenidos en la liberación in vitro y con las fórmulas mencionadas correspondientes a cada modelo. En la Tabla 7 se muestran los resultados de los parámetros obtenidos en cada uno de los modelos. Con base en estos resultados, se observa que el modelo que mejor se ajusta es el de Korsmeyer & Peppas, con un  $R^2$  0.9475 y un valor de n de 0.0939, lo que indica que la liberación se produce mediante un proceso de difusión lenta.

**Tabla 7.** Ajuste a modelos matemáticos de los datos experimentales.

Material	Orden Cero		Korsmeyer & Peppas			Higuchi	
	R <sup>2</sup>	K	R <sup>2</sup>	K	n	R <sup>2</sup>	K
Fibra PLA:Eln:Clin/PLA:Gel	0.9243	0.0053	0.9475	0.5072	0.0939	0.9334	0.0299

### Ángulo de contacto.

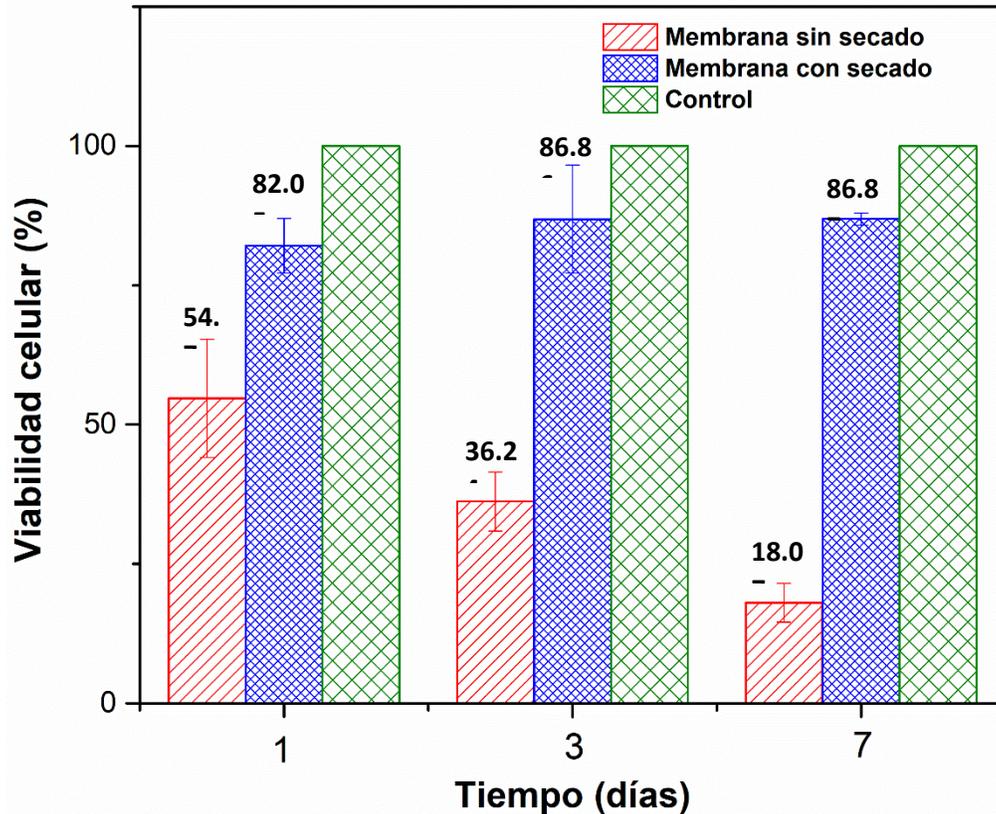
Las mediciones del ángulo de contacto arrojaron los siguientes resultados, para las membranas PLA se observó un ángulo de 68.4°, mientras que la gelatina presenta valores de 19.9°, lo que no indica que este último tiene un carácter hidrofílico. Por otro lado, podemos ver que las membranas de PLA:Eln:Cli/PLA:Gel tienen valores de 27.5° que se encuentran en un área intermedia a sus materiales prístinos, lo que indica una mejora en el material en términos de sus características hidrofílicas con respecto al PLA puro. La Figura 27 muestra los resultados de los valores de ángulo de contacto para cada uno de los materiales.



**Figura 28.** Prueba de ángulo de contacto con agua para PLA, gelatina y membrana PLA:Eln:Cli/PLA:Gel.

#### **Ensayos de viabilidad celular.**

En la Figura 28, el porcentaje de células viables se representa frente a los días de cultivo. Se observa el efecto del proceso de secado en la membrana electrohilada. Después del primer día, las membranas sin secado tienen un 54% de viabilidad, mientras que las membranas secadas alcanzaron el 82%. El porcentaje de viabilidad disminuyó en las membranas sin secado, mientras que la viabilidad de las membranas secas se mantuvo hasta el día 7. Esto muestra que trazas de los solventes quedan remanentes en las membranas y pueden afectar en gran medida su aplicación; Sin embargo, con un simple tratamiento de secado, es posible contrarrestar este inconveniente.

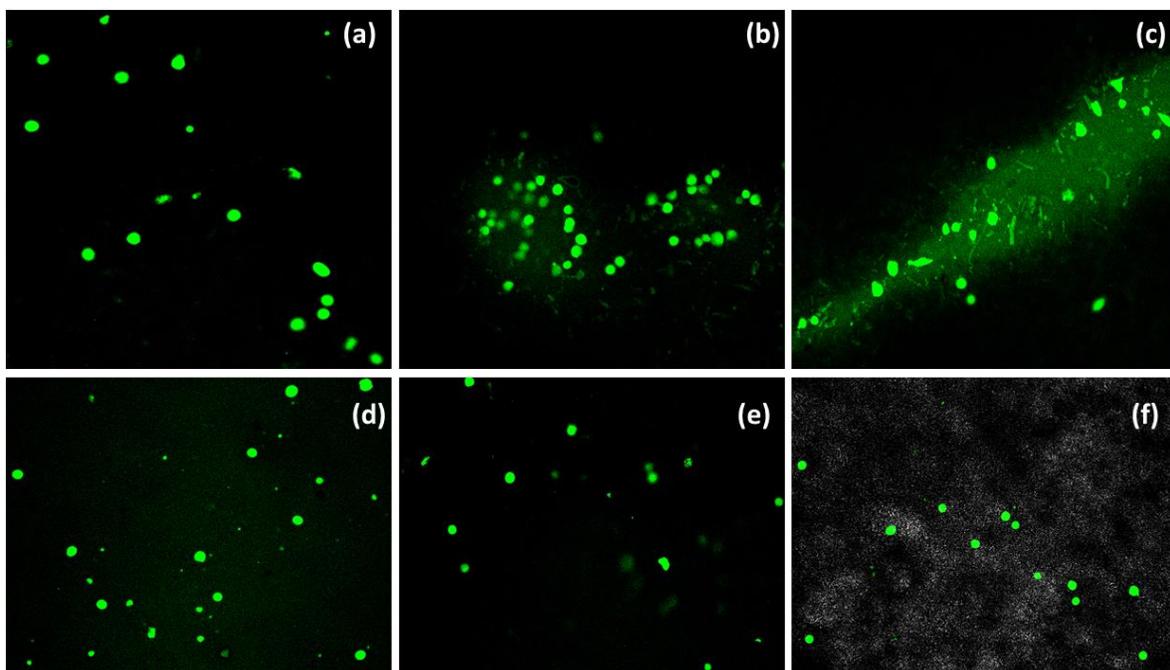


**Figura 29.** Ensayos de viabilidad celular con resazurina de las membranas PLA:Eln:Clin/PLA:Gel.

#### Ensayos de adhesión celular.

Los ensayos de adhesión celular con calceína-AM se presentan en la Figura 29. En las secciones (a, b y c) las imágenes corresponden a las membranas de PLA:Eln:Clin/PLA:Gel, incubado con células a las 1, 2 y 24 h. respectivamente. Podemos ver que, a 1 hora, las células vivas teñidas de verde no presentan ninguna orientación y su morfología es redondeada. Después de 2 horas de incubación, se puede observar un mayor número de células en el plano que tienden a agruparse en el material. Finalmente, después de 24 horas de incubación, podemos ver las células, unidas a las fibras; de la

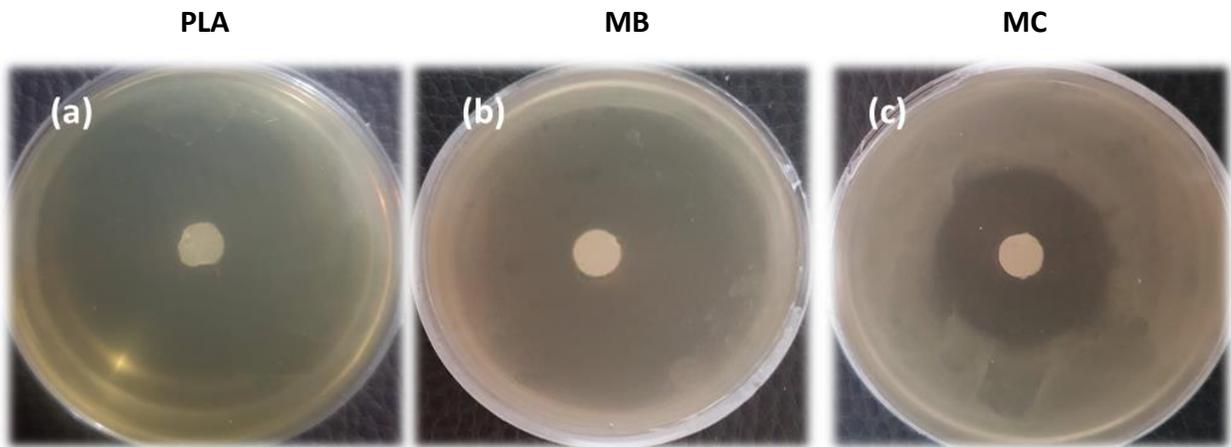
misma manera, su forma redondeada comienza a perderse para adoptar una forma más alargada, característica de las células en expansión. En el caso de las secciones (d, e y f), las células en las membranas de PLA no presentan ninguna tendencia, se retienen en el material, pero su forma redondeada indica que no logran una buena adhesión ni se extienden sobre las fibras.



**Figura 30.** Prueba de Calceína-AM a las 1, 2 y 24 h de incubación sobre las fibras de PLA:ElIn:ClI/PLA:Gel (a-c) y membranas de PLA (d-f).

### Estudios de actividad antibacteriana.

La actividad antibacteriana de las membranas fibrosas de PLA, PLA:Eln/PLA:Gel y PLA:Eln:Clin/PLA:Gel se investigó midiendo los halos de inhibición del crecimiento bacteriano, en la Figura 30 se muestran las imágenes de las zonas de inhibición contra *S. aureus* presentado por las diferentes muestras, en el caso de las membranas de PLA (a) y membranas sin fármaco (b) podemos observar que no tienen ningún efecto sobre las bacterias ya que lograron crecer sin problema, mientras que las muestras de membranas cargadas con el fármaco muestran zonas de inhibición del crecimiento bacteriano bastante evidentes, con halos de 8 mm, que confirman la actividad antibacteriana de la membrana cargada con clindamicina.



**Figura 31.** Imágenes de las zonas de inhibición contra *S. aureus* de las membranas PLA (a), PLA:Eln/PLA:Gel (b) y PLA:Eln:Clin/PLA:Gel (c).

#### **2.4. Conclusiones.**

Se obtuvieron las fibras de PLA, elastina y gelatina cargadas con clindamicina mediante la técnica de electrohilado coaxial, el diámetro promedio de las fibras fue de 680 nm, se confirmó su disposición de núcleo/coraza, fue posible determinar la presencia de cada uno de los componentes en las membranas a través de las diferentes técnicas de caracterización. Las propiedades mecánicas se mejoran con el uso de diferentes mezclas de polímeros, que muestran una mejoría con respecto a las propiedades intrínsecas de cada polímero individualmente. Las pruebas de liberación mostraron que el sistema alcanza el equilibrio en un tiempo de 450 minutos liberando el 69% del total de clindamicina contenida en las fibras. Se determinó que la liberación de clindamicina se rige por un proceso de difusión lenta, según el modelo de Korsmeyer & Peppas. Los resultados del ángulo de contacto muestran una mejora en las propiedades hidrofílicas del material, lo que se confirma por los resultados de adhesión celular que son mejores para las membranas PLA:Eln:Clin/PLA:Gel. La viabilidad celular a los 7 días de prueba mostró un valor del 87% que se considera adecuado para un material utilizado como andamiaje celular. Las pruebas de adhesión indican que después de 24 h las células comienzan a adherirse a las fibras siguiendo su geometría. Las membranas cargadas con el fármaco clindamicina mostraron actividad antimicrobiana contra *S. aureus* al presentar zonas de inhibición de 8 mm de diámetro. Estas características nos permiten considerar estos materiales en el tratamiento de heridas en la piel.

## **CONCLUSIONES GENERALES.**

En el capítulo I se determinaron los parámetros de preparación de diferentes sistemas poliméricos a base de AC, PVP y Epicatequina, obteniendo sistemas con diferentes morfologías, y en diferentes arreglos, coaxial y sencillo. Con la finalidad de ver el efecto que tienen estas características en la cinética de liberación.

Se observó que la morfología tiene un impacto directo en la velocidad de la liberación, ya que los sistemas esféricos alcanzaron el tiempo de equilibrio en menos cantidad de tiempo, con un tiempo al equilibrio de 210 minutos contra 64 minutos en el caso de los sistemas fibrosos en arreglo coaxial. Otro punto que tiene un efecto importante en la cinética de liberación, son los componentes del sistema, es decir las posibles interacciones que se pueden presentar entre los componentes del sistema, en nuestro caso vimos que en aquellos sistemas donde estaba presente el PVP presentaban porcentajes de liberación mayores a aquellos en los que no se encontraba presente, con un 98.8 % contra un 45% liberado en el sistema fibroso en arreglo coaxial. Podemos decir que la interacción entre el PVP y la epicatequina, resulta crucial para que se dé la liberación del flavonoide por medio del fenómeno de arrastre. De manera que determinamos que, en nuestros sistemas la morfología y las interacciones entre los componentes, son los factores determinantes en la cinética de liberación presentada en cada uno de ellos.

Este tipo de características, son de gran importancia para realizar un diseño adecuado de cada sistema polimérico, según sean las necesidades por cubrir en cada caso.

En el capítulo II se presenta la obtención de fibras a base de PLA, elastina y gelatina cargadas con clindamicina, con el objetivo de caracterizar y evaluar sus características, para su aplicación potencial como sistema de liberación, y como andamio para cultivo celular.

Se determinaron los parámetros de preparación de las fibras, se obtuvieron fibras sin imperfecciones, de superficie lisa y sin poros, las micrografías de MET nos confirman un arreglo coaxial de tipo núcleo/coraza. Las propiedades mecánicas presentadas por las fibras compuestas se consideran adecuadas para la aplicación propuesta para el material. Los ensayos de liberación nos muestran una liberación del 69% del total, alcanzados en 450 minutos. Los ensayos de viabilidad celular nos muestran valores del 87% en 7 días de estudio. Los estudios de adhesión nos muestran una adherencia de las células HUVEC's sobre las fibras, ya que logramos observar células vivas, con una morfología característica de aquellas células que se encuentran adheridas a una superficie y siguiendo la orientación de la morfología fibrosa del material. La evaluación de su actividad antibacteriana contra *S. aureus* nos confirma la actividad del fármaco clindamicina presente en las membranas, por los resultados obtenidos, podemos concluir que las fibras de PLA:El:Cl:Gel preparadas por electrohilado coaxial, presentan características adecuadas para su uso como sistema de liberación de clindamicina y como andamio para cultivo celular.

## PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES

En relación con el presente trabajo de tesis, las líneas de investigación de interés para continuar explorando son:

- Evaluar las cinéticas de liberación de los materiales a diferentes pH.
- Estudiar las cinéticas de liberación a 37 °C.
- Realizar ensayos celulares con otra línea celular, que pueda crecer en las condiciones que presenta el material, con la finalidad de ampliar las posibles aplicaciones del material evaluado.
- Realizar ensayos de actividad antibacteriana para más agentes patógenos, con la finalidad de ampliar las posibles aplicaciones del material evaluado.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) Vallianou, N. G.; Stratigou, T.; Tsagarakis, S. Microbiome and Diabetes: Where Are We Now? *Diabetes Res. Clin. Pract.* **2018**, *146* (October), 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2018.10.008>.
- (2) Egan, A. M.; Dinneen, S. F. What Is Diabetes? *Med. (United Kingdom)* **2019**, *47* (1), 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2018.10.002>.
- (3) Dewi, F.; Hinchliffe, R. J. Foot Complications in Patients with Diabetes. *Surg. (United Kingdom)* **2019**, *37* (2), 106–111. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2018.12.003>.
- (4) Craven, M.; Simons, Z.; de Groot, M. Diabetes Distress among Healthcare Providers: A Qualitative Study. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **2019**, *150*, 211–218. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2019.03.018>.
- (5) Parsa, S.; Aghamohammadi, M.; Abazari, M. Diabetes Distress and Its Clinical Determinants in Patients with Type II Diabetes. *Diabetes Metab. Syndr. Clin. Res. Rev.* **2019**, *13* (2), 1275–1279. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2019.02.007>.
- (6) Ye, K.; Liu, D.; Kuang, H.; Cai, J.; Chen, W.; Sun, B.; Xia, L.; Fang, B.; Morsi, Y.; Mo, X. Three-Dimensional Electrospun Nanofibrous Scaffolds Displaying Bone Morphogenetic Protein-2-Derived Peptides for the Promotion of Osteogenic Differentiation of Stem Cells and Bone Regeneration. *J. Colloid Interface Sci.* **2019**, *534*, 625–636. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.09.071>.
- (7) Foraida, Z. I.; Kamaldinov, T.; Nelson, D. A.; Larsen, M.; Castracane, J. Elastin-PLGA Hybrid Electrospun Nanofiber Scaffolds for Salivary Epithelial Cell Self-Organization and Polarization. *Acta Biomater.* **2017**, *62*, 116–127. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.08.009>.
- (8) Jin, G.; He, R.; Sha, B.; Li, W.; Qing, H.; Teng, R.; Xu, F. Electrospun Three-Dimensional Aligned Nanofibrous Scaffolds for Tissue Engineering. *Mater. Sci. Eng. C* **2018**, *92*, 995–1005. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.06.065>.
- (9) He, F. L.; Li, D. W.; He, J.; Liu, Y. Y.; Ahmad, F.; Liu, Y. L.; Deng, X.; Ye, Y. J.; Yin, D. C. A Novel Layer-Structured Scaffold with Large Pore Sizes Suitable for 3D Cell Culture Prepared by near-Field Electrospinning. *Mater. Sci. Eng. C* **2018**, *86*, 18–27. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.12.016>.
- (10) Gutiérrez-Sánchez, M.; Escobar-Barrios, V. A.; Pozos-Guillén, A.; Escobar-García, D. M. RGD-Functionalization of PLA/Starch Scaffolds Obtained by Electrospinning and Evaluated in Vitro for Potential Bone Regeneration. *Mater. Sci. Eng. C* **2019**, *96* (October 2018), 798–806. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.12.003>.
- (11) Hall Barrientos, I. J.; Paladino, E.; Szabó, P.; Brozio, S.; Hall, P. J.; Oseghale, C. I.; Passarelli, M. K.; Moug, S. J.; Black, R. A.; Wilson, C. G.; et al. Electrospun Collagen-Based Nanofibres: A Sustainable Material for Improved Antibiotic Utilisation in

Tissue Engineering Applications. *Int. J. Pharm.* **2017**, *531* (1), 67–79.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.08.071>.

- (12) Séon-Lutz, M.; Couffin, A. C.; Vignoud, S.; Schlatter, G.; Hébraud, A. Electrospinning in Water and in Situ Crosslinking of Hyaluronic Acid / Cyclodextrin Nanofibers: Towards Wound Dressing with Controlled Drug Release. *Carbohydr. Polym.* **2019**, *207*, 276–287. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.11.085>.
- (13) Yang, G. Z.; Li, J. J.; Yu, D. G.; He, M. F.; Yang, J. H.; Williams, G. R. Nanosized Sustained-Release Drug Depots Fabricated Using Modified Tri-Axial Electrospinning. *Acta Biomater.* **2017**, *53*, 233–241. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.01.069>.
- (14) Liu, X.; Yang, Y.; Yu, D. G.; Zhu, M. J.; Zhao, M.; Williams, G. R. Tunable Zero-Order Drug Delivery Systems Created by Modified Triaxial Electrospinning. *Chem. Eng. J.* **2019**, *356*, 886–894. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.09.096>.
- (15) Kabay, G.; Meydan, A. E.; Kaleli Can, G.; Demirci, C.; Mutlu, M. Controlled Release of a Hydrophilic Drug from Electrospun Amyloid-like Protein Blend Nanofibers. *Mater. Sci. Eng. C* **2017**, *81* (July), 271–279. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.08.003>.
- (16) Tan, Y. F.; Lao, L. L.; Xiong, G. M.; Venkatraman, S. Controlled-Release Nanotherapeutics: State of Translation. *J. Control. Release* **2018**, *284* (June), 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.06.014>.
- (17) Chen, S.; Li, R.; Li, X.; Xie, J. Electrospinning: An Enabling Nanotechnology Platform for Drug Delivery and Regenerative Medicine. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2018**, *132*, 188–213. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.05.001>.
- (18) Bhardwaj, N.; Kundu, S. C. Electrospinning: A Fascinating Fiber Fabrication Technique. *Biotechnol. Adv.* **2010**, *28* (3), 325–347. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.01.004>.
- (19) Tian, D.; He, J. H. Macromolecular Electrospinning: Basic Concept & Preliminary Experiment. *Results Phys.* **2018**, *11* (October), 740–742. <https://doi.org/10.1016/j.rinp.2018.10.042>.
- (20) Haider, A.; Haider, S.; Kang, I. K. A Comprehensive Review Summarizing the Effect of Electrospinning Parameters and Potential Applications of Nanofibers in Biomedical and Biotechnology. *Arab. J. Chem.* **2018**, *11* (8), 1165–1188. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.11.015>.
- (21) Topuz, F.; Uyar, T. Electrospinning of Nanocomposite Nanofibers from Cyclodextrin and Laponite. *Compos. Commun.* **2019**, *12*, 33–38. <https://doi.org/10.1016/j.coco.2018.12.002>.
- (22) Hu, X.; Liu, S.; Zhou, G.; Huang, Y.; Xie, Z.; Jing, X. Electrospinning of Polymeric Nanofibers for Drug Delivery Applications. *J. Control. Release* **2014**, *185* (1), 12–21. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.04.018>.

- (23) Cisquella-Serra, A.; Magnani, M.; Gual-Mosegui, Á.; Holmberg, S.; Madou, M.; Gamero-Castaño, M. Study of the Electrostatic Jet Initiation in Near-Field Electrospinning. *J. Colloid Interface Sci.* **2019**, *543*, 106–113. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.02.041>.
- (24) Lim, L. T.; Mendes, A. C.; Chronakis, I. S. *Electrospinning and Electro spraying Technologies for Food Applications*, 1st ed.; Elsevier Inc., 2019; Vol. 88. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.005>.
- (25) Kyselica, R.; Enikov, E. T.; Anton, R. Electrospinning under Lateral Electrostatic Control in Ambient Atmosphere. *J. Electrostat.* **2019**, *98* (February), 75–81. <https://doi.org/10.1016/j.elstat.2019.02.006>.
- (26) Soares, R. M. D.; Siqueira, N. M.; Prabhakaram, M. P.; Ramakrishna, S. Electrospinning and Electro spray of Bio-Based and Natural Polymers for Biomaterials Development. *Mater. Sci. Eng. C* **2018**, *92* (November 2017), 969–982. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.08.004>.
- (27) Aydogdu, A.; Yildiz, E.; Ayhan, Z.; Aydogdu, Y.; Sumnu, G.; Sahin, S. Nanostructured Poly(Lactic Acid)/Soy Protein/HPMC Films by Electrospinning for Potential Applications in Food Industry. *Eur. Polym. J.* **2019**, *112*, 477–486. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.01.006>.
- (28) Kalantari, K.; Afifi, A. M.; Jahangirian, H.; Webster, T. J. Biomedical Applications of Chitosan Electrospun Nanofibers as a Green Polymer – Review. *Carbohydr. Polym.* **2019**, *207* (October 2018), 588–600. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.12.011>.
- (29) Aguirre-Chagala, Y. E.; Altuzar, V.; León-Sarabia, E.; Tinoco-Magaña, J. C.; Yañez-Limón, J. M.; Mendoza-Barrera, C. Physicochemical Properties of Polycaprolactone/Collagen/Elastin Nanofibers Fabricated by Electrospinning. *Mater. Sci. Eng. C* **2017**, *76*, 897–907. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.118>.
- (30) Alharbi, H. F.; Luqman, M.; Fouad, H.; Khalil, K. A.; Alharthi, N. H. Viscoelastic Behavior of Core-Shell Structured Nanofibers of PLA and PVA Produced by Coaxial Electrospinning. *Polym. Test.* **2018**, *67*, 136–143. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2018.02.026>.
- (31) Chen, P.; Liu, L.; Pan, J.; Mei, J.; Li, C.; Zheng, Y. Biomimetic Composite Scaffold of Hydroxyapatite/Gelatin-Chitosan Core-Shell Nanofibers for Bone Tissue Engineering. *Mater. Sci. Eng. C* **2019**, *97* (November 2018), 325–335. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.12.027>.
- (32) Merkle, V. M.; Tran, P. L.; Hutchinson, M.; Ammann, K. R.; Decook, K.; Wu, X.; Slepian, M. J. Core-Shell PVA/Gelatin Electrospun Nanofibers Promote Human Umbilical Vein Endothelial Cell and Smooth Muscle Cell Proliferation and Migration. *Acta Biomater.* **2015**, *27*, 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.08.044>.
- (33) Long, Y.-Z.; Yan, X.; Wang, X.-X.; Zhang, J.; Yu, M. *Electrospinning: The Setup and*

*Procedure*; Elsevier Inc., 2019. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-323-51270-1.00002-9>.

- (34) Leidy, R.; Maria Ximena, Q. C. Use of Electrospinning Technique to Produce Nanofibres for Food Industries: A Perspective from Regulations to Characterisations. *Trends Food Sci. Technol.* **2019**, *85*, 92–106. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.01.006>.
- (35) Zhang, C.; Feng, F.; Zhang, H. *Emulsion Electrospinning: Fundamentals, Food Applications and Prospects*; Elsevier Ltd, 2018; Vol. 80. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.08.005>.
- (36) Wang, H.; Kong, L.; Ziegler, G. R. Fabrication of Starch - Nanocellulose Composite Fibers by Electrospinning. *Food Hydrocoll.* **2019**, *90*, 90–98. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.047>.
- (37) Isik, B. S.; Altay, F.; Capanoglu, E. The Uniaxial and Coaxial Encapsulations of Sour Cherry (*Prunus Cerasus L.*) Concentrate by Electrospinning and Their in Vitro Bioaccessibility. *Food Chem.* **2018**, *265*, 260–273. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.064>.
- (38) Liu, Q.; Zhu, J.; Zhang, L.; Qiu, Y. Recent Advances in Energy Materials by Electrospinning. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **2018**, *81* (September 2016), 1825–1858. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.281>.
- (39) Zhang, K.; Li, Z.; Kang, W.; Deng, N.; Yan, J.; Ju, J.; Liu, Y.; Cheng, B. Preparation and Characterization of Tree-like Cellulose Nanofiber Membranes via the Electrospinning Method. *Carbohydr. Polym.* **2018**, *183*, 62–69. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.11.032>.
- (40) Moheman, A.; Alam, M. S.; Mohammad, A. Recent Trends in Electrospinning of Polymer Nanofibers and Their Applications in Ultra Thin Layer Chromatography. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2016**, *229*, 1–24. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2015.12.003>.
- (41) Patil, J. V.; Mali, S. S.; Kamble, A. S.; Hong, C. K.; Kim, J. H.; Patil, P. S. Electrospinning: A Versatile Technique for Making of 1D Growth of Nanostructured Nanofibers and Its Applications: An Experimental Approach. *Appl. Surf. Sci.* **2017**, *423*, 641–674. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.06.116>.
- (42) Kavadiya, S.; Biswas, P. Electro Spray Deposition of Biomolecules: Applications, Challenges, and Recommendations. *J. Aerosol Sci.* **2018**, *125*, 182–207. <https://doi.org/10.1016/j.jaerosci.2018.04.009>.
- (43) Gañán-Calvo, A. M.; López-Herrera, J. M.; Herrada, M. A.; Ramos, A.; Montanero, J. M. Review on the Physics of Electro spray: From Electrokinetics to the Operating Conditions of Single and Coaxial Taylor Cone-Jets, and AC Electro spray. *J. Aerosol Sci.* **2018**, *125*, 32–56. <https://doi.org/10.1016/j.jaerosci.2018.05.002>.

- (44) Rosell-Llompart, J.; Grifoll, J.; Loscertales, I. G. Electrosprays in the Cone-Jet Mode: From Taylor Cone Formation to Spray Development. *J. Aerosol Sci.* **2018**, *125* (May), 2–31. <https://doi.org/10.1016/j.jaerosci.2018.04.008>.
- (45) Guha, S.; Li, M.; Tarlov, M. J.; Zachariah, M. R. Electrospray-Differential Mobility Analysis of Bionanoparticles. *Trends Biotechnol.* **2012**, *30* (5), 291–300. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.02.003>.
- (46) Steipel, R. T.; Gallovic, M. D.; Batty, C. J.; Bachelder, E. M.; Ainslie, K. M. Electrospray for Generation of Drug Delivery and Vaccine Particles Applied in Vitro and in Vivo. *Mater. Sci. Eng. C* **2019**, *105* (July), 110070. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110070>.
- (47) Wang, B.; Wang, S.; Zhang, Q.; Deng, Y.; Li, X.; Peng, L.; Zuo, X.; Piao, M.; Kuang, X.; Sheng, S.; et al. Recent Advances in Polymer-Based Drug Delivery Systems for Local Anesthetics. *Acta Biomater.* **2019**, *96*, 55–67. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.05.044>.
- (48) H.R., R.; Dhamecha, D.; Jagwani, S.; Rao, M.; Jadhav, K.; Shaikh, S.; Puzhankara, L.; Jalalpure, S. Local Drug Delivery Systems in the Management of Periodontitis: A Scientific Review. *J. Control. Release* **2019**, *307*, 393–409. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.06.038>.
- (49) Ng, L. C.; Gupta, M. Transdermal Drug Delivery Systems in Diabetes Management: A Review. *Asian J. Pharm. Sci.* **2019**, No. xxxx. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2019.04.006>.
- (50) Su, C.; Liu, Y.; Li, R.; Wu, W.; Fawcett, J. P.; Gu, J. Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion of the Biomaterials Used in Nanocarrier Drug Delivery Systems. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2019**. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2019.06.008>.
- (51) Ji, T.; Kohane, D. S. Nanoscale Systems for Local Drug Delivery. *Nano Today* **2019**, No. xxxx, 100765. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2019.100765>.
- (52) Ho, D.-K.; Nichols, B. L. B.; Edgar, K. J.; Murgia, X.; Loretz, B.; Lehr, C.-M. Challenges and Strategies in Drug Delivery Systems for Treatment of Pulmonary Infections. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2019**. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2019.09.002>.
- (53) Liu, Y. L.; Chen, D.; Shang, P.; Yin, D. C. A Review of Magnet Systems for Targeted Drug Delivery. *J. Control. Release* **2019**, *302*, 90–104. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.03.031>.
- (54) Hajebi, S.; Rabiee, N.; Bagherzadeh, M.; Ahmadi, S.; Rabiee, M.; Roghani-Mamaqani, H.; Tahriri, M.; Tayebi, L.; Hamblin, M. R. Stimulus-Responsive Polymeric Nanogels as Smart Drug Delivery Systems. *Acta Biomater.* **2019**, *92*, 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.05.018>.
- (55) Kajdič, S.; Planinšek, O.; Gašperlin, M.; Kocbek, P. Electrospun Nanofibers for Customized Drug-Delivery Systems. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **2019**, *51*, 672–681.

<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.03.038>.

- (56) Puiggali-Jou, A.; del Valle, L. J.; Alemán, C. Drug Delivery Systems Based on Intrinsically Conducting Polymers. *J. Control. Release* **2019**, *309*, 244–264. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.07.035>.
- (57) Kamble, P.; Sadarani, B.; Majumdar, A.; Bhullar, S. Nanofiber Based Drug Delivery Systems for Skin: A Promising Therapeutic Approach. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **2017**, *41*, 124–133. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2017.07.003>.
- (58) Sofi, H. S.; Ashraf, R.; Khan, A. H.; Beigh, M. A.; Majeed, S.; Sheikh, F. A. Reconstructing Nanofibers from Natural Polymers Using Surface Functionalization Approaches for Applications in Tissue Engineering, Drug Delivery and Biosensing Devices. *Mater. Sci. Eng. C* **2019**, *94*, 1102–1124. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.10.069>.
- (59) Khalf, A.; Madihally, S. V. Recent Advances in Multiaxial Electrospinning for Drug Delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2017**, *112* (November), 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.11.010>.
- (60) Ghorani, B.; Tucker, N. Fundamentals of Electrospinning as a Novel Delivery Vehicle for Bioactive Compounds in Food Nanotechnology. *Food Hydrocoll.* **2015**, *51*, 227–240. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.05.024>.
- (61) Zong, H.; Xia, X.; Liang, Y.; Dai, S.; Alsaedi, A.; Hayat, T.; Kong, F.; Pan, J. H. Designing Function-Oriented Artificial Nanomaterials and Membranes via Electrospinning and Electrospraying Techniques. *Mater. Sci. Eng. C* **2018**, *92*, 1075–1091. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.11.007>.
- (62) Khoshnevisan, K.; Maleki, H.; Samadian, H.; Shahsavari, S.; Sarrafzadeh, M. H.; Larijani, B.; Dorkoosh, F. A.; Haghpanah, V.; Khorramizadeh, M. R. Cellulose Acetate Electrospun Nanofibers for Drug Delivery Systems: Applications and Recent Advances. *Carbohydr. Polym.* **2018**, *198*, 131–141. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.06.072>.
- (63) Gopi, S.; Balakrishnan, P.; Chandradhara, D.; Poovathankandy, D.; Thomas, S. General Scenarios of Cellulose and Its Use in the Biomedical Field. *Mater. Today Chem.* **2019**, *13*, 59–78. <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2019.04.012>.
- (64) Teodorescu, M.; Bercea, M.; Morariu, S. Biomaterials of PVA and PVP in Medical and Pharmaceutical Applications : Perspectives and Challenges ☆. *Biotechnol. Adv.* **2019**, *37* (1), 109–131. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.008>.
- (65) Julinová, M.; Va, L.; Jur, M. Water-Soluble Polymeric Xenobiotics – Polyvinyl Alcohol and Polyvinylpyrrolidone – And Potential Solutions to Environmental Issues : A Brief Review. **2018**, *228* (April), 213–222. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.09.010>.
- (66) Prayuddy, R.; Edikreshna, D.; Miftahul, M. Electrospinning Technique. *Procedia Eng.*

- 2017**, 170, 19–23. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2017.03.004>.
- (67) Shahrabi, S. S.; Barzin, J.; Shokrollahi, P. SC. *Polym. Test.* **2018**. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2017.12.034>.
- (68) Moreno-cortez, I. E.; Alvarado-castañeda, A.; Garcia-gutierrez, D. F. Core – Shell PEDOT : PSS — PVP Nano Fibers Containing PbS Nanoparticles through Coaxial Electrospinning. *Synth. Met.* **2016**, 220, 255–262. <https://doi.org/10.1016/j.synthmet.2016.06.019>.
- (69) Prakash, M.; Basavaraj, B. V; Murthy, K. N. C. Biological Functions of Epicatechin : Plant Cell to Human Cell Health. *J. Funct. Foods* **2019**, 52 (October 2018), 14–24. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.10.021>.
- (70) Bernatova, I. Foods : Focus on Cardiovascular and Neuropsychological Health. *Biotechnol. Adv.* **2018**, 36 (3), 666–681. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.01.009>.
- (71) Cremonini, E.; Fraga, C. G.; Oteiza, P. I. Free Radical Biology and Medicine (–) - Epicatechin in the Control of Glucose Homeostasis : Involvement of Redox-Regulated Mechanisms. *Free Radic. Biol. Med.* **2019**, 130 (November 2018), 478–488. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.11.010>.
- (72) Maaliki, D.; Shaito, A. A.; Pintus, G.; El-yazbi, A.; Eid, A. H. ScienceDirect Flavonoids in Hypertension : A Brief Review of the Underlying Mechanisms. *Curr. Opin. Pharmacol.* **2019**, 45, 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2019.04.014>.
- (73) Badylak, S.; Gilbert, T.; Myers-irvin, J. Chapter 5 The Extracellular Matrix as a Biologic Scaffold for Tissue Engineering Chapter Objectives :
- (74) Gomes, M.; Azevedo, H.; Malafaya, P.; Silva, S.; Oliveira, J.; Silva, G.; Sousa, R.; Mano, J.; Reis, R. Chapter 6 Natural Polymers in Tissue Engineering Applications. **2008**, 370869.
- (75) Wu, A. T.; Ding, M.; Shi, C. PT SC. *Chinese Chem. Lett.* **2019**. <https://doi.org/10.1016/j.cclet.2019.07.033>.
- (76) Matai, I.; Kaur, G.; Seyedsalehi, A.; Mcclinton, A.; Laurencin, C. T. Progress in 3D Bioprinting Technology for Tissue/Organ Regenerative Engineering. *Biomaterials* **2019**, 119536. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119536>.
- (77) Ahmed, S.; Sheikh, J.; Ali, A. SC. **2018**, No. 2017, #pagerange#. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.176>.
- (78) Laurent, C.; Liu, X.; Isla, N. De; Wang, X.; Rahouadj, R. De Fi Ning a Sca Ff Old for Ligament Tissue Engineering : What Has Been Done , and What Still Needs to Be Done. **2018**, 4 (September), 4–9. <https://doi.org/10.1016/j.jocit.2018.09.002>.
- (79) Shah, S. A.; Sohail, M.; Usman, M.; Khan, S.; Matas, M. De; Sikstone, V. L P Of. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.007>.

- (80) Jain, A.; Khan, W.; Kyzioł, A. *Chapter 10. Particulate Systems of PLA and Its Copolymers*; Elsevier Inc., 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816874-5.00010-4>.
- (81) Lee, B. K.; Yun, Y.; Park, K. PLA Micro- and Nano-Particles. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2016**, *107*, 176–191. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.05.020>.
- (82) Tyler, B.; Gullotti, D.; Mangraviti, A.; Utsuki, T.; Brem, H. Polylactic Acid (PLA) Controlled Delivery Carriers for Biomedical Applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2016**, *107*, 163–175. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.06.018>.
- (83) Santoro, M.; Shah, S. R.; Walker, J. L.; Mikos, A. G. Poly(Lactic Acid) Nanofibrous Scaffolds for Tissue Engineering. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2016**, *107*, 206–212. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.019>.
- (84) Anderson, J. M.; Shive, M. S. Biodegradation and Biocompatibility of PLA and PLGA Microspheres. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2012**, *64* (SUPPL.), 72–82. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.004>.
- (85) De Jaeger, C.; Cherin, P. Matrice Extracellulaire, Physiologie et Vieillessement Vasculaire. *Med. Longevite* **2012**, *4* (1), 41–53. <https://doi.org/10.1016/j.mlong.2012.02.002>.
- (86) Rodríguez-Cabello, J. C.; González de Torre, I.; Ibañez-Fonseca, A.; Alonso, M. Bioactive Scaffolds Based on Elastin-like Materials for Wound Healing. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2018**, *129*, 118–133. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.03.003>.
- (87) Daamen, W. F.; Veerkamp, J. H.; van Hest, J. C. M.; van Kuppevelt, T. H. Elastin as a Biomaterial for Tissue Engineering. *Biomaterials* **2007**, *28* (30), 4378–4398. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.06.025>.
- (88) Ibañez-Fonseca, A.; Flora, T.; Acosta, S.; Rodríguez-Cabello, J. C. Trends in the Design and Use of Elastin-like Recombinamers as Biomaterials. *Matrix Biol.* **2019**, No. xxxx. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2019.07.003>.
- (89) Madkhali, O.; Mekhail, G.; Wettig, S. D. Modified Gelatin Nanoparticles for Gene Delivery. *Int. J. Pharm.* **2019**, *554* (November 2018), 224–234. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.11.001>.
- (90) Ranganathan, S.; Balagangadharan, K.; Selvamurugan, N. Chitosan and Gelatin-Based Electrospun Fibers for Bone Tissue Engineering. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, *133*, 354–364. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.115>.
- (91) Gaspar-Pintilieșcu, A.; Stanciuc, A.-M.; Craciunescu, O. Natural Composite Dressings Based on Collagen, Gelatin and Plant Bioactive Compounds for Wound Healing: A Review. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, *138*, 854–865. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.155>.
- (92) Kierzkowska, M.; Majewska, A.; Szymanek-Majchrzak, K.; Sawicka-Grzelak, A.;

- Mlynarczyk, A.; Mlynarczyk, G. In Vitro Effect of Clindamycin against Bacteroides and Parabacteroides Isolates in Poland. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* **2018**, *13* (2010), 49–52. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.11.001>.
- (93) Takeru, H. Rate of Release of Medicaments from Ointment Bases Containing Drugs in Suspension. *J. Pharm. Sci.* **1961**, *50*, 874–875.
- (94) Peppas, N. A.; Gurny, R.; Doelker, E.; Buri, P. Modelling of Drug Diffusion through Swellable Polymeric Systems. *J. Memb. Sci.* **1980**, *7* (3), 241–253. [https://doi.org/10.1016/S0376-7388\(00\)80471-8](https://doi.org/10.1016/S0376-7388(00)80471-8).
- (95) Peppas, N. A.; Colombo, P. Analysis of Drug Release Behavior from Swellable Polymer Carriers Using the Dimensionality Index. *J. Control. Release* **1997**, *45* (1), 35–40. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(96\)01542-8](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(96)01542-8).
- (96) Amjadi, S.; Emaminia, S.; Heyat Davudian, S.; Pourmohammad, S.; Hamishehkar, H.; Roufegarinejad, L. Preparation and Characterization of Gelatin-Based Nanocomposite Containing Chitosan Nanofiber and ZnO Nanoparticles. *Carbohydr. Polym.* **2019**, *216*, 376–384. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.03.062>.
- (97) Silva, R.; Singh, R.; Sarker, B.; Papageorgiou, D. G.; Juhasz-Bortuzzo, J. A.; Roether, J. A.; Cicha, I.; Kaschta, J.; Schubert, D. W.; Chrissafis, K.; et al. Hydrogel Matrices Based on Elastin and Alginate for Tissue Engineering Applications. *Int. J. Biol. Macromol.* **2018**, *114* (2017), 614–625. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.091>.
- (98) Zhou, Y.; Lei, L.; Yang, B.; Li, J.; Ren, J. Preparation and Characterization of Polylactic Acid (PLA) Carbon Nanotube Nanocomposites. *Polym. Test.* **2018**, *68* (March), 34–38. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2018.03.044>.
- (99) Sangnim, T.; Limmatvapirat, S.; Nunthanid, J.; Sriamornsak, P.; Sittikijyothin, W.; Wannachaiyasit, S.; Huanbutta, K. Design and Characterization of Clindamycin-Loaded Nanofiber Patches Composed of Polyvinyl Alcohol and Tamarind Seed Gum and Fabricated by Electrohydrodynamic Atomization. *Asian J. Pharm. Sci.* **2018**, *13* (5), 450–458. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2018.01.002>.

## ANEXOS

### PRODUCTOS OBTENIDOS

#### 1. Publicaciones relacionadas al trabajo de Tesis

I. Y. López-Peña,<sup>1</sup> M. M. Castillo-Ortega,<sup>1</sup> D. F. Plascencia-Martínez,<sup>1</sup> A. Félix-Núñez,<sup>1</sup> D. E. Rodríguez-Félix,<sup>1</sup> T. Del Castillo-Castro,<sup>1</sup> J. C. Encinas-Encinas,<sup>1</sup> H. Santacruz-Ortega,<sup>1</sup>

F. Rodríguez-Félix,<sup>2</sup> J. V. Cauich-Rodríguez,<sup>3</sup> S. Burruel-Ibarra,<sup>1</sup> D. Hernandez-Martínez,<sup>1</sup> J. M. Quiroz-Castillo<sup>4</sup> Study of the release kinetics of (-) epicatechin: Effect of its location with in the fiber or sphere J. APPL. POLYM. SCI. 2018, DOI: 10.1002/APP.47166

Y. López-Peña,<sup>1</sup> M. M. Castillo-Ortega,<sup>1</sup> D. E. Rodríguez-Félix,<sup>1</sup> T. Del Castillo-Castro,<sup>1</sup> J. C. Encinas-Encinas,<sup>1</sup> H. Santacruz-Ortega,<sup>1</sup> J. V. Cauich-Rodríguez,<sup>2</sup> J. M. Quiroz-Castillo,<sup>1</sup> L. H. Chan-Chan,<sup>2</sup> I. Lagarda- Diaz,<sup>2</sup> D. F. Plascencia-Martínez,<sup>2</sup> A. A. Leyva-Verduzco.<sup>1</sup> PLA, elastin and gelatin fibers loaded with clindamycin for use in tissue engineering Asian Journal of Pharmaceutical Sciences (ENVIADO)

#### 2. Participaciones en congresos

**Congreso:** XX Reunión universitaria de Investigación en Materiales.

**Título del trabajo:** Preparation by coaxial electrospinning and characterization of pla-col/pla-eln membrane.

**Fecha:** Noviembre del 2015.

**Congreso:** 1er simposio de antioxidantes y estrés oxidativo.

**Título del trabajo:** Preparación y caracterización de esferas de acetato de celulosa/pvp.epicatequina obtenidas por electrospay.

**Fecha:** Febrero de 2016.

**Congreso:** XV Simposio Latinoamericano de Polímeros, XII Congreso Iberoamericano de Polímeros. SLAP

**Título del trabajo:** Preparation by coaxial electrospinning and characterization of PLA-COL/PLA-ELN membrane.

**Fecha:** Octubre de 2016.

**Congreso:** XXI Reunión Universitaria de Investigación en Materiales. RUIM

**Título del trabajo:** Preparation by coaxial electrospinning and characterization of PLA-COL/PLA-ELN membrane.

**Fecha:** Noviembre del 2016.

**Congreso:** MACROMEX 2017 & XXX Congreso Nacional de la S.P.M.

**Título del trabajo:** preparation and characterization of pla, elastin and gelatin membranes obtained by coaxial electrospinning.

**Fecha:** Diciembre 2017.

**Congreso:** XXIII Reunión Universitaria de Investigación en Materiales. RUIIM

**Título del trabajo:** preparation and characterization of membrane of pla, elastin and gelatin loaded with clindamycin obtained by coaxial electrospinning.

**Fecha:** Noviembre 2018.

**Congreso:** XIII Coloquio Bienal en ciencia de Materiales

**Título del trabajo:** preparation and characterization of membrane of pla, elastin and gelatin loaded with clindamycin obtained by coaxial electrospinning.

**Fecha:** Abril de 2019.

**Congreso:** International Conference on Nanomaterials & Technology (NMAT-2019)

**Título del trabajo:** preparation and characterization of materials of pla, elastin and gelatin loaded with clindamycin obtained by electrospray.

**Fecha:** Mayo de 2019.

### 3. Estancias de Investigación

Nombre de la institución: Universidad de Sonora

Nombre del Laboratorio: Laboratorio de biofísica celular en el Departamento de Investigación en Física de la Universidad de Sonora.

Nombre del académico receptor: Dra. Lerma Hanaiy Chan-Chan.

Nombre del proyecto: ensayos celulares a materiales de PLA, elastina y gelatina cargados con clindamicina.