

# UNIVERSIDAD DE SONORA

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

PREPARACIÓN DE MEMBRANAS FIBROSAS CON ESTRUCTURA NÚCLEO CORAZA  
DE ACETATO DE CELULOSA Y POLI (VINIL PIRROLIDONA) CON (-) EPICATEQUINA  
INCORPORADA EN LA FIBRA PARA USO POTENCIAL EN TEJIDO CARDÍACO



TESIS PROFESIONAL

TODO LO LUMINAN

Que para obtener el Título de

QUÍMICO BIÓLOGO CLÍNICO

Presentan:

PINO OCAÑO KARLA PATRICIA  
VALENCIA CÓRDOVA MICHELLE JEANETH

# 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 p.Q.B.C. Pino Ocaño Karla Patricia y Valencia Córdova Michelle Jeaneth hemos revisado detenidamente su trabajo escrito titulado Preparación de Membranas Fibrosas con Estructura Núcleo Coraza de Acetato de Celulosa y Poli (vinil pirrolidona) con (-) Epicatequina Incorporada en la Fibra para Uso Potencial en Tejido Cardíaco encontramos que cumple con los requisitos para la presentación del 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.C. Antonio Rascón Careaga  
Secretario

---

Dra. Dora Evelia Rodríguez Félix  
Vocal

---

Dra. Abril Zoraida Graciano Verdugo  
Suplente

## AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirnos llegar hasta aquí y darnos la oportunidad de vivir esta experiencia siempre mostrándonos el camino para alcanzar nuestras metas.

A nuestra directora de tesis, la Dra. María Mónica Castillo Ortega, por habernos brindado la oportunidad y la confianza de desarrollar este proyecto, además de su apoyo en todo momento. Muchas gracias por su paciencia y por ser una excelente persona y asesora de tesis.

A nuestros sinodales, la Dra. Abril Zoraida Graciano Verdugo, la Dra. Dora Evelia Rodríguez Félix y al M.C. Antonio Rascón Careaga, por sus consejos y contribuciones en el mejoramiento de este escrito pero sobre todo por el tiempo otorgado.

Agradecemos profundamente a Ana Gabriela Montaña Figueroa por haber sido nuestra guía en cada paso que dimos en el laboratorio, compartiendo con nosotros su conocimiento, paciencia, amistad y sobre todo por siempre tendernos la mano.

Muchas gracias a todas las personas que contribuyeron en la caracterización de las membranas: Dra. Lorena Armenta, Dra. Erika Pérez, Dr. Ramón Iñiguez, Dra. Silvia Burruel y Dr. Pedro Herrera (CICY).

Al Dr. Francisco Rodríguez Félix por brindarnos su apoyo y estar a disposición en todo momento para cualquier duda o tropezadita que nos dábamos en el camino.

A CONACYT por el apoyo económico otorgado correspondiente al proyecto CB 2008-105003-Y propio de esta investigación.

Al Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales de la Universidad de Sonora por habernos arropado en sus instalaciones durante la realización de la investigación y a todas aquellas personas que en el camino fuimos conociendo y que de alguna u otra manera contribuyeron en ella, en especial a Moisés, Irela y Rafa.

A los bibliotecarios del Departamento de Ciencias Químico Biológicas por siempre estar al pendiente del avance de nuestra tesis pero muy en especial a Josué, Paty y Eduardo por todo el apoyo brindado en las instalaciones.

## AGRADECIMIENTOS

### **Karla:**

A mi familia, mis padres Ana Bertha y Rubén Pino y a mis hermanos Rubén y Karina, gracias por su amor y apoyo incondicional, los quiero mucho.

A mis abuelas Amalia y María que siempre me bendicen.

A mi amiga y compañera de tesis, Michelle Valencia por compartir este proyecto conmigo, gracias por todas las vivencias y momentos que pasamos juntas, eres grande pequeña.\*

Al Departamento de Ciencias Químico Biológicas, principalmente a mis maestros y compañeros de licenciatura, en especial a mis amigas Sandra, Carmen, Xóchitl y Daniela, por tantos buenos momentos.

A mis amigas de toda la vida Cristina y Victoria por su presencia en todo momento.

A Guillermo que ha sido mi compañero durante todo el proyecto, gracias por estar a mi lado.

### **Michelle:**

A mis padres que siempre están al pendiente de cada paso que doy, con la palabra justa de aliento para no darme por vencida y seguir adelante en todo lo que me propongo.

A mis hermanos Karen, Ángel y Micky, que aunque a veces tenemos nuestros roces formaron parte especial de esta etapa en mi vida.

Al Departamento de Ciencias Químico Biológicas por ser mi segundo hogar durante 4 años y medio, en donde viví tantas experiencias nuevas y a mis maestros de quienes aprendí tanto.

A mis compañeros de la licenciatura por haber contribuido de alguna u otra manera en mi formación profesional, por tantas desveladas, momentos de estrés, reuniones de estudio y diversión, por esas largas pláticas que compartimos y sencillamente por siempre estar ahí cuando los necesité, en especial a Adilene, Bere, Martha, Adán, Javier y por su puesto a mi compañera de tesis Karla. ¡Los quiero mucho!.

## DEDICATORIA

Dedicado con todo mi cariño a mis padres, gracias por ser el pilar fundamental en mi vida, los admiro mucho.

Karla

A mi madre Juana Alicia Córdova de Valencia y a mi padre Miguel Ángel Valencia Álvarez, mi ejemplo a seguir y mis ganas de salir adelante. ¡Los amo!.

Michelle

*Para alcanzar el éxito se requiere de tres cosas: voluntad, valor y decisión.*

Anónimo

## ÍNDICE

|   |    |
|---|----|
| LISTA DE FIGURAS.....   | 9  |
| LISTA DE TABLAS .....   | 10 |
| OBJETIVOS .....   | 11 |
| OBJETIVO GENERAL.....   | 11 |
| OBJETIVOS PARTICULARES .....  | 11 |
| RESUMEN.....  | 12 |
| INTRODUCCIÓN.....   | 13 |
| ANTECEDENTES.....   | 16 |
| ELECTROHILADO.....  | 16 |
| Proceso de Electrohilado.....   | 17 |
| Tipos de Arreglo .....  | 18 |
| Acomodo sencillo y lado a lado.....                                   | 18 |
| Configuración coaxial.....  | 20 |
| Parámetros que Intervienen en el Proceso .....                        | 21 |
| Características de la solución.....                                   | 21 |
| Condiciones ambientales .....   | 21 |
| Variables del proceso.....  | 22 |
| Aplicaciones .....  | 23 |
| Ingeniería de tejidos.....  | 23 |
| Apósitos para heridas.....  | 24 |
| Suministros de fármaco.....   | 24 |
| POLÍMEROS .....   | 24 |
| Poli (vinil pirrolidona) .....  | 24 |
| Acetato de Celulosa.....  | 25 |
| (-) EPICATEQUINA .....  | 26 |
| TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN .....                                     | 27 |
| Propiedades Mecánicas.....  | 27 |
| Resistencia. ....   | 27 |
| Módulo de Young .....   | 27 |
| Deformación.....  | 28 |
| Espectroscopía Ultravioleta Visible.....                              | 28 |
| Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR) ..... | 29 |
| Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).....                         | 30 |



|   |    |
|---|----|
| Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) .....                    | 32 |
| MATERIALES Y MÉTODOS .....  | 34 |
| PREPARACIÓN DE SOLUCIONES .....                                       | 34 |
| Poli (vinil pirrolidona).....   | 34 |
| Acetato de Celulosa.....  | 34 |
| (-) Epicatequina .....  | 34 |
| PREPARACIÓN DE MEMBRANAS FIBROSAS.....                                | 35 |
| CARACTERIZACIÓN DE LAS MEMBRANAS.....                                 | 36 |
| Evaluación de las Propiedades Mecánicas .....                         | 36 |
| Evaluación de Liberación de Epicatequina.....                         | 36 |
| Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR) ..... | 36 |
| Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).....                         | 37 |
| Microscopía Electrónica de Transmisión.....                           | 37 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....   | 38 |
| PREPARACIÓN DE MEMBRANAS DE AC/PVP + EPIC/AC .....                    | 38 |
| CARACTERIZACIONES DE MEMBRANA FIBROSA DE AC/PVP+EPIC/AC.....          | 39 |
| Propiedades Mecánicas.....  | 39 |
| Evaluación de Liberación de Epicatequina.....                         | 40 |
| Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR) ..... | 42 |
| Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).....                         | 44 |
| Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) .....                    | 45 |
| CONCLUSIONES .....  | 47 |
| RECOMENDACIONES .....   | 47 |
| BIBLIOGRAFÍA.....   | 48 |

## LISTA DE FIGURAS

| <b>Figura</b> |  | <b>Página</b> |
|---------------|--|---------------|
| 1.            | Esquema del proceso básico de electrohilado. ....  | 18            |
| 2.            | Representación esquemática de la configuración de electrohilado sencillo. ....   | 19            |
| 3.            | Representación esquemática de la configuración de electrohilado lado a lado. ....  | 19            |
| 4.            | Representación esquemática de la configuración de electrohilado coaxial. ....  | 20            |
| 5.            | Estructura del Poli (vinil pirrolidona). ....  | 25            |
| 6.            | Estructura del Acetato de Celulosa. ....   | 26            |
| 7.            | Estructura de la Epicatequina. ....  | 27            |
| 8.            | Representación Esquemática del SEM. ....   | 31            |
| 9.            | Representación Esquemática del TEM. ....   | 33            |
| 10.           | Fotografías de membranas fibrosas de 10x10 cm con una cantidad de 0.1 g (68.9 mmol) de Epic (a) y 0.05 g (34.4 mmol) de Epic (b). .... | 38            |
| 11.           | Cantidad (g) de Epic (concentración de 34.4 mmol) liberada de membrana de AC/PVP+Epic/AC a una temperatura de 22°C. ....               | 41            |
| 12.           | Cantidad (%) de Epic (concentración de 34.4 mmol) liberada de membrana de AC/PVP+Epic/AC a una temperatura de 22°C. ....               | 41            |
| 13.           | Espectros de infrarrojo de a) AC, b) PVP y c) Epic y su respectiva estructura química. ....  | 43            |
| 14.           | Espectros de infrarrojo de a) AC/PVP+Epic/AC y b) AC/PVP+Epic/AC después de liberar Epic y PVP. ....                                   | 43            |
| 15.           | Microfotografía de AC/PVP+Epic/AC en a) 500x y b) 5000x aumentos. ....   | 44            |
| 16.           | Microfotografía de AC/PVP+Epic/AC después de su liberación en a) 500x y b) 5000x aumentos. ....  | 45            |
| 17.           | Microfotografía a 500x de a) AC/PVP+Epic/AC y b) AC/PVP+Epic/AC después de su liberación. ....   | 46            |

## LISTA DE TABLAS

| <b>Tabla</b> |   | <b>Página</b> |
|--------------|---|---------------|
| 1.           | Materiales electrohilados y su aplicación biomédica. ....   | 17            |
| 2.           | Resumen de los efectos en la morfología de la fibra según las variables del proceso. ....               | 23            |
| 3.           | Frecuencias características de absorción infrarroja. ....   | 30            |
| 4.           | Condiciones e intervalos de variación en la preparación de membranas con estructura núcleo coraza. .... | 35            |
| 5.           | Condiciones óptimas en la formación de fibras de AC/PVP+Epic/AC. ....                                   | 39            |
| 6.           | Resultados promedio de las pruebas a tensión. ....  | 39            |

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Preparar membranas fibrosas de Acetato de Celulosa (AC) y Poli (vinil pirrolidona) (PVP) con (-) epicatequina (Epic) embebida en la fibra utilizando la técnica de electrohilado coaxial para su uso potencial en tejido cardiaco.

### **Objetivos particulares**

- Obtener valores óptimos para cada variable del proceso de electrohilado en la preparación de membranas fibrosas de AC / PVP + Epic/ AC.
- Realizar la caracterización morfológica de las membranas fibrosas antes y después de la liberación de Epic así como su caracterización mecánica.
- Determinar la capacidad de liberación de Epic a pH neutro, utilizando agua como medio de liberación.

## RESUMEN

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la principal causa de morbilidad y mortalidad que afecta a un gran número de países, diversas investigaciones han dado a conocer que el consumo rico en flavonoides como lo es la Epic, tiene efectos directos sobre el miocardio al mantener o restablecer la producción de óxido nítrico vascular y tener efectos antioxidantes. Muchas estrategias para reparar y regenerar el miocardio lesionado por medio de la utilización de biomateriales están bajo investigación activa, sin embargo, aunque muchos tipos de aplicaciones han sido desarrolladas, relativamente pocas se han utilizado para modificar el ambiente hostil del miocardio infartado, por otra parte, se ha desarrollado la preparación de fibras a nanoescala por medio del método de electrohilado en donde es aplicado un campo eléctrico alto en una o varias soluciones poliméricas. El objetivo de este trabajo fue preparar membranas fibrosas de AC y PVP con Epic embebida en la fibra utilizando la técnica de electrohilado coaxial para su uso potencial en tejido cardíaco. Se encontraron las condiciones óptimas para su preparación y los resultados arrojaron que el flavonoide expuesto a un medio acuoso con pH neutro presenta una liberación muy buena del 80.74%, la caracterización morfológica confirma la estructura núcleo coraza que adoptó la fibra generada, además, el análisis de tensión dio a conocer que la incorporación de Epic no tiene gran efecto en las propiedades mecánicas de las membranas. Lo anteriormente descrito hace factible la utilización de las membranas fibrosas en el área biomédica ya que se puede inferir que la administración terapéutica de Epic podría ser efectiva para una persona con daño al miocardio, debido a las grandes propiedades benéficas que el flavonoide representa en el tejido cardíaco.

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la principal causa de morbilidad y mortalidad que afecta a un gran número de países. La presencia de este tipo de enfermedades deja importantes costos directos e indirectos sobre la atención a la salud por medio de hospitalizaciones, medicamentos y servicios generales en su tratamiento. La incidencia de estos padecimientos va en aumento año con año por lo que es de vital importancia identificar los posibles agentes terapéuticos que ayuden a prevenir o tratar de manera adecuada estas afecciones. El infarto al miocardio, que es la condición aguda de necrosis en el corazón, está fuertemente relacionado con la disfunción de las células endoteliales que a su vez provocan trastornos de obesidad, diabetes y cambios hormonales. Se sabe que el endotelio vascular se encarga de mediar varias funciones fisiológicas, tales como respuestas a angiogénesis, remodelación vascular, inflamación y coagulación. Su actividad esta mediada por la presencia de óxido nítrico que se produce principalmente por óxido nítrico sintasa endotelial. Varias investigaciones han dado a conocer que el consumo rico en flavonoides como lo es la Epic, tiene efectos directos sobre el miocardio al mantener o restablecer la producción de óxido nítrico vascular y tener efectos antioxidantes, barriendo con ello radicales libres, que son los que finalmente producen padecimientos degenerativos (Ramírez y col., 2010).

Un estudio realizado por (Stanely, 2011) comprobó que el uso de Epic se asocia con un riesgo reducido de enfermedades cardiovasculares. La investigación tuvo como objetivo evaluar los efectos preventivos de este flavonoide sobre el estrés oxidativo inducido por isoproterenol en ratas infartadas de entre 180 y 200 gramos de peso, revelando que la administración oral (por medio de sonda intragástrica) de 20 mg de Epic por kg de peso durante 21 días disminuye la magnitud del daño tisular en el miocardio, minimizando la fuga de creatina quinasa MB, troponina-T y las isoenzimas de lactato deshidrogenasa, manteniendo la estructura y arquitectura de las células cardiacas mediante la disminución del daño en el tejido y fortalecimiento de membrana miocárdica. Si estos efectos beneficiosos pueden ser reproducidos en los seres humanos, estos hallazgos pueden representar una terapia profiláctica para el miocardio isquémico; para ello, muchas estrategias para reparar y regenerar el miocardio lesionado por medio de la utilización de biomateriales están bajo investigación activa, el éxito de estas estrategias radica en controlar el microambiente del mismo, este control puede ser diseñado a través de biomateriales que proporcionan adhesión cuantitativa, crecimiento, o señales de migración. Aunque muchos tipos de aplicaciones han sido desarrolladas, relativamente pocas se han utilizado para modificar el ambiente hostil del miocardio infartado (Stanley, 2011; Davis y col., 2005).

Investigaciones en la ciencia de polímeros han desarrollado, por medio del método de electrohilado, la preparación de fibras a nanoescala generadas por la aplicación de un campo eléctrico alto en una o varias soluciones poliméricas, sin embargo, existen diversas variables (en la solución y el proceso) que afectan significativamente la morfología de las fibras, por lo que es de suma importancia hacer una búsqueda correcta de los parámetros que mejor se adecúan en la formación de las membranas. La técnica ha evidenciado cada vez más interés debido a su versatilidad y posibilidad de aplicación en diversos campos especialmente biomédicos, las membranas de nanofibras producidas por esta técnica son utilizadas, por ejemplo, en sistemas de liberación de fármacos, mismos que tienen como finalidad mantener una concentración determinada de éste en sangre o en los tejidos diana durante un periodo de tiempo. Las membranas utilizadas en la liberación de fármaco pueden ser introducidos en el organismo a través de varias vías anatómicas, dependiendo de la condición y las necesidades terapéuticas del paciente. La elección de la vía de administración está relacionada directamente con la eficiencia y velocidad con la que actúa el fármaco, la aplicación de éste depende de varios factores, por ejemplo, las propiedades particulares del fármaco, la enfermedad a tratar y la duración del efecto terapéutico. Los medicamentos se pueden aplicar ya sea por vía sistémica o directamente al órgano o tejido que es el que se propone en este trabajo. Las rutas anatómicas para la administración de fármacos, se pueden dividir en sistemas gastrointestinales: oral y rectal; vía parenteral: inyección subcutánea, intramuscular, intravenosa o intra arterial; vía transmucosa, transnasal, inhalación pulmonar, transdérmica e intraósea, por mencionar algunas (Bhardwaj y Kundu, 2010; Ferreira y col., 2012; Coelho y col., 2010).

A lo largo de las últimas dos décadas se ha progresado en la obtención de nuevos enfoques y estrategias para controlar varios parámetros considerados esenciales en mejorar el rendimiento del tratamiento. Dentro de este progreso, los polímeros biodegradables son los materiales más atractivos para su aplicación en sistemas de liberación, ya que pueden ser desintegrados y eliminados fácilmente del cuerpo sin manipulación adicional. Además de la biodegradabilidad, las membranas requieren ciertas características ideales para su uso, como lo son: compatibilidad con tejidos, sangre u otros fluidos biológicos que estén en contacto con ella, alta flexibilidad, alta porosidad y permeabilidad adecuada, buenas propiedades mecánicas, entre otras (Coelho y col., 2010; Shaikh y col., 2010).

Las membranas fibrosas dirigidas para la liberación de fármacos cuentan con una dinámica de liberación, esta difusión sucede ya sea perpendicularmente a través de la membrana polimérica, o por los extremos de la misma. Los avances científicos se han centrado en el desarrollo y diseño de nuevos materiales poliméricos capaces de incorporar fármacos o antibióticos, que puedan ser eficientemente administrados, dando lugar a nuevos sistemas terapéuticos y terapias personalizadas que propicien una mejora en la calidad de

vida de los pacientes, de acuerdo a las necesidades particulares de cada uno. Es por eso, que el empleo de membranas fibrosas con Epic incorporada, podría ser en un futuro un tratamiento alternativo para personas con ECV (Coelho y col., 2010; Shaikh y col., 2010; Davis y col., 2005).



## **ANTECEDENTES**

### **Electrohilado**

El término electrohilado deriva de “hilado electrostático”, es un proceso que a través de un chorro eléctricamente cargado de solución polimérica es capaz de crear fibras muy pequeñas, cuyo diámetro varía de varios nanómetros a unos cuantos micrómetros. Es un proceso muy sencillo y versátil que se puede utilizar para hilar cualquier polímero que sea soluble en un disolvente volátil y es capaz de crear pequeñas fibras con una amplia variedad de formas y tamaños, cuyas propiedades tienen aplicación en diferentes áreas biomédicas e industriales (Bhardwaj y Kundu, 2010; Garg y Bowlin, 2011).

Esta técnica se ha utilizado ampliamente en los últimos años, sin embargo, su origen se remonta a más de 10 décadas, ya que fue observado por primera vez en 1897. En el año de 1914 Zeleny fue quien se encargó de estudiar por primera vez la técnica de electrohilado, siendo patentada varias veces por Antonin Formhals entre 1934 y 1944 describiendo el montaje experimental para la producción de fibras textiles. Los estudios del proceso fueron aumentando año con año, pero no fue sino hasta 1969 en que Taylor sentó las bases del proceso estudiando el chorro producido a partir de la gotita de solución polimérica (cono de Taylor) originada durante el proceso. A partir de todas las aportaciones descritas anteriormente una de las contribuciones más importantes para el proceso fue otorgada por Hayati y colaboradores en el año de 1987, estudiando los factores que afectan la estabilidad del chorro y el proceso. Con base en lo anterior a partir de 1990 hasta nuestros días se ha desarrollado e incluso modificado la técnica de electrohilado y ha crecido el interés por la fabricación de membranas poliméricas enfocadas a diferentes áreas, especialmente biomédicas (Bhardwaj y Kundu, 2010; Garg y Bowlin, 2011).

Se han electrohilado un gran número de materiales distintos cuyo número va en ascenso año con año, Actualmente se han generado exitosamente, membranas fibrosas con más de 200 tipos de polímeros, la mayoría de ellas dirigidas principalmente hacia la aplicación biomédica, los materiales utilizados cuentan con diversas características como lo son principalmente la biocompatibilidad y biodegradabilidad, las membranas fibrosas son formadas tanto por polímeros sintéticos como naturales, o bien una mezcla de ambos, esta selección se hace con base en la estructura final que se desea que adopte o la funcionalidad que se quiera manejar. En la Tabla 1 se muestra un pequeño resumen de algunos de los materiales que han sido electrohilados así como su aplicación en el área biomédica para las que fueron preparadas estas membranas (Bhardwaj y Kundu, 2010).

Tabla 1. Materiales electrohilados y su aplicación biomédica.

| Material electrohilado                | Aplicación Biomédica     | Referencia               |
|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Poli (ácido láctico) (PLA)            | Liberación de Fármaco    | (Agarwal y col., 2008)   |
| Poliuretano (PU)                      | Cicatrización de Heridas | (Bhardwaj y Kundu, 2010) |
| Poliestireno                          | Ingeniería de Tejido     | (Bhardwaj y Kundu, 2010) |
| PVP/PLLA                              | Ingeniería de Tejido     | (Xu y col., 2011);       |
|                                       | Liberación de Fármaco    | (Wang y col., 2010)      |
| Ácido Hialurónico                     | Implantes Médicos        | (Bhardwaj y Kundu, 2010) |
| Colágeno y Fibroína de Seda           | Ingeniería de Tejido     | (Zhou y col., 2010)      |
| Poli (vinil alcohol)                  | Vendaje para Heridas     | (Bhardwaj y Kundu, 2010) |
| Acetato de Celulosa                   | Liberación de Fármaco    | (Agarwal y col., 2008)   |
| Fibrinógeno                           | Cicatrización de Heridas | (Bhardwaj y Kundu, 2010) |
| Poli(etileno)vinilacetato (PEVA)      | Liberación de Fármaco    | (Garg y Bowlin, 2011)    |
| Quitosano                             | Liberación de Fármaco    | (Bhardwaj y Kundu, 2010) |
|                                       | Cicatrización de Heridas |                          |
| Poli ( $\epsilon$ caprolactona) (PCL) | Ingeniería de Tejido     | (Bhardwaj y Kundu, 2010) |

### Proceso de Electrohilado

El sistema de electrohilado consta de tres componentes principales: una fuente de alto voltaje, una jeringa con una solución polimérica y una placa metálica como colector (Figura 1). En un proceso típico de electrohilado se inyecta a la solución polimérica una carga eléctrica de cierta polaridad para ser acelerada por medio de una bomba inyectora hacia un colector conectado a tierra de polaridad opuesta, posteriormente se forma una gota de solución altamente electrificada en la punta de la aguja, creando lo que se conoce como “cono de Taylor” debido a la repulsión de fuerzas electrostáticas creadas entre las cargas superficiales de los polímeros, así como por la atracción que se genera con la carga de la placa colectora. Al momento en que el campo eléctrico aplicado alcanza un valor crítico, las fuerzas electrostáticas de repulsión superan el umbral de la tensión superficial en la solución polimérica, ésta es expulsada desde la punta del cono de Taylor hacia la placa colectora, el chorro cargado solidifica al evaporarse el disolvente que lo acompaña formando finalmente la membrana fibrosa (Bhardwaj y Kundu, 2010; Charernsriwilaiwat y col., 2010; Li y col., 2006).

Como se ha mencionado anteriormente, el método de electrohilado es un proceso por el cual podemos obtener membranas fibrosas de diámetro muy pequeño, sin embargo, puede ser modificado para combinar diversos polímeros obteniendo diferentes estructuras

morfológicas en la fibra. La técnica se clasifica en 3 distintos arreglos según el acomodo de las agujas: sencillo, lado a lado y coaxial. Para definir cuál configuración utilizar es necesario conocer las propiedades de el o los polímeros que se pretenden usar así como la aplicación en la que se desean emplear (Agarwal y col., 2008).

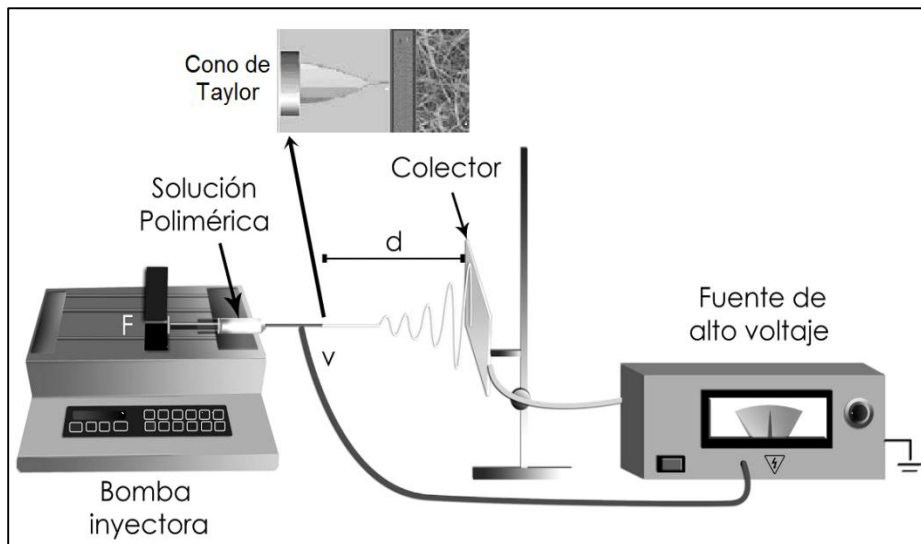


Figura 1. Esquema del proceso básico de electrohilado.

Fuente: Adaptado de Nájera, 2010.

## Tipos de Arreglo

**Acomodo sencillo y lado a lado.** Dentro del método de electrohilado el arreglo sencillo es el más básico, ya que en él se emplea una sola jeringa con solución polimérica (Figura 2). Su uso es destinado principalmente para la formación de fibras compuestas de una sola solución polimérica o bien mezcla de ellas. Sin embargo, si se elige trabajar con dos o más polímeros estos deben tener la capacidad de formar una mezcla homogénea con el disolvente, además de presentar propiedades miscibles entre las mismas (Gupta y Wilkes, 2003).

Cuando estas cualidades son difíciles de lograr se pueden electrohilar simultáneamente dos polímeros utilizando una configuración lado a lado en el acomodo de las agujas, cada jeringa tendrá una solución con características propias sin estar en contacto entre sí hasta que el proceso de hilatura empieza, formando finalmente la fibra. Estas características ofrecen varias ventajas ya que se pueden obtener membranas en la que cada solución aporte condiciones químicas o físicas particulares proporcionando mayor ventaja en las aplicaciones deseadas (Figura 3) (Gupta y Wilkes, 2003).

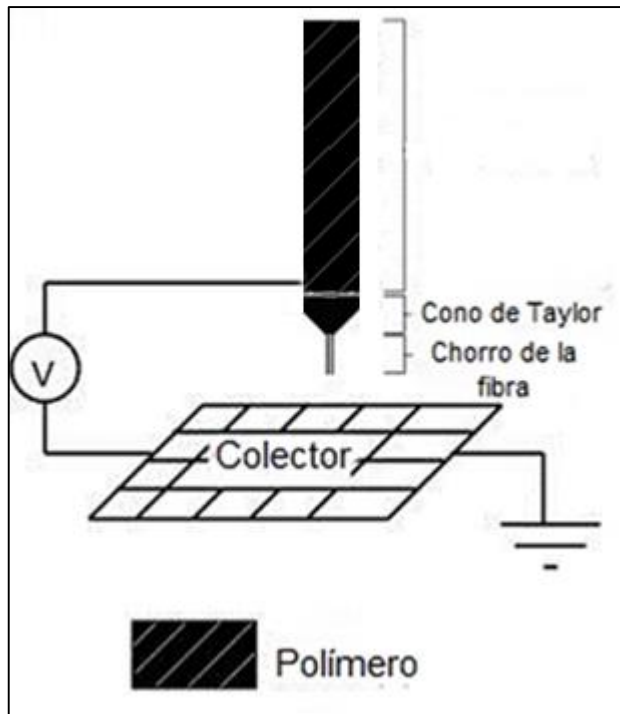


Figura 2. Representación esquemática de la configuración de electrohilado sencillo.  
 Fuente: Adaptada de Still y col., 2008.

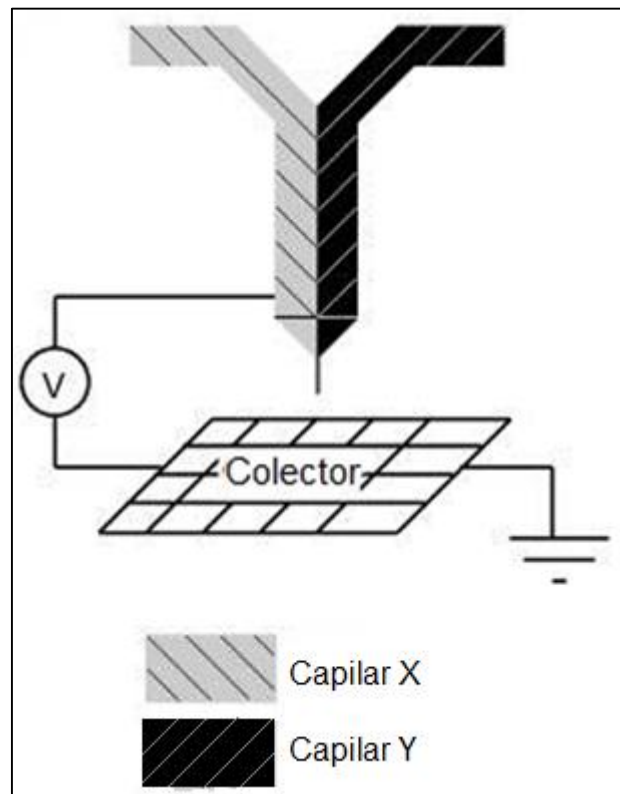


Figura 3. Representación esquemática de la configuración de electrohilado lado a lado.  
 Fuente: Adaptada de Still y col., 2008.

**Configuración coaxial.** El arreglo coaxial es utilizado para generar membranas fibrosas de dos componentes diferentes simultáneamente, concentrados en una estructura núcleo coraza. En general, se utilizan dos soluciones poliméricas con el fin de establecer una de ellas en el centro de la fibra como la parte nuclear y la otra en la parte superficial representando la coraza. Para obtener este tipo de configuración se utilizan dos boquillas alineadas concéntricamente, a las cuales se les aplica el mismo voltaje formando un chorro eléctricamente cargado que finalmente crea una fibra con la conformación deseada. (Figura 4) (Zhang y col., 2010; Garg y Bowlin, 2011).

La configuración núcleo coraza es utilizada en diferentes aplicaciones biomédicas, principalmente en la liberación de fármacos, es capaz de incorporar diferentes tipos de biomateriales de una manera sostenida ya que permite encapsular el fármaco proporcionando con ello una estabilidad más completa además de un mayor control en la cinética de liberación en comparación con las fibras obtenidas con otros tipos de microarreglos (Charkraborty y col., 2009).

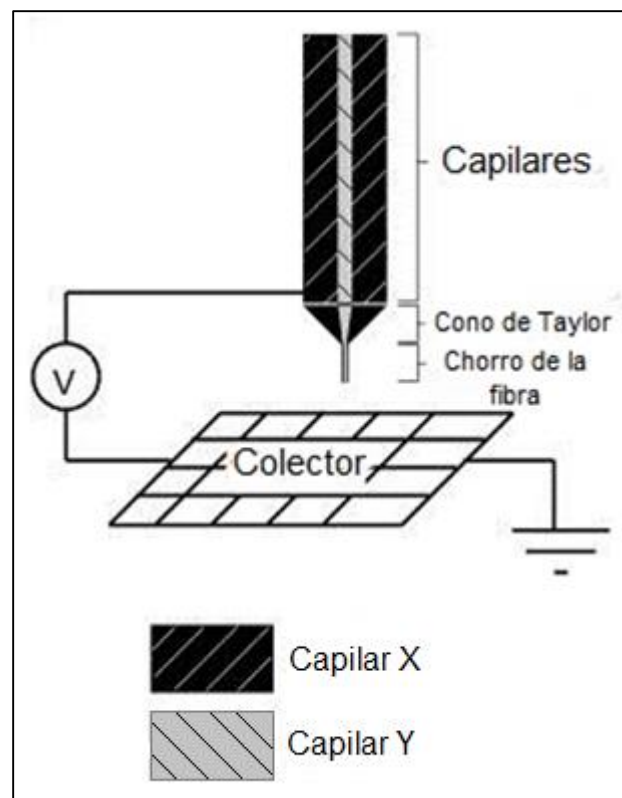


Figura 4. Representación esquemática de la configuración de electrohilado coaxial.  
Fuente: Adaptada de Still y col., 2008.

## **Parámetros que Intervienen en el Proceso**

A pesar de la aparente sencillez del método de electrohilado, el proceso es bastante complicado, ya que este se rige por diferentes parámetros que influyen en las propiedades de las membranas fibrosas generadas. Estos parámetros pueden clasificarse ampliamente en tres grupos: características de la solución, condiciones ambientales y variables del proceso. Cada uno de ellos puede afectar la conformación final de las membranas creadas, es por eso que la correcta manipulación de las variables puede significar obtener o no fibras poliméricas con morfología adecuada (De Vrieze y col., 2008; Bhardwaj y Kundu, 2010).

**Características de la solución.** Las características de la solución son condiciones que intervienen de manera significativa en la formación de las membranas poliméricas, algunas de ellas se encuentran muy relacionadas entre sí estando una en función de la otra. Estas variables se pueden clasificar en concentración, viscosidad, peso molecular, tensión superficial y conductividad. Dentro de ellas una de las más significativas en este parámetro es la concentración, ya que de esta depende fuertemente la viscosidad final de la solución preparada, si la concentración de la solución es muy alta, entonces la viscosidad también lo estará, dificultando con esto la eyección estable del chorro al no poderse controlar el flujo de la solución, por otro lado, si la concentración es muy baja se pierde la continuidad de la fibra y hay aparición de gotas o perlas de solución en la membrana final (Yu y col., 2011; Bhardwaj y Kundu, 2010).

**Condiciones ambientales.** Las condiciones ambientales como la humedad y la temperatura juegan un papel importante en el proceso de electrohilado, estudios realizados han determinado que con una humedad relativa mayor a 60% es imposible electrohilar una solución polimérica. El motivo principal, es que al aumentar la humedad, hay mayor presión parcial de agua en el ambiente, lo que puede favorecer que ciertas soluciones poliméricas absorban agua durante el proceso y se interrumpa el secado normal del disolvente durante la marcha del chorro de solución hacia el colector. Por otro lado, al aumentar la temperatura, se disminuye la tensión superficial y la viscosidad de la solución polimérica, provocando una mayor movilidad de las cadenas entrelazadas del polímero, por lo tanto gracias a la fuerza eléctrica aplicada, se aumenta el estiramiento del chorro, generando fibras de diámetro más pequeño (De Vrieze y col., 2008; Charkraborty y col., 2009).

**VARIABLES DEL PROCESO.** Una característica muy ventajosa del método de electrohilado es que tiene la capacidad de adecuar las variables del proceso como la intensidad del campo eléctrico, la velocidad de flujo de la solución y la distancia entre la punta de la aguja y el colector para producir fibras con características deseadas. Estos tres parámetros tienen influencia en cuanto al diámetro, la morfología, y la presencia de perlas en las fibras, este último, es un problema común durante el proceso, si no son buscadas correctamente las condiciones óptimas (Tabla 2) (Agarwal y col., 2008).

Para el voltaje aplicado, existe controversia en cuanto a las diferencias morfológicas que representa su variación en las fibras poliméricas, para unos autores, al aumentar la intensidad del campo eléctrico, hay mayor probabilidad de que se produzcan perlas en la membrana, además de un aumento del diámetro de la fibra por presentar una mayor eyección del chorro de solución, por otra parte, otros autores han informado que al iniciar el proceso, si se aumenta la intensidad del campo eléctrico, aumentan también las fuerzas de repulsión en el chorro de solución, lo que provoca la disminución del diámetro de la fibra. Por lo tanto, el voltaje o la intensidad de campo eléctrico aplicado, tiene influencia en el diámetro de la fibra, pero el nivel de significancia varía dependiendo de la concentración de la solución polimérica y de la distancia entre la punta de la aguja y el colector (Bhardwaj y Kundu, 2010).

Al aumentar la distancia de separación que hay entre la aguja y el colector el diámetro de la fibra disminuye, sin embargo, una distancia de separación mayor a 20 cm, puede significar pérdida, mientras que una distancia muy corta puede provocar la formación de perlas debido a residuos de disolvente durante la colección de la fibra. Es por eso que se debe de utilizar una distancia media para que el disolvente de la solución tenga el tiempo suficiente para evaporarse durante la marcha hacia el colector (Charkraborty y col., 2009).

La velocidad de flujo de la solución se controla desde la bomba inyectora y tiene una influencia directa en el diámetro de las fibras. Se ha observado que al aumentar la velocidad de flujo, aumenta el diámetro de la fibra y se pueden producir perlas, debido al ineficiente tiempo de evaporación del disolvente, durante el vuelo de la fibra. Una velocidad de flujo inferior es generalmente el más adecuado para que el disolvente tenga el suficiente tiempo de evaporación (Bhardwaj y Kundu, 2010).

La Tabla 2 muestra cada una de las variables del proceso y su efecto en la morfología de las membranas fibrosas generadas según la condición que va adaptando cada parámetro.

Tabla 2. Resumen de los efectos en la morfología de la fibra según las variables del proceso.

| Variable del proceso                   | Efecto en la morfología  |
|--|--|
| Voltaje aplicado                       | Disminuye el diámetro de la fibra con un incremento del voltaje aplicado.  |
| Distancia entre la aguja y el colector | Generación de perlas con distancias muy bajas y pérdida solución con distancias muy grandes, es necesario una distancia media para fibras uniformes. |
| Flujo de la solución                   | Con una baja velocidad de flujo disminuye el diámetro de la fibra, con una velocidad de flujo muy alta se generan perlas.                            |

Fuente: Bhardwaj y Kundu, 2010.

### Aplicaciones

La estructura de las membranas fibrosas cuenta con varias ventajas de las cuales se puede hacer uso en diversas aplicaciones, especialmente en el área biomédica. La formación de fibras con diámetros pequeños, buenas propiedades mecánicas, una gran área de superficie respecto al volumen y porosidad de la membrana son algunos ejemplos de las propiedades benéficas que brinda. Se han utilizado diferentes membranas en varias áreas de aplicación tales como, ingeniería de tejidos, injertos vasculares, apósitos para heridas, biosensores, ropa de protección y suministro de fármacos, solo por mencionar algunos, sin embargo, es importante que al momento de pensar en una aplicación biomédica con membranas fibrosas, el material a utilizar cuente con características biodegradables, biocompatibles y de baja toxicidad para un potencial tratamiento terapéutico exitoso (Agarwal y col., 2008).

**Ingeniería de tejidos.** Esta aplicación biomédica hace uso de una combinación de áreas tanto de ingeniería como de ciencias naturales con el fin de brindar fibras capaces de proporcionar soporte a las células como apoyo para regenerar una nueva matriz extracelular que ha sido dañada por diversos factores, ya sean físicos o biológicos. Esta aplicación de membranas fibrosas representa un reto bastante fuerte ya que es un campo activo y en evolución de la investigación científica, es una herramienta importante en la medicina regenerativa y requiere ser un material altamente afín al cuerpo para poder imitar la matriz extracelular adecuadamente sin presentar reacciones adversas o estímulos inmunológicos indeseados (Agarwal y col., 2008; Shaikh y col., 2010).



**Apósitos para heridas.** Para el uso de estas fibras se han buscado condiciones que proporcionen estabilidad hemostática y bactericida en la herida con el fin de proporcionar un microambiente que propicie su adecuada recuperación, aunque su uso hasta hoy es relativamente bajo, recientes investigaciones han reportado buenos resultados terapéuticos (Agarwal y col., 2008).

**Suministros de fármaco.** La simplicidad del método de electrohilado brinda la capacidad de incorporar un gran número de sustancias terapéuticas en las fibras poliméricas preparadas, esta característica es de gran impacto en el área médica ya que se crean sistemas de administración de fármacos que pueden adecuarse a las diferentes problemáticas de salud. La estructura núcleo coraza que adopta la membrana fibrosa por el método de electrohilado coaxial es ideal para este tipo de aplicaciones biomédicas, ya que mediante esta se pueden encapsular aditivos bioactivos en la parte central de la fibra. Esta característica es muy importante ya que ofrece varias ventajas, por ejemplo, proporcionar estabilidad y protección temporal al fármaco por la coraza que lo envuelve, así como también otorgar un mayor control sobre la liberación del mismo. Además de lo anteriormente mencionado, una permeabilidad controlada y buenas propiedades de liberación son dos características fundamentales para que el aditivo funcione eficientemente (Wang y col., 2012; Zhang y col., 2010; Shaikh y col., 2010).

## Polímeros

### Poli (vinil pirrolidona)

El compuesto Poli (vinil pirrolidona) también conocido como povidona o PVP, es un polímero vinílico que se obtiene a partir de la reacción del monómero N-vinil-pirrolidona o N-pirrolidona, con acetileno. Este polímero es soluble en la mayoría de los disolventes convencionales polares y no polares, sin embargo, a altas temperaturas y combinado con sustancias fuertemente alcalinas como lo son el carbonato de litio o hidróxido de sodio, puede convertirse en insoluble (Figura 5) (Yu y col., 2011).

Además de su alta solubilidad en distintas polaridades, este polímero cuenta con varias propiedades como no representar ningún tipo de toxicidad, ser fisiológicamente compatible y contar con gran estabilidad química al resistir altas temperaturas, ser no iónico y permanecer químicamente inerte. Todas estas características lo han convertido en uno de los principales compuestos poliméricos utilizados desde hace muchos años en aplicaciones destinadas a diferentes áreas como la medicina y la farmacéutica al no representar ningún

tipo de peligro su utilización. Por ejemplo, en 1939 durante la segunda guerra mundial, se utilizó PVP como diluyente de plasma sanguíneo tratando con este recurso a un gran número de heridos, actualmente se ha utilizado en preparaciones oftálmicas, elaboración de películas, soluciones de limpieza y junto con el yodo en preparaciones desinfectantes y antisépticas (Yu y col., 2011).

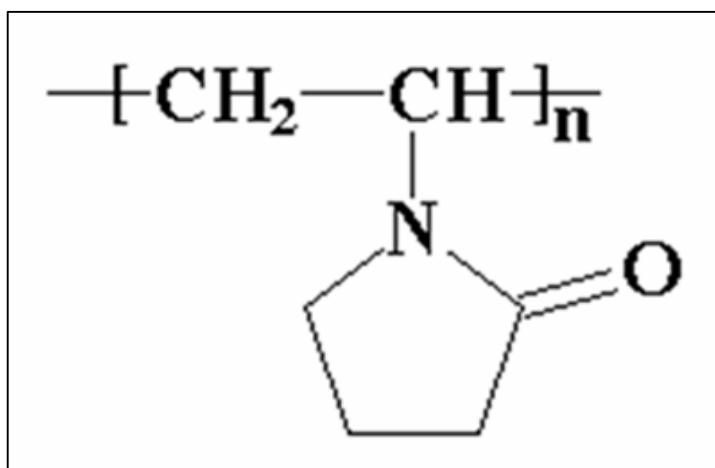


Figura 5. Estructura del Poli (vinil pirrolidona).

### Acetato de Celulosa

La celulosa es el polímero natural más abundante sobre la tierra, es el principal componente de la pared celular de árboles y plantas, se encuentra también en madera, algodón, paja de cereales, semillas y frutos. Actúa como elemento estructural de diversos productos, se ha utilizado ampliamente en la fabricación de nanofibras gracias a sus propiedades biodegradables, biocompatibles, resistencia a la tensión y a su alta capacidad de ser modificada químicamente (Porras y col., 2012; Herrera y col., 2012).

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

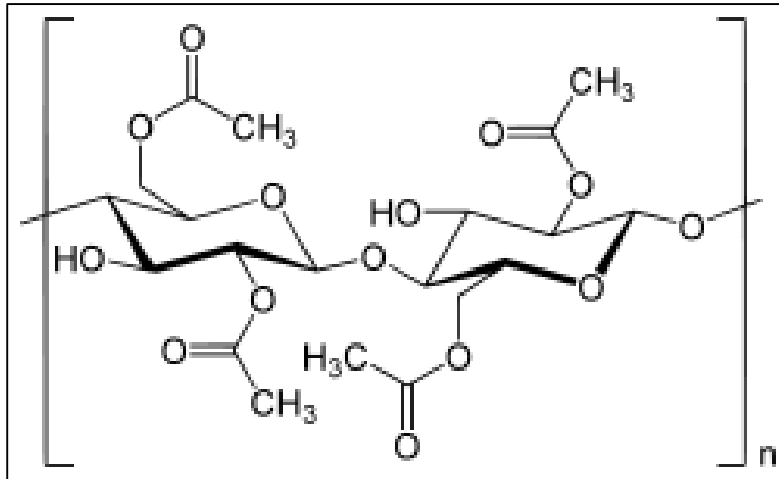


Figura 6. Estructura del Acetato de Celulosa.

### (-) Epicatequina

Los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas y forman parte importante de frutas, vegetales y bebidas derivadas de plantas. La Epic de fórmula  $C_{15}H_{14}O_6$  forma parte de un grupo de polifenoles llamado flavonoides, todos los compuestos que desprenden de este apartado (aproximadamente 5000) comparten ciertas particularidades en su estructura química, ya que cuentan con 2 anillos aromáticos y un heterociclo oxigenado central (Figura 7) (Gutiérrez, 2002).

El chocolate negro proveniente del cacao es la principal fuente de flavonoides, especialmente catequina y Epic, es rico en procianidinas que es un polímero formado por la unión de dos a diez monómeros de Epic debido a la acción de la enzima polifenol oxidasa durante su procesamiento; la forma polimérica más abundante es la formada por la unión de dos a seis monómeros de Epic mientras que la forma más activa es la que se encuentra constituida por dos a cinco unidades de la misma (Gutiérrez, 2002).

La estructura química de la Epic le confiere propiedades importantes que benefician a la salud. Sus sustituyentes hidroxilo tienen la capacidad de donar electrones e hidrógenos otorgando efectos antioxidantes, previniendo con ello enfermedades cardiovasculares, cáncer y en general procesos degenerativos. Aunque aún no se sabe específicamente cuáles son los mecanismos por los que actúa este compuesto se han propuesto varias hipótesis, se piensa que tiene propiedades antiinflamatorias, eleva los niveles plasmáticos de óxido nítrico que actúa como vasodilatador disminuyendo la presión sanguínea y bajando los niveles de presión arterial, además disminuye la agregación y adhesión plaquetaria así como la migración y agregación leucocitaria. Diversas investigaciones demuestran que un consumo recurrente de alimentos ricos en Epic especialmente los derivados del cacao,

tienen efectos benéficos en la salud y previene enfermedades como la aterosclerosis disminuyendo el riesgo de sufrir padecimientos cardiovasculares (Valverde, 2007; Corti y col., 2009).

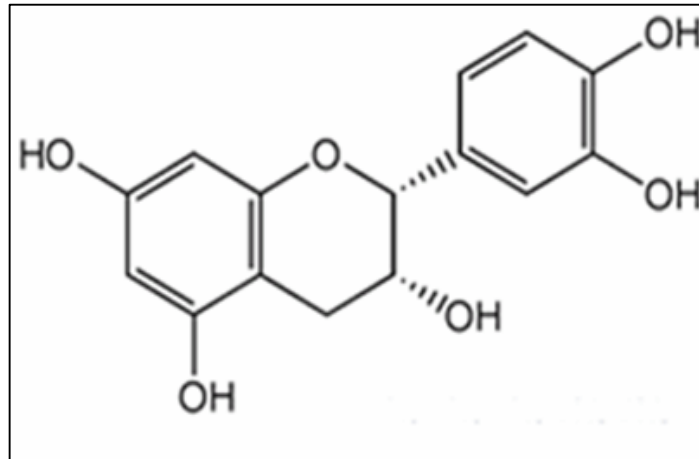


Figura 7. Estructura de la Epicatequina.

## Técnicas de Caracterización

### Propiedades Mecánicas

Las propiedades mecánicas de los materiales dependen de su composición y microestructura. Para la obtención de estas propiedades, es necesario hacer un ensayo de tracción técnico, mismo que es determinado por medio de experimentos efectuados sobre pequeñas probetas en laboratorios equipados con máquinas de prueba capaces de cargar en tensión o compresión (Popov, 2000; Askeland y Phulé, 2004).

**Resistencia.** Se define como la naturaleza de las fuerzas que se generan dentro de un cuerpo para equilibrar el efecto de las fuerzas aplicadas externamente. La resistencia a la tensión o resistencia, se demuestra gráficamente como el resultado del esfuerzo máximo en la curva esfuerzo-deformación ingenieril. En muchos materiales dúctiles, la deformación no permanece uniforme, en algún punto una región se deforma más que otras y se presenta una reducción local grande de la sección transversal en dicho punto. La resistencia a la tensión es el esfuerzo en el cual comienza la estricción en los materiales dúctiles (Popov, 2000; Askeland y Phulé, 2004).

**Módulo de Young.** Es una medida de la rigidez del material bajo una carga impuesta, se obtiene calculando los valores experimentales del esfuerzo normal en un

elemento y la deformación correspondiente al mismo, estos valores se encuentran esencialmente sobre una línea recta, lo que significa que, la relación entre el esfuerzo y la deformación puede considerarse lineal para todos los materiales, esta generalización es conocida como Ley de Hooke, que nos dice que el esfuerzo es directamente proporcional a la deformación, donde la constante de proporcionalidad es E, conocida como módulo elástico, módulo de elasticidad o módulo de Young. Gráficamente E es determinada por la pendiente de la porción recta de la curva esfuerzo-deformación. Si un material tiene como resultado un valor elevado de E, significa que se deformará menos con un esfuerzo dado, es decir, es un material rígido, en cambio, si el valor de E es reducido significa que es un material que tiende a deformarse fácilmente con un esfuerzo aplicado. En el sistema inglés, esta constante es medida generalmente en libras por pulgada cuadrada mientras que en el sistema de unidades SI es medida en Newtons por metro cuadrado o Pascales (Pa) (Popov, 2000; Mott, 1996).

**Deformación.** Cambio de dimensión por unidad de longitud. Al ser una cantidad sin dimensiones con frecuencia se expresa en pulgadas/pulgadas, centímetros/centímetros o se da como un porcentaje de la longitud original. La deformación del material antes de que ceda depende de su rigidez, indicada por el módulo de Young. La rapidez con que se deforma un material es importante desde la perspectiva de las propiedades mecánicas, esta rapidez se determina como la velocidad de deformación, expresada en  $s^{-1}$ . Cuando un material se estira con lentitud, presenta una velocidad de deformación baja, y se puede estirar grandes cantidades, por el contrario cuando un material se estira con rapidez, presenta una velocidad de deformación alta, sin dar tiempo a que las moléculas del polímero se desenreden y se extiendan, por lo que el material se rompe (Askeland y Phulé, 2004).

### **Espectroscopía Ultravioleta Visible**

Los instrumentos diseñados para la medición de la absorción de sustancias de la energía radiante en las porciones ultra violeta y visible del espectro, han recibido diversos nombres: fotómetros, espectrómetros, colorímetros, absortómetros y espectrofotómetros. El espectrofotómetro que es el equipo utilizado en este trabajo es un espectrómetro con equipo accesorio, de tal manera que proporciona la relación, o una función de la relación de la potencia radiante de dos haces como una función del espectro de la longitud de onda. Estos dos haces pueden separarse en tiempo, espacio o en ambos (Willard y col., 1974).

Las medidas de absorción de la radiación ultravioleta y visible encuentran una enorme aplicación en la determinación cuantitativa de una gran variedad de especies tanto inorgánicas como orgánicas. La espectroscopía de absorción molecular se basa en la

medida de la transmitancia  $T$  o de la absorbancia  $A$  de disoluciones que se encuentran en cubetas transparentes. Normalmente la concentración de un analito absorbente está relacionada linealmente con la absorbancia (Skoog y col., 2008).

### **Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR)**

La espectrometría en el infrarrojo es una herramienta versátil que se aplica a la determinación cualitativa y cuantitativa de especies moleculares de todo tipo. Es una técnica de análisis para obtener información acerca de los procesos de absorción y emisión sobre las moléculas que se encuentran en la materia. Las aplicaciones de la espectrometría en el infrarrojo se dividen en tres grandes categorías relacionadas con las tres regiones espectrales del infrarrojo: cercana, media y lejana. La sección de mayor utilidad práctica es aquella que se extiende entre  $4000$  y  $650\text{ cm}^{-1}$  denominada región infrarroja media. La región lejana se encuentra entre  $650$  y  $200\text{ cm}^{-1}$ , ésta se utiliza para el estudio de compuestos órgano-metálicos e inorgánicos y la región infrarroja cercana mide entre  $12500$  y  $4000\text{ cm}^{-1}$  empleada para determinaciones cuantitativas (Aparicio y col., 2012; Skoog y col., 2008).

La base de la Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier es la absorción de los rayos infrarrojos de luz por varias moléculas en una muestra. Por lo tanto, el FTIR consiste en someter a una energía el haz de infrarrojos que es emitido por una fuente: así el haz de luz cruza una cámara para controlar la cantidad de energía radiada en la muestra. Los rayos infrarrojos entre el interferómetro espectral es donde la codificación se lleva a cabo y el interferograma resultante se encarga de las salidas de la señal del interferómetro. Además, el haz de luz infrarroja de energía entra en el compartimento de la muestra donde se transmite a través o reflejada desde la superficie de la muestra según del tipo de análisis que se realiza. Finalmente, el haz se pasa al detector para la medición final y se mide la señal que se digitaliza y se envía de nuevo al equipo en el que la transformación de Fourier se lleva a cabo (Aparicio y col., 2012).

Para absorber radiación en el infrarrojo, una molécula debe sufrir un cambio neto en el momento dipolar como consecuencia de su movimiento de vibración o de rotación. Solo en estas circunstancias en campo eléctrico alterno de la radiación puede interactuar con la molécula, y provocar cambios en la amplitud de alguno de sus movimientos. Los espectros de absorción, emisión, y reflexión en el infrarrojo de especies moleculares, se pueden explicar asumiendo que todos son el resultado de los distintos cambios energéticos producidos en las transiciones de las moléculas de unos estados de energía vibracionales y rotacionales a otros. En la tabla 3 se muestran algunos ejemplos de frecuencias características de absorción infrarroja (Skoog y col., 2008).

Tabla 3. Frecuencias características de absorción infrarroja.

| Enlace           | Tipo de Compuesto                                | Intervalo de Frecuencia,<br>cm <sup>-1</sup> | Tipo de<br>banda |
|------------------|--|--|------------------|
| C-H              | Alcanos  | 2850-2960<br>1350-1470                       | Intensa          |
| C=H              | Alquenos   | 3020-3080<br>675-1000                        | Moderada         |
| C-H              | Anillos aromáticos                               | 3000-3100<br>675-870                         | Moderada         |
| C≡H              | Alquinos   | 3300   | Intensa          |
| C=C              | Alquenos   | 1640-1680                                    | Variable         |
| C≡C              | Alquinos   | 2100-2260                                    | Variable         |
| C=C              | Anillos aromáticos                               | 1500, 1600                                   | Variable         |
| C-O              | Alcoholes, éteres, ácidos carboxílicos, ésteres  | 1080-1300                                    | Intensa          |
| C=O              | Aldehidos, cetonas, ácidos carboxílicos, ésteres | 1690-1760                                    | Intensa          |
| O-H              | Alcoholes monómeros, fenoles                     | 3610-3640                                    | Variable         |
|                  | Alcoholes con puente de hidrógeno, fenoles       | 3200-3600                                    | Ancha            |
|                  | Ácidos carboxílicos                              | 2500-3000                                    | Ancha            |
| N-H              | Aminas   | 3300-3500                                    | Moderada         |
| C-N              | Aminas   | 1180-1360                                    | Intensa          |
| C≡N              | Nitrilos   | 2210-2260                                    | Variable         |
| -NO <sub>2</sub> | Compuestos nitro                                 | 1515-1560<br>1345-1385                       | Intensa          |

Fuente: Morrison y Boyd, 1998.

### Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Mediante el microscopio electrónico de barrido (SEM de Scanning Electron Microscope) se pueden obtener imágenes tridimensionales utilizando electrones dispersados o emitidos a partir de la superficie de la muestra. La muestra a examinar se fija, se seca y se recubre con una capa delgada de un metal pesado. Después, la muestra es barrida por un haz focalizado de electrones. La cantidad de electrones dispersados o emitidos cuando este haz primario bombardea consecutivamente cada uno de los puntos de la superficie metálica es

medida y utilizada para controlar la intensidad del segundo haz, que se mueve sincrónicamente con el haz primario y forma una imagen sobre una pantalla. De esta manera se construye una imagen completa y bastante ampliada de la superficie de la muestra (Figura 8) (Alberts y col., 2010).

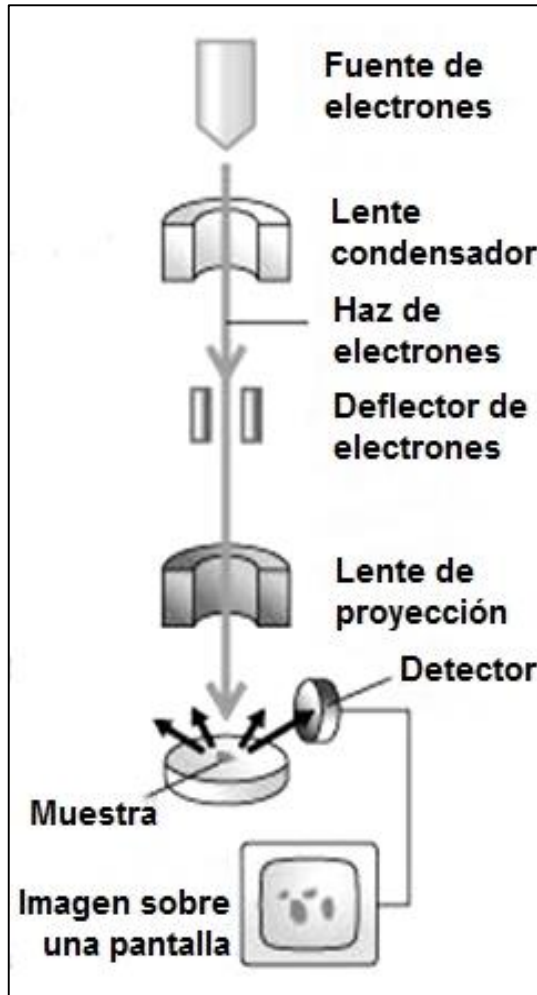


Figura 8. Representación Esquemática del SEM.

Fuente: Alberts y col., 2010.

La técnica de SEM proporciona una enorme profundidad de foco: además, debido a que el grado de dispersión de los electrones depende del ángulo relativo entre el haz de la superficie, la imagen tiene puntos brillantes y sombras oscuras que le confieren un aspecto tridimensional al objeto estudiado. La desventaja es que solamente se pueden examinar detalles superficiales (Alberts y col., 2010).

Por otro lado, la utilización de este tipo de microscopía ofrece varias ventajas ya que puede lograr aumentos muy altos (de hasta 1,000,000x) con una última resolución de 1nm comparado con la máxima resolución de un microscopio óptico que llega a alcanzar un aumento de 1,000x, además, brinda la posibilidad de obtener no solo información sobre la



topografía, sino también la estructura cristalina, composición química y propiedades eléctricas de la parte superior de la muestra (Vernon, 2000).

### **Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)**

El microscopio electrónico de transmisión (TEM) es una herramienta invaluable para la caracterización de cristales, materiales policristalinos, muestras biológicas y nanoestructuras, entre otras. Proporciona una amplia gama de modos de imagen diferentes, con la capacidad de aportar información sobre la composición elemental y la estructura electrónica. Además la difracción del rayo de electrón convergente proporciona información sobre la estructura cristalina y la cristalografía (Iriarte, 2010).

El TEM tiene un gran parecido a un microscopio óptico, aunque es de mayor tamaño e invertido. La fuente de iluminación es un filamento o cátodo situado en la parte superior de una columna cilíndrica de unos dos metros de altura, que emite electrones. Puesto que los electrones son dispersados al colisionar con las moléculas del aire, se debe extraer el aire de la columna para producir vacío. A continuación, los electrones son acelerados desde el filamento mediante un ánodo y pueden pasar a través de un diminuto orificio y formar un haz de electrones que se dirige hacia la parte inferior de la columna. Unas bobinas magnéticas situadas a intervalos a lo largo de la columna enfocan el haz de electrones. La muestra se coloca en el vacío de la columna a través de una antecámara de compresión de manera que se sitúa en el camino del haz de electrones. Habitualmente la muestra se contrasta mediante un material electrodensito, algunos de los electrones que atraviesan la muestra son dispersados por estructuras contrastadas con este material; el resto de electrones son enfocados formando una imagen, misma que se puede observar sobre una pantalla fosforescente o se puede grabar sobre una placa fotográfica o cámara digital de alta resolución. Puesto que los electrones que han sido dispersados han desaparecido del haz, las regiones densas de la muestra aparecen como áreas de un flujo bajo de electrones mostrándose de color negro (Figura 9) (Alberts y col., 2010).

Con el microscopio electrónico de transmisión, el contraste depende del número atómico de los átomos de la muestra: entre más elevado sea el número atómico, mayor número de electrones serán dispersados y por lo tanto, mayor será el contraste obtenido (Alberts y col., 2010).

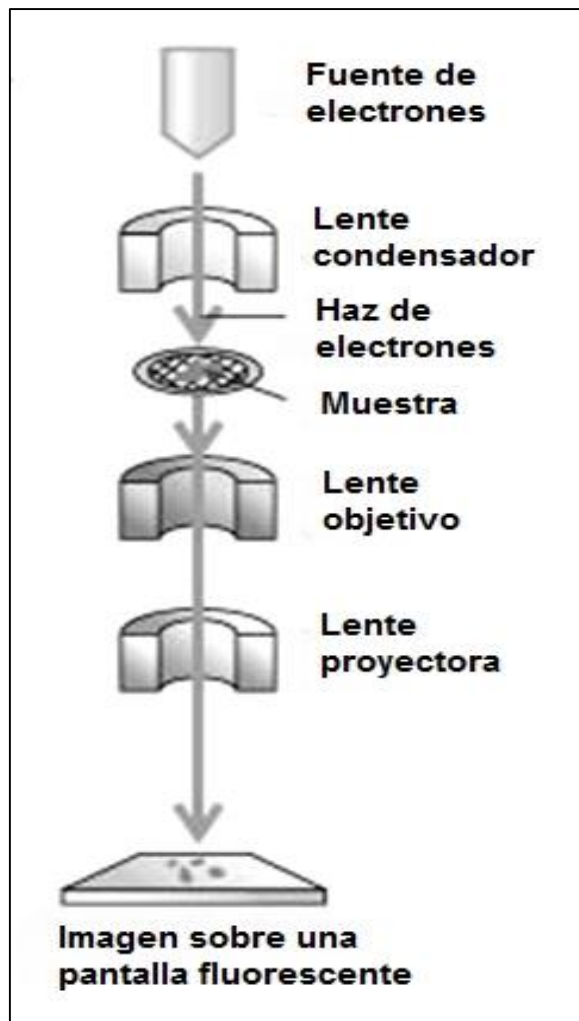


Figura 9. Representación Esquemática del TEM.

Fuente: Alberts y col., 2010.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Para este trabajo se utilizaron los siguientes materiales: Acetato de celulosa,  $M_n= 50000$ , marca Aldrich®; Poli (vinil pirrolidona)  $M_w= 36000$ , marca Aldrich®; Acetona, Marca Aldrich®; Etanol, marca Meyer®; (-) Epicatequina,  $M_w= 290.27$ , marca Aldrich®; Agua destilada y Agua mili-Q.

### **Preparación de Soluciones**

#### **Poli (vinil pirrolidona)**

Se preparó una solución de etanol-agua en proporción 85:15 utilizando una concentración de PVP de 8% en peso/peso, es decir, se pesaron 1.6 g de PVP, posteriormente se disolvieron en 17 mL de etanol y 3 mL de agua destilada para finalmente dejarla en agitación magnética durante 24 horas a temperatura ambiente.

#### **Acetato de Celulosa**

Se preparó una solución de acetona-agua en proporción 80:20 utilizando una concentración de AC de 8% en peso/peso, es decir, se pesaron 1.43 g de AC, posteriormente se disolvieron en 16.7 mL de acetona y 3.3 mL de agua destilada para finalmente dejarlo en agitación magnética durante 24 horas a temperatura ambiente.

#### **(-) Epicatequina**

Se prepararon tres soluciones con cantidad diferente de Epic, para cada una, se utilizaron 5 mL de la solución de PVP previamente preparada, posteriormente se agregaron 0.5, 0.1 y 0.05 gramos de Epic (concentraciones de 344.50 mmol, 68.9 mmol y 34.4 mmol) respectivamente, cada una de las mezclas se dejaron en agitación magnética durante 24 horas a temperatura ambiente.

## Preparación de Membranas Fibrosas

Ya que las soluciones poliméricas se encontraban preparadas, se colocaron 5 mL de la solución de Epic + PVP (con cantidad de 0.1 ó 0.05 gramos de Epic respectivamente), en una jeringa de plástico con capacidad de 10 mL, conectada a una aguja de 0.8 mm de diámetro, para que quedara como núcleo de la fibra. Después, se colocó en una segunda jeringa de plástico de la misma capacidad, 6 mL de AC, conectada a una aguja de 1.5 mm de diámetro para que jugara el papel de coraza en la fibra.

Una vez montado el equipo de electrohilado se comenzó con la elaboración de las membranas fibrosas variando: el voltaje aplicado entre 14 y 17 kV utilizando una fuente de alto voltaje marca Spellman modelo CZE 1000R, el flujo de la solución se varió entre 4.0 y 0.1 mLh<sup>-1</sup> a intervalos de 0.1 mLh<sup>-1</sup> empleando una bomba para jeringa marca kdsCientific, la distancia de la aguja y la placa colectora no fue variada siendo ésta de 15 cm en todos los procesos, finalmente, el tamaño de la placa colectora de aluminio fue de 10x10 centímetros. La evaluación de las condiciones óptimas de la membrana se llevó a cabo variando un solo parámetro por sesión, esto con el fin de encontrar las condiciones adecuadas para su reproducción y correcta caracterización (Tabla 4).

Tabla 4. Condiciones e intervalos de variación en la preparación de membranas con estructura núcleo coraza.

| Membrana       | Soluciones y su proporción | Concentración de Epic | Voltaje (kV) | Flujo (mL/hr)* |
|----------------|----------------------------|-----------------------|--------------|----------------|
| AC/PVP+Epic/AC | 80:20 AC                   | 68.9 mmol y           | 17           | 4.0-0.1        |
|                | 85:15 PVP                  | 34.4 mmol             |              |                |
| AC/PVP+Epic/AC | 80:20 AC                   | 34.4 mmol             | 16           | 4.0-0.1        |
|                | 85:15 PVP                  |                       |              |                |
| AC/PVP+Epic/AC | 80:20 AC                   | 34.4 mmol             | 15           | 4.0-0.1        |
|                | 85:15 PVP                  |                       |              |                |
| AC/PVP+Epic/AC | 80:20 AC                   | 34.4 mmol             | 14           | 4.0-0.1        |
|                | 85:15 PVP                  |                       |              |                |

\*Las variaciones en el flujo de la solución fueron realizadas a intervalos de 0.1 mililitros por hora para cada voltaje mencionado.

Una vez encontradas las condiciones óptimas en la formación de la membrana fibrosa con base a las variables anteriores, se procede a hacer las caracterizaciones que se describen a continuación para la misma.

## **Caracterización de las Membranas**

### **Evaluación de las Propiedades Mecánicas**

Para esta evaluación se cortaron muestras de membranas de AC, PVP, AC/PV/AC y AC/PVP+Epic/AC las cuales fueron enviadas al Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY). Las pruebas de tensión se realizaron en una máquina de pruebas universales marca Shimadzu equipada con una celda de carga de 100 N a una velocidad de cabezal de 5 mm/min. Las muestras fueron acondicionadas antes de realizar los experimentos a una temperatura de 24°C y humedad relativa de 60%. Las pruebas se realizaron de acuerdo a la Norma Standard D638-02 "Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics". Las muestras se sometieron a una carga de tensión monotonica hasta la ruptura de las mismas.

### **Evaluación de Liberación de Epicatequina**

Para esta evaluación se utilizó un espectrofotómetro UV visible Perkin Elmer Lambda 20. Se prepararon 5 soluciones de Epic, cuyas concentraciones fueron 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 mmol, a las cuales se les aplicó una dilución 1:3 llevando a un volumen final de 3 mL empleando agua miliQ como disolvente, se realizó una curva de calibración graficando los valores de absorbancia (eje de las y) contra concentración (eje de las x) de las soluciones, analizadas a 278.82 nm. Posteriormente, la membrana fibrosa de AC/PVP+Epic/AC fue suspendida en 400 mL de agua miliQ (pH neutro), a temperatura de 22°C con leve agitación magnética, los valores de absorbancia se midieron a 278.82 nm en intervalos de 10 minutos hasta obtener valores constantes en los resultados. Finalmente, con ayuda de la curva de calibración previamente realizada, se obtuvo la cantidad de Epic liberada en gramos y porcentaje para cada membrana suspendida. Cada procedimiento fue realizado por triplicado.

### **Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR)**

Se obtuvieron los espectros de infrarrojo de cada compuesto puro utilizado: Epic, AC y PVP, así como también, de la membrana obtenida de AC/PVP+Epic/AC y esta misma después de su liberación, utilizando el equipo Perkin Elmer FTIR espectrofotómetro de espectro GX aplicando la técnica de pastillas de KBr.

Para la realización de esta caracterización solo la membrana de AC/PVP+Epic/AC después de su liberación fue sometida a un tratamiento previo, al ser expuesta por un lapso de 24

horas a una temperatura de 80°C con el fin de eliminar cualquier residuo de agua en la fibra que pudiera intervenir en los resultados.

### **Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)**

Se cortaron pequeñas muestras de la membrana fibrosa de AC/PVP+Epic/AC antes y después de su liberación, mismas que fueron colocadas en un portamuestras metálico en donde fueron recubiertas por partículas de oro, para su caracterización. Se evaluó el diámetro y las características morfológicas de las fibras utilizando un microscopio electrónico de barrido JEOL 5410LV utilizando un haz de electrones de 15 y 20 kV de intensidad a alto vacío.

### **Microscopía Electrónica de Transmisión**

Se cortaron pequeñas muestras de la membrana fibrosa de AC/PVP+Epic/AC antes y después de la liberación, estas muestras fueron colocadas en una rejilla de cobre para su caracterización. Se evaluó el diámetro y las características morfológicas de las fibras utilizando un microscopio electrónico de transmisión JEOL JEM-2010F Field Emission Electron Microscope.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Preparación de Membranas de AC/PVP + Epic/AC

De las tres cantidades de Epic que fueron probadas, la de 0.05 gramos fue la que más se adecuó para la formación de membranas fibrosas, ya que éstas últimas se obtuvieron con características algodonosas y superficie uniforme. Por otro lado, la concentración de 0.5 gramos del flavonoide, no se solubilizó totalmente en los 5 mL de solución de PVP por lo que resultó imposible tratar de hilar la membrana en estas condiciones. La cantidad de 0.1 gramos del polifenol no fue adecuada, ya que a pesar de haberse solubilizado en el polímero, al momento de electrohilar no hubo formación de membrana con las características esperadas, en su lugar se obtuvo una película quebradiza y poco manejable (Figura 10).

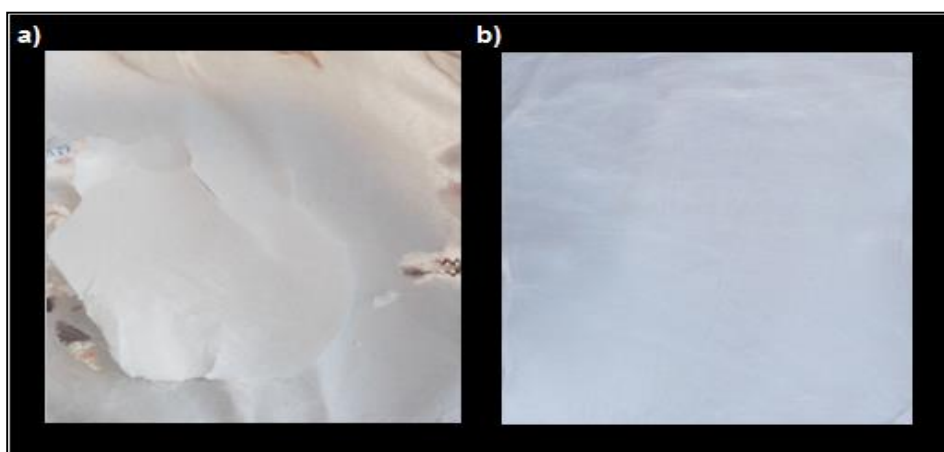


Figura 10. Fotografías de membranas fibrosas de 10x10 cm con una concentración de 68.9 mmol de Epic (a) y 34.4 mmol de Epic (b).

Se encontraron las condiciones óptimas para la preparación de membranas fibrosas con estructura núcleo coraza de AC y PVP con Epic embebida en el centro de la fibra, que proporcionan las mejores características morfológicas y estructurales, éstas condiciones se enlistan en la Tabla 5. Cada membrana fue elaborada con un volumen de 2 mL de solución ya que al superar esta cantidad, dejaba de formarse adecuadamente la fibra probablemente por la obstrucción que ésta generaba en la placa y que impedía una adecuada atracción de los campos aplicados, por lo mismo, aunque cada solución de PVP+Epic se preparó con 0.05 g del flavonoide, cada membrana fibrosa contenía 0.0266 g del mismo.

Tabla 5. Condiciones óptimas en la formación de fibras de AC/PVP+Epic/AC.

| Variable   | Condición óptima               |
|--|--------------------------------|
| Concentración de Epic                              | 34.4 mmol (0.0266 g)           |
| Flujo de la solución                               | 3.5 mLh <sup>-1</sup>          |
| Voltaje aplicado                                   | 15 kV                          |
| Distancia entre la punta de la aguja y el colector | 15 cm                          |
| Volumen final de cada membrana fibrosa             | 2 mL de soluciones poliméricas |

### Caracterizaciones de Membrana Fibrosa de AC/PVP+Epic/AC

#### Propiedades Mecánicas

En la tabla siguiente, se muestran los resultados promedio de las propiedades de tensión medidos para cada fibra: la Resistencia a la tensión, el Módulo de Young y la Deformación a la carga máxima (tabla 6).

Tabla 6. Resultados promedio de las pruebas a tensión.

| Composición de la membrana | Resistencia a la tensión (MPa) | Módulo de Young (MPa) | Deformación (%) |
|----------------------------|--------------------------------|-----------------------|-----------------|
| AC                         | 0.16± 0.09                     | 1.09 ±0.53            | 77.27 ± 6.43    |
| PVP                        | 1.35 ± 0.20                    | 20.41 ± 3.74          | 14.45 ± 3.94    |
| AC/ PVP/ AC                | 1.78 ± 0.24                    | 12.15 ± 3.06          | 23.10± 1.50     |
| AC/ PVP + Epic/ AC         | 1.49± 0.31                     | 16.79± 7.43           | 25.34± 8.26     |

En las propiedades de resistencia a la tensión y porcentaje de deformación, los resultados de las membranas de PVP, AC/PVP/AC y AC/PVP+Epic/AC son muy similares. Tomando en cuenta específicamente los resultados de las membranas de AC/PVP/AC y AC/PVP+Epic/AC, se deduce que la incorporación de Epic en las membranas no afecta las propiedades de resistencia y deformación cuando son expuestas a fuerzas externas. Sin embargo, si nos enfocamos en los resultados del AC para esas mismas propiedades, los valores son visiblemente diferentes comparados con los resultados dados para las otras tres composiciones poliméricas, la resistencia a la tensión por parte del AC es muy baja mientras que el porcentaje de deformación es muy alto, ésta diferencia se debe probablemente a las interacciones que existen al mezclarlo con uno o más compuestos.



Los valores obtenidos en el módulo de Young, muestran que el nivel de rigidez es un poco más elevado en las membranas poliméricas con Epic embebida en la fibra, comparada con la membrana compuesta de los dos polímeros (AC y PVP). Con esto se deduce que el flavonoide tiene un efecto en las propiedades mecánicas aumentando la rigidez de las membranas, por otro lado, aun cuando el valor del módulo de elasticidad aumenta, esta variación no es mucha ya que la membrana sigue teniendo facilidad de manejo y no alcanza una dureza tal, que impida su uso potencial en aplicaciones biomédicas.

A partir del resultado del módulo de Young para las membranas fibrosas con Epic, así como el reportado para las membranas con amoxicilina embebidas en el centro de la fibra por (Castillo y col., 2012) se concluye que la incorporación de fármaco en las fibras tiene un efecto en la rigidez de las membranas respecto de las que solo están compuestas por AC/PVP/AC, sin embargo, esta diferencia no es muy alta ya que las características físicas siguen siendo muy similares entre ellas. Lo anterior se pone en evidencia comparando los resultados con materiales más rígidos como el polietileno o el poli cloruro de vinilo (PVC), que reportan un módulo de Young de 800 Mpa y 2400 Mpa respectivamente (Chaudhry, 1987).

### **Evaluación de Liberación de Epicatequina**

En la Figura 11 se muestra la cantidad en gramos de Epic liberada con respecto al tiempo, la liberación fue aumentando gradualmente hasta llegar a un valor constante en un tiempo de 300 minutos, obteniendo como liberación total en promedio 0.0215 g (21.5 mg) de Epic por membrana, cantidad realmente buena, ya que esto representa el 80.74% de la cantidad total incorporada en la fibra, con dimensiones de 10x10 cm (Figura 12). Esta información sugiere que el uso potencial de las membranas para el tejido dañado es viable, puesto que en un estudio realizado por (Yamazaki y col., 2010) se demostró que la Epic tiene muy buenos efectos a nivel cardiaco.

Por otra parte, en un estudio realizado con amoxicilina incorporada en el núcleo de la fibra, utilizando los mismos componentes poliméricos (AC y PVP) en su preparación, se reportó que la liberación total del fármaco a un pH de 7.2 fue de 0.3969 g representando el 79 % del total incorporado en la fibra a las 48 horas. Por lo anterior se concluye que la liberación de Epic aun estando en cantidades más bajas en la fibra (0.0215 g) tiene prácticamente las mismas características de liberación a un pH alrededor de 7, obteniéndose una diferencia de 1.74 % de liberación más alta que la amoxicilina (Castillo y col., 2012).

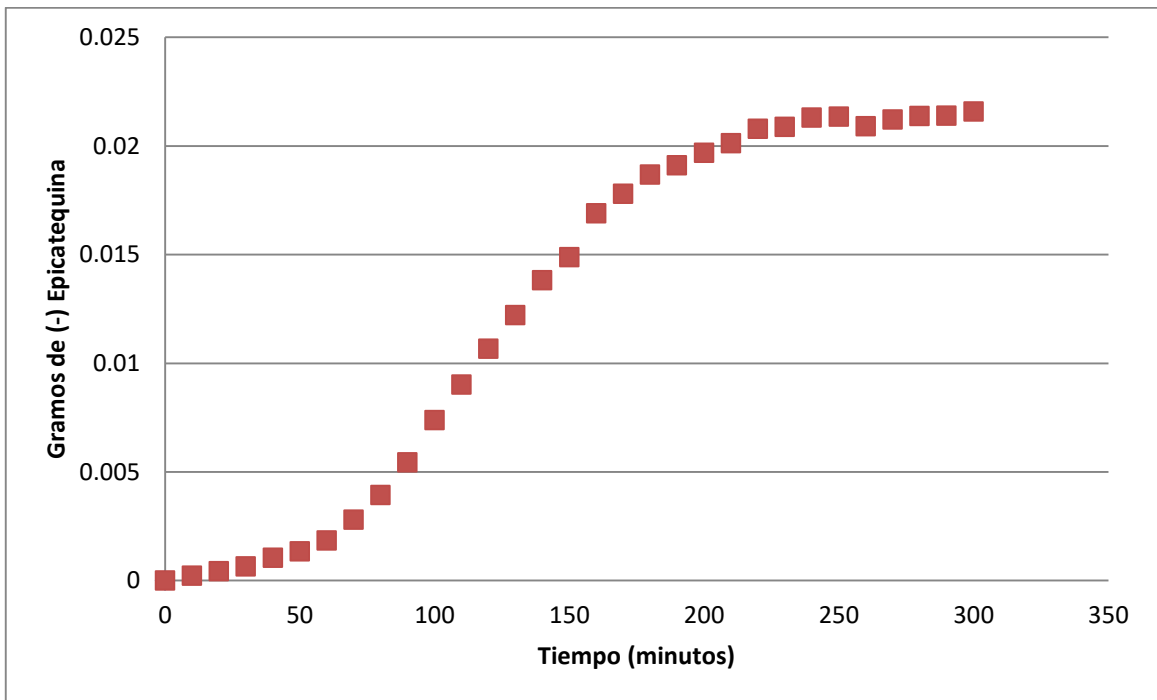


Figura 11. Cantidad (g) de Epic (concentración de 34.4 mmol) liberada de membrana de AC/PVP+Epic/AC a una temperatura de 22°C.

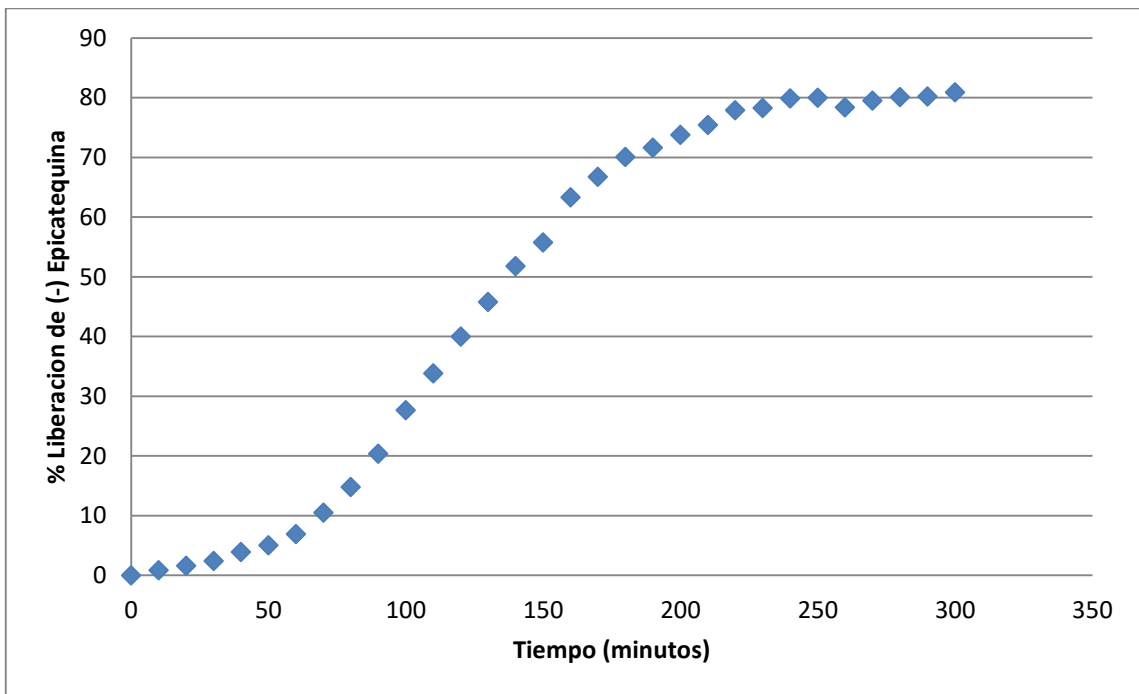


Figura 12. Cantidad (%) de Epic (concentración de 34.4 mmol) liberada de membrana de AC/PVP+Epic/AC a una temperatura de 22°C.

## **Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR)**

En la Figura 13 son mostrados los espectros de absorción infrarroja para los compuestos químicos en su forma pura: a) AC, b) PVP y c) Epic. Cada uno de ellos se encuentra marcado por un número de onda característico que hace posible su localización. El AC presenta un pico característico a  $1751.89\text{ cm}^{-1}$  perteneciente al grupo éster presente en su estructura, la señal a  $1662.87\text{ cm}^{-1}$  del PVP corresponde a la banda del alargamiento C=O del grupo amida que lo caracteriza, por otra parte, la Epic muestra un estiramiento OH alrededor de  $3144.47\text{ cm}^{-1}$ . Los espectros de infrarrojo proporcionados para AC y PVP, son corroborados por los otorgados en la investigación de (Castillo y col., 2012) ya que presentan gran similitud con los obtenidos en este trabajo, al reportar picos característicos del grupo éster en AC a  $1748\text{ cm}^{-1}$  y alargamiento del carbonilo perteneciente al PVP  $1665\text{ cm}^{-1}$ .

La figura 14 muestra los espectros infrarrojos de la membrana de AC/PVP+Epic/AC antes y después de su liberación. En el inciso a) se muestra la membrana con Epic añadida, indica las bandas características para cada compuesto utilizado en su preparación que nos demuestra que efectivamente los dos polímeros utilizados y el flavonoide fueron incorporados en la fibra. El inciso b) expone la misma membrana pero después de ser sometida a un medio acuoso con pH neutro para su liberación, este espectro revela la ausencia de Epic al no presentar el estiramiento OH característico a  $3144.47\text{ cm}^{-1}$  en esta membrana, además existe una notable disminución de la banda de alargamiento C=O del PVP a  $1662.87\text{ cm}^{-1}$  en comparación con la membrana del inciso a), se observa también que la banda de AC (coraza de la fibra) a  $1754.89\text{ cm}^{-1}$  sigue presente prácticamente de manera intacta aún después del tratamiento, por lo que se deduce la difusión exitosa de la Epic acompañada del PVP a través de este polímero.

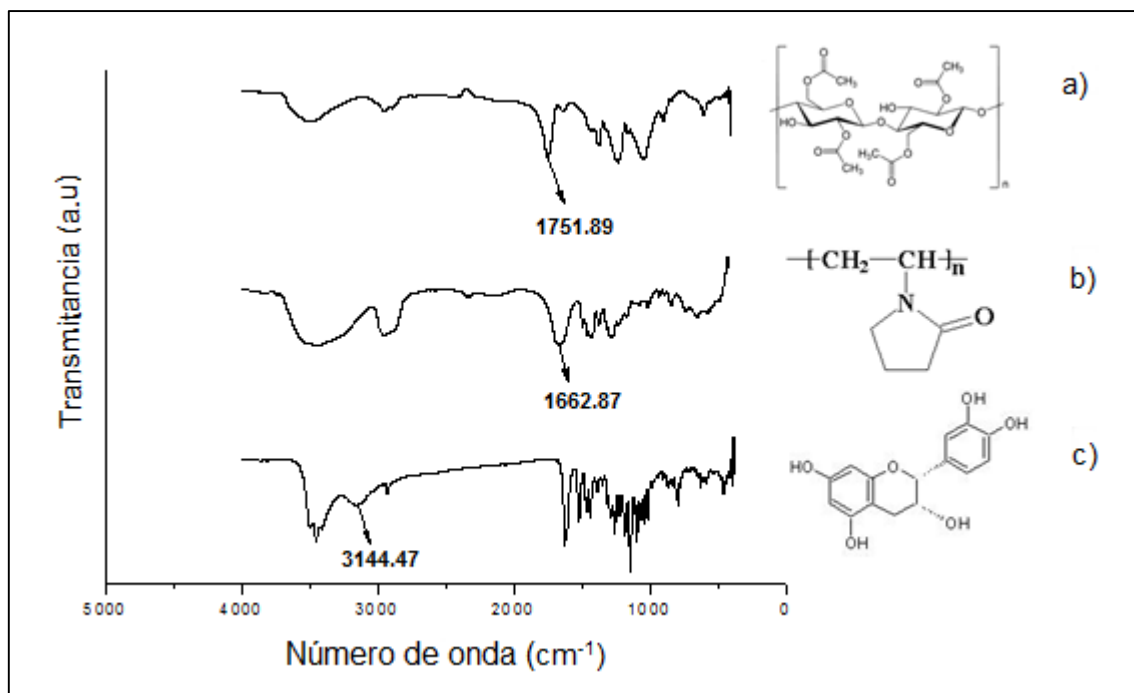


Figura 13. Espectros de infrarrojo de a) AC, b) PVP y c) Epic y su respectiva estructura química.

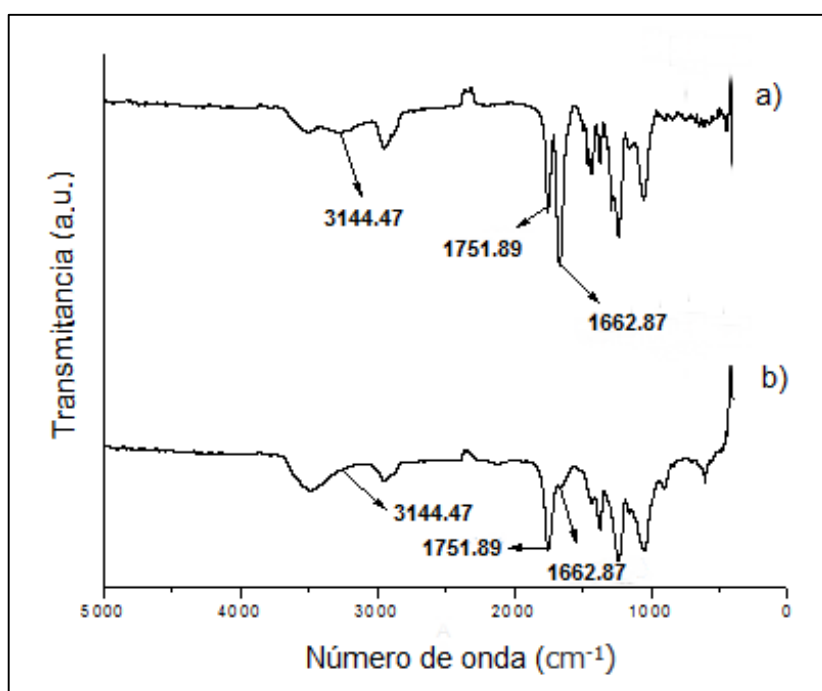


Figura 14. Espectros de infrarrojo de a) AC/PVP+Epic/AC y b) AC/PVP+Epic/AC después de liberar Epic y PVP.

## Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Se obtuvieron microfotografías de las membranas fibrosas de AC/PVP+Epic/AC con distintas ampliaciones. La Figura 15 muestra una microfotografía de 500 aumentos (inciso a), en ella se observa una distribución amplia de la membrana obtenida, en donde se percibe una morfología adecuada al no presentar deformidad, aparición de perlas y gotas o poca formación del material. La microfotografía de 5000 aumentos (inciso b), muestra de un modo más claro, la forma que adquirieron las fibras de una manera tridimensional, poniendo de manifiesto una estructura cilíndrica y no porosa de cada una, además de un tamaño aproximado de poco menos de 1  $\mu\text{m}$ .

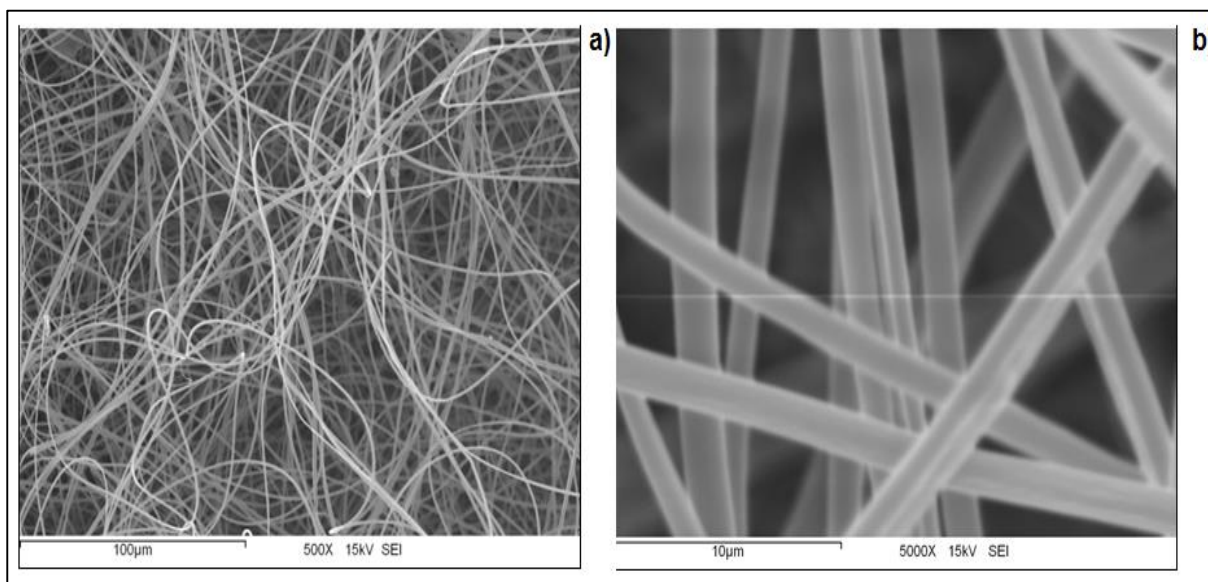


Figura 15. Microfotografía de AC/PVP+Epic/AC en a) 500x y b) 5000x aumentos.

La Figura 16 muestra la membrana de AC/PVP+Epic/AC después de su liberación en un medio acuoso a pH 7. En ambos incisos se puede apreciar que las nanofibras generadas no cambian su morfología externa al liberar la Epic, conservando su estructura cilíndrica, por otra parte, comparando el inciso b) de la Figura 14, con el inciso b) de la Figura 15, se aprecia notablemente que las nanofibras de esta última presentan cierta translucidez, sugiriendo con ello que este efecto se debe a la liberación del flavonoide. La conservación de la estructura cilíndrica se debe muy probablemente al pH neutro utilizado en la liberación, ya que se ha comprobado que en condiciones ácidas (pH 3.0) las membranas pierden sus características físicas mostrando un deterioro en las fibras, perdiendo con ello la estructura cilíndrica, adquiriendo una forma aplanada (Castillo y col., 2012).

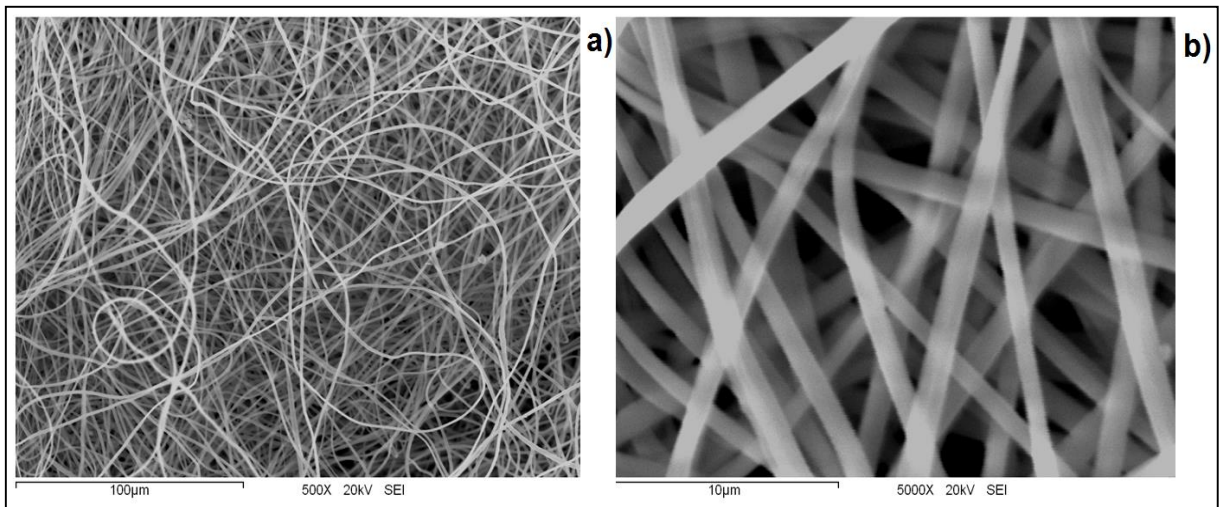


Figura 16. Microfotografía de AC/PVP+Epic/AC después de su liberación en a) 500x y b) 5000x aumentos.

### Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

Mediante este tipo de microscopía, se reveló el diámetro de las fibras de AC/PVP+Epic/AC antes y después de su liberación, así como su morfología por medio de la diferencia de contrastes en la imagen. La microfotografía del inciso a) mostrada en la Figura 17, correspondiente a la membrana de AC/PVP+Epic/AC da a conocer que la fibra adquirió, al formarse, una estructura núcleo-coraza cuyo diámetro total es de  $0.70 \mu\text{m}$ , por otro lado, la parte central de la fibra constituida por PVP y Epic, al ser una región con dos componentes impide el flujo de electrones fácilmente, presentándose una imagen más densa con grosor de  $0.48 \mu\text{m}$ .

En el inciso b) se muestra la microfotografía de las fibras después de su liberación a pH neutro, su estructura sigue siendo cilíndrica lo que significa que la pérdida del flavonoide en condiciones neutras no afecta la morfología de las fibras, sin embargo, el tamaño del diámetro tanto de la fibra completa como la del núcleo si se vio afectada, al reducir su diámetro total de  $0.70 \mu\text{m}$  a  $0.62 \mu\text{m}$ , la liberación de Epic se pone en evidencia al reducirse el grosor del núcleo en la fibra, pasando de  $0.48 \mu\text{m}$  a  $0.24 \mu\text{m}$ , esto debido a que no se libera el flavonoide en su totalidad al paso de 4 horas.

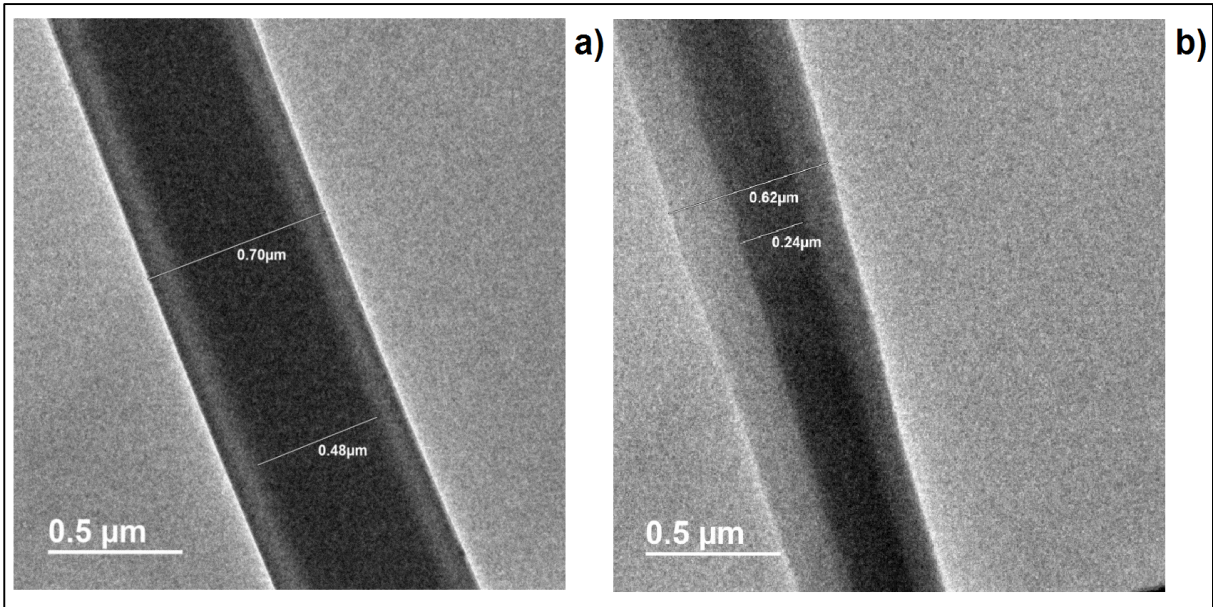


Figura 17. Microfotografía a 5000x de a) AC/PVP+Epic/AC y b) AC/PVP+Epic/AC después de su liberación.

## **CONCLUSIONES**

Las condiciones óptimas para la preparación de membranas fibrosas de AC/PVC+Epic/AC fueron encontradas. Cada parámetro que se varía durante el proceso juega un papel importante en la morfología final de la fibra, por lo que es de vital importancia hacer una búsqueda exhaustiva en su elaboración, con el fin de obtener membranas con las mejores características físicas y químicas.

Las pruebas de tensión en las membranas fibrosas, dieron a conocer que la incorporación del flavonoide en la fibra no tiene un efecto importante en las propiedades mecánicas de las mismas, lo anteriormente descrito, aunado al alto porcentaje de liberación (80.72%) a pH neutro hace factible su utilización en el área biomédica; extrapolando esta información al organismo humano, se puede inferir que la administración terapéutica de Epic mediante el uso de este tipo de membranas podría ser efectiva para una persona con daño al miocardio, debido a las grandes propiedades benéficas que el flavonoide representa en el tejido cardiaco.

## **RECOMENDACIONES**

Es conveniente realizar una evaluación de la cinética de liberación de Epic en medios con diferentes pH, ya sean básicos o ácidos así como también hacer variaciones en la temperatura del medio de liberación, por ejemplo, a 37°C correspondiente a la temperatura corporal.

Realizar más caracterizaciones a las membranas fibrosas de AC/PVP+Epic/AC, con el fin de complementar la información dada en el presente trabajo, se recomienda un análisis térmico para conocer la relación de degradación que existe respecto a la temperatura de los compuestos utilizados en las fibras, así como también, una espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) para obtener información física, química, electrónica y estructural sobre las moléculas presentes en los compuestos químicos de la membrana.

Desarrollar una investigación tanto in vitro como en modelos animales, en donde se compruebe que las nanofibras con Epic incorporada cuentan con funciones terapéuticas beneficiosas en tejido cardiaco dañado.



## BIBLIOGRAFÍA

- Agarwal S, Wendorff JH, Greiner A. 2008. Use of electrospinning technique for biomedical applications. *Polymer* 49 (2008) 5603–5621.
- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P, Wilson Jm Hunt T. 2010. *Biología molecular de la célula*. 5ta ed. Ediciones Omega S.A.55.
- Aparicio D, Ariza J, Calvo M, Daza J, Echávez E. 2012. Espectroscopía infrarroja: Una técnica alternativa para la identificación de microorganismos. *Ciencia y Salud*.
- Askeland DR, Phulé PP. 2004. *Ciencia e ingeniería de los materiales*. 4ta ed. Thomson Learning.
- Bharwaj N, Kundu S. 2010. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology advance*.
- Castillo MM, Montañó AG, Rodríguez DE, Munive GT, Herrera PJ. 2012. Amoxicillin embedded in cellulose acetate-poly (vinyl pyrrolidone) fibers prepared by coaxial electrospinning: Preparation and characterization. *Materials Letters* 76 (2012) 250–254.
- Chaudhry H. 1987. *Applied Hydraulic Transients*. 2da Ed. Van Nostrand Reinhold.
- Chakraborty S, Liao I, Adler A, Leong KW. 2009. Electrohydrodynamics: A facile technique to fabricate drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews* 61 (2009) 1043–1054
- Charernsriwilaiwat N, Opanasopit P, Rojanarata T, Ngawhirunpat T, Supaphol P. 2010. Preparation and characterization of chitosan-hydroxybenzotriazole/polyvinyl alcohol blend nanofibers by the electrospinning technique. *Carbohydrate Polymers* 81 (2010) 675–680.
- Coelho JF, Ferreira PC, Alves P. 2010. Drug delivery systems: Advanced technologies potentially applicable in personalized treatments. *EPMA Journal*. 1:164-209.
- Corti R, Flammer AJ, Hollenberg NK, Lüscher TF. 2009. Contemporary reviews in cardiovascular medicine.
- Davis ME, Hsieh P, Grodzinsky AJ, Lee RT. 2005 Custom design of the cardiac microenvironment with biomaterials. American Heart Association, Inc.
- De Vrieze S, Camp TV, Nelving A, Hagström B, Westbroek P, De Clerck K. 2008. The effect of temperature and humidity on electrospinning. *J Mater Sci* (2009) 44:1357–1362.
- Ferreira JA, Oliveira P, Silva PM. 2012. Controlled drug delivery and ophthalmic applicatios. *Chem. Biochem. Eng. Q.* 26 (4) 331-343
- Garg K, Bowlin GL. 2011. Electrospinning jets and nanofibrous structures. *Biomicrofluidics*5, 013403.

- Gupta P, Wilkes GL. 2003. Some investigations on the fiber formation by utilizing a side-by-side bicomponent electrospinning approach. *Polymer* 44 6353–6359.
- Gutiérrez BA. Chocolate, polifenoles y protección a la salud. 2002. *Acta Farm. Bonaerense* 21 (2): 149-52 (2002).
- Herrera NV, Mathew AP, Wang LY, Oksman K. 2011. Randomly oriented and aligned cellulose fibres reinforced with cellulose nanowhiskers, prepared by electrospinning. *Plastics, rubber and composites. Boletín del Institute of Materials, Minerals and Mining.*
- Iriarte GF. 2010. Using transmission electron microscopy (TEM) for chemical analysis of semiconductors. *Microscopy: Science, technology, applications and education.*
- Li D, McCann JT, Xia Y. 2006. Electrospinning: A simple and versatile technique for producing ceramic nanofibers and nanotubes. *The American Ceramic Society* 89 [6] 1861–1869.
- Morrison RT, Boyd RN. 1998. *Química orgánica. 5ta ed. Addison Wesley longman de México S.A.de C.V.*
- Mott RL. 1996. *Resistencia de materiales aplicado. 3ra ed. Prentice-Hall Hispanoamericana, S.A.*
- Najera AL. 2010. Preparación y caracterización de fibras poliméricas de acetato de celulosa y poli (vinil pirrolidona) por distintos sistemas de electrohilado. 1era ed. Hermosillo, Sonora, Universidad de Sonora.
- Popov EP. 2000. *Mecánica de sólidos. 2da ed. México. Pearson Educación México. Prentice-Hall Hispanoamericana S.A.*
- Porras ME, Muñoz CP, Gil AM, Quintana GC. 2012. Obtención de espumas de poliuretano con materiales lignocelulósicos. *Revista Investigaciones Aplicadas.*
- Ramirez I, Maya L, Ceballos G, Villareal F. 2010. (-) Epicatechin activation of endothelial cell endothelial nitric oxide synthase, nitric oxide, and related signaling pathways. *American Heart Association.*
- Shaikh RP, Pillay V, Choonara YE, Toit LC, Ndesendo VMK. 2010. A review responsive membranous systems for rate-modulated drug delivery.
- Skoog DA, Holler FJ, Crouch SR. 2008. *Principios de analisis instrumental. 6ta ed. Cengage learning.*
- Stanley P. 2011. A biochemical, electrocardiographic, electrophoretic, histopathological and in vitro study on the protective effects of (-)epicatechin in isoproterenol-induced myocardial infarcted rats. *European Journal of Pharmacology.*
- Sill TJ, von Recum HA. 2008. Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials.*
- Yamazaki KG, Taub PM, Barraza-Hidalgo M, Rivas MM, Zambon AC, Ceballos G, Villareal FJ. 2010. Effects of (-)epicatechin on myocardial infarct size and left ventricular

- remodeling following permanent coronary occlusion. *J Am CollCardiol.* 55(25): 2869–2876.
- Valverde P. 2007. La epicatequina. Revisión en *Nutrición Preventiva*.
- Veronon KD. 2000. *Scanning electron microscopy: An introduction*. Centre for electronic materials.
- Wang B, Wang Y, Yin T, Yu Q. 2010. *Applications of electrospinning technique in drug delivery*. Taylor & Francis Group.
- Wheatley TA. 2007. Water soluble cellulose acetate: A versatile polymer for film coating. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 33:281–290.
- Willard HH, Merrit LL, Dean JA. 1974. *Métodos instrumentales de análisis*. 1ra ed. México. CIA Editorial continental, S.A. de C.V. México.
- Xu J, Wang J, Dong X, Liu G, Yu W. 2011. Preparation of PVP/PLLA ultrafine blend fibers by electrospinning. *International Journal of Chemistry* (Xu y cols., 2011).
- Yamazaki KG, Taub PM, Barraza-Hidalgo M, Rivas MM, Zambon AC, Ceballos G, Villareal FJ. 2010. Effects of (-)-epicatechin on myocardial infarct size and left ventricular remodeling following permanent coronary occlusion. *J Am CollCardiol.* 55(25): 2869–2876.
- Yu DG, White CB, White K, Chatterton NP, Zhu LM, Huang LY, Wang B. 2011. A modified coaxial electrospinning for preparing fibers from a high concentration polymer solution. *Express Polymer Letters* 8 (2011) 732–74.
- Zhang H, Zhao CG, Zhao YH, Tang GW, Yuan XY. 2010. Electrospinning of ultrafine core/shell fibers for biomedical applications. *Science China Chemistry* 6: 1246–1254.
- Zhou J, Cao C, Ma X, Lin J. 2010. Electrospinning of silk fibroin and collagen for vascular tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*.