



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE INGENIERIA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y METALURGIA

**PREPARACIÓN POR
ELECTROHILADO/ELECTROASPERSIÓN
Y CARACTERIZACIÓN DE MEMBRANAS POLIMÉRICAS
LIBERADORAS DE FÁRMACOS**

TESIS

Que para obtener el título de

INGENIERO QUÍMICO

Presenta:

DAMIAN FRANCISCO PLASCENCIA MARTINEZ

Hermosillo, Sonora

Abril de 2016

Universidad de Sonora

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

UNIVERSIDAD DE SONORA

VOTOS APROBATORIOS

Hermosillo, Sonora, a 08 de Abril de 2016.

DR. MARTÍN ANTONIO ENCINAS ROMERO
JEFE DEL DEPARTAMENTO
INGENIERÍA QUÍMICA Y METALURGIA

Por medio de la presente, nos permitimos informarle que los miembros del Jurado designado para revisar la Tesis Profesional "PREPARACIÓN POR ELECTROHILADO/ELECTROASPERSIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE MEMBRANAS POLIMÉRICAS LIBERADORAS DE FÁRMACOS", presentada por:

DAMIÁN FRANCISCO PLASCENCIA MARTÍNEZ

La han revisado y cada uno de los integrantes da su **VOTO APROBATORIO** ya que cumple con los requisitos parciales para la obtención del Título de:

INGENIERO QUÍMICO

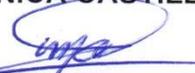
08-Abril-2016

Fecha



DRA. MARÍA MONICA CASTILLO ORTEGA

08-Abril-2016



DR. MARTÍN ANTONIO ENCINAS ROMERO

08-Abril-2016



DR. EDUARDO LARIOS RODRÍGUEZ

08-Abril-2016



DR. ALEJANDRO VALENZUELA SOTO

A mis abuelas

La que veo físicamente y la que me visita en mis sueños

Ojalá fueran eternas....

“Faber est suae quisque fortunae”

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, quienes en todo momento han estado al pendiente de mí y que han tenido un amor incondicional para conmigo en todo momento, por brindarme su apoyo y la oportunidad de formarme profesionalmente en la carrera de Ingeniería Química, saberme ayudar en los momentos de alegría e inclusive en la temporada de exámenes finales. Gracias por saberme tolerar en esos momentos en que ni yo mismo podía. Gracias Mamá, Gracias Papá.

A mis hermanos, quienes me han brindado tantos momentos de alegría que ni siquiera es posible enumerarlos, por su amor incondicional y estar siempre que los he necesitado. A mi cuñada y a mi sobrino cuya llegada a nuestra familia se vio reflejada en una mejor unión, Gracias por ese amor incondicional.

Al Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales de la Universidad de Sonora, por permitirme hacer uso de sus instalaciones para la realización de este trabajo.

Al Departamento de Ingeniería Química y Metalurgia que se convirtió en mi casa durante mi formación, a todos los maestros y técnicos que me apoyaron durante esta importante etapa de mi vida.

A mi asesora, Dra. María Mónica Castillo Ortega por su colaboración y atinada dirección en el desarrollo de este trabajo, así como su amistad y el apoyo que he recibido de su parte.

A la M.C. Itzel López Peña quien, junto a mi asesora, se convirtió en un importantísimo pilar en el desarrollo de este trabajo, por asesorarme y ayudarme a comprender todos los conceptos que desconocía, además de valiosa amistad que ha brindado desde que comencé con el desarrollo de este proyecto, en serio Itzel muchísimas gracias.

A la Dra. Irela Santos por su valioso apoyo y colaboración en la caracterización térmica del material.

A la Dra. Lorena Villegas y al Dr. Ramón Moreno por su valiosa atención y apoyo en el laboratorio de espectroscopia.

A la Dra. Silvia Burruel por su valiosa colaboración en la caracterización del material por microscopía electrónica de barrido.

A mi querida y gran amiga Fernanda González por su valiosa amistad y confianza que ha tenido conmigo, por todo tu apoyo en estos años.

A mis compañeros de carrera, con quienes compartí cuatro años y medio tanto alegrías como momentos difíciles. Quiero agradecer en especial a mis compañeros Claudia Hernández, Lilia Meza, Sophia Altamirano, Dulce Gutiérrez, Raquel Quijada, María José Córdoba, Alejandro Valdez, Diana Talamantes, Fernanda Dávila, Manuel Gutiérrez, Andrea Palma y Héctor Muzquiz.

A mis amigos que conocí en un verano inolvidable y que hoy forman una parte importantísima de mi vida, Roció Alatorre, Carla con C y Cesar Cortez.

A la Dra. Katiushka Arévalo Niño que me recibió como su estudiante durante un verano de investigación que resultó en conocer los fundamentos de la técnica con la que está realizado este trabajo, gracias por todo su apoyo y ser una parte importante de mi formación.

CONTENIDO

	Página
LISTA DE TABLAS	ix
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	x
RESUMEN	xi
CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivos	2
1.1.1 Objetivo general	2
1.1.2 Objetivos particulares	2
CAPÍTULO 2 ANTECEDENTES	3
2.1 Liberación de fármacos.....	3
2.1.1 Modelos para la liberación de fármacos en sistemas poliméricos	5
2.2 Técnicas para preparar membranas poliméricas	10
2.2.1 Electrohilado	10
2.2.1.1 Variables en el proceso de electrohilado	11
2.2.1.2 Tipos de arreglos	12
2.2.2 Gel Casting	13
2.2.3 Moldeo con disolvente	14
2.2.4 Separación de fases	14
2.3 Técnicas para preparar partículas poliméricas	14
2.3.1 Electroaspersión	14
2.3.1.1 Variables en el proceso de electroaspersión	16
2.3.1.2 Tipos de arreglos	17
2.3.2 Emulsificación-Evaporación.....	18
2.3.3 Método de emulsión múltiple	19
2.3.4 Nanoprecipitación	19
2.4 Acetato de Celulosa	19

2.5 Poli (vinilpirrolidona).....	21
2.6 Epicatequina	21
2.7 Técnicas de caracterización	22
2.7.1 Microscopia electrónica de barrido (MEB)	22
2.7.2 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier.....	23
2.7.3 Reflectancia total atenuada (ATR).....	25
2.7.4 Espectroscopia ultravioleta visible (UV-vis)	25
2.7.5 Análisis termogravimétrico.....	26
CAPÍTULO 3 MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1 Materiales	27
3.2 Preparación	27
3.2.1 Preparación de membranas fibrosas.....	27
3.2.2 Preparación de esferas poliméricas	28
3.2.3 Preparación de membranas fibra/esfera.....	29
3.3 Técnicas de Caracterización.....	30
3.3.1 Microscopia electrónica de barrido (MEB)	30
3.3.2 Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier	30
3.3.3 Reflectancia Total Atenuada.....	31
3.3.4 Análisis Termogravimétrico	31
3.4 Ensayos de liberación del fármaco	31
3.4.1 Liberación del fármaco en membranas fibrosas	32
3.4.2 Liberación del fármaco en esferas poliméricas.....	33
3.4.3 Liberación del fármaco en membranas fibra/esfera.....	33
CAPÍTULO 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
4.1 Caracterización	35
4.1.1 Microscopía electrónica de barrido (MEB).....	35
4.1.2 Análisis de espectroscopia de infrarrojo	36
4.1.3 Análisis termogravimétrico.....	39
4.2 Cinéticas de liberación de epicatequina.....	41
4.3 Ajuste a modelos de liberación	44

4.4 Efecto de la morfología sobre la cinética de liberación	49
CAPITULO 5 CONCLUSIONES.....	52
RECOMENDACIONES	53
REFERENCIAS.....	54

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Interpretación del mecanismo de liberación según el exponente difusional n para diferentes geometrías. (Andreeta, 2003).....	6
Tabla II. Modelos matemáticos comunes para estudiar la liberación de fármacos en matrices poliméricas.	9
Tabla III. Resumen de las frecuencias de grupo para grupos orgánicos funcionales	24
Tabla IV. Parámetros usados para la elaboración de fibras y esferas de AC/PVP-Epicatequina/AC mediante técnicas electrohidrodinámicas.....	30
Tabla V. Modelos matemáticos comunes en su forma lineal para estudiar la liberación de fármacos.	45
Tabla VI. Resumen de los parámetros de ajuste a los modelos de liberación para las diferentes estructuras.	48
Tabla VII. Comparación para los sistemas de liberación de Epicatequina.....	51

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1. Perfiles de concentración hipotéticos del fármaco en plasma tras la liberación desde: (a) una formulación farmacéutica convencional; (b) una forma farmacéutica para liberación controlada.....	4
Figura 2. Representación esquemática del proceso de electrohilado	10
Figura 3. Representación esquemática del proceso de electrohilado coaxial	13
Figura 4. Representación esquemática del proceso de electroaspersión	16
Figura 5. Representación esquemática del proceso de electroaspersión coaxial	18
Figura 6. Estructura química del acetato de celulosa.....	20
Figura 7. Estructura química de la poli(vinilpirrolidona).....	21
Figura 8. Estructura química de la (-) Epicatequina	22
Figura 9. Microfotografías de las membranas fibra/esfera de AC/PVP-Epicatequina/AC (a) 2000X (b) 5000X antes de ser sometidas al ensayo de liberación, (c) 2000X y (d)5000X posterior al ensayo de liberación	36
Figura 10. Espectros de infrarrojo para (a) Acetato de celulosa, (b) PVP, (c) Epicatequina	38
Figura 11. Espectros de infrarrojo para membranas de AC/PVP-Epi/AC, (a) antes del ensayo de liberación y (b) posterior al ensayo de liberación.....	38
Figura 12. Termograma de AC, PVP y Epicatequina.	40
Figura 13. Termograma de las membranas F-E de AC/PVP-Epicatequina/AC.....	40
Figura 14. Cinética de liberación de epicatequina en membranas fibrosas de AC/PVP-Epicatequina/AC	41
Figura 15. Cinética de liberación de epicatequina en esferas poliméricas de AC/PVP-Epicatequina/AC.....	42
Figura 16. Cinética de liberación de epicatequina en las membranas preparadas por electrohilado/electroaspersión.....	43

Figura 17. Ajuste de datos de liberación a un modelo empírico para membranas fibrosas de AC/PVP-Epicatequina/AC	46
Figura 18. Ajuste de datos de liberación a un modelo empírico para esferas poliméricas de AC/PVP-Epicatequina/AC.....	47
Figura 19. Ajuste de datos de liberación a un modelo empírico para membranas fibra/esfera de AC/PVP-Epicatequina/AC.....	48
Figura 20. Representación cualitativa de los mecanismos de liberación de fármaco según la matriz de encapsulamiento a diferentes tiempos	51

LISTA DE ABREVIATURAS

AC	Acetato de Celulosa
PVP	Poli (vinil pirrolidona)
MEB	Microscopio electrónico de barrido
ATR	Reflectancia total atenuada
IR	Región Infrarroja
FT-IR	Infrarrojo con Transformada de Fourier
TF	Transformada de Fourier
TGA	Análisis Termogravimétrico
UV-vis	Ultravioleta visible

RESUMEN

La preparación de sistemas para la liberación de fármacos, consiste en llevar a cabo un minucioso estudio acerca de los parámetros que la afectan, cuando se tiene un sistema con un agente encapsulado, es conveniente llevar a cabo pruebas para determinar el mecanismo que rige la descarga del fármaco sobre el medio de liberación para poder extrapolarlo a la aplicación final.

En el presente trabajo, se prepararon membranas por técnicas electrohidrodinámicas, con dos diferentes estructuras, se prepararon membranas por electrohilado, las cuales fueron cubiertas por microesferas provenientes de un proceso de electroaspersión, ambos sistemas como matrices de encapsulamiento de epicatequina. Se realizaron diferentes caracterizaciones, microscopia electrónica de barrido, para conocer la morfología de las membranas, un análisis termogravimétrico y un estudio de espectroscopia de infrarrojo, con el que se evidenció la presencia de los componentes.

Para evaluar la liberación del fármaco cargado en las membranas, se llevaron a cabo ensayos de liberación en agua grado miliQ, los cuales se compararon con modelos empíricos reportados para liberación de fármacos en sistemas poliméricos; para un estudio comparativo se evaluaron las estructuras por separado y la membrana con ambas estructuras, para el sistema de fibras se encontró una liberación del 98.8%, con un mecanismo de liberación mayormente difusivo, pero sin despreciar los fenómenos de arrastre, para las esferas se encontró una liberación del 72.8% del fármaco cargado inicialmente, con un mecanismo de descarga meramente difusivo, y para las membranas con fibras y esferas se encontró una liberación del 85.4%, con un mecanismo de liberación mayormente difusivo a tiempos cortos y arrastre a tiempos mayores.

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de materiales es un desafío que necesita de profesionistas dedicados a la elaboración, caracterización, y pruebas de estos; los sistemas de liberación de fármacos deben contar con ciertas características para que puedan ser aplicados en la medicina como son biocompatibilidad, nula toxicidad, una carga correcta del fármaco a encapsular, antigenicidad, entre otros.

La investigación en el área de biomateriales es un tema actual, debido a la necesidad del desarrollo de materiales que sean biológicamente compatibles, no presenten efectos secundarios y que sean amigables con el medio ambiente.

La síntesis de materiales compatibles con el cuerpo humano, representa un desafío para las personas que trabajan con su preparación, porque una correcta formulación, implica que dicho material sea elaborado con los parámetros óptimos, tanto para la síntesis como su aplicación, y esto puede llegar a presentar un problema cuando no se usan las condiciones adecuadas.

Las técnicas de síntesis de materiales con las que se trabaja en este estudio, corresponden al electrohilado y electroaspersión para la fabricación de fibras y esferas, respectivamente; como se tratará más adelante, la morfología y características de los materiales elaborados por estas técnicas, dependen tanto de parámetros ajustables como de condiciones medio ambientales, esto implica que el desarrollo de un nuevo material, por estas técnicas requiera de un estricto diseño experimental, en el que las variables a considerar sean evaluadas de forma correcta, y se obtengan así los parámetros óptimos para la fabricación del material deseado.

Los avances en la fabricación de materiales para liberación de fármacos, se basan en la encapsulación del agente a liberar, y la liberación está regulada por las interacciones entre el agente encapsulado y la matriz de encapsulamiento, además de la forma en que estos son preparados (Zamani y col, 2013).

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general

Preparar por electrohilado/electroaspersión coaxial y caracterizar membranas de AC/PVP-Epicatequina/AC, y obtener los modelos correspondientes a la liberación del fármaco encapsulado.

1.1.2 Objetivos particulares

- Preparar membranas de AC/PVP-Epicatequina/AC por electrohilado, electroaspersión y electrohilado/electroaspersión con las condiciones óptimas.
- Caracterizar morfológicamente mediante MEB las membranas preparadas por electrohilado/electroaspersión y compararlas con estudios previos.
- Estudiar la cinética de liberación del fármaco en agua miliQ y explicar el mecanismo de liberación.
- Estudiar el efecto de la morfología del sistema, mediante la comparación con estudios previos.

CAPÍTULO 2

ANTECEDENTES

2.1 Liberación de fármacos

Un sistema de liberación de fármacos, consiste en una formulación o dispositivo que permite la introducción de un agente terapéutico en el organismo, y que a su vez aumenta su eficacia y seguridad al controlar la velocidad, el tiempo y el sitio de liberación del fármaco en el cuerpo. (Jain, 2008).

El proceso de liberación completo incluye la administración del producto terapéutico, la liberación de los ingredientes activos por el producto, y el consecuente transporte de dichos ingredientes activos a través de las membranas biológicas, hasta el sitio de acción lo que hace que el sistema de liberación sea una interface entre el paciente y el fármaco. (Jain, 2008).

Los sistemas de liberación controlada, ofrecen cuantiosas mejorías frente a las formas de dosificación convencionales. Las formas convencionales por lo general no son capaces de regular la cantidad liberada de fármaco, y presentan una liberación inmediata o de bulto, por lo que se requiere una administración frecuente, para mantener la concentración en un nivel terapéutico lo que ocasiona que los niveles del fármaco en sangre y tejidos fluctúe bastante, lo cual puede provocar, por un lado que concentraciones elevadas produzcan efectos tóxicos o por el otro, que concentraciones bajas inhiban los efectos terapéuticos con el paso del tiempo, mientras que en un sistema controlado se pueden reducir las fluctuaciones, y mantener la dosis del ingrediente activo dentro de los niveles terapéuticos deseados. (Katime y col, 2004).

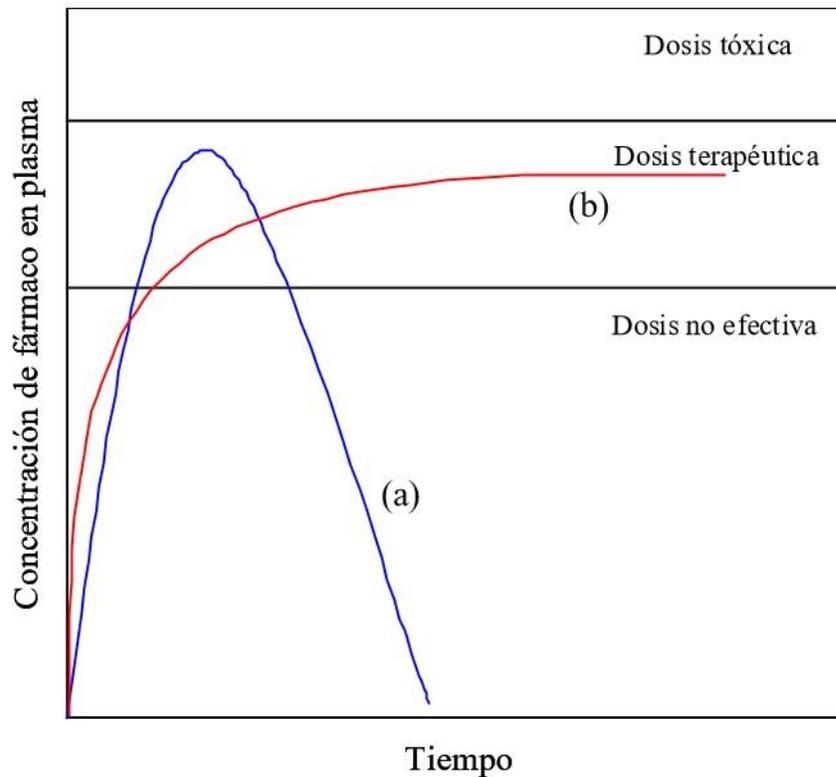


Figura 1. Perfiles de concentración hipotéticos del fármaco en plasma tras la liberación desde: (a) Una formulación farmacéutica convencional; (b) Una forma farmacéutica para liberación controlada. Tomado de la fuente [14]

En la Figura 1 se muestra la comparación en la liberación de un ingrediente activo, desde formas farmacéuticas convenciones y sistemas de liberación controlada.

La liberación de fármacos con el uso de nano y microestructuras poliméricas, se basa en el principio de contar con un área superficial alta del portador del fármaco, lo cual mejorará la velocidad de disolución en el medio. (Zamani y col, 2013).

Las técnicas de fabricación electrohidrodinámicas, se refieren a los procedimientos que utilizan fuerzas electrostáticas, como la fuerza motriz para fabricar fibras o partículas, con tamaños variados del rango nanométrico hasta pocos micrones, por un chorro de fluido cargado eléctricamente. El tamaño, morfología y composición pueden ser modulados mediante parámetros del

proceso y la elección del material, con lo cual se puede adaptar el perfil de liberación que se desee. (Zamani y col, 2013).

2.1.1 Modelos para la liberación de fármacos en sistemas poliméricos

Es importante considerar que el mecanismo y la cinética de liberación del fármaco desde las micro y nano estructuras, depende de la naturaleza del fármaco, del agente encapsulante y del medio de liberación.

Existen una serie de modelos matemáticos, con los cuales se pueden explicar las cinéticas y de esta forma predecir los mecanismos de liberación desde micro y nano estructuras. Los modelos que se describirán son: Korsmeyer & Peppas, Higuchi, Modelo de Orden Cero y el Modelo de Peppas-Sahlin

Modelo de Korsmeyer & Peppas

Korsmeyer y colaboradores, en 1983, desarrollaron un modelo simple, semiempírico, que relaciona exponencialmente la liberación del fármaco con el tiempo transcurrido. Este modelo, se ajusta principalmente al 60-70% de la cantidad de fármaco liberada, y se emplea para determinar si la cinética de liberación sigue un mecanismo de difusión que obedece a la primera Ley de Fick, o si por el contrario se trata de un mecanismo diferente. La forma general de este modelo es la siguiente:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K_p t^n \quad (Ec. 1)$$

Donde t es el tiempo de liberación M_t es la cantidad de fármaco liberada en el tiempo t , M_∞ la cantidad del fármaco liberada en el equilibrio K_p es una constante cinética que depende de las características estructurales y geométricas de la matriz polimérica, y n es el exponente difusional, el cual es un indicador del mecanismo de liberación. (Andreeta,2003).

Según Peppas, el valor de n se relaciona con los diferentes mecanismos de liberación, de la siguiente manera:

- Valores cercanos a 0.5, indican que la liberación sigue un comportamiento fickiano, siendo la difusión el principal mecanismo implicado. En este caso se puede aplicar el modelo de Higuchi.
- Valores cercanos a 1, indican que la liberación está controlada por procesos de relajación/erosión del polímero, al cual Peppas le llamo "Transporte Caso II". Estos perfiles se ajustan a un modelo cinético de orden cero, lo cual supone una liberación constante en función del tiempo.
- Valores comprendidos entre 0.5 y 1, indican un mecanismo más complejo, en donde influyen ambos procesos, difusión y relajación/erosión de la matriz polimérica. A los sistemas que siguen este comportamiento se dice que caen en un transporte tipo "anómalo".

En la tabla I se resume la interpretación del valor de n en cuanto a las características de la liberación y la morfología de la matriz.

Tabla I. Interpretación del mecanismo de liberación según el exponente difusional n para diferentes geometrías. (Andreeta, 2003)

<i>Exponencial n</i>			
Film (pastillas)	Cilindro	Esfera	Mecanismo de Liberación
0.5	0.45	0.43	Difusión Fickiana
0.5 < n < 1.0	0.45 < n < 0.89	0.43 < n < 0.85	Difusión Anómala
1.0	0.89	0.85	Transporte Caso II

Modelo de Higuchi

Este modelo fue propuesto en 1961, y corresponde a una ecuación matemática famosa utilizada para describir la velocidad de liberación controlada de un fármaco en un sistema matricial. La ecuación general básica del modelo propuesto es:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^{\frac{1}{2}} \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde t es el tiempo de liberación, M_t es la cantidad de fármaco liberada en el tiempo t , M_∞ la cantidad del fármaco liberada en el equilibrio k es conocida como la constante de liberación de Higuchi. (Andreeta, 2003).

Las condiciones que se deben tener en cuenta para que se cumpla este modelo son las siguientes:

- a) La concentración inicial del fármaco en el sistema es mucho mayor que la solubilidad del fármaco en el medio de liberación (Estado Pseudo-estacionario).
- b) El análisis matemático se basa en una difusión unidireccional (los efectos del contorno son despreciados).
- c) El tamaño de partícula, en donde se encuentra el fármaco es tal que el diámetro de la misma no es significativo frente al espesor del medio de liberación.
- d) Se desprecia el hinchamiento y disolución del polímero.
- e) La difusividad del fármaco en el medio de liberación es constante.
- f) En todo el proceso de liberación se cumple la condición (a).

La proporcionalidad entre la fracción de masa y la raíz cuadrada del tiempo, también puede ser derivada de la segunda ley de Fick, bajo ciertas condiciones como considerar un modelo unidimensional, que la concentración del fármaco en

el medio sea menor que en la matriz, y que el coeficiente de difusión se mantenga constante. (Andreetta, 2003).

Este modelo podría ser aplicado con muy buena exactitud, en matrices unidimensionales como lo son películas de polímeros poco solubles en el medio de liberación; para otros sistemas si se requiere tener una idea más exacta de los procesos de liberación, se debe tomar en cuenta otros factores fisicoquímicos. (Tahara, 1996).

Modelo de Orden Cero

Una cinética de orden cero, es el modelo ideal que debe seguir la liberación de un fármaco, si el objetivo es conseguir una actividad constante y prolongada, debido a que se libera durante todo el proceso la misma cantidad de fármaco por unidad de tiempo. (Costa y Souza, 2011).

Este modelo suele adecuarse, cuando el mecanismo predominante es la relajación/erosión del polímero, que corresponde un valor de n cercano a 1 en el modelo de Korsmeter & Peppas (Ecuación 1). Se expresa de la siguiente forma:

$$M_t = M_0 + kt \quad (\text{Ec. 3})$$

Donde M_t es la cantidad de fármaco liberada en el tiempo t , M_0 es la cantidad inicial de fármaco en el medio y k es la constante cinética de orden cero. Para una comparación con los otros modelos. La ecuación 3 puede ser integrada y expresada en función de la fracción de fármaco liberado, de la siguiente forma:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k t \quad (\text{Ec. 4})$$

Modelo de Peppas-Sahlin

Este modelo nace a partir de considerar los dos fenómenos responsables de la liberación que son la difusión y la relajación, se le conoce además como modelo aditivo ya que toma ambos términos y los une en una sola ecuación.

La ecuación general con la que se expresa este modelo es:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_1 t^m + k_2 t^{2m} \quad (\text{Ec. 5})$$

Donde t es el tiempo de liberación, M_t es la cantidad de fármaco liberada en el tiempo t , M_∞ la cantidad del fármaco liberada en el equilibrio k_1 , k_2 y m son constantes. El primer término corresponde a la contribución del mecanismo de difusión fickiana y el segundo al mecanismo de Transporte Caso II.

En la tabla II se encuentra un resumen de los principales modelos usados para describir la liberación de fármacos en sistemas poliméricos.

Tabla II. Modelos matemáticos comunes para estudiar la liberación de fármacos en matrices poliméricas.

Nombre del Modelo	Ecuación
Korsmeyer & Peppas	$\frac{M_t}{M_\infty} = K_p t^n$
Higuchi	$\frac{M_t}{M_\infty} = k t^{\frac{1}{2}}$
Orden Cero	$\frac{M_t}{M_\infty} = k t$
Peppas-Sahlin	$\frac{M_t}{M_\infty} = k_1 t^m + k_2 t^{2m}$

2.2 Técnicas para preparar membranas poliméricas

2.2.1 Electrohilado

El proceso para elaborar membranas fibrosas, conocido como electrohilado utiliza una fuente de alto voltaje, para generar una diferencia de potencial entre el inyector de una solución polimérica (o bien, una mezcla de ellas), y un receptor en donde se colectan tales fibras que a su vez formaran una membrana al captar una cantidad suficiente. (Still y col.,2008).

En la Figura 2, se muestra un esquema general de un sistema para electrohilado, en donde se destacan sus principales componentes.

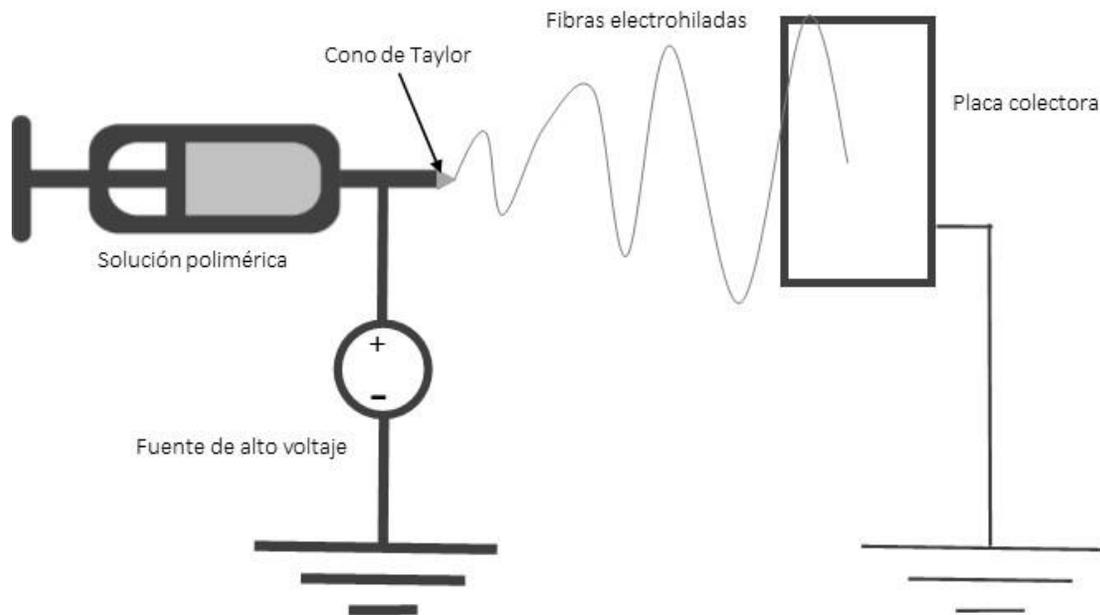


Figura 2. Representación esquemática del proceso de electrohilado

El fundamento de esta técnica, para la obtención de fibras micro y nanométricas, reside en que al aplicar un alto voltaje, la atracción electrostática

entre las cargas opuestas de una solución polimérica y una placa colectora, provocan que las repulsiones entre las cargas de la solución se vuelvan tan intensas, que el borde de la solución cambie de la forma redonda del menisco a una forma cónica (conocida como el cono de Taylor). Un chorro de fibra, es expulsado del cono de Taylor, cuando la fuerza del campo eléctrico excede a la tensión superficial del líquido, el cual viaja a través de la atmósfera hasta que el solvente se evapora, permitiendo la deposición de las fibras poliméricas sólidas en la placa colectora. (Still y col.,2008).

Este proceso de elaboración de fibras no tejidas ofrece una opción versátil por su facilidad para modificar su diámetro al variar parámetros como son el voltaje aplicado, la distancia hacia el colector, la concentración de la solución polimérica y la velocidad de flujo. (Jingxin, 2008).

2.2.1.1 Variables en el proceso de electrohilado

El proceso de electrohilado, ha mostrado ser un método simple y versátil para la formación de membranas fibrosas, pero es su versatilidad, lo que hace que exista un número de parámetros del proceso, que pueden influenciar fuertemente en las propiedades de las fibras generadas. (Jingxin y col., 2008).

Por lo general, la morfología de las membranas fibrosas está fuertemente influenciada por varios parámetros, entre los que se encuentran las propiedades del polímero, la concentración de la solución, la tensión superficial del solvente, la velocidad de flujo de la solución, el voltaje aplicado, la distancia entre el colector y la aguja e inclusive condiciones ambientales como la temperatura y la humedad. (Castillo y col., 2010).

2.2.1.2 Tipos de arreglos

Los procesos de electrohilado, se pueden clasificar de acuerdo a la configuración de la boquilla (sola, sola en emulsión, lado a lado y coaxial). La configuración más simple y común, es la técnica de una aguja simple donde existen básicamente tres componentes para completar el sistema: una fuente de alto voltaje, una pipeta o aguja de diámetro pequeño y una placa de metal (placa colectora). (Li y col., 2010).

En la figura 3, se muestra una de las modificaciones a la técnica sencilla de electrohilado, que es la configuración para electrohilado coaxial. Este método de fabricación de fibras con un núcleo coaxial y un componente de vaina, es bastante versátil, puesto que cada componente puede tener diferentes solubilidades en solventes orgánicos y acuosos, es por esto que ha sido utilizado para la encapsulación de componentes activos. En ciertos casos se necesita que el componente del núcleo sea de carácter hidrofílico, para facilitar la carga y la preservación de la bioactividad de moléculas biológicas, y que el material del componente de vaina sea de carácter hidrofóbico, lo cual permitirá la formación de la fibra después de la evaporación del solvente orgánico volátil. (Kenawy y col., 2009).

Con la reducción del diámetro de tamaños en el orden de micrómetros al orden de sub micrómetros o incluso nanómetros, aparecen varias características impresionantes, como lo es un área superficial específica alta, flexibilidad y un mejor funcionamiento mecánico comparado con otras formas conocidas del material. Son estas propiedades las que hacen que las fibras poliméricas preparadas por este método sean candidatos para diferentes aplicaciones en el área biomédica. (Huang y col., 2003).

Un fármaco o algún otro componente activo, puede ser atrapado dentro de una estructura polimérica, para formar un dispositivo de liberación conocido como

tipo depósito. Entonces, el polímero que forma la coraza, puede proveer protección temporal para las moléculas encapsuladas, y de esta forma ofrecer la liberación controlada del agente encapsulado. (Ai-Fu y col., 2008).

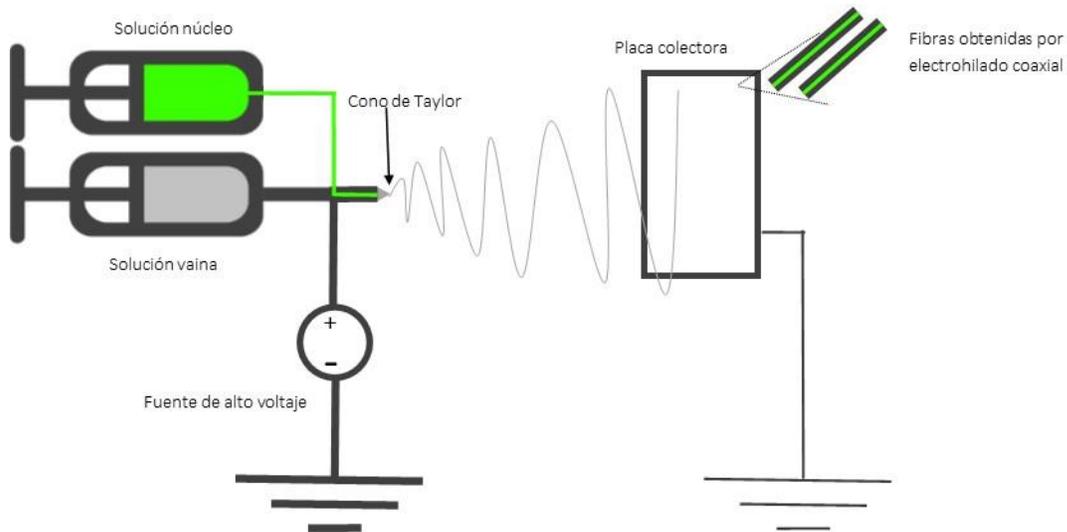


Figura 3. Representación esquemática del proceso de electrohilado coaxial

2.2.2 Gel Casting

Es una técnica de formación de cerámica húmeda, la cual implica la polimerización de un monómero en un disolvente para formar un cuerpo cerámico. Generalmente es usada para generar andamios de cerámica, con una gran fuerza mecánica, pero a su vez resulta en una estructura de poros pobremente interconectados, y una distribución de tamaño de poro no uniforme. Esta técnica fue establecida primeramente, para la preparación de componentes densos, y después modificada para producir cerámicas porosas, mediante la combinación de otros métodos, como son el lixiviado de partículas, la formación de espuma o métodos de esponjas. (Zhao y col., 2011).

2.2.3 Moldeo con disolvente

Este método involucra la fundición de una solución polimérica, con partículas solubles en agua dentro de un molde. Después de la evaporación del solvente, las partículas son lixiviadas usando agua para formar poros. El proceso es fácil de llevar a cabo, pero solo funciona para membranas delgadas o especímenes tridimensionales muy delgados. En la preparación de matrices más gruesas es muy difícil remover todas las partículas solubles de la matriz del polímero. (Liu y col., 2007).

2.2.4 Separación de fases

La técnica de separación de fases, utiliza el hecho de que un sistema de varios componentes homogéneos, tales como una emulsión agua-polímero, puede llegar a ser termodinámicamente inestable, y separarse con el fin de reducir la energía libre. En la elaboración de membranas, una fase de separación puede ser usada para dar lugar a una fase rica en polímero y otra pobre en este. Una vez que el solvente es removido, el espacio que era tomado originalmente por el solvente, pasa a convertirse en poros y es como se forman membranas porosas. (Liu y col., 2007).

2.3 Técnicas para preparar partículas poliméricas

2.3.1 Electroaspersión

La electroaspersión, es una versión modificada del proceso de electrohilado, y es una técnica prometedora para la preparación de micro y nano partículas, para ser aplicadas en la liberación de fármacos. Las micro y nano

partículas pueden ser administradas en sistemas de liberación oral, inyectable, inhalable, tópica y localmente. (Zamani y col, 2013).

El principio de la electroaspersión, es similar al electrohilado, pero es cuando se alteran varias propiedades de la solución, como es la concentración o del proceso, como el flujo de polímero o el voltaje, que el chorro cargado y continuo de la solución, pasa a convertirse a gotas resultando en partículas de diferente tamaño y forma. En la Figura 4, se muestra una representación esquemática del proceso de electroaspersión. El fundamento físico de este fenómeno, se basa en la capacidad de un campo eléctrico para deformar la interfase de una gota de líquido, que fue estudiado por Lord Rayleigh en 1882 y desarrollada posteriormente por Zeleny en 1917 y Sir Taylor en 1964. La teoría de gotas cargadas establece: si un campo eléctrico se aplica a cualquier gota, la carga eléctrica genera una fuerza electrostática dentro de la misma, conocida como la fuerza de Coulomb, que compite con la fuerza de cohesión intrínseca a la gota. Cuando la fuerza de Coulomb aplicada, es capaz de superar la fuerza de cohesión de la gota que se manifiesta en la tensión superficial del líquido, la gota se someterá a la desintegración en gotas más pequeñas en micro a nano-escala. Este fenómeno comienza en el cono de Taylor, refiriéndose a la retracción progresiva de la gota en un cono, desde el que se expulsan las gotas cargadas más pequeñas tan pronto como la tensión superficial del líquido es superada por la fuerza de Coulomb. (Zamani y col. ,2013: López, 2015).

En contraste con las otras técnicas para preparar partículas poliméricas, la electroaspersión, presenta varias ventajas como son, un aumento en la eficiencia de incorporación del fármaco, facilidad de escalamiento, homogeneidad en el tamaño de partículas y la posibilidad de incorporar fármacos hidrofílicos cuando se escogen los polímeros adecuados. (Zamani y col., 2013).

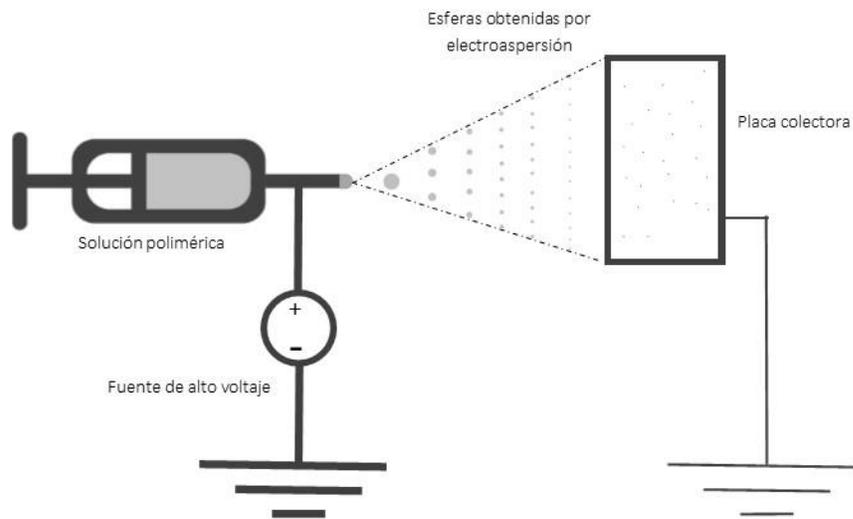


Figura 4. Representación esquemática del proceso de electroaspersión

2.3.1.1 Variables en el proceso de electroaspersión

Al igual que con las fibras obtenidas por electrohilado, para escoger los parámetros adecuados para la preparación de partículas cargadas con fármaco, es necesario tomar en consideración ciertas variables y parámetros como son, la concentración de la solución polimérica, el tipo de fármaco a incorporar, el voltaje aplicado, el tipo de solventes a utilizar, entre otras. Debido a la correlación que existe entre estas técnicas, la utilización de condiciones inadecuadas resultará en estructuras no deseadas, como son partículas colapsadas o fibras con cuentas. (Zamani y col., 2013).

2.3.1.2 Tipos de arreglos

Uno de los problemas que es importante considerar al trabajar con partículas de tamaño pequeño para la liberación de fármacos, es que debido a su gran superficie de contacto con el medio de liberación experimentan una liberación denominada como de bulto, en donde las partículas ceden la mayor parte del fármaco cargado en tiempos muy cortos, lo cual resulta en una desventaja para la liberación controlada. (Saez y col., 2004).

Una variante de la técnica de electroaspersión, resulta cuando esta se realiza en un arreglo coaxial, en la Figura 5, se presenta un esquema representativo de esta técnica. En la electroaspersión, con arreglo coaxial dos o más agujas concéntricas se encuentran conectadas a un mismo potencial eléctrico, cuando se trabaja con la combinación correcta de voltajes y flujo de soluciones poliméricas, un hilo de líquido se emite desde cada uno de los dos meniscos, dando lugar a un chorro de compuesto de dos o más líquidos, dando lugar a partículas compuestas por diferentes componentes. (López, 2015).

Al igual que en el electrohilado coaxial, en este se puede lograr una encapsulación del agente activo, por la formación de una coraza en las partículas la cual provee protección al componente que se encuentra en el núcleo, haciendo posible que el efecto de bulto sea minimizado, si se escogen los componentes adecuados. (Zamani y col., 2013).

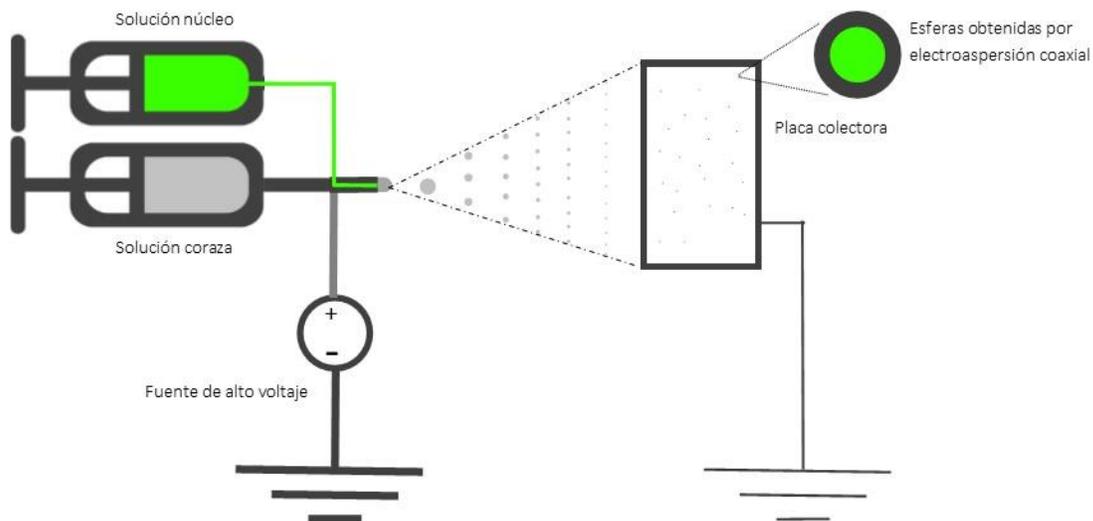


Figura 5. Representación esquemática del proceso de electroaspersión coaxial

2.3.2 Emulsificación-Evaporación

Es uno de los métodos más usualmente utilizado para la preparación de partículas. Esta técnica ha tenido buenos resultados en la encapsulación de fármacos hidrofóbicos, pero a su vez no ha dado buenos avances en la incorporación de agentes bioactivos de carácter hidrofílico. La emulsificación-evaporación, consiste en la disolución del polímero y el compuesto en un solvente orgánico: la emulsión se prepara mediante la adición de agua y un surfactante a la solución de polímero. En muchos casos, la formación de “nano-gotas” por parte del polímero, es inducida por sonicación u homogenización. El disolvente orgánico es evaporado y las nanopartículas son generalmente recolectadas por liofilización, seguida de una centrifugación. (Hans y col., 2002).

2.3.3 Método de emulsión múltiple

Esta técnica ha hecho posible la encapsulación de compuestos hidrófilos. Primeramente, un fármaco hidrófilo y un surfactante se disuelven en agua, la emulsión primaria es preparada por la dispersión de la fase acuosa en un disolvente orgánico, que contiene un polímero disuelto. Se trata pues, de una re-emulsificación con una nueva fase acuosa que también contiene surfactante. Posteriormente se realiza el procedimiento de eliminación del disolvente y la recolección de las partículas es similar a la técnica de emulsificación-evaporación. (Hans y col., 2002).

2.3.4 Nanoprecipitación

En esta técnica, los fármacos y el polímero se disuelven en acetona y se añaden a una solución acuosa que contiene tensoactivos. Luego la acetona es evaporada a presión reducida y las nanopartículas permanecen en la suspensión acuosa resultando en partículas de tamaño hasta inclusive nanométrico. (Hans y col., 2002).

2.4 Acetato de Celulosa

El uso de polímeros y sus derivados, ha sido cuestionado debido los altos índices de contaminación que se han ocasionado, es por ello que se ha trabajado en las últimas décadas con polímeros naturales para crear materiales que sean funcionales y que, a su vez tengan un bajo índice de impacto ambiental. (Han y col., 2008).

El acetato de celulosa (AC), es un derivado de la celulosa que ha sido empleado en diversas aplicaciones, como son la base de película en fotografía, componente en adhesivos, membranas de separación en osmosis inversa, filtros, entre otros. En el desarrollo de materiales con uso en la biomedicina, el AC se convierte en uno de los candidatos ideales, ya que posee dos cualidades esenciales que son la biocompatibilidad y la biodegradabilidad. En la Figura 6 se muestra la estructura química del AC, este se produce por la esterificación controlada de la celulosa pura con anhídrido acético. En este proceso grupos acetilo son sustituidos por todas o una parte de las unidades hidroxilo en la cadena de la celulosa. (Sennaa y col., 2014; Wheatley, 2007).

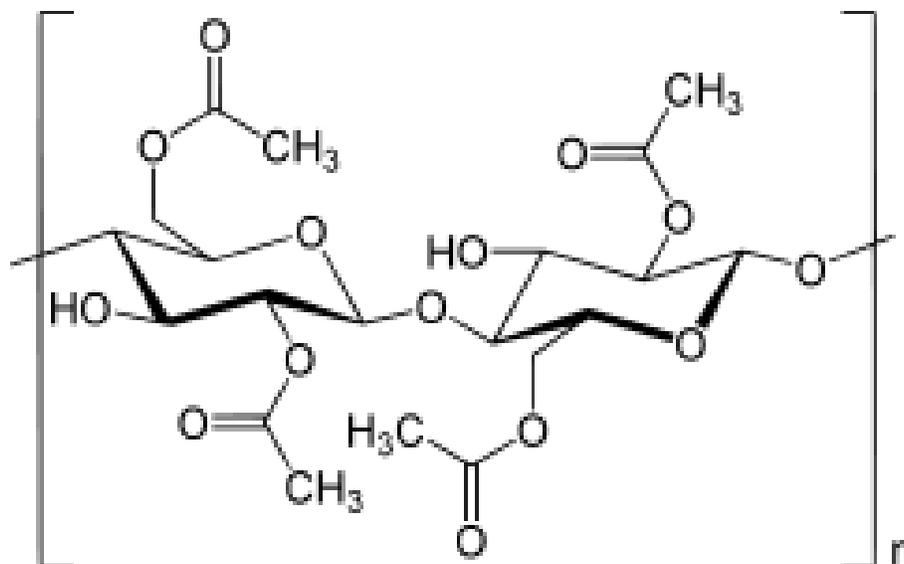


Figura 6. Estructura química del acetato de celulosa

2.5 Poli (vinilpirrolidona)

La poli (vinilpirrolidona) (PVP), es un polímero sintético, higroscópico, muy soluble en agua, su unidad estructural repetitiva es $(C_6H_9NO)_n$. Actualmente la PVP es ampliamente utilizado en el área de la biomedicina, esto debido a sus propiedades tales como son, la biocompatibilidad, la nula toxicidad. En la Figura 7 se muestra la estructura química de la PVP. (Montaño, 2014).

En estudios recientes la PVP se ha propuesto para la producción de estructuras, como lo son fibras y partículas poliméricas cargadas con fármaco, de manera que estas estructuras funcionen como sistemas, para la liberación de una amplia variedad de componentes bioactivos. (López, 2015).

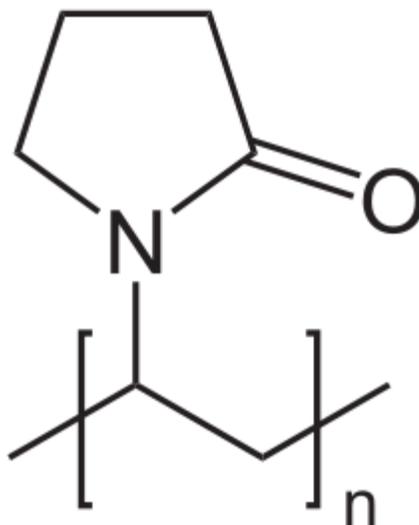


Figura 7. Estructura química de la poli(vinilpirrolidona)

2.6 Epicatequina

Recientemente se ha encontrado que el consumo de los flavonoides del cacao, conduce a una mejora en la salud cardiaca. Los flavonoides también

pueden actuar como antioxidantes e inhibir la adhesión en plaquetas, oxidación de lipoproteínas, inflamación y la generación de especies reactivas del oxígeno. (Yamazaki y col., 2014).

En la Figura 8, se encuentra la estructura química de la (-) Epicatequina, esta es un tipo de flavonoide proveniente del cacao. Los efectos vasculares del cacao pueden ser reproducidos por la epicatequina sola. (Montaño, 2014).

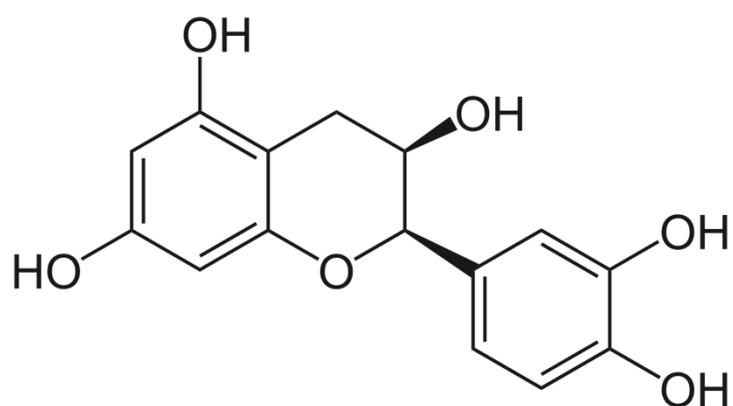


Figura 8. Estructura química de la (-) Epicatequina

2.7 Técnicas de caracterización

2.7.1 Microscopia electrónica de barrido (MEB)

Un microscopio electrónico de barrido, produce directamente una imagen de la estructura en tercera dimensión de la superficie de una muestra. El MEB usa electrones que son dispersados o emitidos por la superficie de la muestra, la cual para ser examinada se fija, se seca y se recubre con una capa delgada de un metal pesado, por ejemplo, oro, para facilitar el flujo de electrones. Una vez preparada la muestra, esta es barrida por un haz de electrones focalizado. La

cantidad de electrones dispersados o emitidos, cuando el haz primario bombardea consecutivamente cada uno de los puntos de la superficie metálica, es medida y usada para controlar la intensidad de un segundo haz que se mueve sincrónicamente con el haz primario y así, formar una imagen en el monitor del equipo. En este punto, se construye una imagen sumamente amplificada de la superficie de la muestra. (Alberts, 2008).

2.7.2 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier

La espectroscopia de infrarrojo, es útil para obtener información cualitativa sobre las moléculas, la absorción de la radiación en la región del IR, puede dar información de la existencia o no de grupos funcionales, y de la estructura de las moléculas. (Christian, 2009).

El uso de la espectroscopia en el infrarrojo, como parte de la caracterización de un material, es para identificar compuestos orgánicos, en la Tabla III se muestra un resumen de las frecuencias de grupo para los diferentes grupos funcionales orgánicos: el proceso de identificación consta de dos etapas. En la primera, se determina que grupos funcionales son los que tienen más probabilidad de estar presentes, al examinar la región de frecuencias de grupo, que abarca la radiación comprendida entre 3600 cm^{-1} y 1250 cm^{-1} aproximadamente. La segunda etapa, consiste en comparar con detalle el espectro del compuesto desconocido, con los espectros de compuestos puros que contienen todos los grupos funcionales que se encontraron en la primera etapa. En este caso, es particularmente útil la región de la huella dactilar, comprendida entre 1200 cm^{-1} y 600 cm^{-1} . (Skoog y col., 2001).

Tabla III. Resumen de las frecuencias de grupo para grupos orgánicos funcionales

Enlace	Tipo de compuesto	Frecuencias, cm^{-1}	Intensidad
C-H	Alcanos	2850-2970	Fuerte
		1340-1470	Fuerte
C-H	Alquenos	3010-3095	Media
		675-995	Fuerte
C-H	Alquinos	3300	Fuerte
C-H	Anillos aromáticos	3010-3100	Media
		690-900	Fuerte
O-H	Alcoholes monoméricos, Fenoles	3590-3650	Variable
	Alcoholes con puentes de hidrógeno, fenoles	3200-3600	Variable
	Ácidos carboxílicos monoméricos	3500-3650	Media
	Ácidos carboxílicos con puente de hidrogeno	2500-2700	Amplia
N-H	Aminas, amidas	3300-3500	Media
C=C	Alquenos	1610-1680	Variable
C=C	Anillos aromáticos	1500-1600	Variable
C \equiv C	Alquinos	2100-2260	Variable
C-N	Aminas, amidas	1180-1360	Fuerte
C \equiv N	Nitrilos	2210-2280	Fuerte
C-O	Alcoholes, éteres, ácidos	1050-1300	Fuerte
	carboxílicos, ésteres		
C=O	Aldehídos, cetonas, ácidos	1690-1760	Fuerte
	carboxílicos, ésteres		
NO ₂	Compuestos nitro	1500-1570	Fuerte
		1300-1370	Fuerte

2.7.3 Reflectancia total atenuada (ATR)

El principio de esta medida, se basa en el fenómeno de la reflexión total interna, y la transmisión de la luz a través de un cristal, con un elevado índice de refracción. La técnica de ATR consiste en colocar en estrecho contacto la muestra con un cristal de alto índice de refracción y buenas propiedades de transmisión, cuando se hace pasar radiación IR por el cristal con un ángulo de incidencia mayor al crítico, la radiación experimenta reflexión total en la interfaz muestra-cristal. (Aparicio, 2002).

2.7.4 Espectroscopia ultravioleta visible (UV-vis)

La espectroscopia por absorción molecular en las regiones ultravioleta y visible del espectro, se usa ampliamente en la determinación cuantitativa de una gran cantidad de especies inorgánicas, orgánicas y biológicas. Esta parte del espectro, abarca radiación electromagnética de la región de longitudes de onda de 190 a 1100 nm. Todos los compuestos orgánicos son capaces de absorber radiación electromagnética, porque contienen electrones de valencia que pueden ser excitados, para llegar a niveles de energía superiores. La energía de excitación asociada con los electrones, que constituyen la mayoría de los enlaces sencillos es lo suficientemente alta, para que su absorción quede restringida a la región conocida como ultravioleta de vacío ($\lambda > 185$ nm), donde los componentes de la atmósfera también absorben radiación en forma intensa. Dichas transiciones, requieren la excitación de n electrones no enlazantes hacia orbitales σ^* . Las absorptividades molares de transiciones son de bajas a intermedias, y por lo regular varían entre 100 y 3000 L mol⁻¹ cm⁻¹. A causa de las dificultades experimentales asociadas con la región ultravioleta de vacío, la mayoría de las investigaciones espectrofotométricas de compuestos orgánicos involucran longitudes de onda superiores a 185 nm. La mayoría de las aplicaciones de

espectroscopia de absorción, en compuestos orgánicos se basan en transiciones de los electrones tipo π y tipo n y al estado excitado π^* , porque la energía requerida para estos procesos lleva las bandas de absorción hacia dentro de la región ultravioleta-visible (200 a 700 nm). (Skoog, 2001).

Esta técnica, es una de las herramientas principales para estudiar equilibrios químicos y cinéticos. En estos experimentos se seleccionan las longitudes de ondas adecuadas, para seguir el curso de uno o más de los reactivos, productos o alguna especie intermedia. Utilizando los valores ya conocidos de las absorptividades molares o determinándolos previamente, se obtienen las concentraciones aplicando la ley de Beer. En los experimentos cinéticos, la espectrofotometría permite seguir la aparición de un producto o de un compuesto intermedio, o bien la desaparición de un reactivo. (Skoog, 2001).

2.7.5 Análisis termogravimétrico

El análisis termogravimétrico o TGA, por sus siglas en inglés, mide la cantidad y la velocidad de cambio del peso de un material como función de la temperatura, y el tiempo en una atmósfera controlada. Las mediciones son usadas principalmente para determinar la composición de materiales, y predecir su estabilidad térmica a temperaturas elevadas, que pueden llegar hasta los 1000°C. La técnica nos permite caracterizar materiales, que exhiben ganancia o pérdida de peso, como consecuencia de la descomposición, oxidación o deshidratación de la muestra. (Hanke, 2001).

CAPÍTULO 3

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

- Acetato de Celulosa, $P_M=50,000$, Marca Aldrich
- Poli(vinil pirrolidona), $P_M=360,000$, Marca Aldrich
- Etanol, Marca Fagalab
- Acetona, Marca Fagalab
- (-)Epicatequina, Marca Aldrich
- Agua mili-Q

3.2 Preparación

3.2.1 Preparación de membranas fibrosas

Preparación de las soluciones

AC 8% (m/m). Para preparar 20 mL de esta solución, se pesan 1.43 g de AC los cuales se disuelven en una solución de acetona-agua, en relación de 80:20 (16.7 mL de acetona y 3.3 mL de agua destilada). Se adiciona el AC a la solución y se deja en agitación magnética por 24 horas a temperatura ambiente.

PVP 8% (m/v)- Epi 1% (m/v). Primero es necesario preparar la solución de PVP al 8%, 20 mL de esta solución se preparan al pesar 1.6 g de PVP los cuales se

disuelven en una solución de Etanol-Agua, en relación 85:15, preparada previamente con 17 mL de etanol y 3 mL de agua destilada, a los cuales se les adiciona el PVP y se deja en agitación magnética por 24 horas a temperatura ambiente.

Posteriormente se toman 5 mL de esta solución, a la cual se le adiciona 0.05 g de (-) Epicatequina y se deja en agitación magnética por 3 horas.

Para la elaboración de las fibras, se seleccionaron los parámetros óptimos reportados (Montaño, 2014), las soluciones anteriores son transferidas a jeringas de plástico de 6 mL y montadas en una bomba peristáltica KDS Scientific, en configuración coaxial para la técnica de electrohilado, donde la solución de acetato de celulosa representa la coraza de las fibras, y la de PVP-Epicatequina el núcleo, el flujo de ambas soluciones es de 3.5 mLh^{-1} con un voltaje de 15 kV, suministrado por una fuente de alto poder Spellman modelo CZE 1000R, a una distancia entre colector y aguja de 15 cm y son recolectadas en una placa cuadrada de aluminio (10 cm x 10 cm).

3.2.2 Preparación de esferas poliméricas

Preparación de las soluciones

AC 1% (m/m). Para preparar 20 mL de esta solución, se pesan 0.179 g de AC los cuales se disuelven en una solución de acetona-agua, en relación 80:20 (16.7 mL de acetona y 3.3 mL de agua destilada). Se adiciona el AC a la solución y se deja en agitación magnética por 24 horas a temperatura ambiente.

PVP 1% (m/v)- Epi 1% (m/v). Primero es necesario preparar la solución de PVP al 1%, 20 mL de esta solución se preparan al pesar 0.2 g de PVP, los cuales se disuelven en una solución de Etanol-Agua en relación 85:15 preparada

previamente con 17 mL de etanol y 3 mL de agua destilada, a los cuales se les adiciona el PVP, y se deja en agitación magnética por 24 horas a temperatura ambiente.

Posteriormente se toman 5 mL de la solución, a la cual se le adiciona 0.05 g de (-) Epicatequina y se deja en agitación magnética por 3 horas.

Para la elaboración de las esferas se seleccionaron los parámetros óptimos reportados (López, 2015). Las soluciones anteriores son transferidas a jeringas de plástico de 6 mL y montadas en una bomba peristáltica KDS Scientific, en configuración coaxial para la técnica de electroaspersión, donde la solución de acetato de celulosa representará la cubierta de las esferas, y la de PVP-Epicatequina el núcleo, el flujo de ambas soluciones es de 0.5 mLh^{-1} con un voltaje de 17 kV, suministrado por una fuente de alto poder Spellman modelo CZE 1000R, a una distancia entre colector y aguja de 12 cm y son recolectadas en una placa cuadrada de aluminio (10 cm x 10 cm).

3.2.3 Preparación de membranas fibra/esfera

Para obtener una membrana que contenga ambos materiales, primero se prepara la capa de fibras por electrohilado coaxial y, posteriormente sobre esa misma capa, se depositan las microesferas por electroaspersión coaxial, con las condiciones que se encuentran expresadas en la tabla IV.

Tabla IV. Parámetros usados para la elaboración de fibras y esferas de AC/PVP-Epicatequina/AC mediante técnicas electrohidrodinámicas.

Tipo de Material	Concentración			Flujo mLh ⁻¹	Distancia cm	Voltaje kV
	AC, %(m/m)	PVP, % (m/v)	Epi, %(m/v)			
Fibras	8	8	1	3.5	15	15
Esferas	1	1	1	0.5	12	17

3.3 Técnicas de Caracterización

3.3.1 Microscopia electrónica de barrido (MEB)

Una vez obtenidas las membranas fibras/esferas de AC/PVP-Epicatequina/AC, se prosiguió a la caracterización morfológica, mediante un microscopio electrónico de barrido, marca JEOL 5410LV. Se realizaron microfotografías del material en cuestión, antes y después del ensayo de liberación. Se utilizó un haz de electrones de 15 kV de intensidad a alto vacío y, las muestras fueron recubiertas con una película de oro.

3.3.2 Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier

Para la obtención de los espectros de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), fue utilizado un equipo Perkin Elmer modelo Frontier, aplicando la técnica de pastillas de Bromuro de Potasio (KBr), donde los reactivos fueron analizados sin ningún tratamiento previo.

El estudio de FTIR, se realizó para conocer los espectros de los componentes de las membranas por separado y, poder evidenciar la presencia o ausencia de estos según sea el caso.

3.3.3 Reflectancia Total Atenuada

Para la obtención de los espectros de infrarrojo por reflectancia total atenuada, fue utilizado el mismo equipo que en FTIR, pero utilizando el aditamento para ATR, colocando las muestras sin ningún tratamiento y, realizando las lecturas en la superficie de las membranas.

El estudio de ATR, se realizó para corroborar la presencia de cada uno de los componentes en la membrana. Se obtuvieron espectros de la membrana fibras/esferas de AC/PVP-Epicatequina/AC, antes y después del ensayo de liberación.

3.3.4 Análisis Termogravimétrico

Se llevó a cabo el análisis termogravimétrico donde se utilizó un equipo Perkin Elmer modelo Pyris 1 TGA. Se pesaron muestras de aproximadamente 4 mg, y fueron sometidas a calentamiento de 25°C a 600°C, con una velocidad de calentamiento y enfriamiento de 10°Cmin⁻¹ bajo atmósfera de nitrógeno.

3.4 Ensayos de liberación del fármaco

Se llevaron a cabo los ensayos de liberación para las membranas fibrosas, esferas y membranas fibras/esferas de AC/PVP-Epicatequina/AC, con el fin de conocer el comportamiento tanto individual como compuesto de los materiales en

cuestión, para lograr describir las características de la liberación y que sea posible ajustarlo a un modelo apropiado.

3.4.1 Liberación del fármaco en membranas fibrosas

Para evaluar la capacidad de liberación del fármaco de la membrana fibrosa de AC/PVP-Epicatequina/AC, se colocó la membrana completa, tal como se obtuvo del proceso de electrohilado, en 400 mL de agua grado mili-Q como medio de liberación, los cuales se encontraban en un vaso de precipitados con capacidad de 600 mL en agitación magnética suave.

Cada 5 minutos se tomó una alícuota 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. Cada una de estas 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.

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. Con estos datos se realizó el ajuste a diferentes modelos de liberación para encontrar el adecuado.

3.4.2 Liberación del fármaco en esferas poliméricas

Para evaluar la capacidad de liberación del fármaco de las esferas poliméricas de AC/PVP-Epicatequina/AC, se colocó la membrana completa, tal como se obtuvo del proceso de electroaspersión, en 400 mL de agua grado mili-Q como medio de liberación, los cuales se encontraban en un vaso de precipitados con capacidad de 600 mL en agitación magnética suave.

Cada 2 minutos se tomó una alícuota 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. Cada una de estas 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.

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. Con estos datos, se realizó el ajuste a diferentes modelos de liberación para encontrar el adecuado.

3.4.3 Liberación del fármaco en membranas fibra/esfera

Para evaluar la capacidad de liberación del fármaco de la membrana fibras/esferas de AC/PVP-Epicatequina/AC, se colocó la membrana completa, tal como se obtuvo del proceso de electrohilado/electroaspersión, en 400 mL de agua grado mili-Q como medio de liberación, los cuales se encontraban en un vaso de precipitados con capacidad de 600 mL en agitación magnética suave.

Cada 2 minutos se tomó una alícuota de 3 mL, para el monitoreo de la cantidad de epicatequina presente en el medio de liberación durante los primeros 50 minutos, después cada 5 minutos. 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. Cada una de estas 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.

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. Con estos datos se realizó el ajuste a diferentes modelos de liberación, para encontrar el adecuado y poder así, explicar el mecanismo de liberación. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización

4.1.1 Microscopía electrónica de barrido (MEB)

La caracterización morfológica se realizó mediante un análisis de MEB, en la Figura 9, se muestran las micrografías de las membranas de AC/PVP-epicatequina/AC, en las cuales se logra apreciar la forma redondeada de las esferas y, cilíndrica de las fibras con lo que se logra evidenciar la presencia de ambas estructuras en la membrana. El tamaño promedio de las partículas corresponde a 898 nm, y de las fibras de 1012 nm. Las magnificaciones de las micrografías de la Figura 9 (a) y (b) corresponden a 2,000 y 5,000 X, respectivamente.

Con la finalidad de observar, cómo se afectó la estructura de la membrana una vez sometida al ensayo de liberación, se presentan también las micrografías a 2,000 y 5,000 X de las membranas una vez terminado el ensayo de liberación. Donde se puede observar la salida de las esferas de la membrana hacia el medio de liberación, mientras que la morfología de la fibra se vio afectada en una disminución del diámetro promedio con un valor de 642 nm.

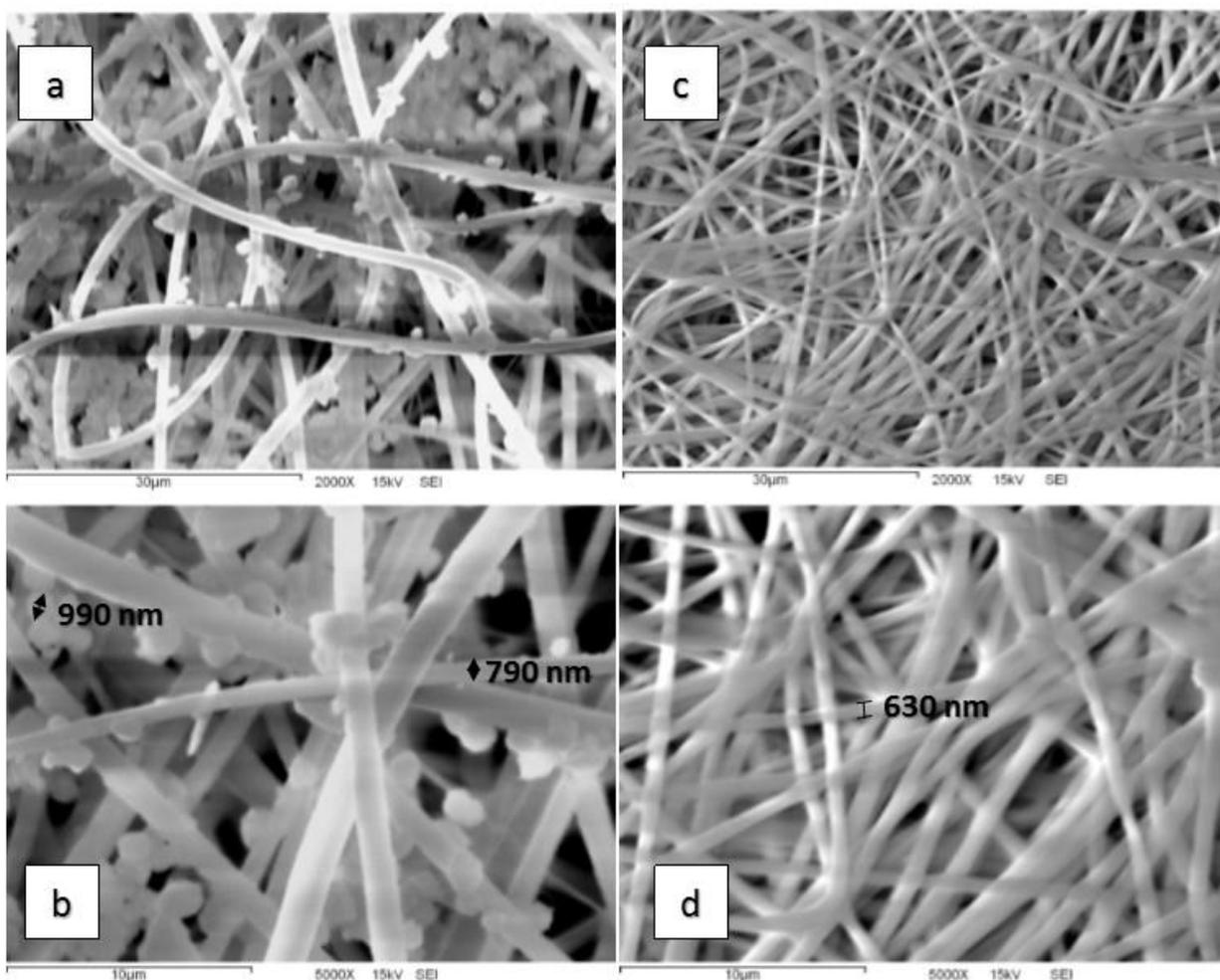


Figura 9. Micrografías de las membranas fibra/esfera de AC/PVP-Epicatequina/AC (a) 2000X (b) 5000X antes de ser sometidas al ensayo de liberación, (c) 2000X y (d) 5000X posterior al ensayo de liberación.

4.1.2 Análisis de espectroscopia de infrarrojo

La espectroscopia FTIR, fue llevada a cabo para conocer los espectros de los componentes de la membrana y, poder evidenciar la presencia o ausencia de estos. En la Figura 10, se muestran los espectros de infrarrojo, el espectro (a) corresponde al acetato de celulosa, donde se puede observar las bandas características del grupo éster, vibración del grupo C=O a los 1760 cm^{-1} . El

espectro (b) corresponde al PVP y, la señal que destaca es la del grupo C=O que aparece a 1674 cm^{-1} . En el inciso (c), se muestra el espectro de la (-) epicatequina, donde sobresalen señales entre 3450 y 3500 cm^{-1} correspondientes a los estiramientos de O-H presentes en la molécula, a 1627 cm^{-1} se presenta la señal de estiramiento del C=C y, en 1444 cm^{-1} la correspondiente al C-O del grupo éter.

En el caso de las membranas preparadas por electrohilado/electroaspersión, se llevó a cabo el análisis de espectroscopia de infrarrojo, usando el aditamento de ATR. En la Figura 11, se presentan los espectros para dicha membrana, en el inciso (a) se muestra el espectro de la membrana previo al ensayo de liberación, donde los picos característicos de AC, PVP y epicatequina fueron observados. En el inciso (b) se muestra el espectro de la membrana posterior al ensayo de liberación, donde se puede encontrar una disminución sustancial del pico representativo de PVP y, la intensidad de la banda que representa a la epicatequina, corroborando la liberación efectiva de la epicatequina presente en la membrana.

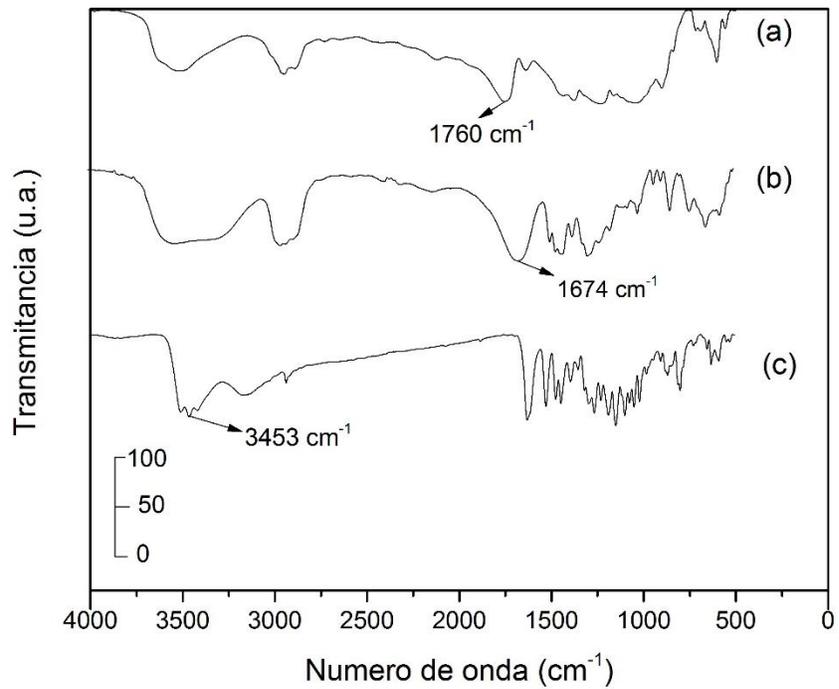


Figura 10. Espectros de infrarrojo para (a) Acetato de celulosa, (b) PVP, (c) Epicatequina.

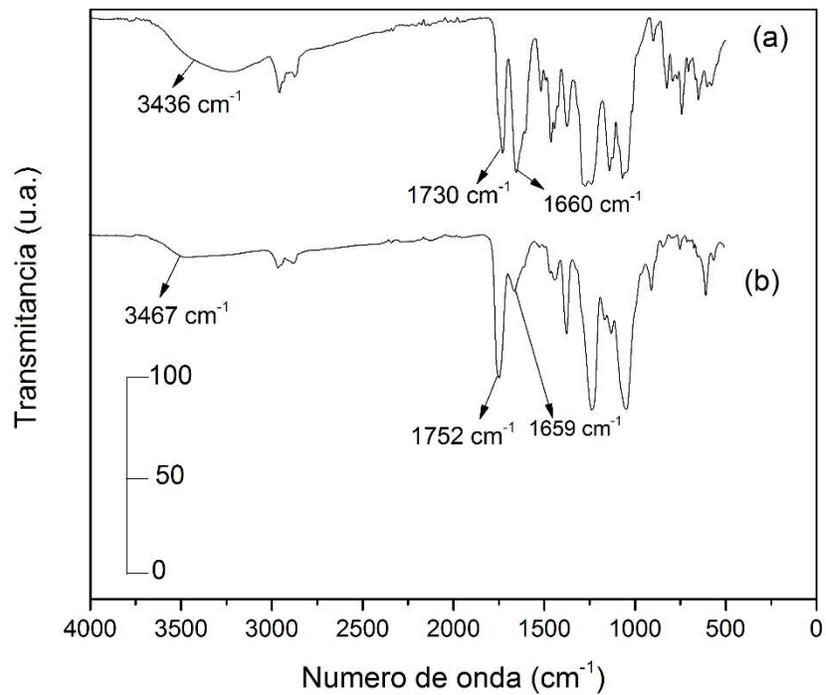


Figura 11. Espectros de infrarrojo para membranas de AC/PVP-Epi/AC, (a) antes del ensayo de liberación y (b) posterior al ensayo de liberación.

4.1.3 Análisis termogravimétrico

En un análisis termogravimétrico, se muestra la pérdida de peso del material en función de un aumento en la temperatura, en la Figura 12, se muestran los termogramas para AC, PVP y epicatequina de manera individual. Los termogramas correspondientes al AC y el PVP presentan una degradación de un solo paso, las pérdidas de peso más significativas se presentan entre los 300 y 400°C correspondientes al AC y PVP respectivamente. Mientras que la epicatequina muestra una pérdida de peso alrededor de los 250°C.

En la Figura 13, se presenta el termograma de las membranas de AC/PVP-Epicatequina/AC, donde podemos apreciar cuatro inflexiones o pérdidas de peso localizadas entre los 50 y 450°C, la pérdida marcada con (1) es atribuida al solvente y humedad remanente en la membrana, la marcada con (2) es atribuida a la epicatequina, mientras que (3) y (4) son para AC y PVP respectivamente. De tal manera, que se confirma la presencia de cada uno de los componentes en la membrana polimérica.

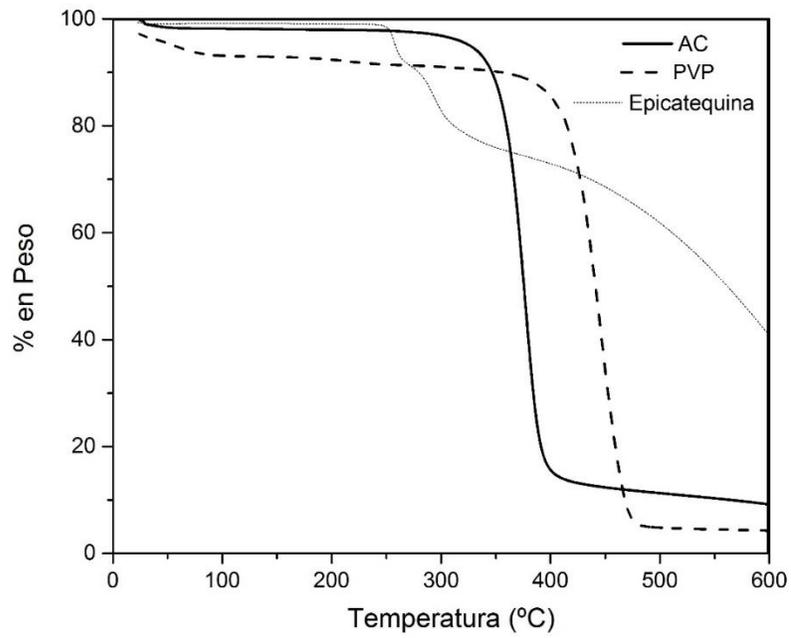


Figura 12. Termograma de AC, PVP y Epicatequina.

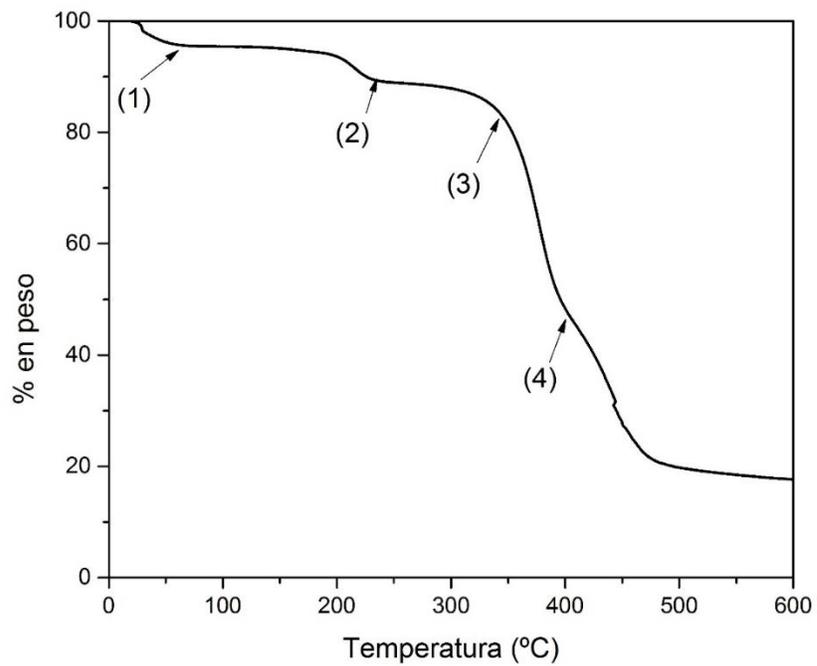


Figura 13. Termograma de las membranas F-E de AC/PVP-Epicatequina/AC.

4.2 Cinéticas de liberación de epicatequina

Para evaluar la capacidad de la membrana para liberar el flavonoide, se realizaron ensayos de liberación en agua miliQ. En la Figura 14, se muestra la cinética de liberación correspondiente a la membrana fibrosa, en el eje de las ordenadas se encuentra el porcentaje de epicatequina liberado y, en el eje de las abscisas el tiempo. Se observó una liberación simple, donde el equilibrio se alcanzó a los 210 min, tras una salida del 98.78% de la epicatequina contenida en la membrana inicialmente.

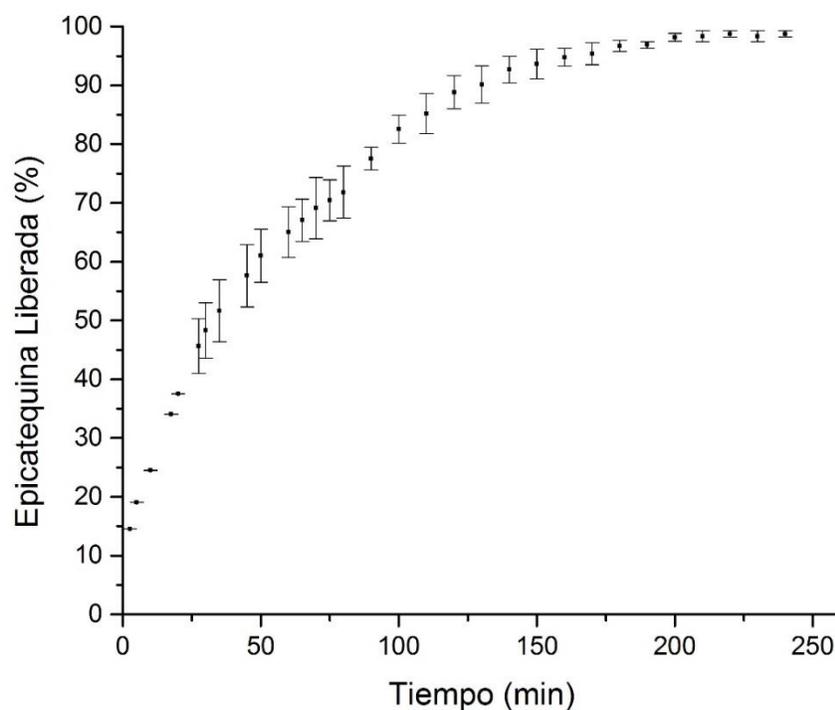


Figura 14. Cinética de liberación de epicatequina en membranas fibrosas de AC/PVP-Epicatequina/AC.

La cinética de liberación del fármaco en las esferas preparadas por electroaspersión se muestra en la figura 15, se puede apreciar una liberación de dos etapas: la primera corresponde a los primeros 46 minutos donde se liberó un 58% del flavonoide total contenido, y la segunda etapa con una liberación más lenta en donde se alcanzó el equilibrio a los 64 min con un porcentaje del 72.8% del contenido inicial de la epicatequina contenida.

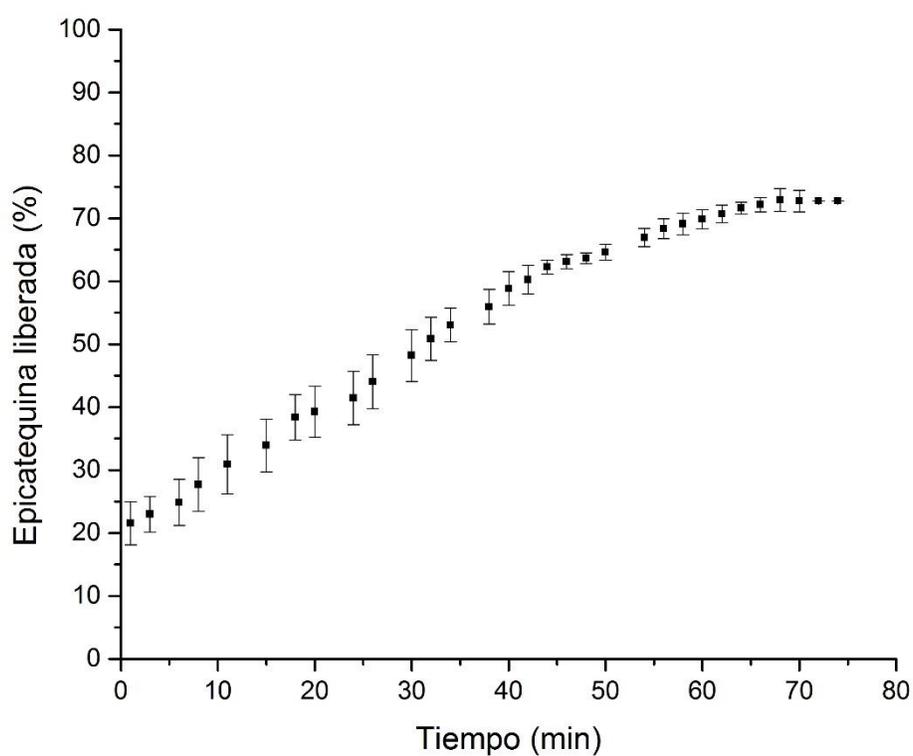


Figura 15. Cinética de liberación de epicatequina en esferas poliméricas de AC/PVP-Epicatequina/AC.

Para las membranas preparadas por electrohilado/electroaspersión, la cinética de liberación se muestra en la figura 16, en esta se observa una liberación simple, donde se alcanza el equilibrio en un tiempo de 230 min con un porcentaje de 85.4% de liberación del fármaco contenido inicialmente.

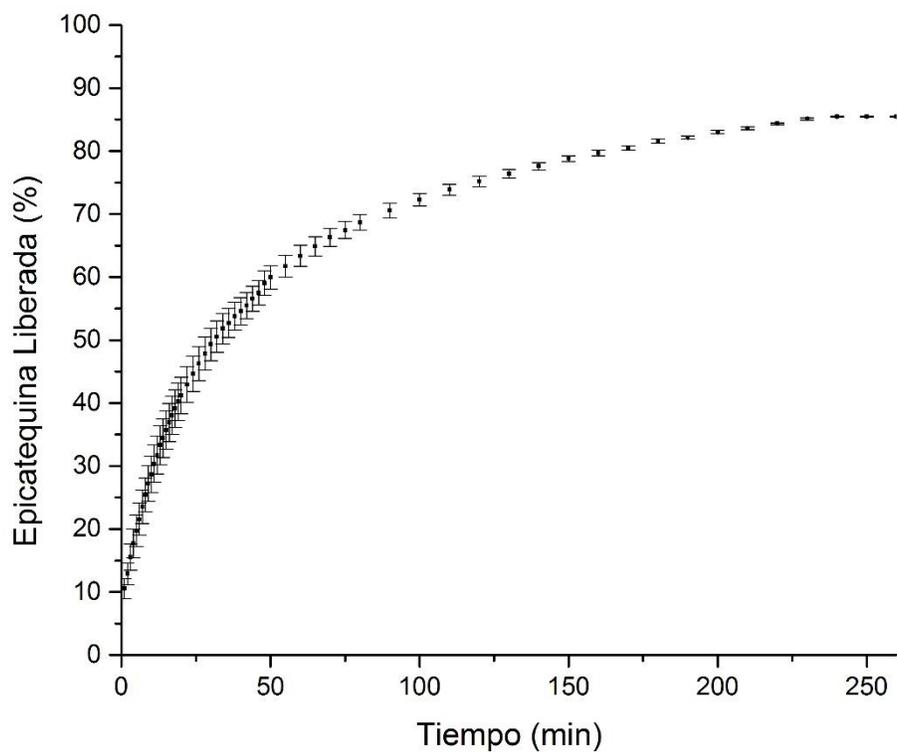


Figura 16. Cinética de liberación de epicatequina en las membranas preparadas por electrohilado/electroaspersión.

4.3 Ajuste a modelos de liberación

Los modelos empíricos para la liberación de fármacos, presentados en la tabla II relacionan la cantidad del agente activo liberado, como una función del tiempo. Cuando se cuenta con datos experimentales de la cantidad del fármaco liberado, como función del tiempo es posible buscar que modelo se ajuste y, a partir de esto explicar el mecanismo por el cual es expulsado el agente activo y, posteriormente con estos resultados poder llevar a cabo un diseño más acertado, a la hora de extrapolarlo a una aplicación en específico.

Después de obtener los datos experimentales, es necesario contar con una forma para evaluar los diferentes modelos y, escoger en base a esto, cual es el que cuenta con un mejor ajuste; para esto, se linealizaron las diferentes ecuaciones y, fue a partir del coeficiente de correlación medido a partir de un ajuste por el método de mínimos cuadrados en Excel, que se escogió o descarto algún modelo, según sea el caso para explicar la liberación del fármaco en la matriz que corresponda. Para todos los casos se seleccionaron puntos por debajo del 60% de la liberación, como es recomendado por Andreetta y col, y Zamani y col. en sus publicaciones.

En la tabla V, se encuentran las ecuaciones correspondientes a los modelos de liberación en su forma lineal, con estas ecuaciones se procedió además de confirmar el ajuste de cierto modelo, también conocer los parámetros propios de estos.

Tabla V. Modelos matemáticos comunes en su forma lineal para estudiar la liberación de fármacos.

Nombre del Modelo	Ecuación linealizada
Korsmeyer & Peppas	$\ln\left(\frac{M_t}{M_\infty}\right) = n\ln(t) + \ln(K_p)$
Higuchi	$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^{0.5}$
Orden Cero	$\frac{M_t}{M_\infty} = kt$
Peppas-Sahlin	$\ln\left(\frac{M_t}{M_\infty}\right) = 3m\ln(t) + \ln(k_1k_2)$

En el caso de las membranas fibrosas, el modelo que tuvo un mejor ajuste fue el de Korsmeyer & Peppas, con un coeficiente de correlación de 0.9916; los parámetros obtenidos son, un valor n de 0.5816 y K_p de 0.065, como lo indica la Tabla VI, el valor de n encontrado indica que el mecanismo predominante en la liberación del fármaco es difusión, que es atribuido a la estructura núcleo/vaina formado por el electrohilado coaxial. En la Figura 17, se presenta una comparación entre los datos experimentales y los generados por el modelo, el cual cumple con tener un ajuste hasta el 60% de la liberación del fármaco.

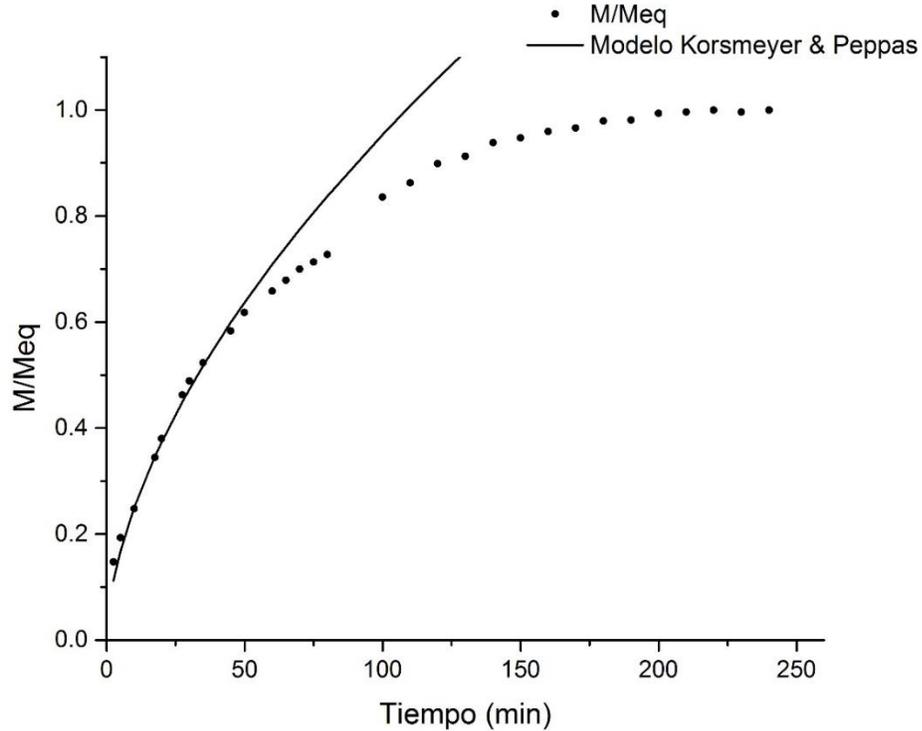


Figura 17. Ajuste de datos de liberación a un modelo empírico para membranas fibrosas de AC/PVP-Epicatequina/AC.

En el caso de las esferas poliméricas el modelo de Korsmeyer & Peppas tuvo un buen ajuste con un coeficiente de correlación de 0.9961 con parámetros obtenidos de un valor n de 0.3257 y K_p de 0.202 tal como lo indica la Tabla VI, los valores de K_p y n encontrados indican que el mecanismo de liberación del fármaco es difusión y es atribuido a la estructura núcleo/coraza formado por la electroaspersión coaxial. En la Figura 18, se presenta una comparación entre los datos experimentales y los generados por el modelo, que cumple con tener un ajuste hasta el 60% de la liberación del fármaco.

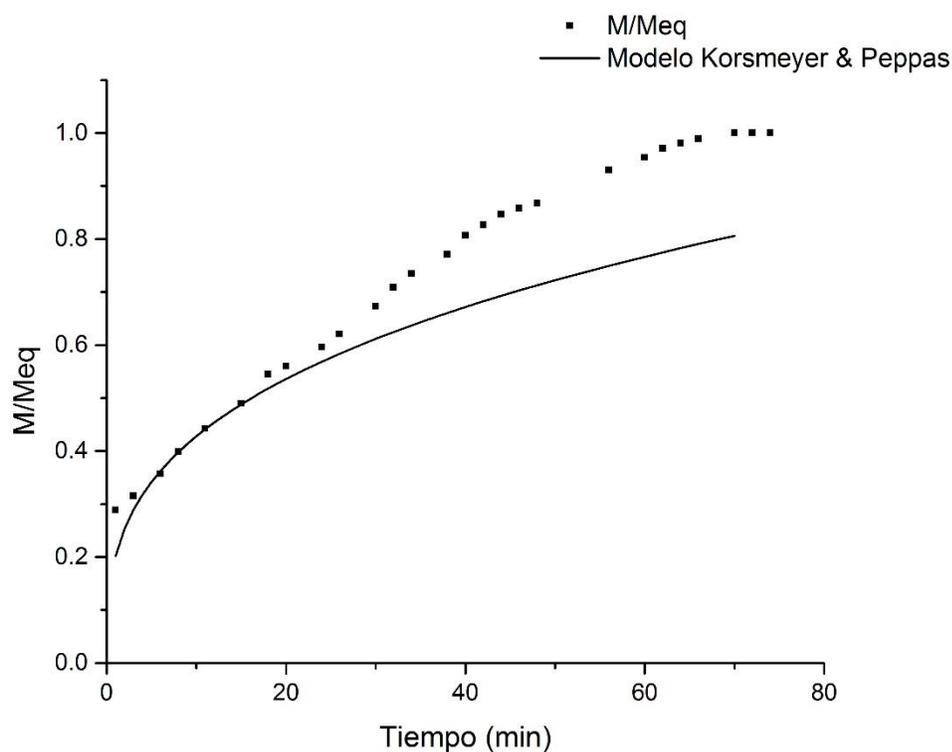


Figura 18. Ajuste de datos de liberación a un modelo empírico para esferas poliméricas de AC/PVP-Epicatequina/AC

En el caso de las membranas preparadas por electrohilado/electroaspersión, dos modelos presentaron un buen ajuste; el modelo de Korsmeyer & Peppas, con un coeficiente de correlación de 0.9962 y, el modelo de Higuchi con un coeficiente de correlación de 0.9959, con parámetros obtenidos de un valor n de 0.4991 y K_p de 0.1065, en el caso de Korsmeyer & Peppas y, un valor para k de 0.1037, correspondiente al modelo de Higuchi tal como lo indica la Tabla VI, los valores de n , K_p y k encontrados, indican que el mecanismo de liberación del fármaco es difusión, pudiendo minimizar los efectos de arrastre, debido a la presencia de las fibras. En la Figura 19, se presenta una comparación entre los datos experimentales y los generados por los modelos, los cuales cumplen tener un ajuste hasta el 65% de la liberación del fármaco.

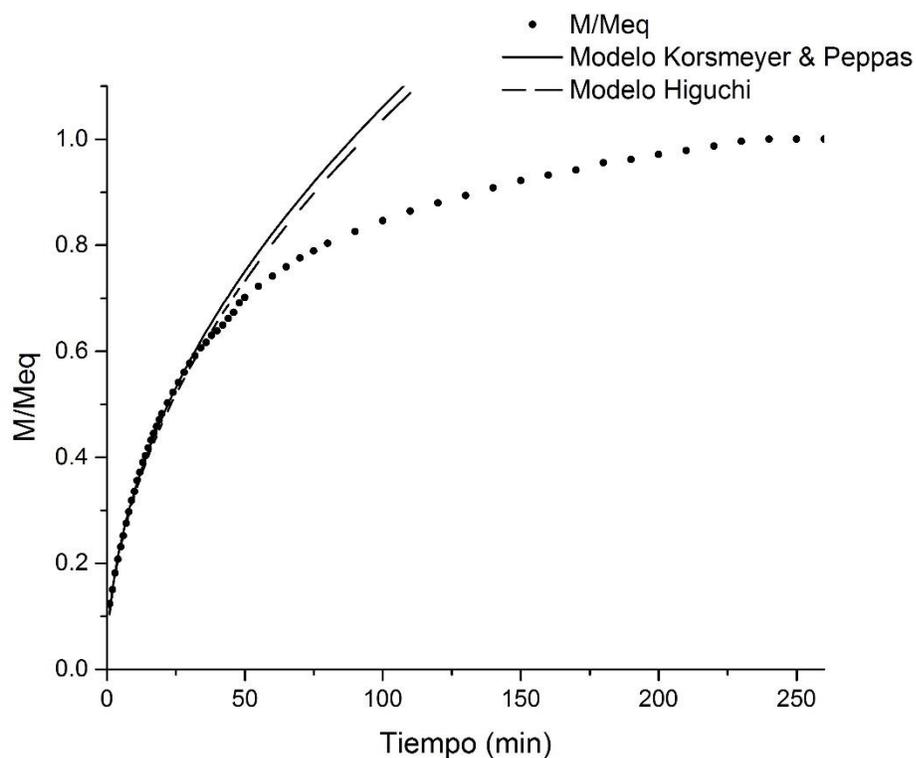


Figura 19. Ajuste de datos de liberación a un modelo empírico para membranas fibra/esfera de AC/PVP-Epicatequina/AC.

Tabla VI. Resumen de los parámetros de ajuste a los modelos de liberación para las diferentes estructuras.

Estructura	Modelo	Parámetros		R ²
		n	K_p	
Fibras	Korsmeyer & Peppas	n	0.5816	0.9916
		K_p	0.06542	
Esferas	Korsmeyer & Peppas	n	0.3257	0.9961
		K_p	0.202	
Esferas	Orden Cero	k	0.3422	0.995
F-E	Korsmeyer & Peppas	n	0.4991	0.9962
		K_p	0.1065	
F-E	Higuchi	k	0.1037	0.9959

4.4 Efecto de la morfología sobre la cinética de liberación

Se ha observado, que las características morfológicas del sistema, influyen sobre el comportamiento de la liberación de fármacos, contando con tres matrices diferentes y, un mismo fármaco encapsulado, es posible hacer comparación entre estos, para observar la influencia de esta en el sistema. En la Tabla VII, se muestran los datos de comparación entre los sistemas de liberación.

Se encontró, que uno de los factores importantes que rigen la liberación de Epicatequina a partir del material preparado, es la concentración acumulada en el medio de liberación, lo cual es corroborado con los fenómenos difusivos, que son regidos por gradientes de concentración. Para el caso de la membrana fibrosa, la liberación resultó ser de casi la totalidad de la epicatequina contenida con un mecanismo mayormente difusivo, es decir que la epicatequina contenida se difundió a través de la vaina de AC y, en menor proporción se expulsó de la fibra por arrastre de los extremos al disolverse PVP con el agua del medio de liberación.

Mientras que, en la matriz formada por esferas poliméricas, la liberación no fue completa, esto se atribuye a la saturación del medio con el fármaco y, debido a que el mecanismo de liberación, es meramente difusivo al desaparecer los gradientes de concentración, la liberación de la epicatequina a partir de las esferas se detiene.

La liberación en la membrana compuesta por fibras y esferas, presenta un valor intermedio entre la que exhiben sus componentes por separado, esto se atribuye primordialmente a los mecanismos que cada uno de estos sigue para la liberación, en tiempos cortos ocurre una liberación de ambas estructuras (fibras y esferas), hasta que la concentración llega al punto de saturación y, es a partir de este tiempo que la salida de epicatequina de la matriz deja de estar regida por

gradientes de concentración, por lo que se vuelve más lenta hasta que las fibras logran liberar la mayor parte del fármaco contenido en estas.

En la Figura 20, se muestra una representación de la variación de la concentración del fármaco, tanto en la matriz de encapsulamiento como en el medio de liberación a diferentes tiempos, el sentido de las flechas indica la salida del fármaco, el primer tiempo $t=0$ es un tiempo anterior al ensayo de liberación, t_{sat} es el tiempo en que se alcanza la saturación en el sistema, tiempo t es un tiempo tal que $0 < t < t_{sat}$ y, un tiempo $t=t_{eq}$ es un tiempo en el que se alcanza el equilibrio de liberación.

Tabla VII. Comparación para los sistemas de liberación de Epicatequina

Sistema	Morfología	Porcentaje de liberación en equilibrio	Tiempo (min)	Exponencial n del modelo Korsmeyer & Peppas	Mecanismo de liberación propuesto
AC/PVP-Epicatequina/AC	Fibra	98.8	210	0.5816	Difusión y arrastre
AC/PVP-Epicatequina/AC	Esfera	72.8	64	0.3257	Difusión
AC/PVP-Epicatequina/AC	Fibra/Esfera	85.4	230	0.4991	Difusión y ligero arrastre

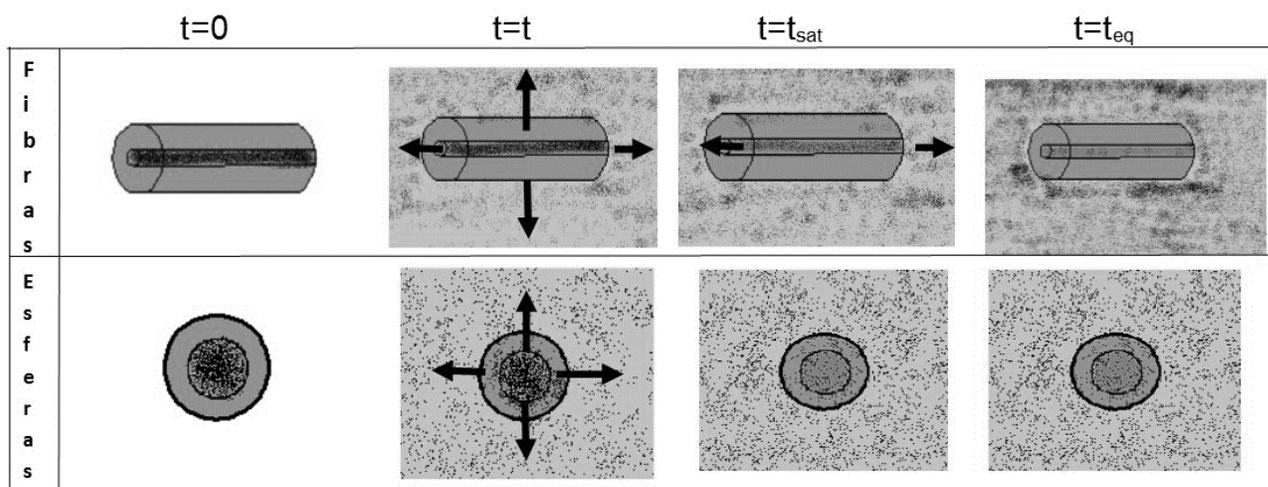


Figura 20. Representación cualitativa de los mecanismos de liberación de fármaco según la matriz de encapsulamiento a diferentes tiempos.

CAPITULO 5

CONCLUSIONES

Se prepararon membranas para la liberación de epicatequina, a partir de dos técnicas interrelacionadas en estructuras AC/PVP-Epicatequina/AC, con las condiciones óptimas reportadas para cada una.

Se confirmó la presencia de cada uno de los componentes de la membrana, mediante los métodos de caracterización empleados en este trabajo, como son FTIR, ATR y TGA. Se comprobó la morfología del sistema mediante microscopía electrónica de barrido.

La morfología del sistema, tuvo un efecto bastante fuerte en el mecanismo de liberación, según lo encontrado con modelos empíricos, en ambas estructuras, el principal mecanismo fue la difusión, pero en las fibras existió una contribución a la salida por arrastre del fármaco hacia el medio de liberación.

RECOMENDACIONES

Para estudios posteriores, se recomienda realizar la liberación a temperatura corporal, con un medio que simule la carga iónica del organismo, así como evaluar la influencia de la velocidad de agitación en la cinética y modelos de liberación.

Se recomienda realizar la encapsulación de diferentes fármacos en cada una de las estructuras, uno que se requiera de forma rápida en las esferas y, con una liberación más lenta en las fibras.

Preparar membranas con esta configuración, haciendo uso de diferentes materiales para la matriz polimérica y fármacos según sea su uso potencial.

Caracterizar por microscopia electrónica de transmisión, para corroborar las estructuras núcleo-coraza y, realizar pruebas mecánicas del material preparado.

Hacer estudios de citotoxicidad de las membranas, para ser utilizadas en ingeniería de tejidos.

REFERENCIAS

1. Ai-Fu C., Xiao-Jun H., Zhen-Gang W. 2008. Preparation and Surface modification of poly(acrylonitrile-co-acrylic acid) electrospun nanofibers membranes. *Australian Journal of Chemistry* 61:446-454.
2. Alberts B., Johnson A., Lewis J. Raff M. 2008. *Molecular Biology of the Cell*, Ed. Garland Science, 5ª edición, 607-609.
3. Andreetta H.A. 2003. Fármacos de Acción prolongada: Mecanismos de liberación. Usos de distintos modelos. *Latin American Journal of Pharmacy* 22(4): 355-64.
4. Aparicio S. 2002. Metodologías analíticas basadas en espectroscopia de infrarrojo y calibración multivariante aplicación a la industria petroquímica. Tesis Doctoral. Universitat Rovira Virgili.
5. Caracciolo PC, Buffa FA, Abraham GA. 2008. Matrices poliuretánicas nanofibrosas obtenidas por el proceso de electrospinning. Encuentro de jóvenes investigadores en ciencia y tecnología de los materiales Intema.
6. Castillo M., Romero J., Rodriguez F., Nájera A., Herrera P. 2010. Fibrous membranes of cellulose acetate and poly(vinylpirrolidone) by electrospinning method: Preparation and characterization. *Journal of Applied Polymer Science* 116:1873-1878.
7. Costa, P. & Sousa Lobo, J.M. 2001. Modeling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(2), 123-133.
8. Han S., Youk J., Min K., Kang Y. 2008. Electrospinning of cellulose acetate nanofibers using a mixed solvent of acetic acid/water: Effects of solvent composition on the fiber diameter. *Materials Letters* 62: 759-762.
9. Hanke L. 2001. *Handbook of Analytical Methods for Materials*. Plymouth
10. Hans M., Lowman A. 2002. Biodegradable nanoparticles for drug delivery and targeting. *Current opinion in solid state and Materials Science* 6: 319-327

11. Huang Z., Zhang Y., Kotaki M., Ramakrishna S. 2003. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Journal of Composites Science and Technology* 63: 2223-2253.
12. Jain Kewal K. 2008. *Drug Delivery Systems-An Overview*. Ed. Humana Press: 1-50.
13. Jingxin Z., Yaopeng Z., Huili X. 2008. Electrospinning and rheology of regenerated bombyx mori silk fibroin aqueous solutions: The effects of pH and concentration. *Journal of Polymer* 49:2880-2885.
14. Katime, I. Katime, O. 2004. *Los materiales inteligentes en este milenio. Los hidrogeles macromoleculares: Síntesis, propiedades y aplicaciones*. Primera edición Ed. Universidad del País Vasco.
15. Li J., He A., Zheng J., Han C. 2010. Gelatin and Gelatin-Hyaluronic Acid Nanofibrous Membranes Produced by Electrospinning of Their Aqueous Solutions. *Journal of Macromolecules* 7: 2243-2247.
16. Liu C., Xia Z., Czernuska J. 2007. Design and development of three dimensional scaffolds for tissue engineering. *Journal of Chemical Engineering Research and Design* 85:1051-1064.
17. López I. 2015. *Preparación y caracterización de esferas de acetato de celulosa/pvp-epicatequina obtenidas por electroaspersión*. Tesis de Maestría. Universidad de Sonora.
18. Montaña G. 2014. *Preparación de membranas fibrosas por la técnica de electrohilado coaxial para su uso potencial en ingeniería de tejidos*. Tesis de Maestría. Universidad de Sonora.
19. Sennaa, A.M.; Novacka, K. M.; Botarova, V. 2014. Synthesis and characterization of hydrogels from cellulose acetate by esterification crosslinking with EDTA dianhydride. *Carbohydrate Polymers* 114: 260–268.
20. Skoog D., West D., Holler F., Crouch S. 2001. *Química Analítica*, Ed Mc Graw Hill 7a Edición: 614-633.
21. Still T. & Recum H. 2008. Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering. *Journal of Biomaterials Applications* 22: 1989-2006.

22. Tahara K, Nishihata T. 1996. Application of model-independent and model analysis for the investigation of effect of drug release rate from hydroxypropylmethylcellulose sustained release tablets. *Int J Pharm* 133:17-27.
23. Wheatley T. 2007. Water soluble cellulose acetate: A versatile polymer for film coating. *Journal of Drug Development and Industrial Pharmacy* 33:281-290.
24. Yamazaki K., Taub P., Barraza M., Rivas M., Zambon A., Ceballos F. 2010. Effects of (-) Epichatequin on myocardial infarct size and left ventricular remodeling after permanent coronary occlusion. *Mensaje Bioquimico XXXIV*: 143-154.
25. Zamani M, Prabhakaran M, Ramakrishna S. 2013. Advances in drug delivery via electrospun and electrosprayed nanomaterials. *International Journal of Nanomedicine* 8: 2997-3017.
26. Zhao J. Duan K., Zhang J., Guo L. 2011. Preparation of highly interconnected porous hydroxyapatite scaffolds by chitin gel casting. *Journal of Polymer Science and Engineering* 31: 697-701.