

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales

Preparación y caracterización de sistemas electrohilados sencillos y coaxiales de poli (ácido láctico) con aplicación potencial en la liberación de sulfato de neomicina como principio activo.

TESIS

PRESENTADA AL PROGRAMA DE POSGRADO EN
CIENCIA DE MATERIALES COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIA DE MATERIALES

PRESENTA:

ANA DAYMI CABRERA GONZÁLEZ

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

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en esta tesis es propiedad intelectual de la Universidad de Sonora y del Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales (DIPM). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del director de tesis, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Director de la Tesis.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al DIPM, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director de tesis.

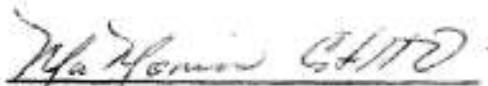
A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Castro', with a stylized flourish underneath.

Dra. Teresa del Castillo Castro

Jefe del Departamento

FORMA DE APROBACIÓN

Los miembros del jurado designado para revisar la tesis de maestría de la Q. Ana Daymi Cabrera González, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de **Maestro en Ciencia de Materiales**.



Dra. María Mónica Castillo Ortega
Presidente



Dra. Dora Evelia Rodríguez Félix
Secretario



Dra. Hisila del Carmen Santacruz Ortega
Sinodal



Dr. Heriberto Grijalva Monteverde
Suplente



Dr. Tomás Jesús Madera Santana
Sinodal Externo

A mis padres y hermanas

*«Soy de las que piensan que **la ciencia tiene una gran belleza**. Un científico en su laboratorio no es sólo un técnico: **es también un niño colocado ante fenómenos naturales** que le impresionan como un cuento de hadas.»*

Marie Curie

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a la Universidad de Sonora y al Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales, por haberme abierto sus puertas y permitir que cursara el posgrado de Ciencia de Materiales; así como los recursos otorgados para poder dar cumplimiento a esta investigación. Agradecer también al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca que se me fue concedida.

A mis sinodales, Dra. Dora Evelia Rodríguez Félix, Dra. Hisila del Carmen Santacruz Ortega, Dr. Heriberto Grijalva Monteverde, Dr. Tomás Jesús Madera Santana por cada sugerencia brindada en la realización de este proyecto.

Agradecer especialmente a la Dra. María Mónica Castillo Ortega por haberme aceptado como su alumna desde que me encontraba en Cuba, por su apoyo incondicional, por sus excelentes consejos que me han servido para ser una mejor persona y poder crecer profesionalmente en este gran camino de la ciencia. Gracias por su cariño.

También quiero agradecer a la Dra. Irela Santos y la Dra. Silvia Elena Burruel por apoyarme en la caracterización térmica y morfológica del material.

A mis compañeros de laboratorio y amigos de siempre, gracias por su compañía.

A mi familia, en especial a mi madre y a mi padre porque no hay mayor parecido, por querer siempre seguir su camino, por la profesión. Por ser mi fuerza impulsora desde la distancia, por mostrarme siempre una sonrisa como señal de que todo estaba bien, por ayudarme a ser cada día mejor, sin ustedes nada de esto hubiera sido posible. Los amo con todo mi corazón.

A mi abuela Agustina, por ser la persona más dulce que he conocido, sé que te hubiera gustado compartir esta alegría.

A todos, **MUCHAS GRACIAS!!!**

CONTENIDO

LISTA DE TABLAS.....	I
LISTA DE FIGURAS.....	II
LISTA DE ABREVIATURAS.....	III
RESUMEN	IV
ABSTRACT	V
CAPÍTULO 1	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivos	2
1.1.1 Objetivo General.....	2
1.1.2 Objetivos Específicos	2
CAPÍTULO 2	3
ANTECEDENTES	3
2.1 Electrohilado.....	3
2.1.1 Efecto de los parámetros en el proceso de electrohilado	5
2.2 Poli (ácido láctico).....	9
2.3 Liberación de fármacos	11
2.3.1 Modelos de liberación de fármacos	11
2.4 Sulfato de neomicina.....	15
2.5 Técnicas de caracterización.....	16
2.5.1 Microscopía electrónica de barrido (MEB).....	16
2.5.2 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR).....	18
2.5.3 Reflectancia total atenuada (ATR).....	20
2.5.4 Análisis termogravimétrico (TGA)	20
CAPÍTULO 3	21
MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1 Materiales.....	21
3.2 Metodología.....	21

3.2.1	Preparación de las soluciones	21
3.2.2	Preparación de las membranas	21
3.3	Técnicas de caracterización	22
3.3.1	Microscopía electrónica de barrido (MEB)	22
3.3.2	Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)	22
3.3.3	Análisis termogravimétrico (TGA)	23
CAPÍTULO 4		24
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		24
4.1	Caracterización	24
4.1.1	Microscopía electrónica de barrido (MEB)	24
4.1.2	Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)	28
4.1.3	Análisis termogravimétrico	30
CAPÍTULO 5		34
CONCLUSIONES		34
RECOMENDACIONES		35
REFERENCIAS		36

LISTA DE TABLAS

Tabla 1	Parámetros involucrados en el proceso de electrohilado y sus respectivas características.....	9
Tabla 2	Interpretación del mecanismo de liberación según el exponente de liberación n para diferentes geometrías.....	13
Tabla 3	Modelos matemáticos más comunes para estudiar la liberación de fármacos en sistemas poliméricos.....	15
Tabla 4	Resumen de las frecuencias de grupo para grupos orgánicos funcionales.....	19
Tabla 5	Parámetros utilizados para la preparación de membranas mediante la técnica de electrohilado.....	22

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representación esquemática del proceso de electrohilado.....	4
Figura 2	Representación esquemática del proceso de electrohilado coaxial..	5
Figura 3	Estructura química del poli (ácido láctico).....	10
Figura 4	Estructura química del sulfato de neomicina.....	16
Figura 5	Esquema de las partes de un microscopio electrónico de barrido....	17
Figura 6	Micrografías realizadas por MEB con un aumento de 5000x y el histograma de estimación del diámetro de las fibras a través del análisis de imagen de (A) membrana de PLA puro y (B) membrana compuesta PLA/Neomicina (configuración sencilla).....	25
Figura 7	Análisis EDS de la membrana compuesta PLA/Neomicina (configuración sencilla).....	26
Figura 8	Micrografías realizadas por MEB con un aumento de 2000x y el histograma de estimación del diámetro de las fibras a través del análisis de imagen de (A) membrana de PLA puro y (B) membrana compuesta PLA/Neomicina (configuración coaxial).....	27
Figura 9	Análisis EDS de la membrana compuesta PLA/Neomicina (configuración coaxial).....	27
Figura 10	Espectros infrarrojos de (A) membrana de PLA, (B) sulfato de neomicina y (C) membrana de PLA/Neomicina (configuración sencilla).....	28
Figura 11	Espectros infrarrojos de (A) membrana de PLA, (B) membrana de PLA/Neomicina (configuración coaxial).....	29
Figura 12	Termograma del sulfato de neomicina, membrana de PLA puro y membrana compuesta PLA/Neomicina (configuración sencilla).....	31
Figura 13	Termograma de DTG del sulfato de neomicina, membrana de PLA puro y membrana compuesta PLA/Neomicina (configuración sencilla).....	32

LISTA DE ABREVIATURAS

PLA	Poli (ácido láctico)
MEB	Microscopía electrónica de barrido
FT-IR	Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier
TGA	Análisis Termogravimétrico
UV-Vis	Ultravioleta Visible
Tg	Temperatura de transición vítrea
IR	Región Infrarroja
ATR	Reflectancia total atenuada
NEO	Sulfato de neomicina
T _{máx}	Temperatura máxima

RESUMEN

El diseño y aplicación de sistemas de dosificación controlada de medicamentos y los sistemas de dirección localizada para la actividad de un determinado fármaco es actualmente uno de los aspectos de mayor relevancia en el desarrollo de nuevas formas de medicación. En este sentido, la utilización de materiales poliméricos como soportes de fármacos para regular y dosificar su liberación en aplicaciones específicas es una perspectiva que ha adquirido gran interés.

En el presente trabajo se elaboraron membranas mediante la técnica de electrohilado en configuración sencilla y coaxial. Se empleó poli (ácido láctico) como solución polimérica y sulfato de neomicina como agente terapéutico. Se analizó la morfología de las membranas obtenidas mediante microscopía electrónica de barrido; además con el objetivo de corroborar la presencia o ausencia de los componentes involucrados y determinar las posibles interacciones entre ellos, se les realizaron análisis por espectroscopia de infrarrojo. A las membranas también se les realizó un estudio termogravimétrico con el propósito de evaluar la estabilidad térmica de las mismas.

ABSTRACT

The design and application of controlled drug dosage systems and localized management systems of the activity of a certain drug is currently one of the most relevant aspects in the development of new forms of medication. In this sense, the use of polymeric materials as drug carriers to regulate and dose their release in specific applications is a perspective that has gained great interest.

In the present work, membranes were made using the electrospinning technique in a simple and coaxial configuration. Poly (lactic acid) was used as the polymer solution and neomycin sulfate as the therapeutic agent. The morphology of the membranes obtained was analyzed using scanning electron microscopy; besides, to corroborate the presence or absence of the components involved and determine possible interactions between them, analyzes were performed by infrared spectroscopy. The membranes also underwent a thermogravimetric study to assess their thermal stability.

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de materiales aplicados en diversos campos de la investigación biomédica es un tema que ha cobrado gran interés en la actualidad. Precisamente, el diseño y aplicación de sistemas de dosificación controlada de medicamentos y los sistemas de dirección localizada para la actividad de un determinado fármaco, es actualmente uno de los aspectos de mayor relevancia en el desarrollo de nuevas formas de medicación [1].

Estos sistemas farmacéuticos pueden implantarse localmente sobre el sitio de una lesión, con la ventaja de que liberan un fármaco de manera controlada durante períodos de tiempo determinados ya sean horas, días, semanas e incluso meses. Además, liberan la molécula en dosis dentro del rango de microgramos, suficiente para inducir una respuesta biológica y disminuir el riesgo de reacciones secundarias [2].

La utilización de materiales poliméricos como soportes de fármacos para regular y dosificar su liberación en aplicaciones específicas es una perspectiva que ha adquirido gran interés. En este sentido, se emplean tanto polímeros naturales como polímeros sintéticos; estos últimos, con determinadas modificaciones químicas, se utilizan con el objetivo de imitar a los polímeros naturales. Estas modificaciones se realizan para mejorar la biocompatibilidad, degradabilidad, o para introducir otras propiedades deseadas.

Existe una gran variedad de métodos y técnicas que pueden emplearse para el procesamiento de estos materiales, siendo una de ellas el electrohilado. Mediante esta técnica, es posible la obtención de fibras, las cuales presentan un área superficial muy alta. Las propiedades de estas fibras pueden ser modificadas si se ajustan los parámetros de composición y fabricación [3]. Un gran adelanto en la técnica del electrohilado se produjo en el año 2003, cuando se introdujo el electrohilado en configuración coaxial, donde es posible la formación de dos capas concéntricas. La ventaja que presenta este tipo de configuración, es la capacidad de encapsular agentes activos en cada capa y de esta forma modular la liberación, alternando el grosor y la localización de

este en la fibra; generalmente ese tipo de método es utilizado para encapsular el agente terapéutico en el núcleo interno [4, 5].

En este trabajo se elaboraron membranas de poli (ácido láctico) (PLA) y sulfato de neomicina mediante la técnica de electrohilado en configuración sencilla y coaxial, para su posible utilización como sistemas de liberación de fármacos. Las membranas obtenidas fueron caracterizadas por microscopía electrónica de barrido, espectroscopia de infrarrojo y análisis termogravimétrico.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo General

Preparar y caracterizar membranas poliméricas por la técnica de electrohilado mediante dos configuraciones (sencilla y coaxial), a partir de poli (ácido láctico) (PLA) como solución polimérica y sulfato de neomicina como agente terapéutico.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Preparar membranas poliméricas por la técnica de electrohilado mediante dos configuraciones (sencilla y coaxial), utilizando PLA como solución polimérica y sulfato de neomicina como agente terapéutico.
- Determinar la morfología de las membranas obtenidas mediante microscopía electrónica de barrido (MEB).
- Caracterizar las membranas mediante espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR), para evidenciar la presencia de los componentes e interacciones de estos en la membrana.
- Determinar las propiedades térmicas de las membranas mediante análisis termogravimétrico (TGA).

CAPÍTULO 2

ANTECEDENTES

2.1 Electrohilado

El proceso donde se utilizan fuerzas electrostáticas para formar fibras se conoce desde hace más de 100 años. Este proceso, conocido como electrohilado, emplea una fuente de alto voltaje para inyectar carga de cierta polaridad a una solución polimérica, que luego es acelerada hacia un colector de polaridad opuesta. A medida que la atracción electrostática entre el líquido y el colector con carga opuesta y las repulsiones electrostáticas entre cargas similares en el líquido se vuelven más fuertes, el borde de la solución cambia de la forma redonda del menisco a una forma cónica (conocida como cono de Taylor). Finalmente, se expulsa un chorro de fibra del cono de Taylor cuando la intensidad del campo eléctrico excede la tensión superficial del líquido. El chorro de fibra viaja a través de la atmósfera permitiendo que el solvente se evapore, lo que lleva a la deposición de fibras de polímero sólido en el colector [6].

Las fibras obtenidas mediante el proceso de electrohilado poseen diámetros que van de las sub micras a los nanómetros, rangos en los que es posible encontrar características únicas. Entre las que se encuentra: un área superficial muy grande en relación al volumen (en el caso de las nanofibras, esta relación puede ser un aproximado de 10^3 veces más que una microfibra), flexibilidad en la superficie, alta porosidad, poros interconectados y un rendimiento mecánico superior comparado con otras formas ya conocidas del material. Estas características hacen de las nanofibras óptimas candidatas para una variedad de aplicaciones, entre ellas: ingeniería de tejidos, textiles, elementos para cubrir heridas, medios de filtración, membranas especiales y diversas aplicaciones médicas tales como reemplazo de huesos, implantes dentales, sistemas de liberación de fármacos, injertos vasculares, vasos sanguíneos artificiales, entre otros [7].

El proceso de electrohilado se puede 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, que consta de un capilar a través del cual debe ser expulsada la solución polimérica, una fuente de alto voltaje que posee dos electrodos los cuales deben conectarse uno al lugar de salida de la solución y otro directamente al colector donde se depositarán las fibras; posterior a la evaporación del disolvente (Figura 1) [7, 8].

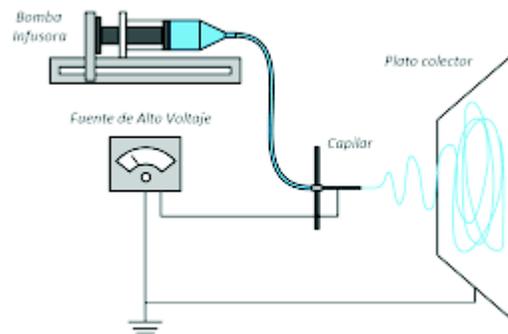


Fig. 1. Representación esquemática del proceso de electrohilado [7].

El electrohilado coaxial es una modificación o una ampliación de la técnica más sencilla, el cual ha permitido electrohilar simultáneamente diferentes polímeros dentro de una estructura formada por un núcleo y una coraza de nanofibras, convirtiéndose en una de las mejores opciones para la obtención de nanofibras con elementos de diferente naturaleza [7, 9].

Este tipo de configuración consta de una boquilla pequeña dentro de otra más grande que resulta en una estructura de nanofibras conformada por un núcleo y una coraza (Figura 2). En el mismo, diferentes fármacos y proteínas pueden ser incorporadas en el núcleo, protegidas por la cubierta que puede ser de un polímero más estable mecánicamente o en su defecto menos degradable. Este tipo de estructura añade una capa adicional sobre la velocidad de liberación del fármaco lo que permite un mayor control y la obtención de un perfil de liberación sostenido. La mayor ventaja de trabajar con electrohilado coaxial es que, la solución que forma el núcleo no necesariamente debe tener las propiedades dieléctricas para someterse al proceso, la solución que actúa como coraza puede servir como vehículo de esa solución principal permitiendo encapsular fármacos de diferente naturaleza y con diversas características. De igual forma es posible fabricar fibras huecas por medio de esta configuración [7, 10].

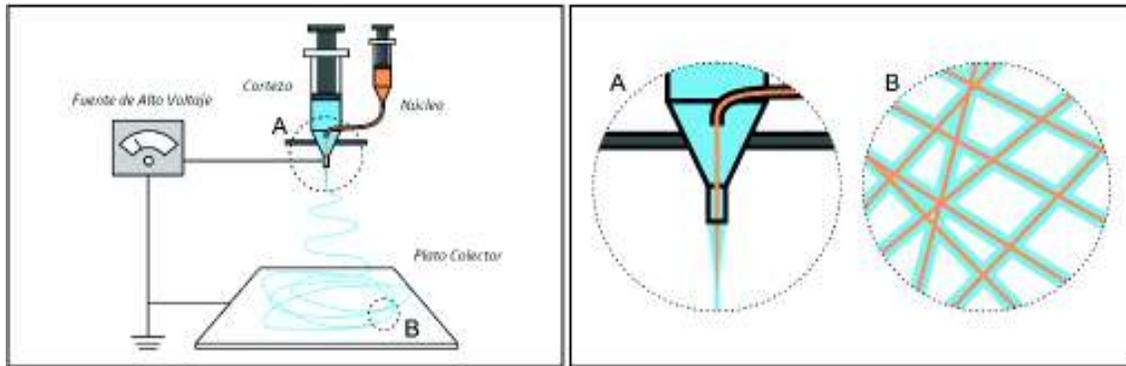


Fig. 2. Representación esquemática del proceso de electrohilado coaxial [7].

2.1.1 Efecto de los parámetros en el proceso de electrohilado

Por lo general, la morfología de las fibras está fuertemente influenciada por varios parámetros, los cuales se clasifican como parámetros de electrohilado, solución y parámetros ambientales. Dentro de los parámetros de electrohilado se encuentran el voltaje aplicado, la distancia entre la punta de la aguja y el colector y la velocidad de flujo. Los parámetros de la solución incluyen el solvente, la concentración del polímero, la viscosidad y la conductividad de la solución. En los parámetros ambientales están presentes la humedad relativa y la temperatura [11].

2.1.1.1 Parámetros del proceso de electrohilado

- **Voltaje aplicado**

El voltaje es uno de los parámetros más importantes dentro del proceso de electrohilado. A un voltaje crítico, el flujo de corriente que recorre desde una fuente de alimentación de alto voltaje a una solución, a través de una aguja metálica, hará que una gota esférica se deforme en un cono de Taylor y forme fibras ultrafinas. Este valor crítico de voltaje aplicado varía de un polímero a otro. La formación de fibras de menor diámetro con un aumento en el voltaje aplicado se atribuye al estiramiento de la solución de polímero en correlación con la repulsión de las cargas dentro del chorro de polímero. Un aumento en el voltaje aplicado más allá del valor crítico dará como resultado la formación de defectos. Los incrementos en el diámetro y la aparición de defectos con un aumento en el voltaje aplicado, se atribuyen a una disminución en el tamaño

del cono de Taylor y al aumento en la velocidad del chorro para un mismo caudal [6, 11].

- **Distancia entre la punta de la aguja y el colector**

La distancia entre la punta de la aguja y el colector juega un papel esencial en la determinación de la morfología de las fibras electrohiladas. Este parámetro también varía con el sistema de polímero [11, 12]. Si la distancia es muy corta, la fibra no tendrá el tiempo suficiente para solidificarse antes de llegar al colector y si la distancia es muy larga, se pueden obtener fibras con presencia de defectos. El secado del solvente constituye un factor físico importante en la obtención de las fibras electrohiladas, es por ello que se recomienda establecer una distancia óptima [5].

- **Velocidad de flujo**

La velocidad de flujo de la solución polimérica es otro parámetro en el proceso de electrohilado. Un flujo de salida bajo podría ser benéfico ya que el solvente tendrá más tiempo para volatilizarse, evitando así la formación de defectos en las fibras. Cuando el flujo de salida es alto, ocurre un incremento en el diámetro de las fibras y posiblemente en el tamaño de los defectos. Un mínimo valor de volumen de solución a la salida del capilar debería ser mantenido para obtener un cono de Taylor estable. El flujo de salida determina la cantidad de solución disponible para el proceso de electrohilado [7, 13].

2.1.1.2 Parámetros de la solución

- **Solvente**

La selección del solvente es uno de los factores clave para la formación de fibras. Se debe tener en cuenta la solubilidad del polímero en el solvente, pues este debe ser parcial o totalmente soluble; además, el solvente debe tener un punto de ebullición moderado (tomando como referencia el punto de ebullición del agua). El punto de ebullición nos da una idea de la volatilidad del solvente. Un solvente volátil se evapora fácilmente durante el recorrido desde la punta de la aguja hasta el colector. Sin embargo, solventes muy volátiles tienen

velocidades de volatilización elevadas, provocando que se seque el chorro en la punta de la aguja y se produzca un bloqueo y el proceso de electrohilado se vea interrumpido. Del mismo modo, solventes menos volátiles son evitados ya que sus puntos de ebullición elevados impiden la evaporación durante el proceso, depositándose en el colector fibras con solvente, lo que conduce a la formación de fibras con defectos [5, 6, 14].

- **Concentración y viscosidad de la solución**

Este parámetro es muy determinante en el tamaño y la morfología de las fibras. El estiramiento del chorro se ve afectado al cambiar la concentración de la solución polimérica. Cuando la concentración de la solución polimérica es baja, el campo eléctrico aplicado y la tensión superficial hacen que las cadenas de polímero se rompan en fragmentos antes de llegar al colector, provocando la formación de fibras con defectos. Un incremento en la concentración de la solución polimérica va a conducir a un aumento de la viscosidad de la misma, lo que a su vez provoca que aumente el enredo de las cadenas poliméricas. Estos enredos superan la tensión superficial, dando como resultado fibras sin defecto. Si se incrementa la concentración más allá de este punto crítico se ocasiona una obstrucción en la punta de la aguja, dando como resultado fibras con defectos, por lo que se recomienda trabajar con una concentración intermedia para obtener fibras con buenas características [11].

- **Conductividad**

La conductividad de la solución se determina principalmente por el tipo de polímero, solvente y la sal. Esta no solo afecta la formación del cono Taylor, sino que también ayuda a controlar el diámetro de las nanofibras. Las soluciones que presentan una alta conductividad tendrán mayor capacidad de transportar las cargas de la solución que aquellas que tengan una baja conductividad. La adición de sales a la solución incrementa la conductividad y por consiguiente la fuerza eléctrica para el estiramiento del chorro, promoviendo una reducción en el diámetro de las fibras. Se ha encontrado que con el aumento de la conductividad eléctrica de la solución hay una disminución significativa en el diámetro de las fibras, mientras que cuando la

conductividad es baja se observa un alargamiento insuficiente del chorro, impidiendo la producción de fibras uniformes [7].

Los polímeros naturales suelen ser polielectrolitos, donde los iones incrementan la capacidad de transporte de carga del chorro, sometándose a altas tensiones bajo el campo eléctrico, lo que resulta en una pobre formación de fibras en contraste a su contraparte sintética [15].

2.1.1.3 Parámetros ambientales

- **Temperatura y humedad relativa**

Se ha reportado que factores como la temperatura y la humedad relativa también tienen un efecto sobre el diámetro y morfología de las fibras. La humedad relativa puede ocasionar variaciones en las fibras debido a que está directamente relacionada con el proceso de solidificación del chorro cargado. Sin embargo, este fenómeno depende de la naturaleza química del polímero [16]. En el caso de sistemas con mezcla de dos solventes la humedad relativa juega un papel importante en la formación de los poros. Esto se atribuye a la diferencia en las velocidades de evaporación, donde el solvente más volátil se evaporará más rápido que el solvente menos volátil y el vapor de agua comenzará a condensar en forma de gotas que se depositarán en las fibras [17]. La temperatura tiene dos efectos opuestos para variar el diámetro de las fibras; el primero consiste en que incrementa la velocidad de evaporación del solvente y el segundo en que disminuye la viscosidad de la solución dando como resultado el decremento del diámetro de las fibras [5].

En la Tabla 1 se muestra un resumen de los parámetros involucrados en el proceso de electrohilado y sus respectivas características.

Se ha reportado el estudio de una gran variedad de biopolímeros para la producción de membranas fibrosas electrohiladas, entre los que se destacan el acetato de celulosa, colágeno, gelatina, poli (ácido láctico), entre otros. En este estudio usaremos poli (ácido láctico) debido a sus atractivas propiedades mecánicas, biocompatibilidad y biodegradabilidad.

Tabla 1: Parámetros involucrados en el proceso de electrohilado y sus respectivas características.

Parámetro	Característica que aporta
Voltaje aplicado	<p>↑ Mayor estiramiento de la solución, lo que promueve una reducción en el diámetro de las fibras.</p> <p>↓ Poco impulso para la llegada de la solución al colector.</p>
Distancia entre la punta de la aguja y el colector	<p>↑ Las fibras electrohiladas podrían romperse debido a su propio peso, fibras de diámetro pequeño.</p> <p>↓ Poco tiempo para la evaporación del disolvente, por tanto las fibras llegan húmedas al colector.</p>
Velocidad de flujo	<p>↑ Incremento en el diámetro de las fibras y en el tamaño de los defectos.</p> <p>↓ Tiempo suficiente para la formación de fibras.</p>
Concentración y viscosidad de la solución	<p>↑ Dificulta el paso de la solución a través del capilar.</p> <p>↓ Las fibras se rompen en gotas antes de llegar al colector.</p>
Conductividad	<p>↑ Mayor capacidad de transportar las cargas, disminución significativa en el diámetro de las fibras.</p> <p>↓ Impide la producción de fibras uniformes, menor estiramiento de la solución.</p>
Humedad relativa y temperatura	Aparición de poros en las fibras.

2.2 Poli (ácido láctico)

Los desafíos medioambientales, económicos y de seguridad han provocado que los científicos y productores sustituyan parcialmente los polímeros a base de productos petroquímicos por polímeros biodegradables [18, 19]. Uno de los candidatos poliméricos más importantes es el poli (ácido láctico) (PLA) que se

describe como un poliéster alifático. Se produce a partir de los recursos renovables de la agricultura como el maíz y el trigo, a través de procesos de fermentación. La producción industrial de PLA generalmente ocurre a través de la polimerización por apertura de anillo de L-lactida, por lo tanto, su producción necesita menos recursos fósiles en comparación con los polímeros a base de petróleo [20]. Además, el PLA recientemente ha llamado la atención debido a sus excelentes propiedades biodegradables y biocompatibles. En particular, se ha utilizado ampliamente en el campo de la biomedicina con un enfoque significativo en aplicaciones como ingeniería de tejidos y liberación controlada de fármacos [21]. Los productos de degradación del PLA, específicamente el agua y el dióxido de carbono, no son cancerígenos ni tóxicos para el cuerpo humano [20].

El PLA es un polímero hidrofóbico que tiene grupos metilos laterales. Es relativamente menos afectado a la hidrólisis en comparación con otros polímeros biodegradables, debido al efecto de protección estérica que tienen los grupos metilos laterales. Presenta una velocidad de degradación lenta, el mismo se degrada a través de la hidrólisis de los grupos éster de la cadena principal y la velocidad de degradación va a depender de la cristalinidad que presente, de su peso molecular y su distribución, morfología y velocidad de difusión del agua en el polímero [18]. Es un polímero termoplástico, con una resistencia a la tracción de aproximadamente 32.22 MPa, y la elongación en la rotura es de aproximadamente 30.7%. Las propiedades mecánicas y el comportamiento de cristalización de PLA van a depender mucho del peso molecular y la estereoquímica de la columna vertebral. Para lograr una resistencia mecánica superior, el PLA debe poseer un mayor peso molecular [20]. En la Figura 3 se muestra la estructura química del PLA.

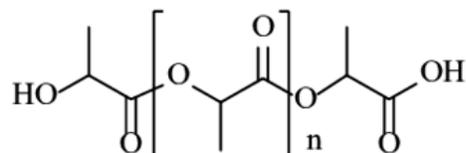


Fig. 3. Estructura química del poli (ácido láctico).

Entre las aplicaciones potenciales de las membranas electrohiladas de PLA se encuentra su uso en la liberación controlada de fármacos.

2.3 Liberación de fármacos

Un sistema de liberación de fármacos se define como una formulación o un dispositivo que permite la introducción de un agente terapéutico en el organismo, mejorando su eficacia y seguridad al controlar la velocidad, el tiempo y el sitio de liberación de los medicamentos dentro del cuerpo [22].

El proceso completo de liberación incluye la administración del producto terapéutico, la liberación de los ingredientes activos por parte del producto y el transporte posterior de los mismos a través de las membranas biológicas hasta el sitio de acción, haciendo de esta forma, que el sistema de liberación sea una interfaz entre el paciente y el fármaco [2].

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, que a su vez ocasiona que los niveles del fármaco en sangre y tejidos fluctúen bastante. Lo antes mencionado puede provocar que concentraciones bajas de fármaco inhiban los efectos terapéuticos con el paso del tiempo. Sin embargo, en un sistema controlado se pueden reducir las fluctuaciones, y mantener la dosis del ingrediente activo dentro de los niveles terapéuticos deseados [23].

Durante las últimas décadas, las micro y nanoestructuras poliméricas han ganado un gran interés como sistemas de liberación de fármacos. Estas estructuras poliméricas cuentan con un área superficial alta del portador del fármaco, aumentando así la velocidad de disolución del mismo en el medio [22].

2.3.1 Modelos de liberación de fármacos

Es importante tomar en consideración que el mecanismo y la cinética de liberación del fármaco desde las micro y nanoestructuras, va a depender en cierta medida, de la naturaleza del fármaco, de la matriz que lo contiene y del medio de liberación [4].

Existen diversos modelos matemáticos con los cuales es posible explicar las cinéticas y los mecanismos de liberación de fármacos. Los modelos que se describen a continuación son:

- Korsmeyer & Peppas
- Higuchi
- Orden cero

2.3.1.1 Modelo de Korsmeyer & Peppas

En 1983 Korsmeyer y colaboradores, se dieron la tarea de desarrollar un modelo simple, semiempírico, que relaciona de forma exponencial la liberación del fármaco con el tiempo transcurrido. Este modelo se ajusta principalmente al 60-70% de la cantidad de fármaco liberada. A su vez, se utiliza para determinar si la cinética de liberación sigue un mecanismo de difusión que obedece a la primera ley de Fick o cuando el mecanismo de liberación no es bien conocido. La ecuación general de este modelo es la siguiente:

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

Siendo t el tiempo de liberación; M_t , la cantidad de fármaco liberada a un tiempo t , M_∞ , la cantidad de fármaco liberada en el equilibrio, K_p , es una constante cinética que va a depender de las características estructurales y geométricas de la matriz polimérica y n es el exponente de liberación, el cual indica el mecanismo de liberación [24].

Para una geometría cilíndrica, como es el caso de las fibras, el valor de n , según Peppas, se relaciona con los diferentes mecanismos de liberación de la siguiente manera:

- Para valores de n menor o iguales a 0.45, indican que el mecanismo principal es la difusión.
- Para valores de n cercanos a 0.89, indican que la liberación en este caso está controlada por procesos de relajación/erosión del polímero, al cual Peppas le llamó “Transporte Caso II”. Estos perfiles se ajustan a un modelo cinético de orden cero, en el cual la liberación es constante en función del tiempo.
- Para valores de n comprendidos entre 0.45 y 0.89, indican un mecanismo de mayor complejidad, en donde interfieren ambos

procesos, difusión y relajación/erosión del polímero. A este tipo de sistemas se les denomina transporte anómalo [4,5].

En la Tabla 2 se resume la interpretación de los valores de n con respecto a las características de la liberación y la morfología de la matriz.

Tabla 2: Interpretación del mecanismo de liberación según el exponente de liberación n para diferentes geometrías [24].

Exponencial n			
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

2.3.1.2 Modelo de Higuchi

Este modelo fue propuesto en el año 1961, y justamente corresponde a una ecuación matemática empleada para describir la velocidad de liberación de un fármaco en un sistema matricial. La ecuación general de dicho modelo es la siguiente:

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

Siendo t el tiempo de liberación, M_t , la cantidad de fármaco liberada a un tiempo t , M_∞ , la cantidad de fármaco liberada en el equilibrio y k la constante de liberación de Higuchi [24].

Existen una serie de condiciones que se deben tener en cuenta para que se cumpla dicho modelo, las cuales son:

- La concentración inicial del fármaco en el sistema es mucho mayor que la solubilidad del mismo en el medio de liberación (condición de estado pseudo estacionario).
- El análisis matemático está basado en una difusión unidireccional (los efectos del contorno son despreciados).
- El tamaño de partícula del fármaco suspendido en el sistema es tal, que el diámetro de este no es significativo frente al espesor del sistema.
- Se desprecia el hinchamiento y disolución del polímero.

- La difusividad del fármaco en el medio de liberación es constante.
- En todo el proceso de liberación se cumple la condición de estado pseudo estacionario.

La proporcionalidad entre las fracciones de masa y la raíz cuadrada del tiempo también pueden ser derivadas 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 [24].

Este modelo se podría aplicar de manera más exacta a matrices unidimensionales, poco solubles y que no sufren hinchamiento y donde el fármaco sea muy soluble. La ecuación se suele emplear para distintos sistemas, pero cuando se quiere tener una idea más exacta de los procesos de liberación, es necesario tomar en cuenta distintos factores fisicoquímicos [25].

2.3.1.3 Modelo de Orden Cero

En la liberación de un fármaco, si el objetivo consiste en alcanzar una acción farmacológica prolongada, una cinética de orden cero, sería el modelo ideal a seguir durante la misma. Esto ocurre debido a que se puede liberar durante todo el proceso la misma cantidad de fármaco por unidad de tiempo [26].

El mecanismo de liberación predominante de este modelo es el de relajación/erosión del polímero, el cual corresponde un valor de n cercano a 1 en el modelo de Korsmeyer & Peppas (Ec. 1). La ecuación general para este modelo es la siguiente:

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

Siendo M_t , la cantidad de fármaco liberado en el tiempo t , M_0 , la cantidad inicial de fármaco en el medio y k , la constante cinética de orden cero [4, 5].

Realizando una comparación con los modelos descritos anteriormente, la ecuación 3 puede ser expresada en función de la fracción de fármaco liberado, de la siguiente manera:

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

En la Tabla 3 se muestra un resumen de los principales modelos usados para describir la liberación de fármacos en sistemas poliméricos.

Tabla 3: Modelos matemáticos más comunes para estudiar la liberación de fármacos en sistemas poliméricos.

Nombre del Modelo	Ecuación
Korsmeyer & Peppas	$\frac{M_t}{M_\infty} = K_p t^n$
Higuchi	$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^{\frac{1}{2}}$
Orden Cero	$\frac{M_t}{M_\infty} = kt$

Un fármaco de gran interés en la medicina es el sulfato de neomicina, por lo que en este trabajo se seleccionó como fármaco modelo para los futuros estudios de liberación.

2.4 Sulfato de neomicina

El sulfato de neomicina es un antibiótico perteneciente a la familia de los aminoglucósidos, el cual es soluble en agua. Se obtiene a partir de la fermentación de la bacteria *Streptomyces fradiae*. Es un compuesto de naturaleza básica, térmicamente estable y conserva su eficacia en solución acuosa en comparación con otros antibióticos [27]. Su mecanismo de acción consiste en inhibir la síntesis de proteínas mediante la unión con el ARN ribosómico, lo que provoca una lectura errónea del código genético bacteriano. Con excepción de *P. aeruginosa*, es bactericida contra la mayoría de las bacterias gram-negativas; sin embargo, carece de actividad contra los anaerobios. Es activo contra algunas bacterias gram-positivas, incluidos los estafilococos, pero no es efectivo contra los estreptococos. Sus indicaciones incluyen el tratamiento de infecciones superficiales, la profilaxis contra la infección en heridas menores y heridas postoperatorias, el tratamiento complementario de las quemaduras y el tratamiento de la sobreinfección en las dermatosis crónicas [28]. En la Figura 4 se muestra la estructura química del sulfato de neomicina.

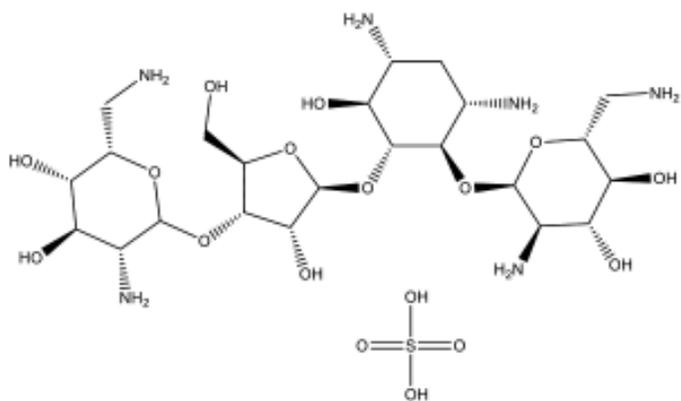


Fig. 4. Estructura química del sulfato de neomicina.

2.5 Técnicas de caracterización

2.5.1 Microscopía electrónica de barrido (MEB)

El microscopio electrónico de barrido (MEB) es un instrumento que permite la observación y caracterización superficial al proporcionar información morfológica del material analizado. El mismo obtiene imágenes de la muestra mediante un patrón de escaneo con un haz de electrones de alta energía. Los electrones interactúan con los átomos que conforman la muestra produciendo señales que contienen información sobre la topografía de la superficie, la composición y algunas otras propiedades de la muestra tales como la conductividad eléctrica.

Los tipos de señales producidos por este microscopio incluyen electrones secundarios, los electrones retrodispersos, rayos X característicos, luz catodoluminiscencia, electrones actuales y de transmisión. Los detectores de electrones secundarios son comunes en la mayoría de los equipos; sin embargo, es difícil que un solo equipo posea detectores para todas las señales posibles. Dichas señales resultan de la interacción del haz de electrones con los átomos en la superficie de la muestra o muy cerca de ella [29].

Un microscopio electrónico de barrido es capaz de proporcionar imágenes de muy alta resolución (inferior a 1 nm) en su modo estándar de detección imagenología de electrón secundario [30]. Las partes principales de un microscopio electrónico de barrido se muestran a continuación en la Figura 5.

Los electrones retrodispersos son aquellos electrones del haz que se reflejan de la muestra por dispersión elástica. Este tipo de electrones provee información sobre la distribución de diferentes elementos en la muestra; por esta razón es importante cubrir la muestra con una capa delgada de algún metal pesado, por ejemplo oro (Au), ya que de otra manera sería muy difícil poder observar con claridad los detalles de la muestra analizada. Los rayos X característicos son emitidos cuando el haz de electrones expulsa un electrón de la muestra ocasionando que un electrón de mayor nivel energético ocupe dicho lugar, liberando energía de esta manera en forma de los rayos X. Estos rayos son empleados para identificar la composición, así como medir la abundancia de ciertos elementos en la muestra [31].

Debido a que el haz de electrones es muy estrecho, las micrografías MEB poseen una gran profundidad de campo mostrando una apariencia tridimensional, útil para la comprensión de la estructura superficial de la muestra. Es posible aplicar un amplio rango de magnificaciones desde 10 veces hasta 500,000 veces [32].

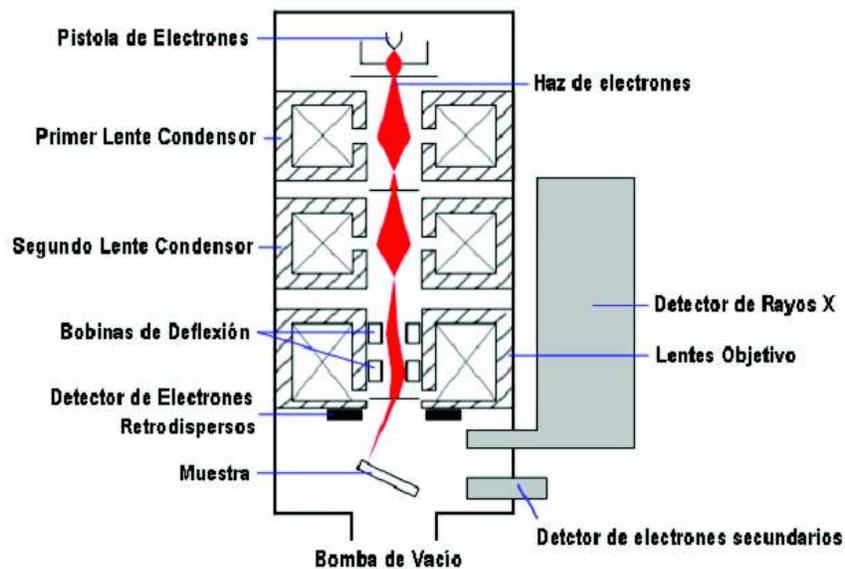


Fig. 5. Esquema de las partes de un microscopio electrónico de barrido [33].

2.5.2 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)

La espectroscopia de infrarrojo es útil para obtener información cualitativa sobre las moléculas, la misma abarca la región de infrarrojo del espectro electromagnético y es empleada principalmente para identificar grupos funcionales.

Los equipos con transformada de Fourier obtienen espectros de infrarrojo de la absorción, emisión, superconductividad o dispersión Raman de una muestra. La región infrarroja del espectro electromagnético abarca la parte cercana (longitud de onda $\lambda = 14000 - 4000 \text{ cm}^{-1}$), media ($\lambda = 4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) y lejana ($\lambda = 400 - 10 \text{ cm}^{-1}$) [29].

El principio de esta técnica se basa en la absorción de la radiación infrarroja por las moléculas en vibración. Una molécula absorbe la energía de un haz de luz de la región infrarroja (IR) cuando dicha energía incidente es igual a la necesaria para que se dé una transición vibracional de la molécula. Por lo tanto, la molécula vibra de una cierta forma gracias a la energía que se le suministra mediante luz IR [31, 34].

Existen diferentes maneras en la que una molécula puede vibrar al interactuar con la radiación IR, denominados modos vibracionales. Cuando las vibraciones corresponden esencialmente a variaciones de las distancias internucleares con movimientos atómicos a lo largo de los ejes de los enlaces, reciben el nombre de vibraciones de valencia o estiramiento. Aquellas vibraciones donde se modifican fundamentalmente los ángulos entre dos enlaces reciben el nombre de vibraciones de doblaje. En el caso particular de un grupo o molécula con sus átomos en un plano, las vibraciones de doblaje pueden a su vez clasificarse como doblajes en el plano o doblajes fuera del plano, de acuerdo a las direcciones de desplazamiento dichos átomos.

En la Tabla 4 se muestra un resumen de las frecuencias de grupo para los diferentes grupos funcionales orgánicos.

Tabla 4: Resumen de las frecuencias de grupo para grupos orgánicos funcionales [35].

Enlace	Tipo de compuesto	Frecuencia (cm⁻¹)	Intensidad
-C-H	Alcanos	2850 – 2970	Fuerte
		1340 – 1470	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
N-H	Aminas, amidas	3300 – 3500	Media
		2500 – 2700	Amplia
C=C	Alquenos	1610 – 1680	Variable
	Anillos aromáticos	1500 – 1600	Variable
C≡C	Alquinos	2100 – 2260	Variable
C-N	Aminas, amidas	1180 – 1360	Fuerte
C≡N	Nitrilos	2210 – 2280	Fuerte
C-O	Alcoholes, éteres, ácidos carboxílicos, ésteres	1050 – 1300	Fuerte
	Aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos, ésteres	1690 – 1760	Fuerte

2.5.3 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 que presente un alto índice de refracción y buenas propiedades de transmisión, de esta manera, 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 [36].

2.5.4 Análisis termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico (TGA) es una técnica que se emplea para evaluar el cambio de masa de una muestra en función de la temperatura. Las medidas pueden efectuarse de dos maneras: isotérmica o dinámica. En el primer caso, la muestra se mantiene a una temperatura y se varía el tiempo y la atmósfera de prueba; en el segundo, la temperatura se va aumentando y se varía la velocidad de calentamiento o el perfil de incremento (generalmente este último es lineal); así como es posible cambiar la atmósfera. La técnica se aplica principalmente, para conocer la estabilidad térmica, así como en la determinación de compuestos volátiles y cinéticas de reacción. El equipo consiste básicamente, de un horno programable y una balanza para medir el cambio en la masa, en función del tiempo y la temperatura [37].

CAPÍTULO 3

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

- Poli (ácido láctico), $P_M = 119,000$ g/mol, Marca Nature Works
- Acetona, Marca Fagalab
- Sulfato de Neomicina, $P_M = 908.88$ g/mol Sigma Aldrich

Los reactivos fueron utilizados sin ninguna purificación previa.

3.2 Metodología

3.2.1 Preparación de las soluciones

PLA 10% (m/v). Para preparar 10 mL de solución, se pesó 1 g de PLA el cual se aforó con acetona hasta completar los 10 mL y se dejó en agitación magnética durante 24 h a temperatura ambiente.

PLA 10% (m/v) – Sulfato de Neomicina 1%. Se preparó una solución de PLA al 10%, la cual se dejó en agitación magnética durante 24 h a temperatura ambiente y se adicionó 0.1 g de sulfato de neomicina.

3.2.2 Preparación de las membranas

Para la elaboración de las fibras fueron modificados algunos parámetros reportados en la literatura [4, 5]. Las soluciones de PLA/sulfato de neomicina (1%) se transfirieron a una jeringa de plástico de 6 mL y fue montada en una bomba peristáltica KDS Scientific para la configuración sencilla. Para la configuración coaxial la solución de PLA se colocó en la jeringa con aguja de mayor diámetro para formar la coraza de la fibra y la solución de PLA/sulfato de neomicina se colocó en la aguja de menor diámetro para formar el núcleo de la fibra. Se usó una velocidad de flujo de 3 mL/h, un voltaje de 17 kV, suministrado por una fuente de poder Spellman modelo CZE 1000R, a una distancia entre la punta de la aguja y el colector de 15 cm, las fibras obtenidas se recolectaron en una placa cuadrada de aluminio (10 cm x 10 cm). En la tabla 5 se encuentran las condiciones de preparación de las membranas.

Una vez electrohiladas las soluciones poliméricas se procede a retirar las membranas depositadas en la placa de aluminio para su posterior caracterización.

Tabla 5. Parámetros utilizados para la preparación de membranas mediante la técnica de electrohilado.

Tipo de arreglo	Concentración		Parámetros		
	PLA % (m/v)	Neomicina % (m/v)	Flujo (mL/h)	Distancia (cm)	Voltaje (kV)
Sencillo	10	0	3	15	17
Sencillo	10	1	3	15	17
Coaxial	10	0	3	15	17
Coaxial	10	1	3	15	17

3.3 Técnicas de caracterización

3.3.1 Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Después de obtenidas las membranas mediante los dos tipos de configuraciones (sencillo y coaxial) se les realizó la caracterización morfológica mediante un microscopio electrónico de barrido, marca JEOL 5410LV equipado con un sistema de análisis EDS para determinar, además, el contenido elemental de las membranas. Para la realización del ensayo las muestras fueron recubiertas con una película de oro y se utilizó un haz de electrones de 20 kV de intensidad a alto vacío.

El diámetro de las fibras fue medido empleando el software ImageJ, donde fueron tomadas al menos 15 fibras como promedio.

3.3.2 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)

Los espectros de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR) fueron obtenidos utilizando un equipo Perkin Elmer modelo Frontier, donde se aplicó la técnica de pastillas de bromuro de potasio (KBr) para el sulfato de neomicina y se empleó la técnica de reflectancia total atenuada (ATR) para las membranas

obtenidas. Las muestras fueron colocadas sin haberlas tratado previamente. Este estudio por espectroscopia de infrarrojo fue realizado con el objetivo de conocer los espectros de los componentes puros y de las membranas obtenidas y de esta forma poder evidenciar la presencia o ausencia de los grupos funcionales característicos y sus posibles interacciones.

3.3.3 Análisis termogravimétrico (TGA)

Se llevó a cabo el análisis termogravimétrico utilizando un equipo Perkin Elmer Pyris 1 TGA. Se pesaron aproximadamente 3 mg de muestra. Las muestras fueron sometidas a calentamiento de 25 °C hasta 800 °C con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min bajo atmósfera de nitrógeno. Para obtener las temperaturas de degradación se utilizó el software del equipo para graficar las curvas de DTG de los termogramas.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización

4.1.1 Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Con el objetivo de determinar la morfología y el contenido elemental de las membranas se realizó un estudio por microscopía electrónica de barrido (MEB) y EDS, respectivamente. En la Figura 6 se observan las micrografías de las membranas electrohiladas obtenidas mediante configuración sencilla y el histograma de estimación del diámetro promedio de las fibras a través del análisis de imagen: (A) membrana de PLA puro y (B) membrana compuesta de PLA y sulfato de neomicina. En la Figura 7 se muestra el análisis EDS para la membrana de PLA y sulfato de neomicina.

En las micrografías se logra apreciar la formación de fibras con una morfología muy semejante a listones, de forma general presentan pocos defectos, y la superficie de las membranas es lisa mayoritariamente. La utilización de una velocidad de flujo alta (3 mL/h) provocó la formación de fibras con este tipo de morfología [38].

El diámetro promedio de las fibras fue determinado mediante análisis de imagen, utilizando el software ImageJ. El mismo fue analizado dibujando una línea perpendicular a la orientación de cada fibra y se comparó la longitud de esa línea con la longitud de la barra de escala de la micrografía MEB [39]. Los diámetros promedios obtenidos para las fibras de PLA puro fueron de 477 ± 89 nm y de 443 ± 76 nm para las fibras compuestas de PLA y sulfato de neomicina. Cuando se analizan los resultados obtenidos, vemos como las fibras de la membrana compuesta presentan un diámetro promedio menor en comparación a las fibras de la membrana de PLA puro. Esto puede deberse a que la adición de sulfato de neomicina incrementa el número de portadores de cargas presentes en la solución, provocando que aumente la fuerza de estiramiento en las fibras debido a la repulsión electrostática entre las cargas

[39-41]. Una disminución en el diámetro de las fibras es el efecto más común de incorporar un medicamento a una solución de electrohilado [42].

El análisis EDS realizado a las membranas compuestas confirmó el contenido de sulfato de neomicina en las fibras.

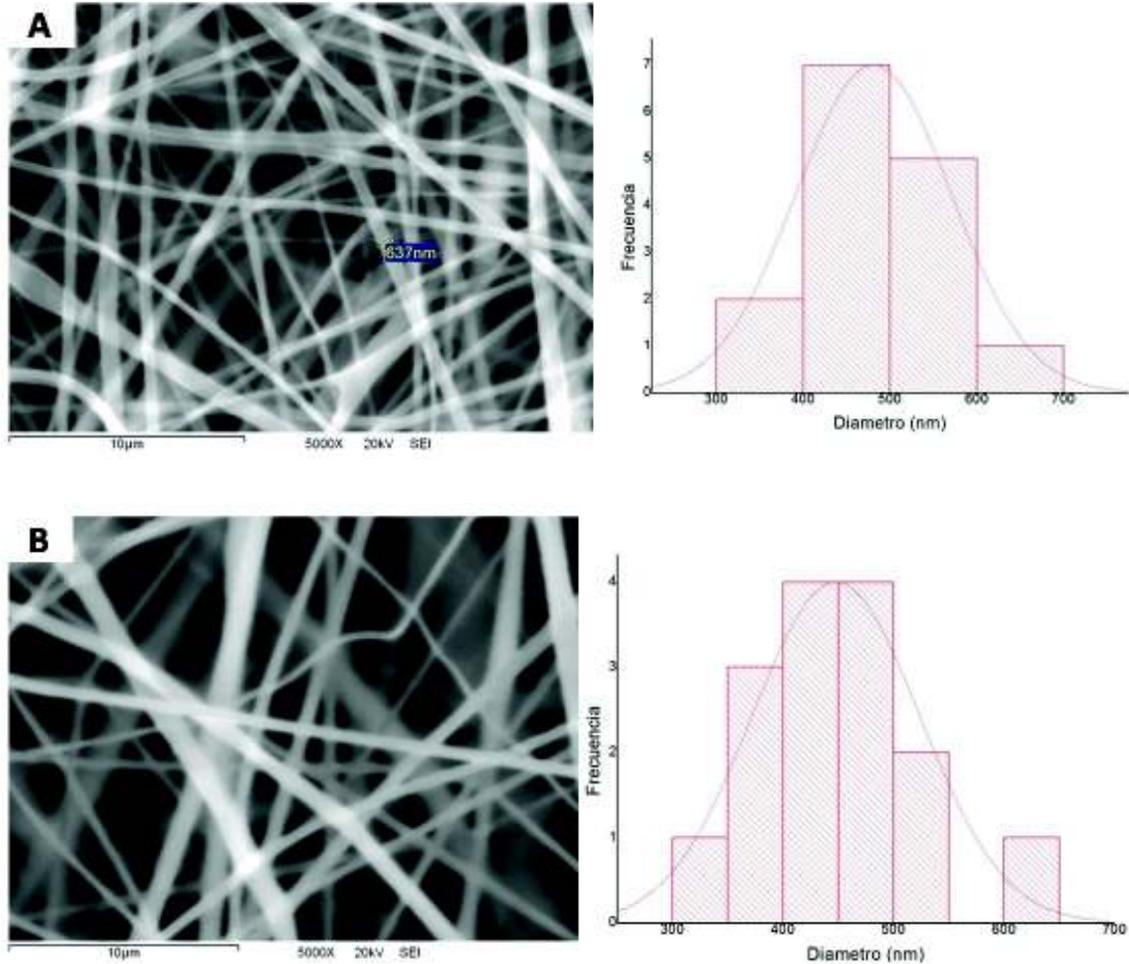


Fig. 6. Micrografías realizadas por MEB con un aumento de 5000x y el histograma de estimación del diámetro de las fibras a través del análisis de imagen de (A) membrana de PLA puro y (B) membrana compuesta PLA/Neomicina (configuración sencilla).

En la Figura 8 se observan las micrografías de las membranas electrohiladas mediante configuración coaxial y el histograma de estimación del diámetro promedio de las fibras a través del análisis de imagen: (A) membrana de PLA puro y (B) membrana compuesta de PLA y sulfato de neomicina. En la Figura 9 se muestra el análisis EDS para la membrana de PLA y sulfato de neomicina.

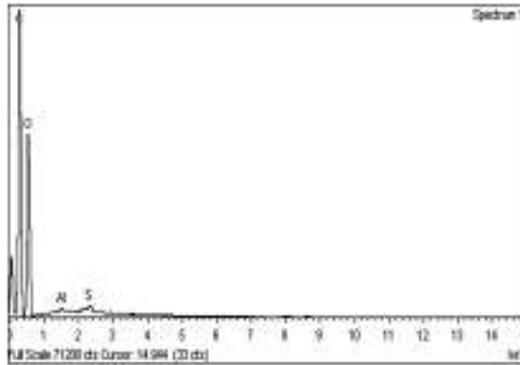


Fig. 7. Análisis EDS de la membrana compuesta PLA/Neomicina (configuración sencilla).

En las micrográficas se logra apreciar la formación de fibras con menos defectos aparentes que las obtenidas por configuración sencilla. Son fibras con una morfología muy semejante a listones y que presentan una superficie lisa mayoritariamente. De igual forma la utilización de una velocidad de flujo alta (3 mL/h) condujo a la formación de fibras con este tipo de morfología [38].

El diámetro promedio de las fibras se determinó mediante análisis de imagen, utilizando el software ImageJ. Las fibras de PLA puro presentaron un diámetro promedio de 1017 ± 167 nm, mientras que las fibras compuestas de PLA y sulfato de neomicina, presentaron un diámetro promedio de 901 ± 111 nm. Cuando se analizan los resultados obtenidos, vemos como las fibras de la membrana compuesta presentan un diámetro promedio menor en comparación a las fibras de la membrana de PLA puro. Esto puede deberse a que la adición de sulfato de neomicina incrementa el número de portadores de cargas presentes en la solución, provocando que aumente la fuerza de estiramiento en las fibras debido a la repulsión electrostática entre las cargas [39-41].

El análisis EDS realizado a las membranas compuestas confirmó el contenido de sulfato de neomicina en las fibras.

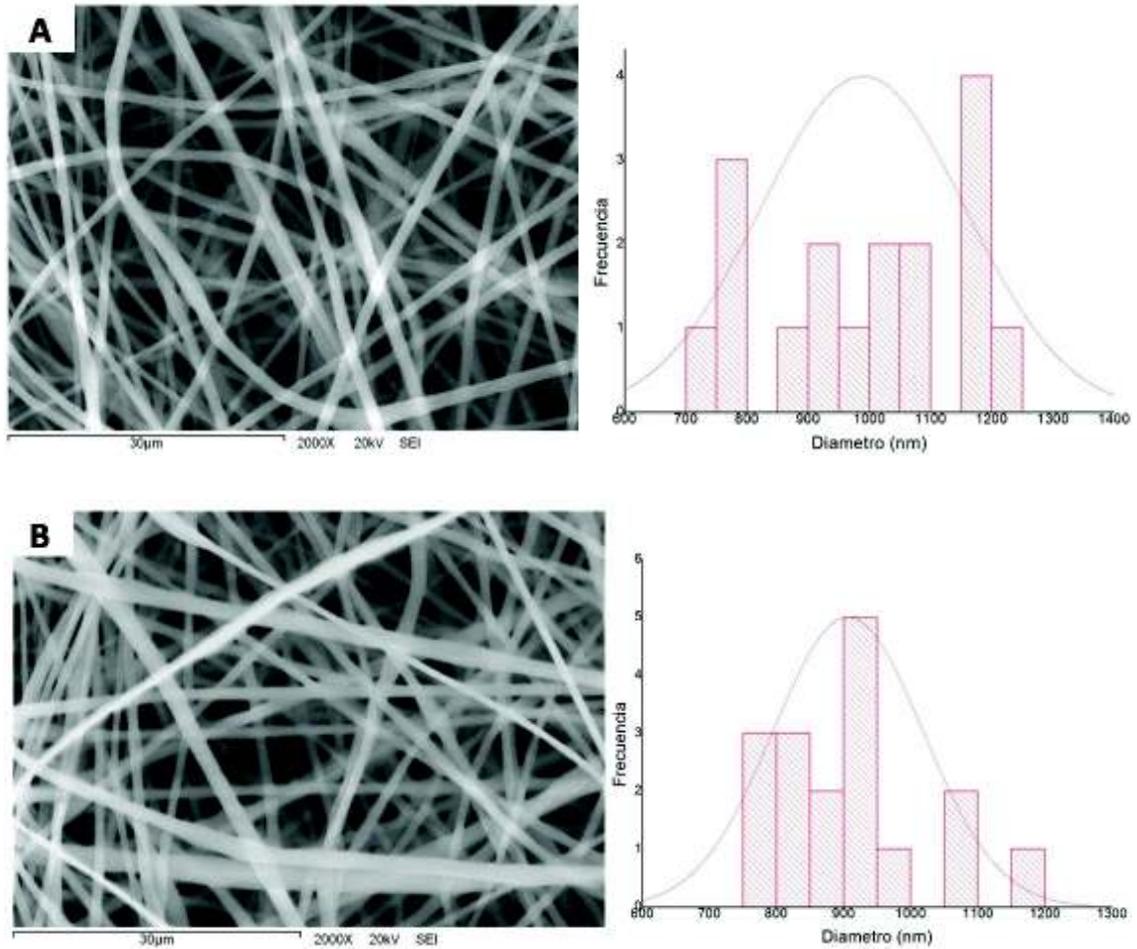


Fig. 8. Micrografías realizadas por MEB con un aumento de 2000x y el histograma de estimación del diámetro de las fibras a través del análisis de imagen de (A) membrana de PLA puro y (B) membrana compuesta PLA/Neomicina (configuración coaxial).

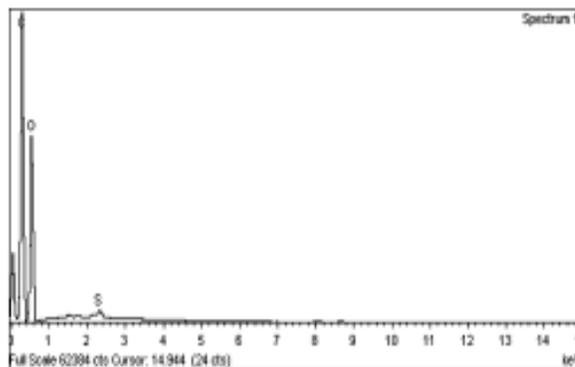


Fig. 9. Análisis EDS de la membrana compuesta PLA/Neomicina (configuración coaxial).

4.1.2 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)

La espectroscopia de infrarrojo se realizó con el objetivo de verificar la presencia o ausencia de los componentes de las membranas y observar alguna posible interacción entre ellos. En la Figura 10 se muestran los espectros FT-IR obtenidos para el sulfato de neomicina y las membranas de PLA puro y membrana compuesta de PLA y sulfato de neomicina obtenidas por configuración sencilla.

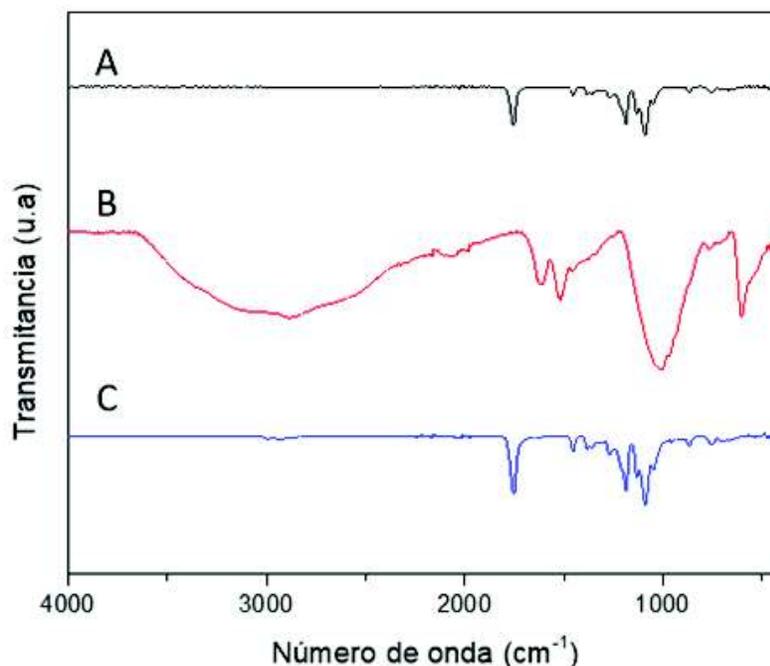


Fig. 10. Espectros infrarrojos de (A) membrana de PLA, (B) sulfato de neomicina y (C) membrana de PLA/Neomicina (configuración sencilla).

En el espectro de la membrana de PLA puro se observa la presencia de una banda a una longitud de onda de 1756 cm^{-1} correspondiente a la señal de estiramiento del grupo C=O, a 1089 cm^{-1} se muestra la señal de estiramiento del grupo C-O, a 2994 cm^{-1} y 2944 cm^{-1} aparecen las señales de los estiramientos asimétrico y simétrico respectivamente del grupo $-\text{CH}_3$, a 1186 cm^{-1} aparece la señal correspondiente al estiramiento del grupo C-O-C y a 1455 cm^{-1} y 1363 cm^{-1} se observan las señales de las flexiones asimétrica y simétrica, respectivamente del grupo $-\text{CH}_3$ [43, 44].

En el espectro del sulfato de neomicina a una longitud de onda de $3500 - 3000$

cm^{-1} , aparece una banda bastante ancha correspondiente al estiramiento del grupo O-H, a 2884 cm^{-1} se observa la señal correspondiente a la vibración de estiramiento del grupo C-H, a 1624 cm^{-1} se muestra la señal correspondiente a la flexión del grupo $-\text{NH}$, a 1520 cm^{-1} aparece la señal de estiramiento del grupo $-\text{CN}$ y a 1087 cm^{-1} se muestra la señal de estiramiento asimétrico del grupo C-O-C [45].

En el espectro de la membrana compuesta de PLA y sulfato de neomicina no se observan cambios aparentes en las posiciones de las bandas, si se compara con el espectro de la membrana de PLA puro. Además, tampoco aparece ninguna banda que evidencie la presencia de sulfato de neomicina en las membranas. Este suceso puede deberse a la poca concentración de sulfato de neomicina presente en las mismas, la cual es insuficiente para poder detectarla, además de que la técnica empleada para el análisis de las mismas fue la técnica de ATR, en la cual solo se realiza un estudio superficial de la membrana.

En la Figura 11 se muestran los espectros de las membranas obtenidas mediante configuración coaxial.

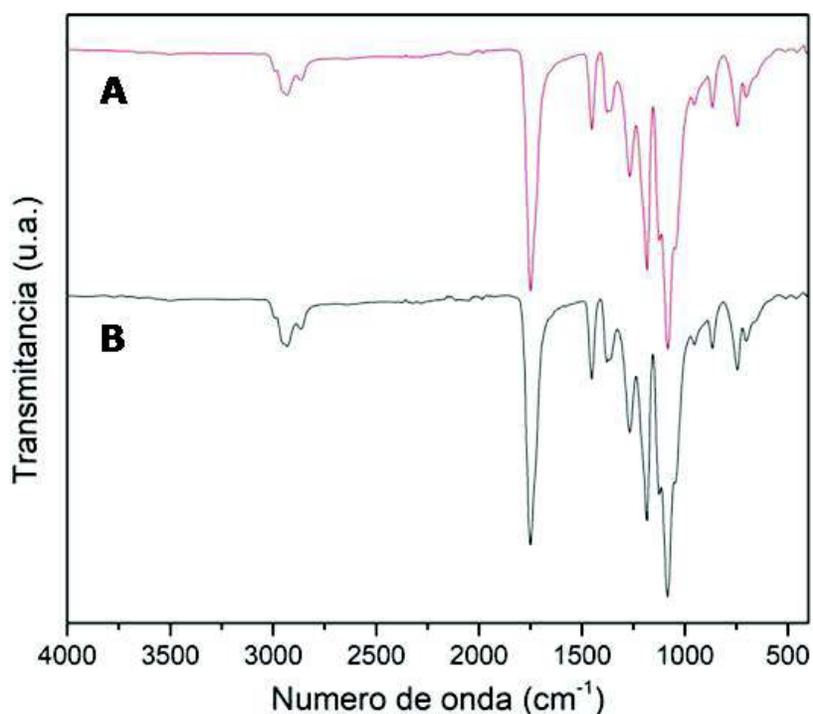


Fig. 11. Espectros infrarrojos de (A) membrana de PLA, (B) membrana de PLA/Neomicina (configuración coaxial).

En el espectro de la membrana de PLA puro se observa la presencia de una banda a una longitud de onda de 1754 cm^{-1} correspondiente a la señal de estiramiento del grupo C=O, a 1082 cm^{-1} se muestra la señal de estiramiento del grupo C-O, a 2939 cm^{-1} y 2863 cm^{-1} aparecen las señales de los estiramientos asimétrico y simétrico respectivamente del grupo $-\text{CH}_3$, a 1186 cm^{-1} aparece la señal correspondiente al estiramiento del grupo C-O-C y a 1453 cm^{-1} y 1364 cm^{-1} se observan las señales de las flexiones asimétrica y simétrica, respectivamente del grupo $-\text{CH}_3$ [43, 44].

De igual manera que lo ocurrido en las membranas de configuración sencilla, el espectro de la membrana compuesta de PLA y sulfato de neomicina es muy similar al obtenido para la membrana de PLA puro, no aparece ninguna señal que evidencie la presencia sulfato de neomicina en las membranas. Este suceso puede deberse a la poca concentración de sulfato de neomicina presente en las mismas, la cual es insuficiente para poder detectarla y también a que la técnica empleada para el análisis, fue la técnica de ATR, donde solo se realiza un análisis superficial de la muestra.

4.1.3 Análisis termogravimétrico

Con el propósito de evaluar la estabilidad térmica de las membranas obtenidas se realizó un estudio de análisis termogravimétrico, en el cual se registró la pérdida de peso de la muestra en la medida en que se incrementó la temperatura bajo condiciones controladas de ambiente y velocidad de calentamiento. Con el objetivo de determinar si el fármaco sulfato de neomicina tenía algún efecto en la estabilidad térmica de las membranas de PLA, se realizó un análisis a las membranas de PLA puro y de PLA con sulfato de neomicina. Además, se realizó un análisis de la estabilidad térmica del fármaco por sí solo. Mediante este tipo de análisis también es posible verificar la presencia del fármaco en las membranas.

En la Figura 12 se muestran los termogramas del sulfato de neomicina y de las membranas de PLA puro y de PLA con sulfato de neomicina, elaboradas mediante configuración sencilla.

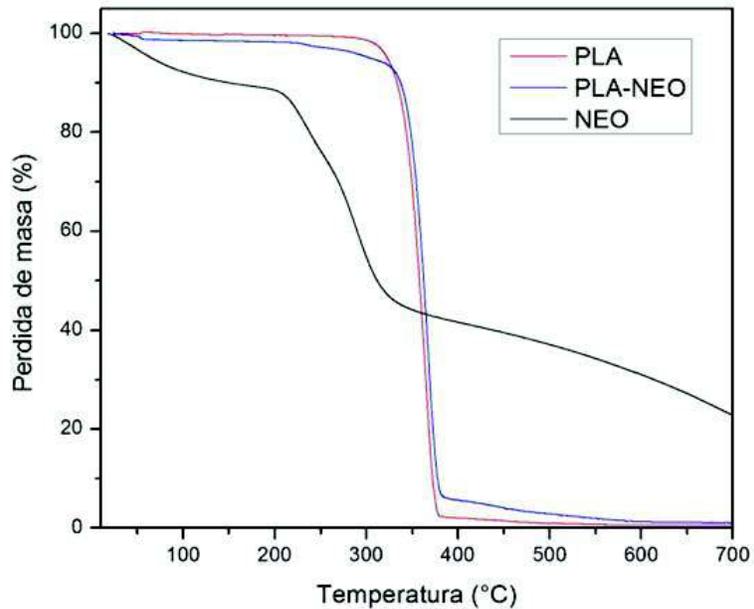


Fig. 12. Termograma del sulfato de neomicina, membrana de PLA puro y membrana compuesta PLA/Neomicina (configuración sencilla).

El termograma del sulfato de neomicina muestra una degradación de cuatro pasos, siendo el primero alrededor de los 123 °C, donde pierde alrededor del 8% de su masa, lo cual es atribuible a la humedad presente en el compuesto, un segundo paso alrededor de 235 °C donde pierde el 11% de su masa, un tercer paso a 295 °C, donde se pierde alrededor del 24% de su masa y el cuarto paso es una degradación sostenida a partir de 350 °C que se extiende hasta 800 °C [4].

El termograma de la membrana de PLA puro muestra una degradación de un solo paso, que inicia a una temperatura de 280 °C, mientras que en la membrana compuesta de PLA con sulfato de neomicina se observa una degradación de dos pasos, el primero de ellos se da a una temperatura de 211 °C, correspondiente a la degradación del sulfato de neomicina en la membrana y el segundo a una temperatura de 315 °C, correspondiente a la degradación del PLA como tal. También se puede observar que la temperatura donde concluye la degradación es menor para la membrana de PLA puro, la cual se

muestra a una temperatura de 380 °C y de 384 ° para la membrana compuesta [5].

En la Figura 13 se presentan las derivadas de la pérdida de peso del sulfato de neomicina y de las membranas de PLA puro y de PLA con sulfato de neomicina, elaboradas mediante configuración sencilla.

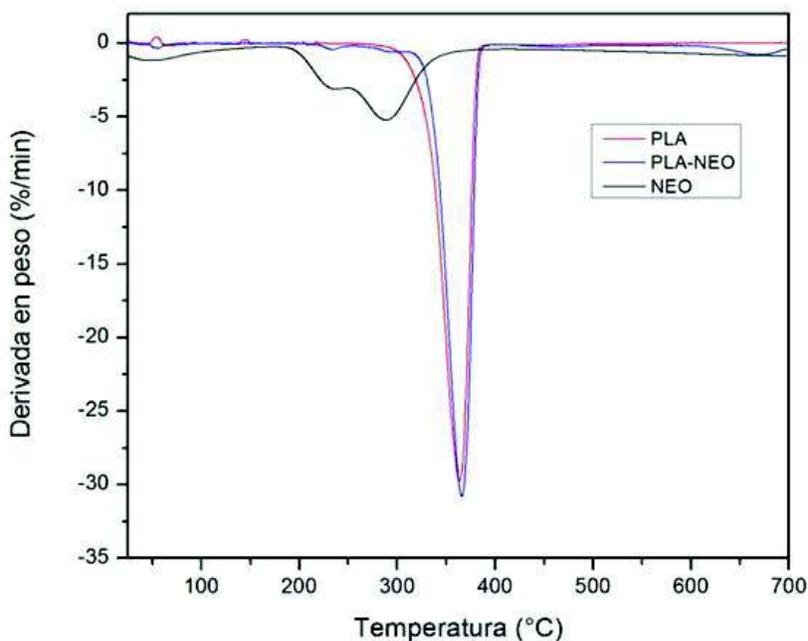


Fig. 13. Termograma de DTG del sulfato de neomicina, membrana de PLA puro y membrana compuesta PLA/Neomicina (configuración sencilla).

La temperatura máxima ($T_{m\acute{a}x}$) no es más que la temperatura a la cual se da la mayor tasa de pérdida de masa (el pico máximo) en la muestra. Este parámetro es esencial para evaluar la estabilidad térmica de un material. En la gráfica, el sulfato de neomicina mostró dos valores de $T_{m\acute{a}x}$, el primero a 233 °C y el segundo a 290 °C, correspondientes a sus respectivos pasos de degradación. En el caso de la membrana de PLA puro se observó una $T_{m\acute{a}x}$ a 359 °C, mientras que la membrana compuesta mostró dos $T_{m\acute{a}x}$, la primera a 233 °C correspondiente a la degradación del sulfato de neomicina en la membrana y la segunda a 366 °C correspondiente a la degradación del PLA. Si comparamos los valores de $T_{m\acute{a}x}$ en ambas membranas, podemos ver que este valor es mayor para el caso de la membrana compuesta. Este aumento de la $T_{m\acute{a}x}$ puede deberse a la presencia del sulfato de neomicina en la membrana, la cual

de cierta forma mejoró la estabilidad térmica del material, posiblemente producto de alguna interacción intermolecular entre estos dos componentes.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES

Se prepararon exitosamente membranas poliméricas mediante la técnica de electrohilado en dos configuraciones sencilla y coaxial, utilizando PLA como solución polimérica y sulfato de neomicina como agente terapéutico. La caracterización morfológica de las membranas obtenidas arrojó que las mismas presentaban una morfología muy semejante a listones y que las membranas que contenían sulfato de neomicina tenían un diámetro promedio de fibras inferior que las que solamente contenían PLA. Mediante la caracterización por FT-IR se evidenció la presencia de PLA en las membranas tanto en configuración sencilla como coaxial; sin embargo, no se distinguió en los espectros ninguna señal que indicara la presencia de sulfato de neomicina en las membranas, debido a la poca concentración de agente terapéutico añadida. Por otra parte, a partir de los estudios por EDS se comprobó la existencia de sulfato de neomicina en las membranas. A través de los estudios termogravimétricos se comprobó la estabilidad térmica del material y los resultados arrojaron que la presencia de sulfato de neomicina en las membranas mejoraba la estabilidad térmica de las mismas.

RECOMENDACIONES

Para estudios posteriores, se recomienda realizar los estudios de liberación de sulfato de neomicina en las membranas.

Caracterizar por microscopía electrónica de transmisión, las membranas obtenidas mediante electrohilado en configuración coaxial, para corroborar la estructura núcleo – coraza presente en las mismas.

REFERENCIAS

1. Gupta, K.C., Haider, A., Choi, Y.R. & Kang, I.K. Nanofibrous scaffolds in biomedical applications. *Biomater. Res.* **18**, 1-11 (2014).
2. Jain, K.K. Drug delivery systems. *Humana press.* **2**, 1-54 (2008).
3. Rošic, R., Kocbek, P., Pelipenko, J., Kristl, J. & Baumgartner, S. Nanofibers and their biomedical use. *Acta Pharm.* **63**, 295-304 (2013).
4. Plascencia, D.F. Preparación y caracterización de sistemas electrohilados de acetato de celulosa y polivinilpirrolidona para liberación de moléculas de interés biológico. *Tesis de Maestría.* (2018).
5. Núñez, A.F. Preparación y caracterización de sistemas electrohilados sencillos y coaxiales. Evaluación del efecto de la distribución de pinocembrina en la fibra sobre la cinética de liberación. *Tesis de Maestría.* (2018).
6. Sill, T.J. & von Recum, H.A. Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials.* **29**, 1989-2006 (2008).
7. Duque, L., Rodriguez, L. & López, M. Electrospinning: La Era De Las Nanofibras. *Rev. Iberoam. Polímeros.* **14**, 10-27 (2013).
8. Li, J., He, A., Zheng, J. & Han, C.C. Gelatin and gelatin - Hyaluronic acid nanofibrous membranes produced by electrospinning of their aqueous solutions. *Biomacromolecules.* **7**, 2243-2247 (2006).
9. Kenawy, E.R., Abdel-Hay, F.I., El-Newehy, M.H. & Wnek, G.E. Processing of polymer nanofibers through electrospinning as drug delivery systems. *Mater. Chem. Phys.* **113**, 296-302 (2009).
10. Che, A.F., Huang, X.J., Wang, Z.G. & Xu, Z.K. Preparation and surface modification of poly(acrylonitrile-co-acrylic acid) electrospun nanofibrous membranes. *Aust. J. Chem.* **61**, 446-454 (2008).
11. 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.* **11**, 1165-1188 (2018).
12. Ki, C.S. Characterization of gelatin nanofiber prepared from gelatin-formic acid solution. *Polymer (Guildf).* **46**, 5094-5102 (2005).

13. Li, Z. & Wang, C. One-Dimensional nanostructures. *Springer* . 15-28. (2013).
14. Lannutti, J., Reneker, D., Ma, T., Tomasko, D. & Farson, D. Electrospinning for tissue engineering scaffolds. *Mater. Sci. Eng. C*. **27**, 504-509 (2007).
15. Zong, X. Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes. *Polymer (Guildf)*. **43**, 4403-4412 (2002).
16. Pelipenko, J., Kristl, J., Janković, B., Baumgartner, S. & Kocbek, P. The impact of relative humidity during electrospinning on the morphology and mechanical properties of nanofibers. *Int. J. Pharm.* **456**, 125-134 (2013).
17. Bae, H.S. Fabrication of highly porous PMMA electrospun fibers and their application in the removal of phenol and iodine. *J. Polym. Res.* **20**, (2013).
18. Farah, S., Anderson, D.G. & Langer, R. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **107**, 367-392 (2016).
19. Jamshidian, M., Tehrani, E.A., Imran, M., Jacquot, M. & Desobry, S. Poly-Lactic Acid: Production, applications, nanocomposites, and release studies. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **9**, 552-571 (2010).
20. Ghalia, M.A. & Dahman, Y. Biodegradable poly(lactic acid)-based scaffolds: synthesis and biomedical applications. *J. Polym. Res.* **24**, (2017).
21. Cameron, D.J.A. & Shaver, M.P. Aliphatic polyester polymer stars: Synthesis, properties and applications in biomedicine and nanotechnology. *Chem. Soc. Rev.* **40**, 1761-1776 (2011).
22. Zamani, M., Prabhakaran, M.P. & Ramakrishna, S. Advances in drug delivery via electrospun and electrosprayed nanomaterials. *Int. J. Nanomedicine.* **8**, 2997-3017 (2013).
23. Plascencia, D.F. Preparación por electrohilado/electroaspersión y caracterización de membranas poliméricas liberadoras de fármacos. *Tesis de licenciatura.* (2016).
24. Andreetta, H.A. Fármacos de Acción Prolongada: Mecanismos de Liberación. Usos de distintos modelos. *Acta Farm. Bonaer.* **22**, 355-363 (2003).

25. Tahara, K., Yamamoto, K. & Nishihata, T. Application of model-independent and model analysis for the investigation of effect of drug solubility on its release rate from hydroxypropyl methylcellulose sustained release tablets. *Int. J. Pharm.* **133**, 17-27 (1996).
26. Costa, P. & Sousa Lobo, J.M. Modeling and comparison of dissolution profiles. *Eur. J. Pharm. Sci.* **13**, 123-133 (2001).
27. Jabeen, S. Development of a novel pH sensitive silane crosslinked injectable hydrogel for controlled release of neomycin sulfate. *Int. J. Biol. Macromol.* **97**, 218-227 (2017).
28. Spann, C.T., Tutrone, W.D., Weinberg, J.M., Scheinfeld, N. & Ross, B. Topical antibacterial agents for wound care: A primer. *Dermatologic Surg.* **29**, 620-626 (2003).
29. Díaz, R.O. Preparación y caracterización de fibras poliméricas por electrohilado para su aplicación en cultivo celular. *Tesis de Maestría.* (2012).
30. López, R.R., Tsutsumi, V., Frixione, E. Temas Selectos de Biología Celular, Microscopio Electrónico. (1986).
31. Skoog, D.A., Holler, F.J., Crouch, S.R. Principios de Análisis Instrumental. *Cengage Learning.* **6**, (2008).
32. Townsend-Nicholson, A. & Jayasinghe, S.N. Cell electrospinning: A unique biotechnology for encapsulating living organisms for generating active biological microthreads/scaffolds. *Biomacromolecules.* **7**, 3364-3369 (2006).
33. https://es.wikipedia.org/wiki/Microscopio_electr%C3%B3nico_de_barrido
34. Skoog, D.A., Leary, J.J. Analisis Instrumental. *Mac Graw Hill.* **4**, 169-351 (1999).
35. Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A. Principios de análisis instrumental. *McGraw-Hill.* **5**, 614-633. (2001).
36. Aparicio, S.M. Metodologías analíticas basadas en espectroscopia de infrarrojo y calibración multivariante. Aplicación a la industria petroquímica. *Tesis Doctoral.* (2002).
37. Hanke, L. Handbook of analytical methods for materials. *Plymouth.* (2001).

38. Megelski, S., Stephens, J.S., Bruce Chase, D. & Rabolt, J.F. Micro- and nanostructured surface morphology on electrospun polymer fibers. *Macromolecules*. **35**, 8456-8466 (2002).
39. Johnson, C.D.L., D'Amato, A.R. & Gilbert, R.J. Electrospun Fibers for Drug Delivery after Spinal Cord Injury and the Effects of Drug Incorporation on Fiber Properties. *Cells Tissues Organs*. **202**, 116-135 (2016).
40. Schaub, N.J. & Gilbert, R.J. Controlled release of 6-aminonicotinamide from aligned, electrospun fibers alters astrocyte metabolism and dorsal root ganglia neurite outgrowth. *J. Neural Eng.* **8**, (2011).
41. Liu, H., Leonas, K.K. & Zhao, Y. Antimicrobial properties and release profile of ampicillin from electrospun poly(ϵ -caprolactone) nanofiber yarns. *J. Eng. Fiber. Fabr.* **5**, 10-19 (2010).
42. Zeng, J. Biodegradable electrospun fibers for drug delivery. *J. Control. Release*. **92**, 227-231 (2003).
43. Leyva-Verduzco, A.A. Electrospun tubes based on PLA, gelatin and genipin in different arrangements for blood vessel tissue engineering. *Polym. Bull.* (2019) (prensa)
44. Wang, D.K. FT-IR characterization and hydrolysis of PLA-PEG-PLA based copolyester hydrogels with short PLA segments and a cytocompatibility study. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **51**, 5163-5176 (2013).
45. Zinn, K.M. & Leopold, I.H. Molecular biology of the cell. *Int. Ophthalmol. Clin.* **13**, 53-81 (1973).