

UNIVERSIDAD DE SONORA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

**PREPARACIÓN DE MEMBRANAS POLIMÉRICAS Y SUS
PROPIEDADES DE LIBERACIÓN DE TRICLOSÁN**

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el Título de
QUÍMICO BIÓLOGO CLÍNICO

Presentan:
Miriam Lizeth Dávila Varela
Carmen Karina Saavedra Hernández

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

VOTOS APROBATORIOS

Los miembros del jurado calificador del examen profesional de Miriam Lizeth Dávila Varela y Carmen Karina Saavedra Hernández hemos revisado detenidamente su trabajo escrito titulado Preparación de Membranas Poliméricas y sus Propiedades de Liberación de Triclosán y encontramos que cumple con los requisitos para la presentación de su examen profesional. Por tal motivo recomendamos se acepte dicho trabajo como requisito parcial para la obtención de título de Químico Biólogo Clínico

Atentamente:

Dra. María Mónica Castillo Ortega
Presidente del jurado

M. en C. María Lucila Rascón Durán
Secretario

Dra. Dora Evelia Rodríguez Félix
Vocal

Dr. Juan Carlos Gálvez Ruiz
Suplente

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Sonora, por darnos la oportunidad de alcanzar esta meta, gracias a los profesores quienes durante los años de la carrera se esmeraron por dar lo mejor para nuestra formación profesional, por los conocimientos teóricos y las experiencias vividas.

Al Departamento de Polímeros y Materiales por permitirnos el uso de los laboratorios y todas las facilidades otorgadas para la realización de los experimentos.

A la Dra. María Mónica Castillo Ortega, por dirigir esta tesis, por confiar en nosotras desde el inicio, por su gran apoyo, paciencia y dedicación en la realización de este proyecto así como sus grandes enseñanzas y valiosa retroalimentaciones profesionales. Así también a Gabriela Montañón por toda la ayuda brindada, asesoría y por estar siempre cuando la necesitamos por acompañarnos hasta los fines de semana.

Miriam Lizeth Dávila Varela

A mis padres por haberme brindado la oportunidad de estudiar una carrera, por su esfuerzo, dedicación y entera confianza; gracias por su paciencia en esos momentos de enojo, tristeza y en los momentos felices.

A mis abuelos, tíos y primos, por siempre brindarme el apoyo y orientación en los momentos más difíciles y cuando más lo necesite y gracias por haber fomentado en mí el deseo de superación y el anhelo de triunfo en la vida.

A mis amigos que siempre estuvieron a mi lado para ayudarme, escucharme, aconsejarme y desestresarme.

A Karina quien acepto realizar este trabajo juntas que sin su apoyo y confianza no se hubiera podido sacar adelante esta tesis, gracias por ser una gran persona y sobre todo ser mi amiga.

Karina

A mi mis padres por siempre estar al pendiente de todas mis necesidades sin importar la hora, porque me han enseñado que no importa el tamaño de los obstáculos que la vida te ponga siempre se puede salir delante de la mejor manera posible y con la frente en alto, porque sin ellos yo no estaría ni habría llegado hasta este punto de mi vida, gracias por que no existen las vacaciones para ustedes los amo con todo mi corazón.

A mi hermana porque sin todos los regañones y jaladas de oreja autorizadas o no por mi mamá, porque siempre me dio todos los buenos consejos que una hermana mayor puede dar.

A mi hermano porque sin su ayuda yo no estaría aquí.

A Miriam que fue de las últimas personas que conocí en esta carrera, pero que es de esas personas que vale la pena conocer, gracias por haber aceptado recorrer este camino juntas y por haberme dado la confianza para realizar este trabajo.

A los mejores amigos que uno puede pedir encontrar en esta carrera Juan y Thelma, porque fueron demasiados los días en los cuales hablamos de escuela y lo seguiremos haciendo pero ahora como un recuerdo.

A mi mejor amigo de toda la vida Noé porque no importaba la hora siempre escucho, escucha y sé que seguirá escuchándome.

A mis amigos Iván y Grecia por ayudarme y desvelarse junto conmigo en este trabajo los quiero mucho son lo más, a su hijo Iván Alejandro por quitarme el estrés con su linda sonrisa y ser un bebe tan hermoso.

DEDICATORIA

A Dios, porque nos ha dado la oportunidad de vivir la experiencia del saber y por ayudarnos a alcanzar nuestras metas.

A nuestros padres, porque hemos llegado a esta etapa gracias a ustedes; gracias por su paciencia y comprensión, porque a pesar de las dificultades han realizado el máximo esfuerzo para darnos lo mejor; reconocemos su infinito esfuerzo por educarnos y formarnos, por los valores que siempre nos han inculcado. Esta tesis se la dedicamos con mucho cariño a ustedes, como símbolo de gratitud por el amor incondicional que siempre nos han manifestado.

A nuestros hermanos para que siempre tengan en cuenta que todo lo que nos proponamos en la vida lo podemos lograr si trabajamos fuerte y continuamente con rectitud, sigan adelante y para que los éxitos de hoy sean los suyos mañana y siempre.

A nuestra directora de tesis, la Dra. María Mónica Castillo Ortega, por el infinito apoyo otorgado, por compartir sus conocimientos, experiencias y consejos.

CONTENIDO

	Página
Lista de tablas	viii
Lista de figuras	ix
Objetivos	xi
Resumen	xii
INTRODUCCION	13
ANTECEDENTES	14
Electrohilado	14
Variables en el Proceso de Electrohilado	17
Propiedades del polímero	17
Parámetros del procesamiento	17
Condiciones ambientales	18
Tipos de Arreglo	18
Arreglo coaxial	20
Fibras Electrohiladas	22
Aplicaciones	22
Ingeniería de tejidos	23
Regeneración de tejidos	24
Cosméticos	24
Vendaje de heridas	24
Prótesis medicas	25
Aplicaciones en la filtración	25
Aplicaciones eléctricas y ópticas	25
Aplicaciones en ropa protectora	25
Liberación controlada de fármacos	26
Sistemas Poliméricos	27
Poli (vinil pirrolidona) (PVP)	27
Acetato de Celulosa (AC)	28
Fármaco	30
Triclosán	30
Técnicas de Caracterización	31
Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)	31
Espectroscopia de Infrarrojo	33
Espectroscopia de Ultravioleta Visible	35
MATERIALES Y METODOS	37
Preparación de Membranas Fibrosas y Poliméricas	37
Concentración del fármaco 6.25%	38
Concentración del fármaco 3% (concentración indicada)	38
Caracterización	41
Microscopia Electrónica de Barrido	41
Espectroscopia de Infrarrojo con Transformada de Fourier	41

Cinéticas de Liberación Controlada del Fármaco	41
RESULTADOS Y DISCUSION	43
Preparación de Membranas AC/PVP+Triclosán/AC	43
Caracterización	45
Microscopia Electrónica de Barrido	45
Espectroscopia de Infrarrojo con Transformada de Fourier	50
Liberación Controlada del Fármaco	52
CONCLUSIONES	54
RECOMENDACIONES	55
BIBLIOGRAFIA	56

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Relación de polímeros electrohilados en la última década y sus aplicaciones.....	16
2	Efectos de los parámetros del proceso de electrohilado en la morfología de la fibra	18
3	Polímeros naturales y sintéticos para aplicaciones biomédicas y su biodegradabilidad	23
4	Frecuencias características de absorción infrarroja de grupos funcionales.....	34
5	Condiciones usadas en la preparación de membranas con estructura AC/PVP+Triclosán/AC con una concentración del 6.25% de triclosán ..	39
6	Condiciones usadas en la preparación de membranas con estructura AC/PVP+Triclosán/AC con una concentración del 3% de triclosán.....	40
7	Condiciones optimas para la obtención de membranas fibrosas AC/PVP+Triclosán/AC con una concentración de 0.5 gramos de triclosán.....	44
8	Condiciones optimas para la obtención de membranas fibrosas AC/PVP+Triclosán/AC con una concentración de 0.24 gramos de triclosán.....	45

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Representación esquemática del proceso de electrohilado.....	15
2	Proceso de electrohilado de aguja sencilla	19
3	Esquema de configuración de aguja lado a lado.....	20
4	Esquema de configuración de agujas coaxiales.....	21
5	Estructura de poli (vinil pirrolidona)	28
6	Estructura de acetato de celulosa	29
7	Estructura del triclosán	31
8	Diagrama del microscopio electrónico de barrido.....	32
9	Microfotografía de la membrana AC/PVP+Triclosán/AC con concentración del 3% a 5000X.....	46
10	Microfotografía de la membrana AC/PVP+Triclosán/AC con concentración del 3% a 500X.....	47
11	Microfotografía de la membrana AC/PVP+Triclosán con concentración del 6.25% a 5000X.....	47
12	Microfotografía de la membrana AC/PVP+Triclosán/AC con concentración del 36.25% a 500X	48
13	Microfotografía de la membrana AC/PVP+Triclosán/AC con concentración del 3% después de liberar a 5000X.....	48
14	Microfotografía de la membrana AC/PVP+Triclosán/AC con concentración del 6.25% después de liberar a 5000X.....	49
15	Microfotografía de la membrana de AC/PVP+Triclosán/AC.....	49
16	Espectro FTIR de (a) *AC, (b) *PVP, (c) *Triclosán, (d)*AC/PVP+Triclosán/AC con 0.24 gramos, (e)* AC/PVP+Triclosán/AC con 0.24 gramos después de su liberación, (f)* AC/PVP+Triclosán/AC con 0.5 gramos, (g)* AC/PVP+Triclosán/AC con 0.5 gramos después de su liberación....	51

17	Cinética de liberación de triclosán en etanol de la membrana AC/PVP+Triclosán/AC con concentración de 3% de triclosán.....	52
18	Cinética de liberación de triclosán en etanol de la membrana AC/PVP+Triclosán/AC con concentración de 6.25% de triclosán.....	53
19	Curva de liberación del triclosán	53

OBJETIVOS

General

Preparar membranas fibrosas con estructura núcleo-coraza, a partir de soluciones de acetato de celulosa (AC) y poli(vinil pirrolidona) (PVP) con triclosán embebido en la parte nuclear de la fibra, mediante la técnica de electrohilado coaxial y evaluar su uso en la liberación controlada del fármaco.

Particulares

- Encontrar las condiciones óptimas para preparar por la técnica de electrohilado coaxial, membranas fibrosas de AC y PVP, con Triclosán adicionado en la solución de PVP quedando en el núcleo de las fibras.
- Caracterizar las membranas obtenidas por microscopía electrónica de barrido para observar su morfología; así como, por espectroscopía de infrarrojo para evaluar la presencia de cada componente en las membranas.
- Evaluar las cinéticas de liberación de triclosán en etanol.

RESUMEN

La mayoría de los fármacos alcanzan su efecto curativo, cuando sus concentraciones en sangre, están por arriba de su nivel mínimo de efectividad, cada fármaco tiene diferente vida media biológica y no puede mantener una concentración efectiva por mucho tiempo. El empleo de fibras portadoras de fármacos en el campo de la medicina ha demostrado tener varias ventajas entre las que se encuentra que mejoran la eficacia terapéutica del fármaco, reducen su toxicidad y ofrecen sitios específicos de distribución en el cuerpo. Un desarrollo interesante es la aplicación de la electrohidrodinámica para fabricar nanopartículas y nanofibras cargadas de fármaco, dicha área constituye la base del electrohilado. Este proceso utiliza una fuente de alto voltaje para inyectar carga de polaridad positiva en una solución polimérica o mezcla de ellas, que es entonces direccionada hacia el colector de polaridad opuesta. En el presente trabajo se prepararon membranas fibrosas con estructura núcleo coraza con triclosán a diferentes concentraciones incorporado dentro de la misma, a partir de acetato de celulosa (AC) y poli(vinilpirrolidona) (PVP), ambos en soluciones al 8% en peso, a través de la técnica de electrohilado coaxial. Las membranas preparadas fueron posteriormente caracterizadas por Microscopia Electrónica de Barrido, (SEM) y Espectroscopia de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR) para comprobar que el triclosán se encontraba embebido en la fibra. Se obtuvieron fibras de diámetro de aproximadamente 1 μm . Se probó la liberación del triclosán a partir de las membranas fibrosas utilizando etanol como el medio de liberación en las cuales la liberación fue del 5%. No se obtuvieron los resultados deseados en liberación, mas sin embargo si hubo.

INTRODUCCION

El triclosán es un agente antimicrobiano de amplio espectro contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, también contra algunos hongos y levaduras. El triclosán es bacteriostático debido a que a bajas concentraciones bloquea la síntesis de lípidos y a altas concentraciones provoca la desestabilización de membranas e induce a una fuga de potasio (K) que lleva a un rápido efecto bactericida. También muestra efectos anti-inflamatorios en la aplicación tópica. (Queckenberg y col., 2010)

Las membranas compuestas de micro/nano fibras poliméricas son materiales sumamente interesantes, debido a su gran área superficial para un volumen deseado aportando propiedades nuevas e interesantes. El electrohilado es uno de los procesos más versátiles para preparar este tipo de fibras ya que es utilizable en una gran variedad de materiales a un bajo costo con un campo amplio de aplicación, como ingeniería, medicina, química por mencionar algunas. (Del valle y col., 2012). El electrohilado hace uso de fuerzas electroestáticas para obtener una membrana de un polímero a partir de una solución diluida del mismo. Esta técnica proporciona un estiramiento de la cadena del polímero y una reducción significativa del área de sección transversal que puede afectar a la orientación de las cadenas moleculares dentro de la fibra y esto influye fuertemente en las propiedades mecánicas de las nanofibras. (Del valle y col., 2012)

La técnica de electrohilado fue descrita originalmente por Zeleny en 1914 para producir redes interconectadas de nanofibras de soluciones poliméricas, explorando con ello el potencial de las membranas fibrosas en diferentes aplicaciones, como se ha publicado en diferentes investigaciones; por ejemplo, la liberación controlada de fármacos. (Zheng-Ming y col., 2003)

En el presente trabajo se prepararon por la técnica de electrohilado membranas de acetato de celulosa y polivinilpirrolidona con triclosan embebido, se caracterizaron las membranas obtenidas por microscopía electrónica de barrido y por espectroscopia de infrarrojo. Se evaluó la liberación del triclosán en un medio de etanol.

ANTECEDENTES

Electrohilado

El proceso de electrohilado parece ser el único método por el cual se pueden producir nanofibras continuas en producción masiva de varios polímeros. El término “electrohilado”. Derivado de “electrostatic spinning” fue usado relativamente reciente (alrededor de 1994) aunque la idea fundamental data de 60 años antes. De 1934 a 1944, Formalas publicó una serie de patentes, describiendo una configuración experimental para la producción de filamentos poliméricos a partir de fuerzas electroestáticas. (Zheng-Ming y col., 2003)

Una solución polimérica, como el acetato de celulosa, fue introducida dentro de un capó eléctrico. Los filamentos de polímeros se formaron, a partir de la solución, entre dos electrodos con cargas de polaridad opuesta. Uno de los electrodos fue colocado en la solución y el otro en el colector. Una vez expulsado de la jeringa de metal con un pequeño orificio, los chorros de la solución cargada se evaporaban convirtiéndose en fibras que fueron recogidas en un colector. La diferencia potencial depende de las propiedades de la solución, como el peso molecular del polímero y su viscosidad. Cuando la distancia entre la aguja y el colector es muy corta, las fibras tienden a pegarse al aparato colector debido a que no hay evaporación completa del solvente. (Zheng-Ming y col., 2003)

El diagrama esquemático para interpretar el electrohilado de nanofibras poliméricas se muestra en la figura 1. Donde se muestran los 3 componentes del proceso: una fuente de alto voltaje, un capilar con aguja de diámetro pequeño y una placa colectora. En el proceso de electrohilado el alto voltaje es usado para crear una carga eléctrica en el chorro de polímero antes de alcanzar el colector. La solución se evapora o solidifica y se colectada como una red interconectada de pequeñas fibras, un electrodo se coloca en la solución y el otro en el colector. En la mayoría de los casos el colector es simplemente conectado a tierra. (Zheng-Ming y col., 2003)

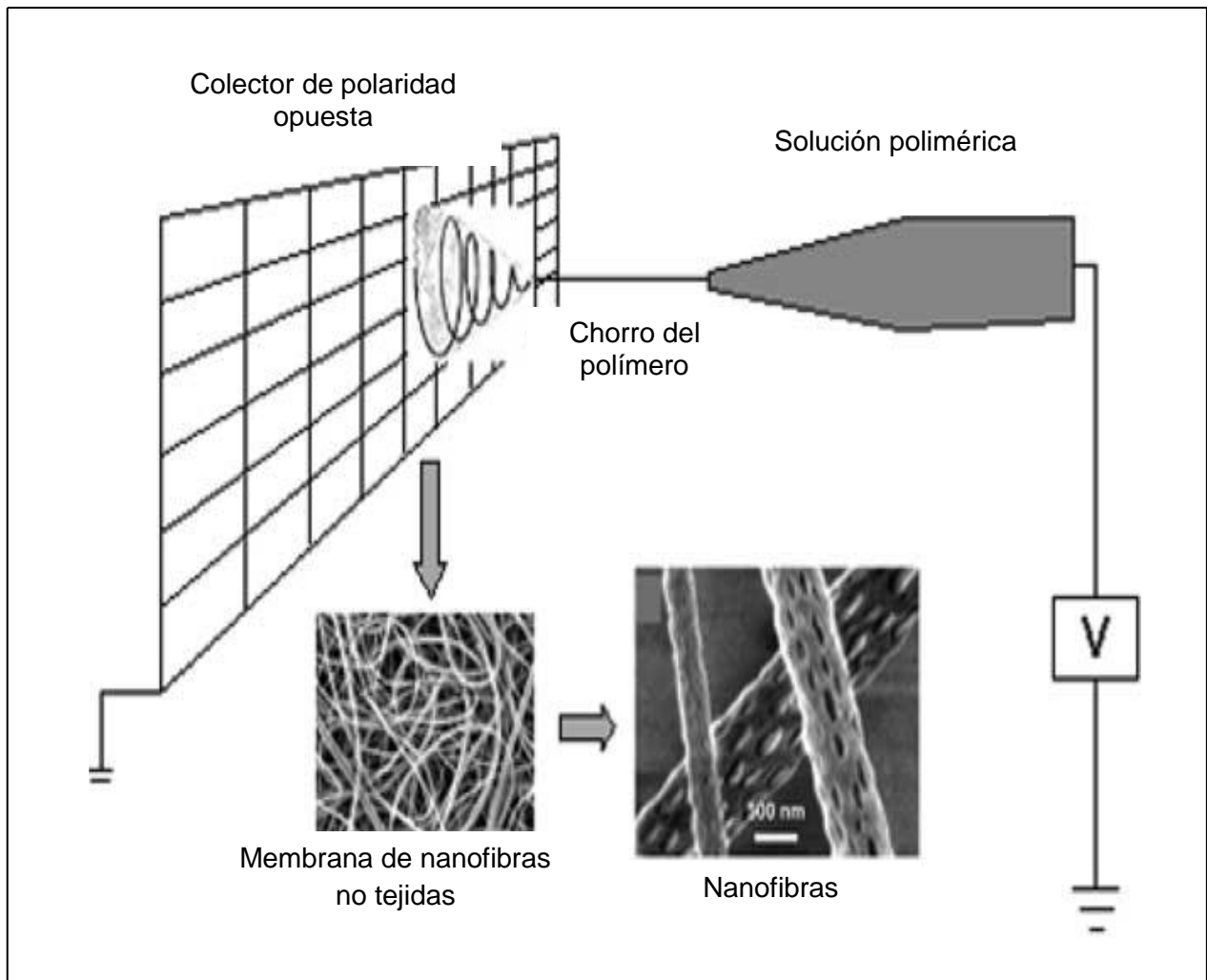


Figura 1. Representación esquemática del proceso de electrohilado

Tomado de la fuente (Rodríguez y col., 2011)

El campo eléctrico se forma en la punta del tubo capilar que contiene el fluido en solución el cual tendrá una tensión superficial. Esto induce una carga en la superficie del líquido. Las cargas de repulsión y de atracción de las superficies cargadas al electrodo causan una fuerza de oposición directa a la tensión superficial. Al aumentar la intensidad del campo eléctrico la superficie hemisférica del líquido en la punta del capilar se alarga hacia una forma cónica la cual se conoce como cono de Taylor. (Zheng-Ming y col., 2003). Aumentando aun más el campo eléctrico se alcanza un valor crítico con el cual las fuerzas electroestáticas se

vuelven mayores a la tensión superficial y carga el chorro del líquido expulsado de la punta del cono de Taylor. El chorro de solución del polímero se somete a una alta inestabilidad y elongación del proceso, lo que permite que el chorro sea muy largo y delgado. Mientras tanto el solvente se evapora dejando una fibra del polímero. En el caso de la fusión del chorro descargado este solidifica mientras viaja en el aire. (Zheng-Ming, y col., 2003)

A la fecha, más de 100 diferentes polímeros, han sido exitosamente hilados en fibras ultra finas usando esta técnica (Long y col., 2006). Una relación de publicaciones relacionadas con electrohilado en los pasados 10 años se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Relación de polímeros electrohilados en la última década y sus aplicaciones

Polímero (s)	Aplicación	Año	Referencia
Nylon6,6, PA-6,6	Protección de ropa	2002	(Schreuder-Gibson y col.)
Dextrano y ácido poli (láctico-co-glicólico) (PLGA)	Biomédica	2004	(Maretschek y col., 2008)
Polycarbonato	Protección de ropa	2004	(Schreuder-Gibson y col.)
Poli(l-lactico-co-ε- caprolactona)[P(LLA)- CL]	Ingeniería de tejidos	2005	(Jiang y col., 2004)
Colágeno, PEO	Ingeniería de tejidos	2001	(Huang y col., 2001)
Gelatina y Ácido Hialurónico- Gelatina.	Ingeniería de tejidos	2006	(Hong y col., 2001)

Variables en el Proceso de Electrohilado

Propiedades del polímero. Dependiendo de un número de parámetros de la solución, pueden ser obtenidos resultados muy diferentes usando el mismo polímero y configuración del electrohilado. Es por esto que es difícil dar una relación cuantitativa que pueda aplicarse en un amplio intervalo de sistemas polímero-solvente. Sin embargo, hay tendencias generales que son útiles para determinar las condiciones óptimas para cada sistema. La concentración del polímero determina el grado de hilado de la solución, es decir si puede o no formar fibra. La solución debe tener una concentración suficientemente alta, para que ocurra el desenredo de la cadena, sin embargo, la solución no debe ser muy diluida o muy concentrada. Si la solución es muy diluida entonces la fibra polimérica puede romperse en gotas antes de alcanzar el colector debido a los efectos de la tensión superficial, por el contrario, si la solución está muy concentrada, entonces las fibras no pueden ser formadas debido a su alta viscosidad, pues dificulta el control de la tasa de flujo del capilar. La elección del solvente es también crítica en la formación de fibras ya que (además de influir en la porosidad de la fibra), para que ocurra una evaporación suficiente del solvente entre el capilar y el colector, se debe usar un solvente volátil. (Hong y col., 2001)

Parámetros del procesamiento. Agrupados en orden de impacto, estos parámetros son: el voltaje aplicado, velocidad de flujo del polímero y distancia del capilar al colector. Todos pueden influenciar en la formación de las fibras. Su relación con la morfología de la fibra se resume en la Tabla 2. (Hong y col., 2001)

Tabla 2. Efectos de los parámetros del proceso de electrohilado en la morfología de la fibra.

Parámetro	Efecto en la morfología de la fibra.
Voltaje aplicado	Si aumenta, el diámetro de la fibra disminuye inicialmente, luego vuelve a aumentar.
Flujo	Si aumenta, también lo hace el diámetro de la fibra (ocurren morfologías con cuentas si el flujo es muy alto)
Distancia entre el capilar y el colector	Con su aumento, el diámetro de la fibra disminuye (Ocurren morfologías con cuentas/gotas si la distancia es muy corta)

Tomado de la fuente: (Hong y col., 2001)

Condiciones ambientales. La mayoría de los trabajos de investigación publicados se enfocan en los parámetros que pertenecen a los primeros dos grupos. Sin embargo, los parámetros ambientales como la humedad y la temperatura, influyen en el proceso y por ende en el resultado del mismo. (De Vrieze y col., 2009). Ejemplo de lo anterior, es el estudio de S. De Vrieze y col., quienes investigaron la influencia de las condiciones ambientales en el proceso de generación de fibras de acetato de celulosa (AC) y poli(vinil pirrolidona) (PVP). Los parámetros afectados por la temperatura, son la tasa de evaporación del solvente y la viscosidad de la solución polimérica. Mientras que la humedad, también influye en la tasa de evaporación del solvente, y junto con la influencia de la temperatura causan un efecto sinérgico, principalmente, en el diámetro promedio de la fibra. (De Vrieze y col., 2009)

Tipos de arreglos. Los procesos de electrohilado pueden clasificarse según la configuración de la aguja (sencilla, lado a lado y coaxial). La configuración más simple y común, donde existen básicamente tres componentes para completar el proceso: una fuente de alto voltaje, un tubo capilar con una pipeta o aguja de diámetro pequeño, y una pantalla de metal recolectora (figura 2). (Zheng-Ming y col., 2003)

En décadas recientes, muchos sistemas polímero/solvente, han sido fabricados a través del electrohilado con aguja sencilla, que se ha convertido en un método común para preparar fibras ultra finas para aplicaciones biomédicas. Las fibras compuestas también pueden ser fabricadas a través de mezclas de polímeros. Esta capacidad es significativa debido a que

algunas propiedades deseables de múltiples polímeros pueden ser combinadas. (Leung y col., 2010)

No obstante, la técnica de electrohilado con aguja sencilla tiene la limitante de poder obtener fibras con múltiples polímeros, estos deben ser solubles en el mismo disolvente. Cuando esto no es posible se puede utilizar una configuración lado a lado. En ella dos soluciones poliméricas por separado pasan a través de dos diferentes capilares o agujas, que son fijados lado a lado (figura 3) en el caso de la configuración lado a lado, conectar cada aguja a una fuente de alto voltaje individual puede causar interferencia entre las dos agujas debido a la variación en la carga de cada aguja. Una consideración importante en la configuración lado a lado es la distribución uniforme de la carga. Una barra metálica puede ser atada a las agujas para distribuir la carga, y las agujas pueden ser conectadas a una fuente común de alto voltaje debido a la barra metálica. (Leung y col., 2010)

El electrohilado de partículas de segunda fase no está limitado a sólidos. (Wang y col., 2010)

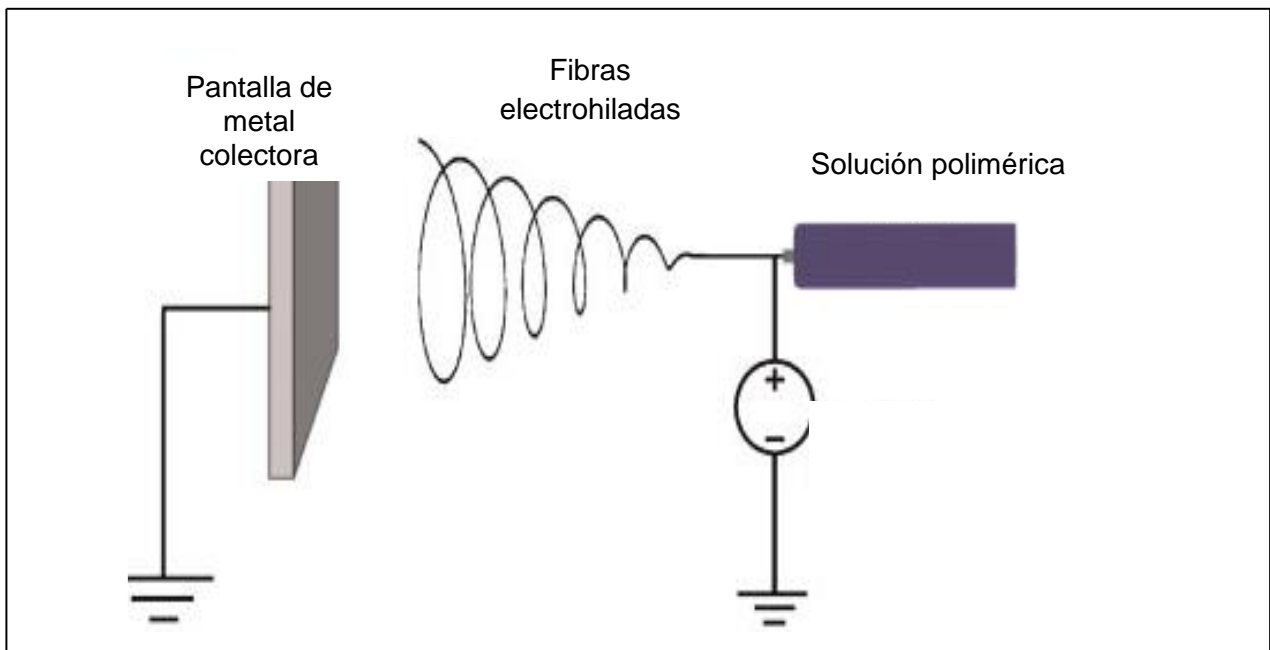


Figura 2. Proceso de electrohilado de aguja sencilla

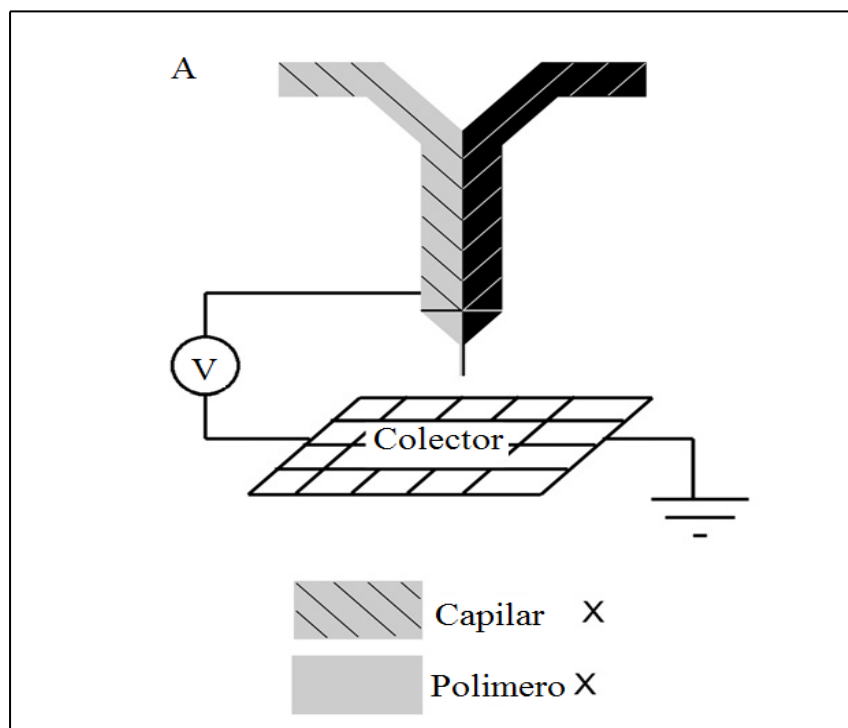


Figura 3. Esquema de configuración de aguja lado a lado.

Tomado de la fuente (Hong y col., 2001)

Arreglo coaxial. Una modificación de la técnica sencilla de electrohilado ampliamente conocida, es el electrohilado coaxial (figura 4). Se puede apreciar en la figura que hay dos canales separados los cuales pueden acarrear una solución polimérica distinta en cada uno, un método de fabricación de fibras con un núcleo coaxial y el componente de coraza, donde cada uno puede tener diferentes solubilidades en solventes orgánicos y acuosos. En ciertos casos, se requiere que el núcleo sea hidrofóbico para permitir la formación de la fibra después de la evaporación del solvente orgánico volátil. (Rodríguez y col., 2011) (Chakraborty y col., 2009)

Las nanofibras con estructura núcleo-coraza son adecuadas para aplicaciones biomédicas, como las que contienen PLGA en la coraza y quitosano en el núcleo en sistemas de liberación de fármacos. En una fibra con estructura núcleo-coraza, los fármacos o proteínas pueden ser incorporados en el núcleo de la fibra protegido por la coraza la cual puede estar compuesta de un polímero mecánicamente más estable o menos degradable. En efecto las

nanofibras con estructura núcleo-coraza añaden una capa extra de control para la liberación de fármacos o proteínas, permitiendo un perfil de liberación más adecuado. Otra ventaja del electrohilado coaxial es que la solución del núcleo no necesita ser electrohilada. El factor más importante es que la coraza de la fibra pueda ser electrohilada para obtener un canal uniforme para poder cargar a la solución de la coraza. (Wang y col., 2010)

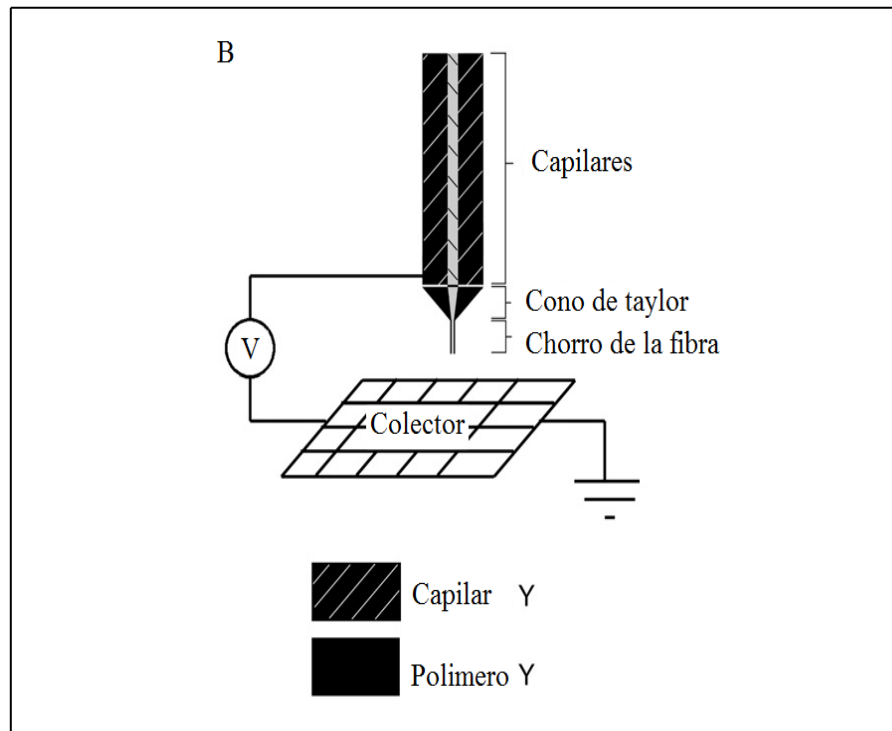


Figura 4. Esquema de configuración de aguja coaxial.

Tomado de la fuente: (Hong y col., 2001)

Fibras Electrohiladas

Aplicaciones. Las fibras electrohiladas son útiles en una amplia gama de aplicaciones en diferentes áreas de la investigación y son particularmente interesantes para los campos de ingeniería biomédica como la cicatrización de heridas, andamios para ingeniería de tejido, cosméticos y sistemas de liberación de fármacos. (Maretschek y col., 2008)

Las interconexiones, las estructuras porosas tridimensionales y las enormes áreas superficiales de las membranas de electrohilado preparadas a partir de polímeros biodegradables tienen un gran potencial en ingeniería de tejidos, liberación de fármacos, terapia génica etc. Debido a su biodegradabilidad, biocompatibilidad y propiedades para formar fibras, los poliésteres alifáticos son los más estudiados entre los polímeros biodegradables. (Leung y col., 2010)

La tabla 3 resume algunos de los polímeros sintéticos y naturales utilizados para aplicaciones biomédicas y su biodegradabilidad. La variedad de polímeros disponibles permite una selección basada en los diferentes criterios para cada aplicación. Esta versatilidad combinada con el control de las propiedades de los parámetros de electrohilado, como el diámetro de la fibra y la porosidad, permite que la tecnología de las nanofibras sea un método altamente adaptable para resolver algunos retos biomédicos. (Wang y col., 2010)

Tabla 3. Polímeros naturales y sintéticos utilizados para aplicaciones biomédicas y su biodegradabilidad.

Material	Biodegradabilidad
Natural	
Alginato	Rápido
Quitosano	Rápido
Colágeno	Lento
Gelatina	Lento
Seda	Lento
Celulosa	Lento
Acido hialurónico	Rápido
Sintético	
Poli(vinil) alcohol	Rápido
Poli(caprolactona)	Lento
Acido glicólico poli(láctico)	Lento
Poli(uretano)	No
Poli (etilen vinil acetato)	No

Tomado de la fuente (Leung y col., 2010)

Ingeniería de tejidos. Para el tratamiento de tejidos u órganos en malfuncionamiento en el cuerpo humano, uno de los desafíos del área de ingeniería de tejidos/biomateriales es el diseño ideal de las membranas/matrices sintéticas que puedan simular la estructura y funciones biológicas de la matriz extracelular natural. Las células de humano se pueden atar y organizar bien en las fibras con diámetros más pequeños que las células. Con respecto a esto, las membranas fibrosas a nano escala se pueden proveer en una plantilla optima para que las células se multipliquen crezcan y migren. La regeneración exitosa de tejido biológico y órganos celulares para el desarrollo de estructuras fibrosas beneficia a la proliferación y disposición de células. (Zheng-Ming y col., 2003)

Las nanofibras para la regeneración de tejido son altamente adaptables por su amplio intervalo de polímeros biocompatibles disponibles, y su flexibilidad en la optimización del proceso. Varios polímeros han sido deseables para propiedades biomédicas, como el quitosano

que es apto para ayudar a la coagulación de la sangre, y como tal puede ser considerado para aplicaciones en tejidos específicos. Además, el proceso de electrohilado, puede ser usado para mejorar el rendimiento de las membranas de nanofibras. También los agentes bioactivos como las proteínas pueden ser agregados a las membranas de nanofibras, para mejorar el rendimiento. Para regeneración de tejido de la piel, se desea encontrar un mejor desempeño, alternativas eficientes a soluciones existentes como las vendas o injertos de piel. Ejemplos de materiales que han mostrado su potencial para membranas de tejido de la piel son el colágeno, la seda, quitosano y alginato. (Wang y col., 2010)

Regeneración de tejidos. La meta en el desarrollo de la tecnología de regeneración de tejido nuevo es por consiguiente obtener una plataforma biocompatible que puede albergar temporalmente tejido celular, el cual debe ser capaz de albergar y proliferar en un tejido específico que necesita ser reparado. Las nanofibras son adecuadas para la regeneración de tejido debido a la gran área superficial disponible para actividades de tejido celular y su semejanza estructural con la matriz extra celular. (Wang y col., 2010)

Cosméticos. Las mascarillas actuales de cuidado de la piel como las cremas tópicas, cremas o ungüentos pueden contener polvos o líquidos en spray los cuales son más parecidos a los materiales fibrosos que migran a áreas sensibles del cuerpo como la nariz y los ojos donde la mascarilla está siendo aplicada. El electrohilado de nanofibras poliméricas se ha intentado aplicar como un cosmético para el cuidado de la piel, limpieza u otras propiedades médicas o terapéuticas con o sin aditivos. (Zheng-Ming y col., 2003)

Vendaje de heridas. Las nanofibras de polímeros también pueden ser usadas para heridas o quemaduras de piel humana, diseñadas como dispositivos hemostáticos con una característica única. Con la ayuda del campo eléctrico, las fibras finas de polímeros biodegradables pueden ser directamente aplicadas en el lugar lesionado de la piel en forma de un vendaje, el cual puede dejar que las heridas sanen mediante el fomento del crecimiento de la piel normal y eliminando la formación de tejido cicatrizante el cual puede ocurrir con tratamientos normales. (Zheng-Ming y col., 2003)

Prótesis medicas. Las nanofibras de polímeros fabricadas por electrohilado se han propuesto para un número de prótesis de tejido blando, como vasos sanguíneos, vascular, pecho, etc. Además las nanofibras electrohiladas de polímeros biocompatibles también pueden ser depositadas como una membrana delgada y porosa en un dispositivo de tejido prostético para ser implantadas en el cuerpo humano. (Zheng-Ming y col., 2003)

Aplicaciones en la filtración. La filtración es necesaria para muchos campos de ingeniería. Se estima que en el futuro el campo de la filtración se incrementará. Los materiales fibrosos usados para filtración proporcionan ventajas de alta eficiencia de filtración y baja resistencia de aire. La eficiencia de la filtración está asociada con fineza de la fibra, es una de las preocupaciones más importantes para un filtrado de rendimiento. (Zheng-Ming y col., 2003)

Aplicaciones eléctricas y ópticas. Se espera que las nanofibras conductoras sean usadas en la fabricación de pequeños dispositivos o maquinas como en las uniones Schottky (dispositivo semiconductor) y sensores. Debido al conocido hecho de que la reacción de la tasa electroquímica es proporcional al área superficial del electrodo, las membranas de nanofibras conductoras son muy adecuadas para usarse como electrodos porosos en el desarrollo de baterías de alto rendimiento. Las membranas conductoras (en términos eléctricos, iónicos y foto eléctricos) también tienen su potencial de aplicación incluyendo disipación electrostática, protección de corrosión, blindaje de interferencia electromagnética, dispositivos fotovoltaicos, etc. (Zheng-Ming y col., 2003)

Aplicaciones en la ropa protectora. En la ropa protectora militar se espera ayudar a maximizar la supervivencia, sustentabilidad y combate efectivo en el sistema individual del soldado contra condiciones de clima extremo, balística y guerras nucleares, biológicas y químicas, la ropa protectora actual tiene absorbentes de carbono, tiene sus limitaciones en términos de permeabilidad de agua, lo cual hace que la ropa tenga un peso extra. Debido al gran área superficial de las fibras estas son capaces de neutralizar agentes químicos sin el impedimento de que la ropa es permeable al aire o vapor de agua. (Zheng-Ming y col., 2003)

Liberación controlada de fármacos. Las nanofibras pueden ser usadas para liberar proteínas en tejidos específicos de manera controlada. De hecho, el uso de nanofibras en terapias de liberación y encapsulación es otra área donde se enfocan las nanofibras biomédicas. Las nanofibras son atractivas por dos razones principales. Primero, las nanofibras tienen un gran área superficial para un volumen deseado, el cual es aun mayor considerando los poros que existen dentro de las fibras. No solo por el área superficial se pueden asegurar altos inicios terapéuticos, también puede reducir la restricción que lleva la difusión del fármaco que incrementa la fracción total que puede ser liberada. (Leung y col., 2010)

Otras propiedades relevantes de las nanofibras, como su diámetro, porosidad y su mecanismo para ligar los fármacos, son altamente controlables durante los parámetros del proceso y el material de elección, la velocidad de la liberación del fármaco puede ser adaptado para cada aplicación. La manera más eficiente para curar la enfermedad de un órgano es enfocando las terapias en los sitios de acción destinados. La mayoría de los fármacos en el mercado farmacéutico actualmente pueden ser clasificadas en liberación específica del sitio o transportadas por el torrente sanguíneo. (Leung y col., 2010)

Los fármacos de liberación específica son colocados directamente o adyacentemente al sitio afectado. Ejemplos de estos sistemas incluyen ungüentos e inhaladores. Mientras que hay investigaciones que se enfocan en nuevos métodos de liberación específica del sitio como micro cápsulas de anticuerpos conjugados, los productos disponibles en el mercado solo pueden alcanzar órganos superficiales y fáciles de alcanzar. La liberación de fármacos en la circulación intenta llegar a sitios inaccesibles, y ejemplos incluyen medicinas tomadas oralmente e inyecciones. (Leung y col., 2010)

Sin embargo, el efecto de la liberación de fármacos en la circulación tiende a ser sistemática y áreas no dañadas pueden ser afectadas, causando efectos secundarios, en algunos casos severos. Por ejemplo, los fármacos para terapia de cáncer pueden causar pérdida de peso y cabello porque estos fármacos pueden apagar rápidamente la división celular, pero no diferencian entre células cancerígenas o sanas. En este caso el control de la dosis del fármaco es también importante, y es deseable aplicar la cantidad mínima de fármaco que sea suficiente para tratar el área afectada pero no suficiente para causar efectos colaterales adversos. (Leung y col., 2010)

Idealmente, la liberación de fármacos puede ser sustentada a un nivel requerido por un periodo de tiempo para eliminar la necesidad de múltiples aplicaciones de fármacos. Los

objetivos principales para desarrollar nuevos transportadores de fármacos se divide en dos: permitir al transporte del fármaco colocarse en el sitio y controlar la liberación del fármaco. Las matrices poliméricas como están fabricadas por electrohilado son capaces de sostener las liberaciones terapéuticas de una manera controlada. (Wang y col., 2010)

Sistemas Poliméricos

Los polímeros biodegradables son buenos candidatos para aplicaciones en el campo biomédico, debido a su biocompatibilidad, su degradación y propiedades mecánicas. (Kenawy y col., 2009)

Sin embargo, la capacidad de procesar polímeros naturales a través de la técnica de electrohilado es normalmente complicada. Generalmente hablando, el electrohilado de biopolímeros es más difícil que el de polímeros sintéticos. (Li y col., 2006)

Poli(vinil pirrolidona)

Poli(vinil pirrolidona) o PVP es un polímero sintético, higroscópico y soluble en agua, de fórmula química $(C_6H_9NO)_n$ (Figura 5). Hasta ahora el PVP ha encontrado una amplia variedad de aplicaciones en el campo de la biomedicina, debido a sus propiedades útiles incluyendo la no toxicidad, biocompatibilidad, alta hidrofiliidad, buenas propiedades de formación de complejos, y habilidad para formar películas. Recientemente el PVP ha sido exitosamente electrohilado dentro de fibras de etanol, dimetilformamida (DMF), diclorometano o sus mezclas. (Kumbar y col., 2008)

El PVP es un material ampliamente usado en microencapsulación, para la liberación controlada de fármacos y para sensores biológicos y químicos. (Enz y col., 2009)

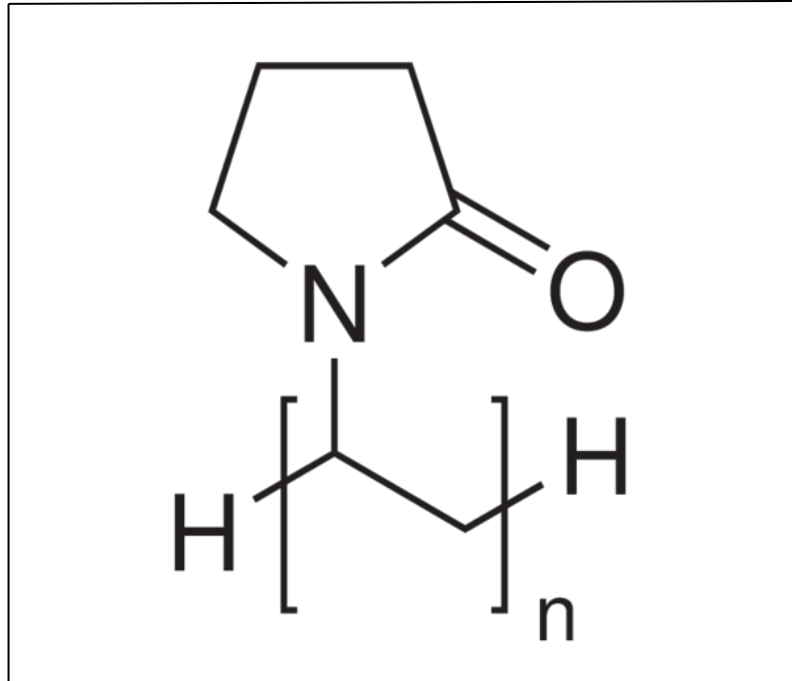


Figura 5. Estructura de la poli(vinil pirrolidona)

Acetato de Celulosa (AC)

La celulosa es el recurso natural más abundante en la tierra, es clasificada como un polisacárido lineal. Tiene muchas ventajas como su biocompatibilidad, biodegradabilidad y propiedad regenerativa. Por tales razones la celulosa es ampliamente usada en industrias textiles y en áreas de material biomédico. La fabricación de fibras de celulosa ultra finas por electrohilado, ha obtenido mucha atención en años recientes. Entre otras aplicaciones, las fibras de acetato de celulosa (AC) se han desarrollado como transportadores para la liberación transdérmica de fármaco. (Mei y col., 2010)

La celulosa es un material hidrofílico ampliamente usado en preparación de membranas. Sin embargo, las dificultades para encontrar solventes adecuados para disolverla, convierte a las nanofibras de celulosa difíciles de preparar directamente por electrohilado, es por ello que se prefieren las nanofibras de AC, pues este último es más soluble en solventes orgánicos como la acetona. (Zuwei y col., 2005)

El AC tiene aproximadamente 2.4 de 3 grupos hidroxilo por unidad de anhidroglucosa, sustituido con un grupo acetyl (Figura 6). El AC comercial es insoluble en agua y es producido por esterificación controlada de la celulosa pura con anhídrido acético. En este proceso, grupos acetyl son sustituidos por todas o una parte de las unidades hidroxilo en la cadena de celulosa. (Wheatley, 2007)

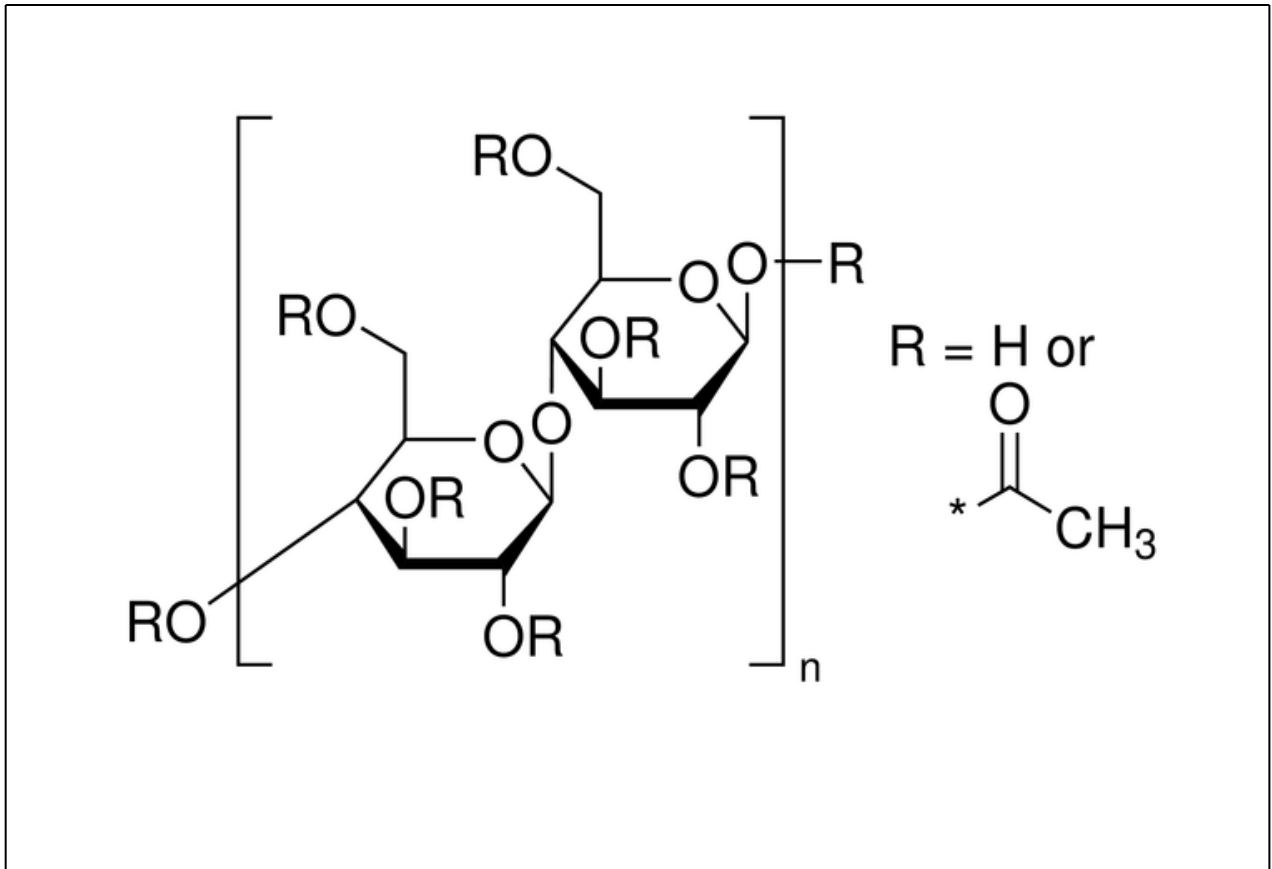


Figura. 6. Estructura del acetato de celulosa.

Fármaco

Triclosán

El triclosán es un antiséptico, derivado fenólico no iónico, soluble en lípidos y que carece de los efectos de tinción de los agentes catiónicos que fue inicialmente incorporado en las formulaciones de los dentífricos; posteriormente fue incorporado en los enjuagues como agente microbiano. La escasa sustentividad del triclosán en la boca puede ser aumentada mediante su combinación con copolímeros de ácido maleico. Lindhe demostró que la acción antimicrobiana de triclosán se ve forzada por el agregado de citrato de zinc y el copolímero éter-polivinil metílico del ácido maleico. Al estar presente en la vida diaria no se han observado efectos adversos importantes con esta sustancia. Su toxicidad es baja y es altamente liposoluble. (Negroni, 2009)

El triclosán es un agente antibacteriano de amplio espectro con actividad bacteriostática y bactericida. Esta contrastada su inhibición en la formación de placa bacteriana, aunque su eficacia es inferior a la de la clorhexidina. Se ha observado que la efectividad de los colutorios con triclosán es dosis-dependiente, siendo más eficaz a 0.2% que al 0.1%. En principio se planteaba como una alternativa a la clorhexidina, dado que no presenta el problema de la marcada tinción de dientes y mucosas, pero a las dosis a las que el triclosán resulta eficaz se ha observado la aparición de otros efectos secundarios. A concentraciones del 0.2% algunos pacientes han experimentado dolor en las mucosas y aparición de erosiones. Al igual que con la clorhexedina, se ha quejado del mal sabor del colutorio y, en combinación con zinc, se han descrito ligeras tinciones en los dientes. Se utiliza tanto en pasta como en colutorio. (SEPO, 2009)

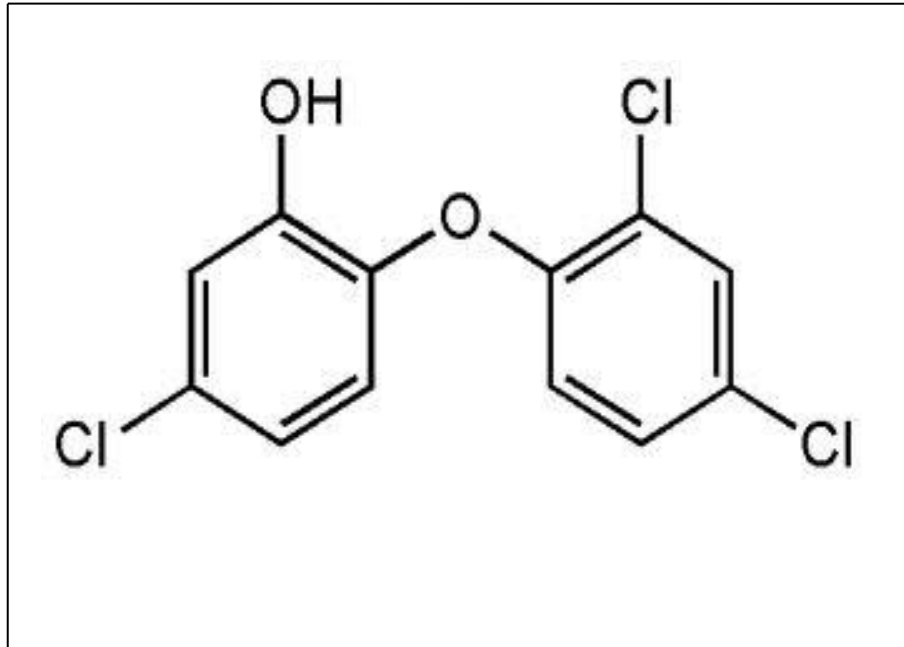


Figura 7. Estructura del triclosán

Técnicas de Caracterización

Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)

Un microscopio electrónico de barrido (SEM por sus siglas en inglés) produce directamente una imagen de la estructura en tercera dimensión de la superficie de una muestra. El SEM usa electrones que se encuentran dispersos o emitidos por la superficie de la muestra. Esta última 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. La muestra preparada, es barrida por un haz focalizado de electrones. La cantidad de electrones dispersos o emitidos cuando este 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 mueva sincrónicamente con el haz primario y forma una imagen en el monitor del equipo. En este punto, se construye una imagen sumamente ampliada de la superficie de la muestra (Figura 8). (Alberts y col., 2008)

La técnica de SEM proporciona una gran profundidad del campo, es más, gracias a que el grado de dispersión de los electrones depende del ángulo relativo entre el haz y la superficie, la imagen tiene luces y sombras que le confieren una apariencia tridimensional. Sólo características superficiales pueden ser examinadas. (Alberts y col., 2008)

El poder de resolución de SEM depende de varios factores, tales como la dimensión del haz de electrones, la difusión del mismo en la muestra antes de la emisión de los electrones secundarios, y la corriente estabilizada de la lente. (Naik, 2011)

La dimensión del haz puede reducirse de muchas formas. Por ejemplo a potencia de 1 kV, la resolución es 140 nm, mientras que a 30 Kv, la resolución es 20 nm. (Naik, 2011)

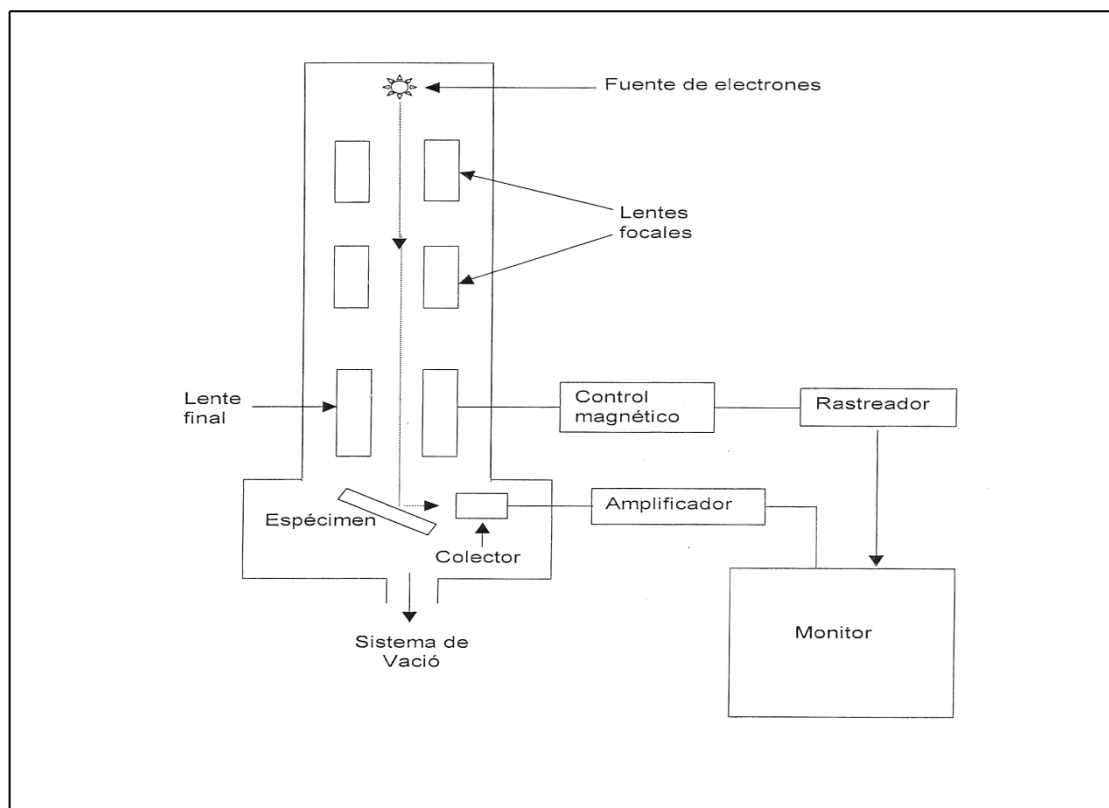


Figura 8. Diagrama del microscopio electrónico de barrido.

Espectroscopia de Infrarrojo

La espectroscopia de absorción infrarroja (IR) es otra de las técnicas empleadas en la caracterización de las membranas fibrosas. Es muy útil para obtener información cualitativa sobre las moléculas. La absorción de radiación en la región del IR puede dar información acerca de la naturaleza de los compuestos, de la existencia o no de grupos funcionales y de la estructura de las moléculas. (G. Christian, 2009) (Skoog y col., 2001)

La absorción molecular de la radiación IR lleva a una serie de transiciones entre los niveles de energía de vibración de los estados energéticos electrónicos con la más baja excitación. La forma en la que puede vibrar una molécula está relacionada con el número de sus enlaces y, por tanto, con el número de átomos que la componen, como se demuestra en la Tabla 4. Las vibraciones de una molécula son numerosas inclusive para la más simple. No todas las formas de vibración absorben en el IR, hay dos requisitos para que se dé la absorción de luz en el IR: 1) que existan en la molécula dos estados con una diferencia de energía exactamente igual a la energía que posee el cuanto de radiación electromagnética que pretende interactuar con dicha molécula, y 2) que durante el cambio de estado vibracional se dé un cambio en el momento dipolar de la molécula. (Skoog y col., 2001)

D. Skoog et al, proponen que el espectro IR de un compuesto que abarque un intervalo de longitud de onda de 2.5 a 15 μm ($4,000$ a 666 cm^{-1}), es una huella dactilar única que se puede distinguir de los espectros de absorción de otros compuestos; sólo los isómeros ópticos tienen espectros idénticos. Mientras que para G.D. Christian y col., esta región comprende desde los 6 a 15 μm (1666 - 666), y depende mucho del ambiente molecular, ellos la denominan, de nueva cuenta región dactiloscópica. (Skoog y col., 2001) (G.Christian, 2009)

La espectrofotometría IR tiene el potencial para determinar un sinnúmero de sustancias en virtud de que casi cualquier especie absorbe en esta región. Con excepción de las moléculas diatómicas mononucleares, como O_2 , Cl_2 y N_2 , todas las moléculas orgánicas e inorgánicas absorben la radiación infrarroja. Además, la peculiaridad de cada espectro IR proporciona un alto grado de especificidad que sólo es igualado o superado por muy pocos métodos analíticos. En espectroscopia de infrarrojo (IR) se utilizan dos tipos de espectrómetros: dispersivos y de la variedad de transformada de Fourier. (Skoog y col., 2001)

En el espectrómetro de transformada de Fourier, se detectan y miden todas las longitudes de onda simultáneamente. Utilizan un interferómetro para producir los patrones de interferencia que contienen la información de los espectros de infrarrojo. Los transductores son comúnmente, sulfato de triglicina, que es un transductor piroeléctrico, o telurio de mercurio y cadmio, que es un transductor fotoconductor. Para obtener la energía radiante como una función de la longitud de onda, el interferómetro modula la señal de la fuente en una forma tal que se pueda decodificar mediante la técnica matemática de transformadas de Fourier. Esta operación requiere una computadora de alta velocidad para realizar los cálculos. (Skoog y col., 2001)

Tabla 4. Frecuencias características de absorción infrarroja de grupos funcionales.

Grupo	Clase de compuesto	Región, cm^{-1}	Intensidad
C-H	Alcano	2965-2850 (tensión)	fuerte
	-CH ₃	1450 (deformación)	media
		1380 (deformación)	media
	-CH ₂	1465	media
	Alquenos	3095-3010 (tensión)	media
		700-1000 (deformación)	fuerte
	Alquinos	3300 (aprox.)	fuerte
Aldehídos	2900-2820	débil	
	2775-2700	débil	
C-C	Alcanos	700-1200 (sin utilidad)	débil
	Alquenos	1680-1620	variable
	Alquinos	2260-2100	variable

Continuacion de la tabla 4. Frecuencias características de absorción infrarroja de grupos funcionales.

C=O	Cetonas	1725-1705	fuerte
	Aldehídos	1740-1720	fuerte
	Ac. carboxílicos	1725-1700	fuerte
	Esteres	1750-1730	fuerte
	Amidas	1700-1630	fuerte
	Anhídridos	1850-1800	fuerte
	C-O	Alcoholes, esterres, Ac. carboxílicos, éteres	300-1000
-O-H	Alcoholes	3650-3590	variable y estrecha
	Monómero asociado	3400-3200	fuerte y ancha
	Ac. Carboxílico asociado	3300-2500	variable y ancha
-N-H	Aminas y amidas primarias	3500 (aprox.) (tens.)	media
	Aminas y amidas secundarias	3500 (tensión)	media
C \equiv N	Nitrilos	2260-2240	media
C-X	Fluoruros	1400-1000	fuerte
	Cloruros	800-600	fuerte
	Bromuros	600-500	fuerte
	Yoduros	500 (aprox)	fuerte

Tomado de la fuente (Castillo-Ortega y col., 2012)

Espectroscopia Ultravioleta Visible

La espectroscopia de absorción molecular en la región Ultravioleta Visible (UV-VIS) tiene su principal aplicación en el análisis cuantitativo, y es uno de los métodos preferidos en los laboratorios químicos y clínicos, ya que detecta concentraciones extraordinariamente pequeñas de los compuestos que absorben este tipo de energía y, por lo tanto, es posible tener alta precisión

y exactitud al medir concentraciones. Muchos tipos de componentes orgánicos e inorgánicos absorben radiación directamente en la región UV-VIS, otros pueden ser convertidos para absorber especies por medio de una reacción química. (Skoog y col., 2001)

Cuando luz UV-VIS es absorbida por una molécula produce cambios en los estados electrónicos, es decir, la absorción de energía luminosa por compuestos orgánicos en la región UV-VIS implica la transferencia de los electrones desde el estado fundamental a estados de mayor energía. Esta absorción implica la transferencia de los electrones de los orbitales moleculares sigma (σ), pi (π) y n (orbitales con electrones no enlazantes, como los que existen en el oxígeno) a orbitales antienlace σ^* y π^* . Como el orbital n no forma enlaces, no hay orbital antienlace asociado con él. La longitud de onda en la que absorbe una molécula orgánica va a depender de la fuerza con la que se sujeten sus electrones. (Skoog y col., 2001)

Esta técnica es una de las herramientas principales para estudiar equilibrios químicos y cinéticos. En estos experimentos se seleccionan las longitudes de onda adecuadas para seguir el curso de uno o más de los reactivos, productos o alguna especie intermedia. Utilizando los valores ya conocidos de 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 también la desaparición de un reactivo. (Skoog y col., 2001)

MATERIALES Y METODOS

Los materiales utilizados en este trabajo se presentan a continuación:

- ◆ Acetato de celulosa, $M_n= 50000$, marca Aldrich.
- ◆ Poli(vinil pirrolidona), $M_w= 360000$, marca Aldrich.
- ◆ Acetona, marca Aldrich
- ◆ Etanol, marca Meyer.
- ◆ Triclosán, marca Sigma life science.

Los reactivos anteriores fueron utilizados sin recibir algún tratamiento previo.

Preparación de Membranas Fibrosas Poliméricas

Se controlaron cinco parámetros, que fueron: concentración de la solución polimérica, solvente utilizado, voltaje aplicado, flujo, distancia entre la aguja y la placa colectora, de los cuales se variaron: el voltaje aplicado, el flujo y la concentración del fármaco.

Para la preparación de la solución de acetato de celulosa (AC) se utilizó como solvente una mezcla de acetona-agua en proporción 80:20, con una concentración de 8% en peso. Para lograr lo anterior se pesaron 1.43 gr de AC, que se llevaron a un volumen de 16.7 mL de acetona, más 3.3 mL de agua destilada. Se dejó en agitación magnética por espacio de 24 horas, a temperatura ambiente.

En el caso de la solución de poli(vinil pirrolidona) (PVP) fue utilizada una mezcla de etanol-agua en proporción 85:15, a la misma concentración que para el AC, es decir 8% en peso. En esta ocasión se pesaron 1.6 gr de PVP, que fueron disueltos en 17 mL de etanol y 3 mL de agua destilada, que de igual manera pasó 24 horas en agitación.

Transcurrido ese tiempo, se procedió a elaborar las soluciones poliméricas conteniendo el fármaco a diferentes concentraciones.

La realización de las soluciones poliméricas a diferentes concentraciones se llevo a cabo de la siguiente manera:

Concentración del fármaco 6.25%

Se tomaron 4 mL de PVP 8% en peso, a los que se les añadió directamente 0.5 gr de Triclosán, esta mezcla se dejó por espacio de 24 horas en agitación magnética, a temperatura ambiente.

Concentración del fármaco 3% (concentración indicada)

Se tomaron 2 mL de PVP 8% en peso, a los que se les añadió directamente 0.24 gr de Triclosán, esta mezcla se dejó por espacio de 24 horas en agitación magnética, a temperatura ambiente.

Una vez listas las soluciones poliméricas, los volúmenes fueron transferidos a una jeringa de plástico de 10 mL de capacidad, la cual estaba conectada con la aguja de menor diámetro (0.8 mm), pues se pretendía que esta mezcla se encontrara en el núcleo de la fibra; y en otra jeringa de igual capacidad se agregó la solución de AC pero con un volumen mayor de un mililitro al de la solución polimérica con el fármaco. Se utilizó un mililitro mas de AC por que la jeringa que lo contenía estaba ligada a la aguja de mayor diámetro (1.5 mm) mediante una manguera de plástico con esta capacidad, de manera que al final, los volúmenes de ambas soluciones de polímeros que participaron en el electrohilado fueron los mismos.

Se utilizo una bomba para jeringa kdsCientific, desde donde se vario la velocidad de flujo en un intervalo de 4.5 – 2.2 mL h⁻¹. Una fuente de poder de alto voltaje, marca Spellman, modelo CZE 1000R, se empleo para aplicar el voltaje a la solución polimérica en un intervalo de 17 – 15 kV. Por último la distancia entre la aguja y la placa colectora fue de 15 cm. El colector fue una placa de aluminio (10 cm x 10 cm). En las Tablas 5 y 6 se resumen

los intervalos que se probaron para el flujo y voltaje, así como los demás parámetros para producir las membranas fibrosas con estructura AC/PVP+Triclosán/AC.

Tabla 5. Condiciones usadas en la preparación de membranas con estructura AC/PVP+Triclosán/AC a concentración 6.25%

Membrana	Solvente	Voltaje (kV)	Flujo (mL/h ⁻¹)
	80:20 AC		
AC/PVP+TRICL/AC	85:15 PVP	15	0.5
	80:20 AC		
AC/PVP+TRICL/AC	85:15 PVP	15	2.0
	80:20 AC		
AC/PVP+TRICL/AC	85:15 PVP	16	2.0
	80:20 AC		
AC/PVP+TRICL/AC	85:15 PVP	17	2.0
	80:20 AC		
AC/PVP+TRICL/AC	85:15 PVP	17	1.5
	80:20 AC		
AC/PVP+TRICL/AC	85:15 PVP	18	1.5
	80:20 AC		
AC/PVP+TRICL/AC	85:15 PVP	15	1.5
	80:20 AC		
AC/PVP+TRICL/AC	85:15 PVP	15	2.5
	80:20 AC		
AC/PVP+TRICL/AC	85:15 PVP	14	2.5
	80:20 AC		
AC/PVP+TRICL/AC	85:15 PVP	16	2.5
	80:20 AC		
AC/PVP+TRICL/AC	85:15 PVP	13	2.5
	80:20 AC		
AC/PVP+TRICL/AC	85:15 PVP	15	2.2
	80:20 AC		
AC/PVP+TRICL/AC	85:15 PVP	15	2.3

Continuación de la tabla 5. Condiciones usadas en la preparación de membranas con estructura AC/PVP+Triclosán/AC a concentración 6.25%

	80:20 AC		
AC/PVP+TRICL/AC	85:15 PVP	15	2.4
	80:20 AC		
AC/PVP+TRICL/AC	85:15 PVP	15	4.0

Se utilizó una concentración al 8% P/P en ambos polímeros y la distancia al colector fue de 15 cm en todos los casos.

Tabla 6. Condiciones usadas en la preparación de membranas con estructura AC/PVP+Triclosán/AC a concentración 3%

Membrana	Solvente	Voltaje (kV)	Flujo (mL/h ⁻¹)
	80:20 AC		
AC/PVP+TRICL/AC	85:15 PVP	15	3.0
	80:20 AC		
AC/PVP+TRICL/AC	85:15 PVP	16	3.0
	80:20 AC		
AC/PVP+TRICL/AC	85:15 PVP	17	3.0
	80:20 AC		
AC/PVP+TRICL/AC	85:15 PVP	17	2.5
	80:20 AC		
AC/PVP+TRICL/AC	85:15 PVP	15	3.5
	80:20 AC		
AC/PVP+TRICL/AC	85:15 PVP	17	3.5

Se utilizó una concentración al 8% P/P en ambos polímeros y la distancia al colector fue de 15 cm en todos los casos.

Caracterización

Microscopia Electrónica de Barrido

Una vez obtenidas las condiciones para la obtención de membranas fibrosas, se prosiguió a caracterizarlas, evaluando el tamaño promedio de los diámetros de las fibras y las características morfológicas mediante un microscopio electrónico de barrido JEOL 5410LV. Se obtuvieron microfotografías de la membrana obtenida de la estructura AC/PVP+Triclosán/AC antes de ponerla en contacto con etanol y después de dicho contacto. Se utilizó un haz de electrones de 25 y 20 kV de intensidad de alto vacío y todas las muestras se cubrieron con una película de oro.

Espectroscopia de Infrarrojo con Transformada de Fourier

Para la obtención de los espectros de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) fue utilizado un equipo Perkin- Elmer FTIR espectrofotómetro de espectro GX, aplicando la técnica de pastillas de KBr, en el cual las membranas examinadas no tuvieron ningún tratamiento previo.

Se obtuvo el espectro de infrarrojo para las membranas antes y después de liberar el Triclosán.

Cinéticas de Liberación Controlada del Fármaco

Para esta parte del diseño experimental se utilizó un vaso de precipitado de 1000 mL que contenía 400 mL de etanol, se colocó la membrana fibrosa completa obtenida, y se agitó magnéticamente. Cada 10 minutos, se tomó una alícuota de 100 μ L y se llevó a un volumen final de 3 mL con etanol. Y se obtuvieron los valores de absorbancia en un espectrofotómetro UV-Vis, (System Agilent 8453), a 282 nm, hasta alcanzar el equilibrio de liberación.

Dichos valores se interpolaron en una curva de calibración de este fármaco previamente elaborada para conocer la cantidad liberada de triclosán (en mg) en etanol. Todos los experimentos de liberación de triclosán se llevaron a cabo por triplicado para cada membrana con diferente concentración.

RESULTADOS Y DISCUSION

Preparación de Membranas AC/PVP+Triclosán/AC

Tanto para el AC como para el PVP, la concentración fue del 8 % (P/P). El AC se disolvió en una solución acetona: agua al 80% (V/V) y el PVP fue disuelto en una solución etanol: agua al 85 % V/V. Para la preparación de las membranas con una concentración de 0.5 gr de triclosán se utilizaron 4 mL de PVP que se le agregaron 0.5 gr de triclosán. El flujo optimo fue de 2.2 mL h⁻¹, mientras que el voltaje adecuado fue de 15 kV, la distancia entre la aguja y placa colectora de 15 cm como se muestra en la tabla 7.

En la preparación de las membranas con una concentración de 0.24 gr de triclosán se utilizaron 2 mL de PVP que se le agregaron 0.24 gr de triclosán. El flujo optimo fue de 3.5 mL/h⁻¹, mientras que el voltaje adecuado fue de 17 kV, la distancia entre la aguja y placa colectora de 15 cm, al igual que la membrana anterior como se muestra en la tabla 8.

Tabla 7. Condiciones óptimas para la obtención de membranas fibrosas AC/PVP+Triclosán/AC, concentración de 0.5 gramos de triclosán.

Parámetro	Polímeros	
	AC	PVP+ Triclosán
Concentración del polímero	8 % P/P	8 % P/P para el PVP 40% P/P para el Triclosán
Solvente	acetona: agua 80 % V/V	etanol: agua 85 % V/V
Flujo	2.2 mL hr ⁻¹	2.2 mL hr ⁻¹
Voltaje	15 kV	15 kV
Distancia entre la aguja y la placa colectora	15 cm	15 cm

Tabla 8. Condiciones óptimas para la obtención de membranas fibrosas AC/PVP+Triclosán/AC, concentración de 0.24 gramos de triclosán.

Parámetro	Polímeros	
	AC	PVP+ Triclosán
Concentración del polímero	8 % P/P	8 % P/P para el PVP 40% P/P para el Triclosán
Solvente	acetona: agua 80 % V/V	etanol: agua 85 % V/V
Flujo	3.5 mL hr ⁻¹	3.5 mL hr ⁻¹
Voltaje	17 kV	17 kV
Distancia entre la aguja y la placa colectora	15 cm	15 cm

Caracterización

Microscopia Electrónica de Barrido

Las figuras 9 y 10 presentan las microfotografías de la membrana con concentración de 0.24 gr de triclosán, donde se observan fibras con forma cilíndrica de estructura AC/PVP+Triclosan/AC, así mismo en las figuras 11 y 12 donde se presentan las micrografías de la membrana con

concentración de 0.5 gr de triclosán teniendo la misma forma de la fibras que la anterior membrana. Para los dos tipos de concentraciones podemos observar que las fibras tienen un diámetro promedio de aproximadamente 1 μm , lo cual nos indica que la adición del triclosán en el proceso de electrohilado, no modificó de forma significativa el diámetro de las fibras AC/PVP/AC sin triclosán, que se observan en la Figura 15, pues el diámetro promedio de estas últimas se acerca a los 1.5 μm . En las figuras 13 y 14 se muestran las mismas membranas pero en este caso después de haber pasado por el proceso de liberación del fármaco.

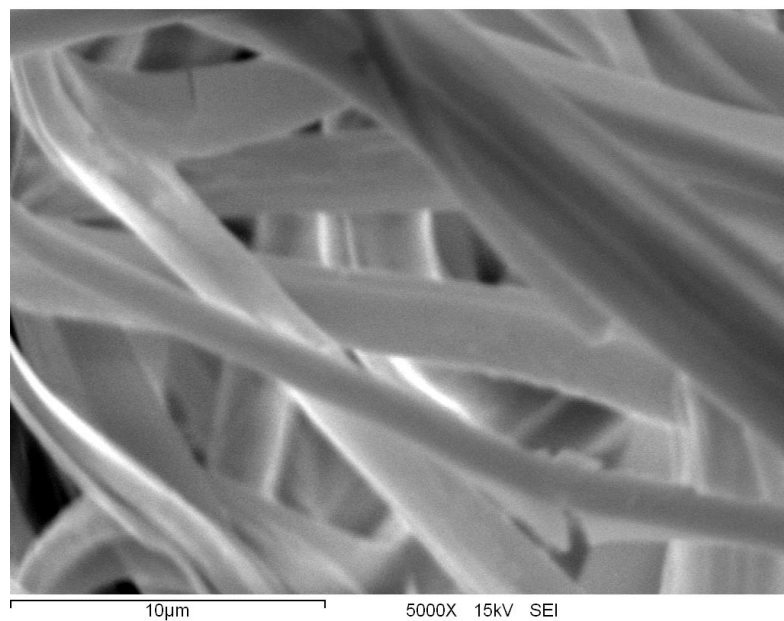


Figura 9. Microfotografía de la membrana de AC/PVP+Triclosán/AC concentración 3% de triclosán. 5000x

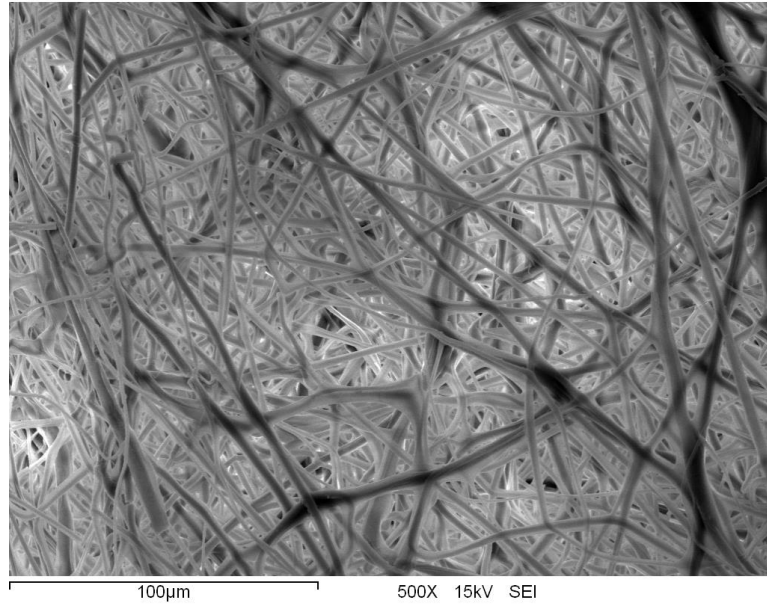


Figura 10. Microfotografía de la membrana de AC/PVP+Triclosán/AC concentración 3% de triclosán. 500x

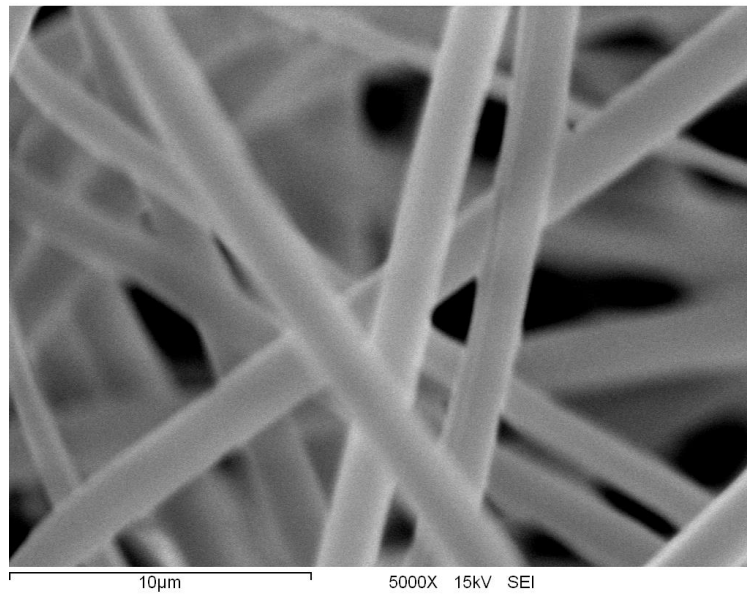


Figura 11. Microfotografía de la membrana de AC/PVP+Triclosán/AC concentración 6.25% de triclosán. 5000x

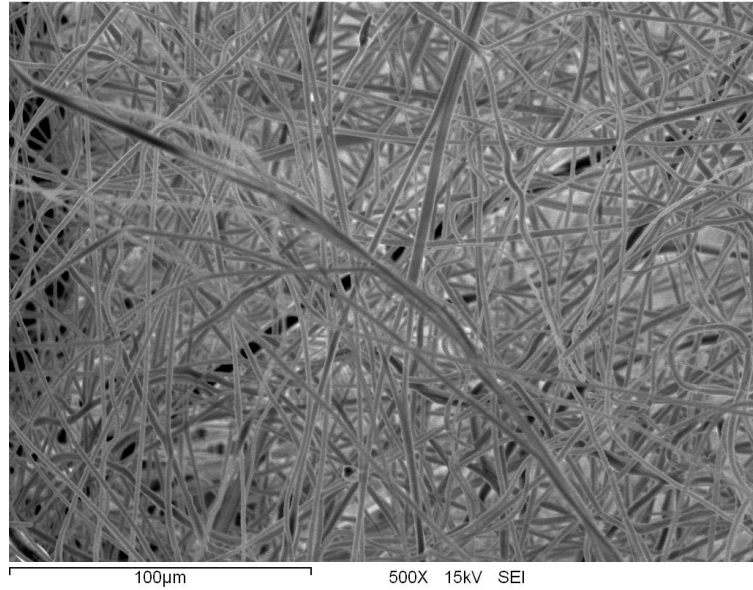


Figura 12. Microfotografía de la membrana de AC/PVP+Triclosán/AC concentración 6.25% de triclosán. 500x

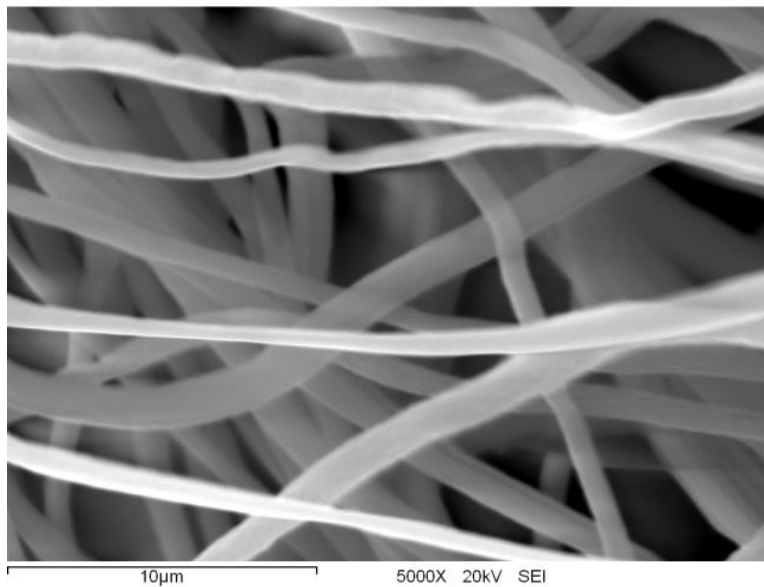


Figura 13. Microfotografía de la membrana de AC/PVP+Triclosán/AC concentración de 3% de triclosán después de liberar. 5000x

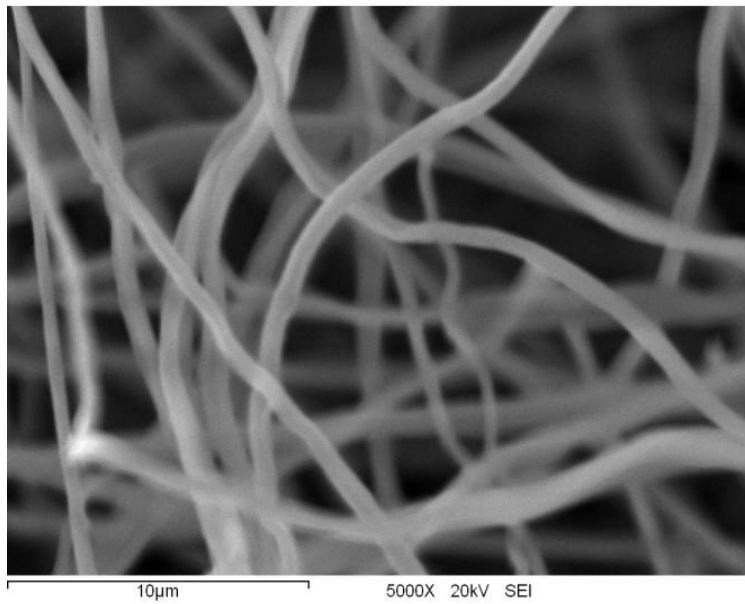


Figura 14. Microfotografía de la membrana de AC/PVP+Triclosán/AC concentración de 6.25% de triclosán después de liberar. 5000x

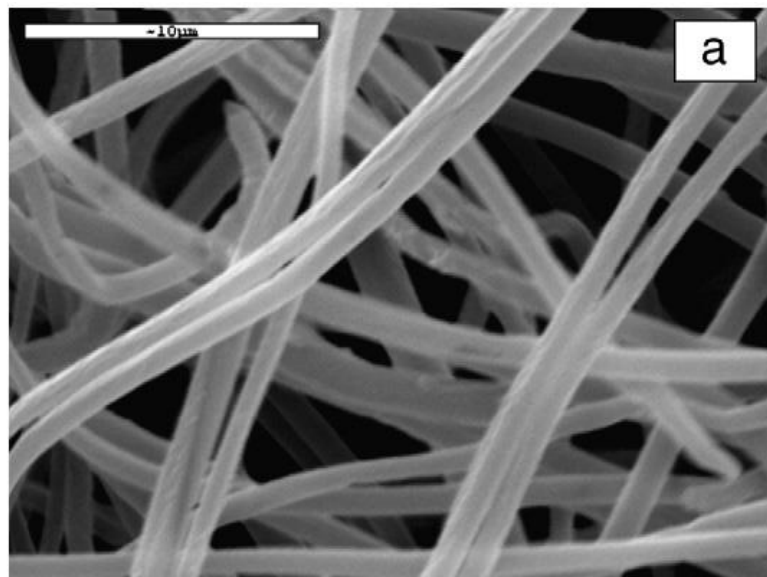


Figura 15. Microfotografía de la membrana de AC/PVP/AC.

Espectroscopia de Infrarrojo con Transformada de Fourier

La espectroscopia de FTIR de las membranas se realizó con el fin de corroborar en las fibras la presencia de triclosán en la estructura de las mismas. En la Figura 16, se muestran los espectros de IR de: (a) AC, (b) PVP, (c) Triclosán, (d)*AC/PVP+Triclosán/AC con 0.24 gr, (e)* AC/PVP+Triclosán/AC con 0.24 gr después de su liberación, (f)* AC/PVP+Triclosán/AC con 0.5 gr, (g)* AC/PVP+Triclosán/AC con 0.5 gr después de su liberación.

En la Figura 16 (a) muestra los picos característicos de la membrana de AC, incluyendo el pico del éster alrededor de 1748 cm^{-1} . En el espectro de la membrana de PVP (b) muestra la banda en 1665 cm^{-1} que se atribuye a la vibración de alargamiento del enlace C=O del grupo amida. Por su parte el triclosán (c) muestra una banda ancha característica cercana a 3434 cm^{-1} , que corresponde a la traslape de las bandas correspondientes al estiramiento del grupo hidroxilo O-H de $3650-3590\text{ cm}^{-1}$ y al estiramiento del enlace N-H del grupo amida de 3320 a 3140 cm^{-1} y otra banda correspondiente al enlace cl-c a $800-600\text{ cm}^{-1}$. El espectro de la membrana de AC/PVP+Triclosán/AC con 0.24 gr de triclosán, (d) muestra la contribución espectral del AC y del PVP, que muestra los picos en 1748 cm^{-1} y 1665 cm^{-1} , más la banda en $800 - 600\text{ cm}^{-1}$. También se realizó el espectro de la membrana AC/PVP+Triclosán/AC con 0.5 gr de triclosán, en (f) se muestran los picos característicos del AC y PVP mas el pico característico del triclosán, demostrando con ello la presencia del triclosán en las fibras y de los demás constituyentes.

Se realizó espectroscopia de FTIR a las membranas fibrosas después de la liberación en etanol, incisos (e) y (g), con el fin de confirmar o descartar la presencia de triclosán en ellas. Podemos afirmar que existió realmente una liberación del fármaco, pues el pico del PVP casi desaparece, lo que podría explicarse debido a la alta solubilidad de este último en agua, que con su salida de la microfibrilla, podría contribuir al arrastre del triclosán hacia afuera del sistema.

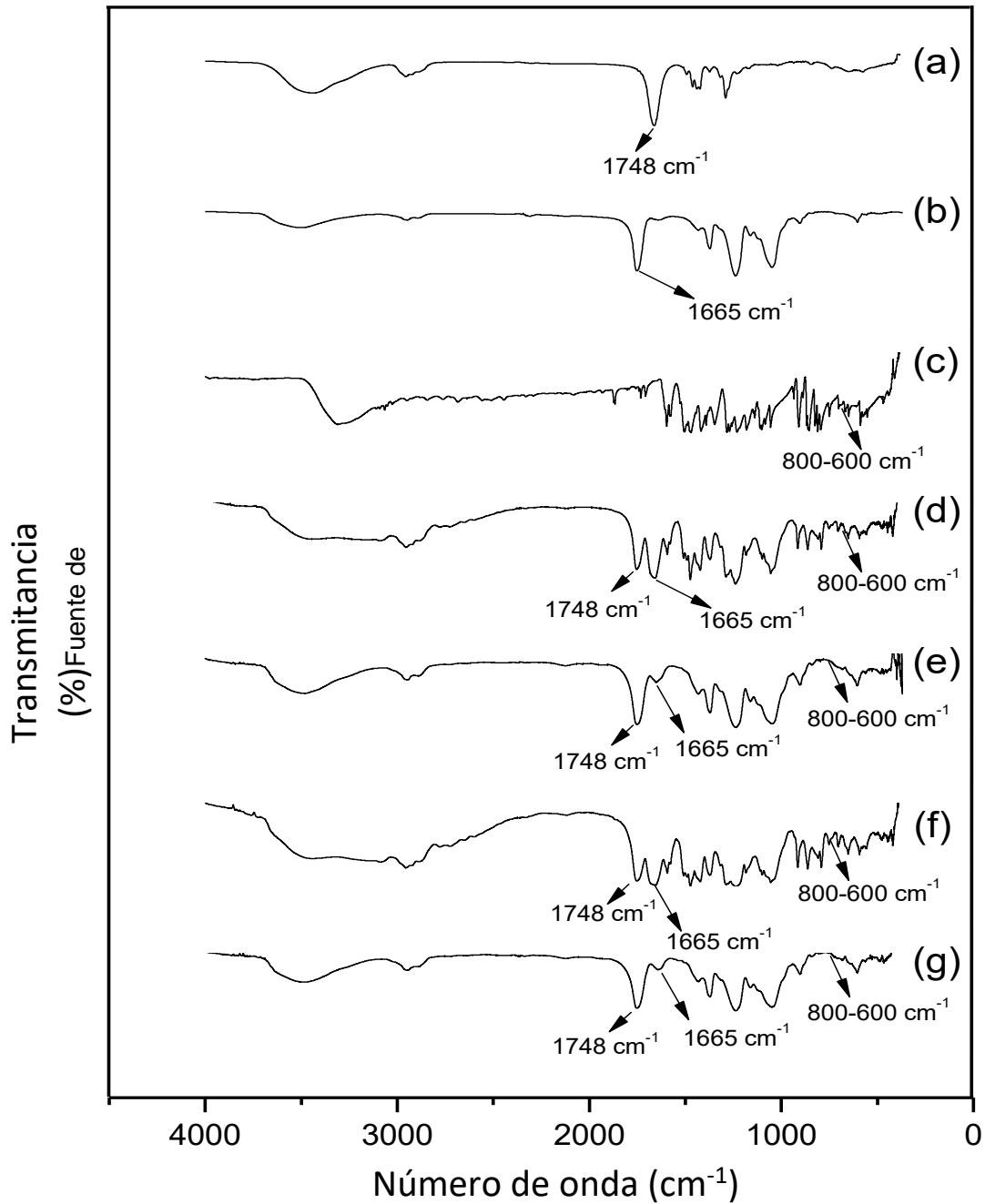


Figura 16. Espectro FTIR de (a) *AC, (b) *PVP, (c) *Triclosan, (d)*AC/PVP+Triclosan/AC con 0.24 gr, (e)* AC/PVP+Triclosan/AC con 0.24 gr después de su liberación, (f)* AC/PVP+Triclosan/AC con 0.5 gr, (g)* AC/PVP+Triclosan/AC con 0.5 gr después de su liberación.

Liberación Controlada del Fármaco

La liberación de triclosán en etanol a partir de las membranas de las dos concentraciones (0.24 gr y 0.5 gr) se analizó a través de cinéticas de liberación. La figura 17 muestra la cinética de liberación en mg, para las fibras con estructura AC/PVP+Triclosán/AC con concentración de 0.24 gr, donde observamos que se liberó una cantidad máxima 9.60 mg en 130 minutos. La cinética de liberación en mg para las fibras con estructura AC/PVP+Triclosán/AC con concentración de 0.5 gr se muestra en la figura 18, donde vemos que se liberó una cantidad máxima 17.06 mg en 100 minutos. Estos valores fueron obtenidos a través de la curva de calibración del fármaco previamente elaborada.

La figura 19, muestran el porcentaje de liberación final para cada una de las membranas con diferentes concentraciones con 5.05% de liberación en 130 minutos para la membrana con concentración de 0.24 gr y un 5.17% de liberación en 100 minutos para la membrana con concentración de 0.5 gr.

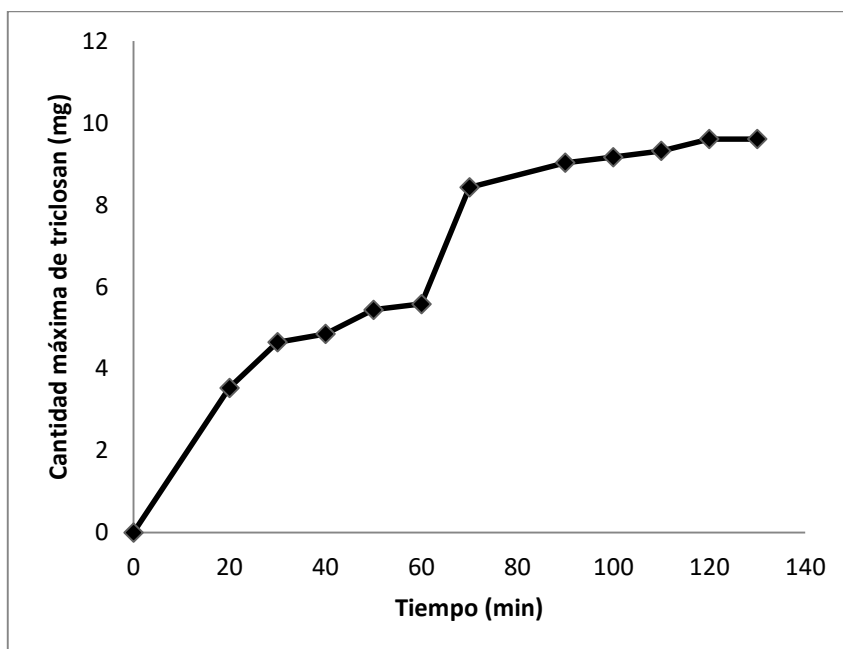


Figura 17. Cinética de liberación de triclosán en etanol de la membrana AC/PVP+Triclosán/AC con concentración de 3% de triclosán.

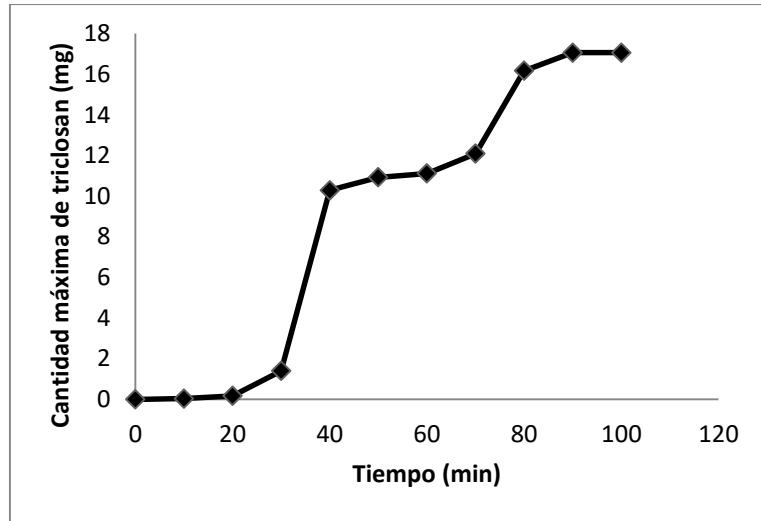


Figura 18. Cinética de liberación de triclosán en etanol de la membrana AC/PVP+Triclosán/AC con concentración de 6% de triclosán.

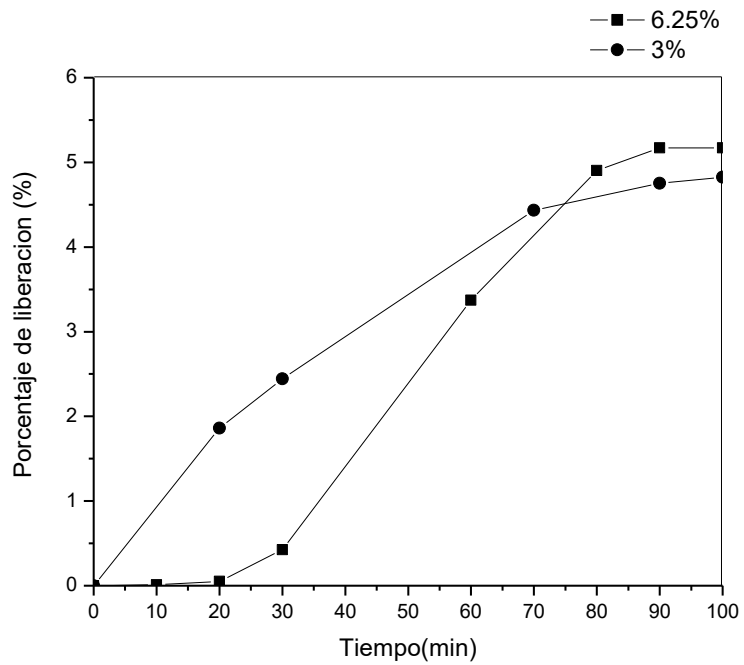


Figura 19. Curva de liberación de triclosán en sus distintas concentraciones.

CONCLUSIONES

Se encontraron las condiciones óptimas de preparación de membranas de microfibras con estructura tipo núcleo-coraza, con triclosán incorporado en las mismas, a través de la técnica de electrohilado arreglo coaxial utilizando acetato de celulosa y poli(vinilpirrolidona).

La incorporación del fármaco durante el proceso de electrohilado no afecta morfológicamente a las fibras, obteniéndose fibras con diámetros homogéneos, comparables a las fibras sin fármaco.

El porcentaje de liberación del triclosán en etanol fue de 5%.

RECOMENDACIONES

- Probar otros solventes o mezcla de solventes para la liberación del triclosán,
- o bien que la membrana libere el fármaco consecutivamente en etanol puro.

BIBLIOGRAFIA

A facile technique to prepare biodegradable coaxial electrospun nanofiber for controlled release of bioactive agents. **Hongliang, Jiang, et al. 2005.** 108, s.l. : Elsevier, 2005, Journal of controlled release, pp. 237-243.

A review in polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. **Zheng-Ming, Huang, et al. 2003.** 63, s.l. : Elsevier, 2003, Composites Science and Technology, pp. 2223-2253.

Absorption, Pharmacokinetics, and Safety of Triclosan after Dermal Administration. **Queckenberg, Christian, et al. 2010.** 1, 2010, Antimicrobial Agents And Chemotherap, Vol. 54, pp. 570-572.

Molecular Biology of the Cell. **Alberts, B, et al. 2008.** 5ta. s.l. : Ed. Garland Science, 2008, pp. 607-609.

Amoxicillin embedded in cellulose acetate-poly (vinyl pyrrolidone) fibers prepared by coaxial electrospinning: Preparation and characterization. **Castillo-Ortega, M.M, et al. 2012.** s.l. : Elsevier, 2012, Materials Letters, Vol. 76, pp. 250-254.

Antimicrobial properties of modified and electrospn poly (vunl phenol). **Kenawy, E-R and Abdel-Fattah, YR. 2002.** 2, 2002, Macromolecular Bioscience , pp. 261-266.

Biodegradable core/shell fibers by coaxial electrospinning: Processing, fiber characterization, and its application in sustained drug release. **Wang, Chi, et al. 2010.** 43, Taiwan : s.n., 2010, Macromolecules, pp. 6389-6397.

Biodegradable polyesters reinforced with triclosan loaded polylactide micro/nanofibers: Properties, release and biocompatibility. **Del valle, L J, et al. 2012.** 4, 2012, Express Polymer Letters, Vol. 6, pp. 266–282.

Biomedical applicatios of nanofibers. **Leung, Victor and Ko, Frank. 2010.** 2010, Polymers advanced technologies, pp. 350-365.

Coaxial electrospinning of liquid crystal-containing poly(vinylpyrrolidone) microfibers. **Enz, E, Baumeister, U and Lagerwall, J. 2009.** 5, 2009, Journal of Organic Chemistry, pp. 50-58.

Coaxial Electrospun Poly(L-Lactic Acid) Ultrafine Fibers for Sustained Drug Delivery. **Long, C, et al. 2006.** 45, 2006, Journal of Macromolecular Science , pp. 515-524.

Electrohydrodynamics: A facile technique to fabricate drug delivery systems. **Chakraborty, S, et al. 2009.** 61, 2009, Advanced Drug Delivery Reviews, pp. 1043–1054.

Electrospinning nanofibers of polyaniline and polyaniline/(polystyrene and polyethylene oxide) blends. In: Proceeding of The National Conference on Undergraduate Research (NCUR). **Díaz-De León, MJ. 2004.** Lexington, Kentucky (USA); : s.n., Marzo 15-17, 2004, University of Kentucky.

Electrospinning of ultrafine core/shell fibers for biomedical applications. **Hong, Z, et al. 2001.** 6, 2001, Journal Science China Chemistry, Vol. 53, pp. 1246-1254. doi: 10.1007/s11426-010-3180-3 .

Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering. **Sill, T and Recum, H. 2008.** 29, 2008, Journal of Biomaterials Applications, pp. 1989-2006.

Electrospun biodegradable nanofiber nonwovens for controlled release of proteins. **Maretschek, S, Greiner, A and Kissel, T. 2008.** 127, 2008, Journal of Controlled Release , pp. 180-187.

Electrospun cellulose nanofiber as affinity membrane. **Zuwei, Ma, M, Kotaki and S, Ramakrishna. 2005.** s.l. : Elsevier, 2005, Journal of Membrane Science, Vol. 265, pp. 115-123.

Engineered collagen-PEO nanofibers and fabrics. **Huang, L, et al. 2001.** 12, 2001, J Biomater Sci Polym Edn, Vol. 9, pp. 979-994.

Ester prodrug-loaded electrospun cellulose acetate fiber mats as transdermal drug delivery systems. **Mei, X, et al. 2010.** 21, 2010, Journal of Materials Science: Materials in Medicine, pp. 2403–2411.

Fundamentos del microscopio electrónico y su aplicación en la investigación textil. **Naik, A. 2011.** 2011, Boletín del Instituto de Investigación Textil y de Cooperación Industrial, pp. 39-50.

Química Analítica. **G, Christian. 2009.** 6ta. s.l. : McGraw-Hill, 2009. p. 469.

Gelatin and Gelatin- Hyaluronic Acid Nanofibrous Membranes Produced by Electrospinning of their Aqueous solutions. **Li, J, et al. 2006.** 7, 2006, Journal Biomacromolecules, pp. 2243–2247.

Microbiología Estomacal. **Negroni, Martha. 2009.** 2da. s.l. : Panamericana, 2009.

Optimization and characterization of dextran membranes prepared by electrospinning. **Jiang, H, et al. 2004.** 5, 2004, Journal Biomacromolecules, pp. 326-333.

Manual de Higiene Bucal. **Osteointegración, Sociedad Española de Periodoncia y. 2009.** 1ra. s.l. : Panamerican, 2009.

pH- and temperature-sensitive semi-interpenetrating network hydrogels composed of poly(acrylamide) and poly(L-glutamic acid) as amoxicillin controlled-release system. **Rodriguez, D, et al. 2011.** 1, s.l. : Springer, 2011, Journal Polymer Bulletin, Vol. 68, pp. 197-207. DOI: 10.1007/s00289-011-0549-1.

Processing of polymer nanofibers through electrospinning as drug delivery systems. **Kenawy, E, et al. 2009.** 113, 2009, Journal Materials Chemistry and Physics, pp. 296–302.

Protective textile materials based on electrospun nanofibers. **Schreuder-Gibson, HL, et al.** 34, Journal of Advanced Materials , Vol. 3, pp. 44-55.

Recent Patents on Electrospun Biomedical Nanostructures: An Overview. **Kumbar, S, et al.** **2008.** 1, 2008, Journal Recent Patents on Biomedical Engineering, pp. 68-78.

Química Analítica. **Skoog, D, et al.** **2001.** 7ma. s.l. : Mc Graw-Hill, 2001. pp. 614-633.

The effect of temperature and humidity on electrospinning. **De Vrieze, S, et al.** **2009.** 44, 2009, Journal of Materials Science, pp. 1357–1362.

Introducción a la Microbiología. **Tortora, Gerard J, Fonke, Berdell R and Case, Christine L.** **2007.** 9na. s.l. : Panamericana, 2007. p. 66.

Water Soluble Cellulose Acetate: A Versatile Polymer for Film Coating. **Wheatley, T.** **2007.** 33, 2007, Drug Development and Industrial Pharmacy , Vol. 3, pp. 281-290.