



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Obtención y caracterización de dos scaffolds poliméricos, cargados con compuesto con potencial bioactivo, utilizando la técnica de electrospinning.

Ángela Viviana Quiroga Vergel

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Mecánica y Mecatrónica.
Bogotá D.C., Colombia

2023

Obtención y caracterización de dos scaffolds poliméricos, cargados con compuesto con potencial bioactivo, utilizando la técnica de electrospinning.

Ángela Viviana Quiroga Vergel

Tesis de investigación presentada como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Ingeniería – Materiales y Procesos

Directora:

PhD. Aleida Dianney Clavijo Grimaldo

Codirectora:

PhD. Ruth Lancheros

Línea de Investigación:

Materiales Poliméricos

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Mecánica y Mecatrónica

Bogotá D.C., Colombia

2023

A Dios, por ser mi fortaleza espiritual.

A mi madre, por su amor y por levantarme cada mañana.

A mi padre, por su apoyo incondicional.

A mis abuelos, por su resiliencia ante la enfermedad.

A mis hermanos y a Beethoven, por su compañía.

A mí, por no rendirme y cumplir este sueño.

Declaración de obra original

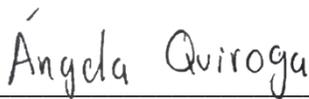
Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.



Ángela Viviana Quiroga Vergel

Fecha 30/01/2023

Agradecimientos

Inicialmente quiero agradecer a mi directora Dianney Clavijo, por su asesoría en la fabricación y caracterización de los scaffolds, por su confianza, apoyo y dedicación durante todo el desarrollo de esta tesis; asimismo agradezco a mi codirectora Ruth Lancheros, por su asesoría en la liberación del compuesto activo, por su colaboración y tiempo invertido en todo el proceso de tesis.

Agradezco también a mis compañeras de grupo de investigación, la estudiante de doctorado Ana María Muñoz, por su compañía, apoyo y asesoría durante todo el proyecto, y la estudiante de maestría Erika Rosero, por su tiempo y apoyo durante la fabricación de muestras. Asimismo, agradezco a mi novio Santiago Vargas por las reducciones para la boquilla, por su voz de aliento y por llenarme de alegría en los momentos que más lo necesitaba.

Además, un agradecimiento especial a mi colega David Rojas por proporcionar el compuesto con potencial bioactivo con el que se desarrolló este proyecto. Al profesor Ciro Casadiego por su colaboración en el desarrollo de la técnica Solution Blow Spinning. A Daniel Ibarra por su ayuda en la soldadura de la boquilla. Igualmente quisiera agradecer al profesor Juan Carlos Serrato y sus estudiantes de maestría Oscar y Daniel, por facilitarme el equipo de espectroscopia UV para la realización de la curva de liberación del compuesto con potencial bioactivo. Gracias, a la estudiante de doctorado Liliana Ávila y laboratorio de polímeros, por permitirme utilizar el equipo de medición de ángulo de contacto que fabricaron y el calorímetro diferencial de barrido DSC. Así como también al profesor Carlos Trujillo por su asesoría y tiempo destinado en la medición de las isothermas de BET y temperaturas de transición vítrea. Y al profesor Álvaro Orjuela por su confianza y préstamo del horno de vacío. Gracias también a Process, Solutions and Equipment, por flexibilizar mis horarios de trabajo para el desarrollo de la maestría.

A todos ustedes, laboratoristas, personal de mantenimiento y seguridad, y a los que me faltó nombrar (y vaya que son muchos), les digo ¡gracias!”

Resumen

Obtención y caracterización de dos scaffolds poliméricos, cargados con compuesto con potencial bioactivo, utilizando la técnica de electrospinning.

Antiinflamatorios no esteroideos como el ibuprofeno (IBU), suelen ser administrados por vía oral para tratar enfermedades articulares. Sin embargo, presentan efectos secundarios a largo plazo como riesgo de infarto, accidente cerebrovascular, insuficiencia renal, sangrado gastrointestinal, entre otros. En etapas avanzadas se presentan daños en el cartílago, por lo que las últimas investigaciones se han orientado a dispositivos (scaffold) que puedan reparar este tejido. Esta tesis pretende contribuir a estos nuevos métodos, con scaffolds que tengan el poder de coadyuvar en el tratamiento de estas enfermedades, disminuir el dolor y reducir los efectos secundarios. Para esto se elaboran dos scaffold de PCL cargados con 10% de IBU y se evalúa la influencia de la técnica de fabricación del scaffold, electrospinning (SE) y solution blow spinning (SBS). Se caracterizaron por microscopía SEM, FTIR, tensión, ángulo de contacto, isoterma-BET y DSC. También fue analizada la cinética de liberación de IBU, donde se obtuvo una liberación rápida del fármaco, debido al pequeño tamaño de la molécula a liberar y la porosidad interna de las fibras. Los resultados de la caracterización mostraron que, con la incorporación de IBU se obtienen fibras de menor diámetro y scaffold con mayor resistencia a la tensión y fragilidad. Por otro lado, el proceso de esterilización genera cambios morfológicos en las fibras, aumentando la cristalinidad y suprimiendo la hidrofobicidad de PCL, lo que favorecería la biocompatibilidad del scaffold. SBS se destacó por presentar una liberación más controlada y SE por producir fibras más homogéneas y con mejores propiedades mecánicas.

Palabras clave: Electrospinning, Solution Blow Spinning, Ibuprofeno, Policaprolactona, Esterilización UV.

Abstract

Fabrication and characterization of two polymeric scaffolds, loaded with potentially bioactive compound, using the electrospinning technique.

Non-steroidal anti-inflammatory drugs such as ibuprofen (IBU) are usually administered orally to treat joint diseases. However, they have long-term side effects such as the risk of heart attack, stroke, kidney failure, gastrointestinal bleeding, among others. In advanced stages, cartilage damage occurs, so the latest research has focused on devices (scaffolds) that can repair this tissue. This thesis aims to contribute to these new methods, with scaffolds that be able to assist in the treatment of these diseases, reduce pain and side effects. Hence, two PCL scaffolds loaded with 10% IBU are made and the influence of the scaffold manufacturing technique, electrospinning (SE) and solution blow spinning (SBS), is evaluated. They were characterized by SEM microscopy, FTIR, strain, contact angle, isotherm-BET, and DSC. The release kinetics of IBU was also analyzed, where a rapid release of the drug was obtained, due to the small size of the molecule to be released and the internal porosity of the fibers. The results of the characterization reveal that with the incorporation of IBU fibers of smaller diameter and scaffold with higher resistance to tension and brittleness are obtained. On the other hand, the sterilization process generates morphological changes in the fibers, increasing the crystallinity and suppressing the hydrophobicity of PCL, creasing the biocompatibility of the scaffold. SBS stands out for a more controlled release and SE for producing more homogeneous fibers with better mechanical properties.

Keywords: Electrospinning, Solution Blow Spinning, Ibuprofen, Polycaprolactone, UV Sterilization.

Contenido

	Pág.
Resumen	IX
Lista de figuras.....	XIII
Lista de tablas	XVI
Lista de Símbolos y abreviaturas.....	XVIII
Introducción	1
1. Estado del arte.....	5
1.1 Articulación de la rodilla.....	5
1.2 Investigaciones actuales	7
1.3 <i>Electrospinning</i>	10
1.4 <i>Solution Blow Spinning</i>	15
1.5 Selección de materiales	18
1.5.1 Polímero base del scaffold.....	18
1.5.2 Compuesto bioactivo	23
1.6 Parámetros de referencia para técnica <i>electrospinning</i>	25
1.6.1 Quitosano	25
1.6.2 Gelatina	26
1.6.3 Ibuprofeno	28
1.7 Sistemas de liberación de fármacos.....	29
1.8 Esterilización UV	32
2. Metodología	35
2.1 Materiales	35
2.2 Preparación de soluciones	35
2.2.1 Quitosano	35
2.2.2 Gelatina	36
2.2.3 PCL	36
2.2.4 PCL-IBU	36
2.3 Fabricación de scaffold	36
2.3.1 <i>T-electrospinning (TE)</i>	38
2.3.2 <i>Coaxial electrospinning (CE)</i>	38
2.3.3 <i>Solution Blow Spinning (SBS)</i>	39
2.3.4 <i>Simple Electrospinning (SE)</i>	41
2.4 Caracterización morfológica	41
2.5 Caracterización química	42
2.6 Pruebas mecánicas.....	42

2.7	Ángulo de contacto	42
2.8	Isoterma de BET	43
2.9	Curva de liberación controlada.....	43
2.9.1	Identificación de ibuprofeno.....	43
2.9.2	Preparación de solución PBS.....	44
2.9.3	Curva de calibración.....	44
2.9.4	Curva de liberación controlada	44
2.10	Esterilización.....	45
2.11	DSC.....	46
3.	Resultados y discusión	47
3.1	Preparación de soluciones y fabricación de fibras.....	47
3.1.1	Quitano.....	47
3.1.2	Gelatina.....	50
3.1.3	PCL.....	53
3.1.4	PCL-IBU.....	54
3.2	Fabricación de scaffold	54
3.2.1	<i>T-electrospinning (TE)</i>	55
3.2.2	<i>Coaxial electrospinning (CE)</i>	56
3.2.3	Comparación entre scaffold obtenidas por TE y CE	56
3.2.4	<i>Solution Blow Spinning (SBS)</i>	63
3.2.5	<i>Simple Electrospinning (SE)</i>	65
3.2.6	Adición de ibuprofeno a los scaffold	65
3.3	Caracterización morfológica por microscopía SEM	66
3.3.1	Scaffold de PCL sin Ibuprofeno	66
3.3.2	Scaffold de PCL con Ibuprofeno pre y post esterilización	68
3.4	Caracterización química.....	69
3.4.1	Scaffold de PCL sin ibuprofeno	69
3.4.2	Efecto de adición de ibuprofeno	71
3.4.3	Scaffold de PCL con ibuprofeno pre y post esterilización	72
3.5	Pruebas mecánicas	73
3.5.1	Scaffold de PCL sin ibuprofeno	73
3.5.2	Efecto de adición de ibuprofeno	75
3.5.3	Scaffold de PCL con ibuprofeno pre y post esterilización	77
3.6	Ángulo de contacto	79
3.7	Isoterma de BET	81
3.8	Curva de liberación controlada.....	83
3.9	DSC.....	88
4.	Conclusiones y recomendaciones	91
4.1	Conclusiones	91
4.2	Recomendaciones	92
4.3	Producción académica.....	94
4.3.1	Ponencias orales.....	94
4.3.2	Artículo de investigación.....	96
	Bibliografía	105

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1-1: Partes de la articulación de la rodilla	5
Figura 1-2: Mapa de palabras generado por lens.org para la búsqueda "Scaffold cartilage repair" ⁸	
Figura 1-3: Enfoques actuales para la regeneración de cartílago.	9
Figura 1-4: Dibujo conceptual de la técnica electrospinning y sus principales variables.	11
Figura 1-5: Mapa de palabras generado por lens.org para la búsqueda "Electrospinning".	13
Figura 1-6: Gráfica de número de documentos académicos publicados sobre electrospinning desde 2000. Datos tomados de Lens.org.	14
Figura 1-7: Técnicas para cargar fármacos, proteínas o compuestos bioactivos en scaffold.....	14
Figura 1-8: Dibujo conceptual de la técnica solution blow spinning.....	16
Figura 1-9: Flujo inverso en las proximidades de la punta de la jeringa de solución de polímero que puede obstruir la jeringa.	16
Figura 1-10: Gráfica de número de documentos académicos publicados sobre solution blow spinning desde 2000.	17
Figura 2-1: Técnicas para la formación de nano/microfibras. (a) <i>T electrospinning</i> (b) <i>Coaxial electrospinning</i> (c) <i>Solution blow spinning</i> (d) <i>Simple electrospinning</i>	37
Figura 2-2: Montaje experimental para la configuración <i>Te electrospinning</i>	38
Figura 2-3: Montaje experimental para la configuración <i>Coaxial electrospinning</i>	39
Figura 2-4: Dimensiones de boquilla coaxial adaptada.	39
Figura 2-5: Montaje experimental para la configuración <i>Solution Blow Spinning</i>	40
Figura 2-6: Montaje experimental para la configuración <i>Simple Electrospinning</i>	41
Figura 2-7: Sortómetro del laboratorio de Ingeniería Química.....	43
Figura 2-8: Incubadora del laboratorio de Electropray y Electrospinning, donde se llevó a cabo el ensayo de liberación controlada de ibuprofeno.	45
Figura 2-9: Cámara de esterilización UV laboratorio de Electropray y Electrospinning.....	45
Figura 2-10: Analizador STA de Laboratorio de catálisis heterogénea.....	46
Figura 3-1: Protonación del quitosano en medio ácido.	49
Figura 3-2: Goteo presentado en electrospinning de solución de 20% de gelatina en ácido acético a 50%.	52

Figura 3-3:	Fotografía de microscopía óptica 20x de fibras de gelatina obtenidas con la formulación de la doctora Dianney Clavijo.....	53
Figura 3-4:	Fotografía de microscopía óptica 20x de fibras de PCL.....	53
Figura 3-5:	Fotografía de microscopía óptica 20x de fibras de PCL+IBU.....	54
Figura 3-6:	Configuraciones de electrospinning ensayadas. <i>T electrospinning</i> (a), <i>Coaxial electrospinning</i> (b), <i>Solution Blow Spinning</i> (c) y <i>Simple electrospinning</i> (d).	55
Figura 3-7:	Imágenes de microscopio óptico con ampliación 20x para resultados obtenidos con las técnicas <i>T-electrospinning</i> y <i>coaxial electrospinning</i>	57
Figura 3-8:	Fotografías de taponamientos presentados en boquillas Coaxial y Te. ...	57
Figura 3-9:	Espectros FTIR para fibras de (a)PCL por <i>simple electrospinning</i> (b)PCL/Gelatina con <i>coaxial electrospinning</i> , (c)PCL/Gelatina con <i>T electrospinning</i>	58
Figura 3-10:	Color de soluciones cargadas con compuestos fluorescentes.....	59
Figura 3-11:	Micrografías de fluorescencia para scaffold PCL/Gelatina por <i>coaxial electrospinning</i> y PCL/Gelatina por <i>T-electrospinning</i>	60
Figura 3-12:	Fotografías de acumulación de gelatina en boquilla coaxial y te.	61
Figura 3-13:	Presentación esquemática de la posible reacción entre PCL y gelatina en un andamio compuesto de PCL/gelatina.....	62
Figura 3-14:	Fotografía de ruptura de manguera por sobrepresión.	63
Figura 3-15:	Resultados de microscopía óptica a diferentes condiciones de flujo en configuración SBS.	63
Figura 3-16:	Resultados de microscopía óptica a diferentes condiciones de presión en configuración SBS para solución de 9% PLC en Cl:IA 50:50 a 20 cm del colector y 15ml/h de flujo. 64	64
Figura 3-17:	Resultados de microscopía óptica a diferentes concentraciones en configuración SBS a 20 cm del colector, 2 bar de presión y 15ml/h de flujo.....	65
Figura 3-18:	Diagrama gráfico de scaffolds a caracterizar.....	66
Figura 3-19:	Micrografías SEM de fibras de PCL. (a) SBS 500X, (b) SBS 5000X, (c) SE 500X y (d) SE 5000X.....	67
Figura 3-20:	Histogramas de diámetro de fibras de PCL fabricadas por SBS (a) y SE (b). 67	67
Figura 3-21:	Micrografías SEM de fibras de PCL + ibuprofeno (500 X) pre y post esterilización. 68	68
Figura 3-22:	Espectros FTIR para fibras de PCL fabricadas por SBS y SE.	70
Figura 3-23:	Resta de los espectros FTIR para fibras de PCL fabricadas por SBS y SE. 70	70
Figura 3-24:	Espectros FTIR para todas las muestras caracterizadas.....	71
Figura 3-25:	Espectros FTIR para muestras con y sin ibuprofeno, fabricadas por (a) SE y (b) SBS. 72	72
Figura 3-26:	Espectros FTIR para muestras con ibuprofeno, pre y post esterilización. 73	73
Figura 3-27:	Mecanismo de degradación de PCL por hidrólisis.	73
Figura 3-28:	Curva esfuerzo vs deformación, en ensayo de tracción para scaffold de PCL fabricadas por SBS y SE.....	74

Figura 3-29: Curva esfuerzo vs deformación, en ensayo de tracción para scaffold de PCL con y sin ibuprofeno fabricadas por SBS.	75
Figura 3-30: Curva esfuerzo vs deformación, en ensayo de tracción para scaffold de PCL con y sin ibuprofeno fabricadas por SE.	76
Figura 3-31: Curva esfuerzo vs deformación, en ensayo de tracción de scaffold PCL+IBU pre y post esterilización.	78
Figura 3-32: Ángulo de contacto para scaffold de PCL, fabricados por las técnicas SE y SBS.	79
Figura 3-33: Fotografías de gotas de agua sobre scaffold de PCL, fabricados por la técnica SE.	80
Figura 3-34: Ángulo de contacto para scaffold pre y post esterilizado de PCL+IBU, fabricados por las técnicas SE y SBS.....	81
Figura 3-35: Isotermas de absorción (A) y desorción (D) de nitrógeno, para scaffold de PCL fabricadas por SE y SBS.	82
Figura 3-36: Derivada de la curva de volumen de poro acumulado por el método BJH.	83
Figura 3-37: Gráfica comparativa del escaneo UV de la muestra, frente al reportado por la Farmacopea Europea [98].	83
Figura 3-38: Curva de calibración para medición de concentración de ibuprofeno, (a) rango completo alta concentración, (b) ampliación para concentraciones bajas.....	84
Figura 3-39: Curva de liberación de ibuprofeno en scaffold fabricados por SE y SBS. (a) curva completa (b) ampliación para las primeras 4 h.	85
Figura 3-40: Modelos matemáticos de liberación comparados con los datos experimentales de ibuprofeno para scaffold fabricado por (a) SBS (b) SE.	87
Figura 3-41: Termo gramas DSC para scaffold de PCL+IBU pre y post esterilización desde -90°C hasta -40°C.....	88

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1-1: Biopolímeros en fase 3 de estudio clínico o a la venta utilizados para la regeneración de cartílago.	7
Tabla 1-2: Investigaciones actuales sobre regeneración de cartílago.	10
Tabla 1-3: Investigaciones recientes, que han utilizado PCL como biomaterial.	19
Tabla 1-4: Tabla comparativa de ventajas y desventajas de polímeros de interés.	21
Tabla 1-5: Polímeros naturales utilizados para realizar scaffold por la técnica electrospinning.	22
Tabla 1-6: Factores de crecimiento utilizados en ingeniería tisular de cartílago.	23
Tabla 1-7: Parámetros de referencia para la fabricación de fibras de quitosano con la técnica electrospinning.	25
Tabla 1-8: Parámetros para el uso de PCL y quitosano con la técnica coaxial electrospinning.	26
Tabla 1-9: Parámetros de referencia para la fabricación de fibras de gelatina con la técnica electrospinning.	27
Tabla 1-10: Parámetros para el uso de PCL y gelatina (GI) con la técnica coaxial electrospinning.	27
Tabla 1-11: Parámetros para el uso de IBU, PCL y gelatina (GI) con la técnica coaxial electrospinning.	28
Tabla 1-12: Interpretación de modelos de liberación de agente activo según modelo Korsmeyer-Peppas.	32
Tabla 2-1: Componentes utilizados para la preparación de 1 litro de PBS.	44
Tabla 3-1: Parámetros y resultados de ensayos con Quitosano en ácido acético.	48
Tabla 3-2: Parámetros y resultados de ensayos con solución de 5% de quitosano hidrolizado en ácido acético al 90%.	49
Tabla 3-3: Parámetros y resultados de ensayos con solución de 8% de gelatina en ácido acético glacial.	50
Tabla 3-4: Parámetros y resultados de ensayos con solución de 20% de gelatina en ácido acético a 50%.	51
Tabla 3-5: Parámetros y resultados de ensayos con solución de PCL y Gelatina en la configuración de boquilla Te en electrospinning.	55
Tabla 3-6: Parámetros y resultados de ensayos con solución de PCL y Gelatina en la configuración <i>coaxial electrospinning</i>	56

Tabla 3-7: Comparación de propiedades mecánicas de las probetas fabricadas por SBS y electrospinning	75
Tabla 3-8: Comparación de propiedades mecánicas de las probetas fabricadas por SBS y electrospinning al adicionar el compuesto bioactivo.....	77
Tabla 3-9: Comparación de propiedades mecánicas pre y post esterilización de las probetas fabricadas por SBS y electrospinning con compuesto bioactivo.....	78
Tabla 3-10: Comparativa de las constantes obtenidas para los modelos matemáticos de liberación de los scaffold SBS y SE.....	86
Tabla 3-11: Características térmicas obtenidas por DSC*, de scaffold de PCL pre y post esterilización: temperatura de transición vítrea, temperatura de fusión, entalpía de fusión, grado de cristalinidad y temperatura de cristalización.	89

Lista de Símbolos y abreviaturas

Símbolos con letras latinas

Símbolo	Término	Unidad SI
D	Distancia entre aguja y colector	cm
h	Cabeza de bomba	cm
H	Altura de la gota	mm
ΔH_f	Entalpia de fusión	J/g
r	Radio de la base de la gota	mm
R	Radio interior de aguja	cm
V_c	Voltaje crítico	kV

Símbolos con letras griegas

Símbolo	Término	Unidad SI
π	Número pi	
γ	Tensión superficial	dyn/cm
ε	Porosidad interna del sólido	1
θ	Ángulo de contacto	° grados

Abreviaturas

Abreviatura	Término
ABS	Absorbancia
BET	Teoría de Stephen Brunauer, Paul Emmett, and Edward Teller.
BSA	Albúmina de suero bovino
CE	<i>Coaxial electrospinning</i>
CHT	Quitano
CI	Cloroformo
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DSC	Calorimetría diferencial de barrido
ECM	Matriz extracelular
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FTIR	Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier
GAS	Sulfato de glucosamina
HA	Ácido hialurónico
HFIP	Hexafluoro-2-propanol
IA	Alcohol isopropílico
MOH	Metanol

Abreviatura Término

NSAIDs	Fármacos antiinflamatorios no esteroideos
PBS	Buffer fosfato salino
PCL	Policaprolactona
PEG	Polietilenglicol
PGA	Ácido poliglicólico
PGS	Poli (sebacato de glicerol)
PLA	Ácido poliláctico
PLGA	Poliácido láctico-co-glicólico
PLLA	Ácido poli-l-láctico
PRP	Plasma rico en plaquetas
PU	Poliuretano
PVA	Acetato de Polivinilo
SBS	<i>Solution Blow Spinning</i>
SE	<i>Simple electrospinning</i>
SEM	Microscopía electrónica de barrido
TE	<i>T-electrospinning</i>
TFA	Ácido trifloro acético
TFE	Tetrafluoroetileno
UV	Radiación ultravioleta

Introducción

La degeneración del cartílago afecta a varios grupos de la población colombiana, como lo son personas que padecen osteoartritis, personas con malformaciones genéticas y lesiones en deportistas. Según la COPCORD Asociación Colombiana de Reumatología, en un estudio realizado en 2018, indica que 1 de cada 4 adultos padece de alguna enfermedad reumática y que la enfermedad con más prevalencia en las 6 ciudades principales en el país es la Osteoartritis con un 10,81%[1]. Las enfermedades reumáticas son progresivas y están asociadas a un dolor crónico, constituyendo una de las principales causas de morbilidad, discapacidad laboral, deteriorando la calidad de vida y dando altos costos al sistema de salud. Según la OMS el 80% de las personas con osteoartritis tendrá limitaciones en el movimiento y el 25% no podrá realizar actividades de la vida cotidiana [2]. Las articulaciones que más se afectan son las que tienen mayor gasto a lo largo de los años, como lo son la rodilla, cadera, dedos y columna. Sin embargo, otras condiciones adicionales al envejecimiento pueden aumentar el riesgo de padecer esta enfermedad. Por ejemplo, contar con una condición de obesidad puede ocasionar un mayor esfuerzo en la articulación de la rodilla, el impacto es tal, que tan solo disminuir el peso en 5kg puede reducir el riesgo de padecer osteoartritis de rodilla en un 50%[3]. Otro ejemplo es el caso de una persona que hubiese laborado en agricultura más de 10 años, ya que las actividades realizadas aumentarían 9,3 veces el riesgo de problemas de salud relacionados a las articulaciones.

La osteoartritis es una enfermedad que no tiene cura, sin embargo, existen varios tratamientos que ayudan a aliviar los síntomas, algunos de estos son mantener un estilo de vida saludable, con un peso corporal adecuado y realizando ejercicio regularmente. Por otro lado, para disminuir el dolor, los especialistas formulan medicación y terapias para hacer más fáciles las actividades diarias. Cuando la enfermedad está más avanzada y estos tratamientos no son suficientes, se opta por realizar cirugías de reparación, para fortalecer o reparar las articulaciones. La página web NHS [4], especifica cuáles tratamientos se utilizan actualmente para esta enfermedad, indicando medicinas para aliviar el dolor, paracetamol, fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAIDs),

opioides, capsaicina en crema o inyecciones de esteroides. Con respecto a este último tratamiento, un estudio publicado en 2019 por Kompel y colaboradores [5] sugiere considerar muy bien las inyecciones de corticosteroide para aliviar el dolor en rodilla, ya que generan problemas adversos como la aceleración de la osteoartritis, la fractura por insuficiencia subcondral, complicaciones de osteonecrosis y destrucción rápida de las articulaciones con pérdida ósea. Por otro lado, la terapia con anti-inflamatorios NSAIDS vía oral, puede causar malestar estomacal, problemas cardiovasculares, problemas de sangrado y daño hepático y renal; sin embargo, en algunos casos son aplicados en la piel y presentan menos efectos secundarios([4]–[6]).

En el caso del implante de condrocitos se presentan limitaciones, ya que puede formar tejidos fibrocartilaginosos con bajas características mecánicas, invasivos y que requiere mucho tiempo de recuperación. Los estudios actuales en ingeniería de tejidos están buscando diseñar y sintetizar estructuras que puedan reparar el cartílago, considerando que el material que sirva como soporte de las células que se van a proliferar cuente con una matriz extracelular similar a la real y que sea un proceso controlable. [7]

Varios de los scaffolds desarrollados favorecen la proliferación, diferenciación celular y son candidatos prometedores para la regeneración de este tejido. Asimismo, estudios más recientes mejoran estos biomateriales con la funcionalización de estos con fármacos. Aprovechando los avances en sistemas de liberación de fármacos, ya que se pueden incluir un número de agentes terapéuticos y biológicos los cuales mejorarán la aceptación del scaffold, el proceso de crecimiento del tejido y su diferenciación. Para incluir estos compuestos bioactivos en los scaffolds se utilizan técnicas de electrospinning [8].

Algunos autores de artículos en el área regeneración de cartílago, han expresado que se deben enfocar esfuerzos en que esos compuestos bioactivos realicen una diferenciación celular dirigida al fenotipo requerido y que se puedan utilizar células del paciente para su posterior reparación in situ [8], [9]. El principal inconveniente se debe a que el cartílago articular tiene una pobre capacidad de regeneración debido a la baja vascularización y la limitada proliferación de condrocitos. [7] Los condrocitos responden a las citocinas, las señales del factor de crecimiento y los estímulos físicos de manera compleja para mantener la integridad de las articulaciones. Si se rompe este equilibrio, la degradación de la matriz del cartílago, mediada por enzimas proteolíticas que ya no están equilibradas por los inhibidores de la proteasa, da como resultado la liberación de fragmentos de matriz en el espacio sinovial. En la última etapa de la enfermedad, el catabolismo supera

la reparación de la matriz (anabolismo). La fagocitosis de los productos de degradación de la matriz del cartílago por los macrófagos sinoviales está relacionada con la inflamación crónica de la membrana sinovial, que a su vez produce la síntesis local de más proteasas y citocinas proinflamatorias. [3]

Para reducir la inflamación y funcionar como coadyuvante del tratamiento de osteoartritis, se podría fabricar un scaffold que contenga un sistema de liberación de un compuesto activo (antiinflamatorio), que apoye el tratamiento de regeneración de cartílago de rodilla y a su vez pueda disminuir el dolor y los efectos secundarios NSAIDs. Sin embargo, aún no se cuenta con información más específica sobre los criterios de decisión que permitan determinar la técnica de electrospinning más adecuada para cargar compuestos bioactivos en un scaffold. Por lo que en este trabajo se espera contribuir a la comunidad académica con la comparación entre dos técnicas, de manera que los resultados y conclusiones logradas puedan ayudar al diseño de scaffolds, y particularmente en los que van a ser utilizados como coadyuvantes del tratamiento de osteoartritis.

Objetivo general

Obtener y caracterizar dos scaffold poliméricos, cargados con un compuesto con potencial bioactivo, utilizando la técnica electrospinning.

Objetivos específicos

- Determinar los parámetros del proceso que permitan obtener dos scaffolds poliméricos cargados con un compuesto con potencial bioactivo.
- Caracterizar los scaffolds por medio de microscopía electrónica, espectroscopia IR y curva de liberación del compuesto cargado.
- Identificar los cambios en las propiedades mecánicas y temperatura de transición vítrea de los scaffolds, pre y post esterilización ultravioleta.

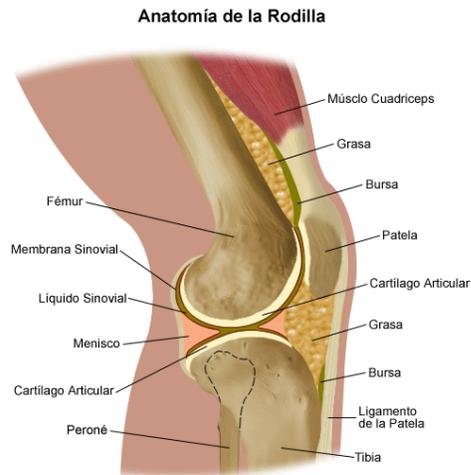
1. Estado del arte

1.1 Articulación de la rodilla

La articulación de la rodilla [10] es una de las más grandes, complejas y además de estar sometida al mayor estrés en el cuerpo humano. Se compone de dos articulaciones, la tibiofemoral que permite la conexión entre fémur y la tibia; y la patelofemoral que conecta del fémur y la paleta. Estas permiten los movimientos de extensión, flexión, rotación lateral y medial parcial en posición de flexión; el ángulo máximo de flexión es de 140° cuando la articulación de la cadera esta flexionada.

Esta articulación es del tipo sinovial, que se caracteriza por tener una cavidad que evita el contacto directo entre las caras articulares. La cavidad articular por su parte contiene liquido sinovial, el cual es transparente y viscoso. Es un dializado del plasma sanguíneo que contiene proteínas, hialuronato, glucosa y agua; sus funciones principales son las de lubricación, amortiguación y nutrición del cartílago articular [11].

Figura 1-1: Partes de la articulación de la rodilla



Nombre de la fuente: Stanford Medicine – Childrens Health [12]

Por su parte el cartílago se compone de células y matriz extracelular (en más de 95% del volumen). Las células específicas presentes en este tipo de tejido se denominan condrocitos y condroblastos. Poseen un retículo endoplasmático rugoso y un aparato de Golgi relativamente grande. La matriz extracelular es sólida, firme y maleable, es producida por los condrocitos y está formada por agua (alrededor de 80%), colágeno, ácido hialurónico, proteoglucanos y diversas glucoproteínas[11]. La interacción entre gran cantidad de agregados de glucoproteínas muy hidratadas y las fibras de colágeno, permite la difusión de sustancias desde los vasos sanguíneos del tejido conjuntivo hasta las células inmersas [13]. El cartílago se clasifica en tres tipos, dependiendo de las características de la matriz extracelular, los cuales son elástico, fibrocartílago y hialino. Particularmente, la articulación tibiofemoral cuenta con una capa gruesa de cartílago hialino[10]. Este tipo de cartílago es vítreo, transparente y de color blanco azulado. En su composición cuenta con 60-80% de agua, 15% de colágeno (dentro de los cuales 80% es colágeno tipo II, 15% es colágeno tipo IX y XI y 5% colágeno III,VI,X,XII,XIV), 9% de proteoglucanos, 5% de glucoproteínas y 3-5% de condrocitos generalmente organizados en grupos[13], [14]. En microscopia electrónica, las fibras de colágeno se identifican como fibrillas individuales paralelas de un diámetro 15-40nm [13]

En enfermedades degenerativas, como la osteoartritis, se liberan citocinas, que a su vez generan agreganinas y metaloproteinasas. Según Rodríguez y colaboradores [15], la presencia de estas moléculas inicia la degradación de la matriz extracelular y se estimula la producción de compuestos característicos del fibrocartílago, como el colágeno tipo I, aumentando el coeficiente de fricción entre los huesos.

Para atender lesiones en el cartílago de rodilla, se tienen diferentes tratamientos, dependiendo la edad del paciente, el origen de la lesión y la magnitud del daño. En orden ascendente de tratamientos con respecto al daño en el tejido, se encuentran [16]:

1. Condroplastia: se extirpan los fragmentos de cartílago dañados.
2. Micro-fracturas: con pequeños punzones o agujas, se rompe la lámina calcificada de cartílago hialino permitiendo el contacto con hueso, facilitando el contacto de células madre mesenquimales con la lesión, para que estas formen nuevo tejido.
3. Mosaicoplastia: trasplante de cartílago propio, obtenido de una zona que no soporte peso corporal.
4. Mega trasplante: osteo-condral: trasplante de mayor tamaño, obtenido de rodilla de cadáver o de la parte posterior del cóndilo femoral del paciente.

5. Infiltración de células madre mesenquimales: se extraen de la grasa abdominal del paciente, han sido utilizadas para daños generales en el cartílago y se utilizan aplicando infiltraciones.
6. Prótesis de rodilla: reemplazar la articulación dañada por una articulación artificial de metal.

De estas opciones, las dos últimas son comúnmente utilizadas para lesiones generadas por osteoartritis, ya que el daño se produce en el total del tejido.

1.2 Investigaciones actuales

Para algunos de los procedimientos mencionados anteriormente, se están implementando biomateriales que favorezcan la regeneración de cartílago de la rodilla. Varias de estas alternativas ya se encuentran en fase 3 de estudios clínicos o posteriores, en la **Tabla 1-1** se muestran algunos ejemplos.

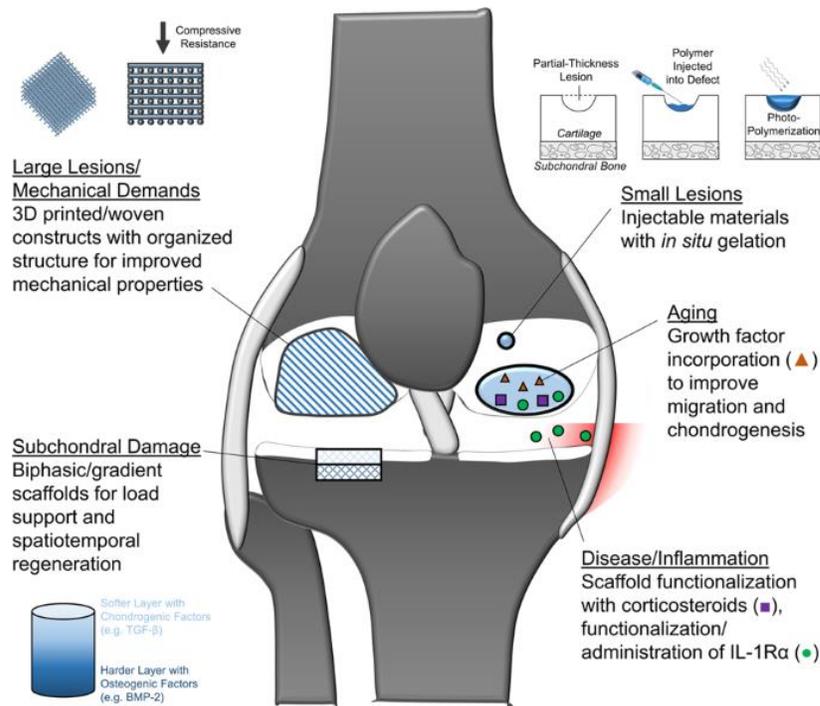
Tabla 1-1: Biopolímeros en fase 3 de estudio clínico o a la venta utilizados para la regeneración de cartílago.

Nombre	Fase	Proceso	Material	Edad	Ref.
GelrinC	Fase 3	Microfractura	PEG - fibrinógeno humano	15-60 años	[17], [18]
MACI	Fase 3	Microfractura	Condrocitos autólogos cultivados en la membrana de colágeno porcino	18-55 años	[19], [20]
MaioRegen	Venta	Estimulación de la médula ósea: perforación o microfracturas	Capa superior de colágeno tipo I, capa inferior hidroxapatita enriquecida con magnesio.	Menores 60	[21]
NeoChart	Fase 3	Implante de tejido de cartílago autólogo	Matriz de colágeno tipo I	18-59 años	[22], [23]
NOVOCART® 3D	Fase 3	Producto de implantación de condrocitos autólogos	Scaffold de colágeno tridimensional bifásico	14a 65 años	[24], [25]

derivadas de tejido adiposo), las cuales son un precursor de las células del tejido conectivo con capacidad de autorrenovación y diferenciación en múltiples tipos de células del cuerpo, dentro de las cuales se encuentran los condrocitos (fundamentales en cartílago).

Jain y Ravikumar [30], refieren que la ingeniería de tejidos se puede utilizar como alternativa para tratamiento actual de la osteoartritis, ya que ayuda en la reparación y regeneración del cartílago. Y además expresan que los avances actuales se enfocan en el tratamiento celular, que implica la inserción de genes y algunas moléculas bioactivas como PRP, y en algunos casos estos tratamientos se realizan por medio de scaffold, como se visualiza en la **Figura 1-3**.

Figura 1-3: Enfoques actuales para la regeneración de cartílago.



Nombre de la fuente: Martín y colaboradores [31] Licencia CC BY 4.0

Por otro lado, en una revisión general en ScienceDirect para regeneración de cartílago (ver **Tabla 1-2**), se encuentran artículos de investigación basados en materiales biocompatibles, que combinados con otros compuestos mejoran su estructura y bioactividad.

Tabla 1-2: Investigaciones actuales sobre regeneración de cartílago.

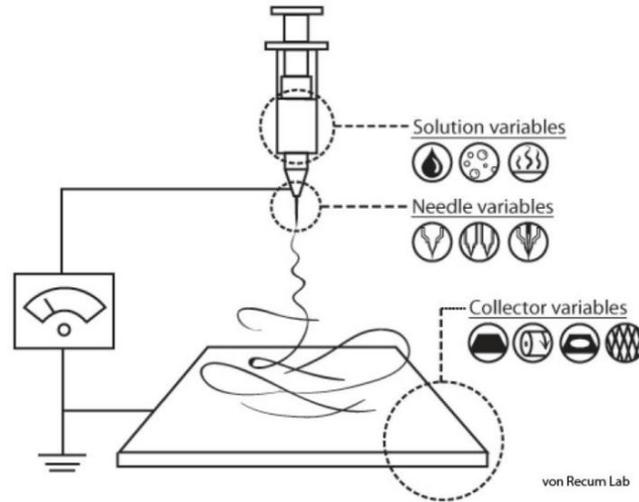
Autores/ref	Objetivo	Conclusión
Park y colaboradores [32] Técnica: Partículas de hielo pulverizadas en nitrógeno líquido.	Reducir la acidificación ocasionada por la degradación del PLGA y mejorar la viabilidad celular durante la diferenciación condrogénica.	El andamio de PLGA tiene un efecto sinérgico sobre la curación condral a través de la neutralización del pH y la inhibición de la muerte celular proinflamatoria.
Andreas y colaboradores [9] Técnica: microesferas por emulsión	Utilizar la insulina como factor de crecimiento para la ingeniería del tejido del cartílago liberada de un dispositivo de administración de PLGA biodegradable.	La insulina liberada de microesferas PLGA w/o/w estimuló la formación de cartílago considerablemente, lo cual se confirmó con el aumento en la secreción de proteoglicanos y colágeno tipo II.
Khatami y colaboradores [7] Técnica: Electrospinning	Modificar el ácido hialuronato con anhídrido acético para mejorar su solubilidad y poder combinarlo con PCL para la formación de scaffold que permitan la diferenciación condrogénica de células madre.	La presencia de ácido hialurónico acetilado en scaffolds nano fibrosos mejora la condrogénesis y aumenta el efecto del medio de diferenciación.
Chen y colaboradores [33] Técnica: electrospinning-coaxial	Encapsular GAS en nanofibras de PCL, que pueda promover el crecimiento de condrocitos.	La liberación de GAS fue beneficiosa para el crecimiento y la proliferación celular, y podría tener ciertas posibilidades de aplicación en la reparación de la artritis del cartílago.

1.3 Electrospinning

En esta técnica una o varias soluciones poliméricas son cargadas a una bomba que, a un flujo determinado, conduce la solución a una aguja, en la cual se aplica un alto voltaje (10-70kV). Cuando el voltaje alcanza un valor suficiente, la fuerza de campo electrostático

sobre el polímero supera la resistencia viscosa y la tensión superficial del fluido, provocando que el chorro cargado se expulse hacia el cátodo. Finalmente, las fibras obtenidas son depositadas en un colector y su formación está basada en el alargamiento uniaxial o elongación del chorro de solución de polímero o fundido.

Figura 1-4: Dibujo conceptual de la técnica electrospinning y sus principales variables.



Nombre de la fuente: RecumLab [34]

Como se mencionó, la fuerza impulsora de este proceso es la fuerza electrostática. Es así como, bajo la fuerza de un campo electrostático, el chorro de solución cargada en la punta de la hilera cambia de tamaño para mantener el equilibrio de fuerzas. Las fuerzas repulsivas actúan en dirección contraria a la tensión superficial en el cono de Taylor. Cuando el campo electrostático logra un voltaje crítico el balance de fuerzas repulsivas se rompe y un chorro cargado se libera desde la punta cónica de la gota. El voltaje crítico se calcula con la Ecuación (1.1)

$$V_c^2 = 4 \frac{D^2}{h^2} \left(\ln \left(\frac{2h}{R} \right) - 1.5 \right) (1.3\pi R\gamma)(0.09) \tag{1.1}$$

Donde, D es la distancia desde aguja a colector, h es cabeza de la bomba o la presión de líquido, R es el radio interior de la aguja, γ es la tensión superficial de la solución (unidades: D, h, y R en cm, γ en dyn / cm). Se inserta el factor 0.09 para predecir el voltaje.

La formación de fibras delgadas y continuas depende de la correcta combinación de todas las variables de la técnica, las cuales son [35], [36]:

Propiedades de la solución

- Incrementando la **conductividad** de la solución se mejora la calidad de las fibras, reduciendo los defectos y el diámetro.
- Una mayor **viscosidad** de la solución inducirá un mayor diámetro de la fibra. También, la volatilidad del solvente debe estar en una región determinada.
- Al reducir la **tensión superficial** las esferas se pueden convertir en fibras lisas.
- Un disolvente más **volátil** puede dar como resultado fibras planas / de cinta y fibras con poros superficiales.
- Una **concentración** alta de polímero forma microfibras en forma de hélice, a concentraciones medias se obtiene una mezcla de perlas y fibras, y a muy baja concentración se obtienen nanopartículas.
- Un menor **peso molecular** del polímero solo formará esferas, sin embargo, si este ya es muy alto formará fibras en escala micrométrica.

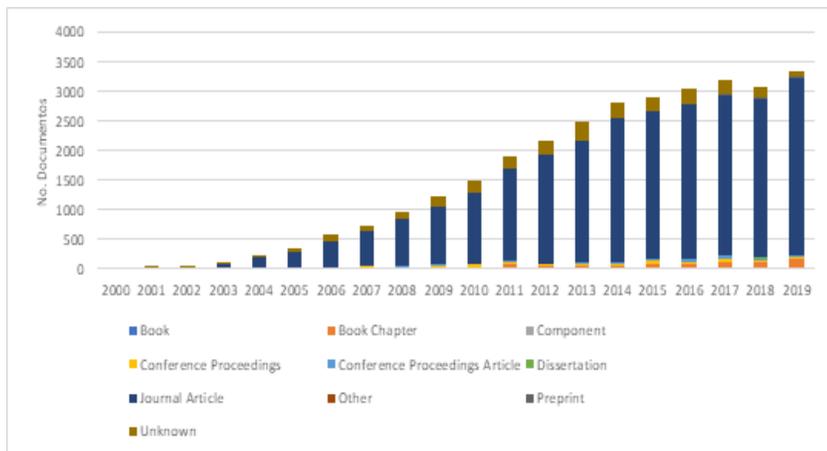
Voltaje

Al incrementar el voltaje acelerará el chorro de electrospinning y esto puede dar como resultado un mayor volumen de solución extraída en la punta de la aguja, y si el flujo de la solución está fijo, esto resultará en un cono de Taylor más pequeño e inestable. Se espera que, al aplicar mayor voltaje, conduzca a un mayor estiramiento y se obtengan fibras más delgadas. Sin embargo, también puede ocurrir que, al aumentar la diferencia de potencial, la aceleración hacia el colector aumente y reduzca el tiempo en el aire (que favorece que se estire la fibra), por lo que el resultado del diámetro de la fibra es mayor.

Flujo

Cuando es muy alto el flujo, se producirá goteo y se observarán fibras con perlas, también aumenta el diámetro de la fibra. Cuando el flujo se incrementa por encima de cierto límite, las fuerzas repulsivas debido a la carga sobre la solución son insuficientes para extraer la solución de la punta de la boquilla. Sin embargo, cuando la velocidad es

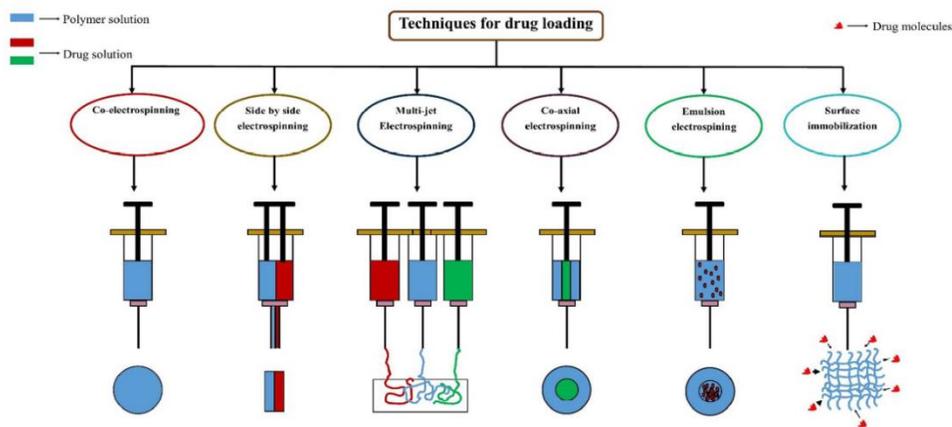
Figura 1-6: Gráfica de número de documentos académicos publicados sobre electrospinning desde 2000. Datos tomados de Lens.org.



Nombre de la fuente: Página Web – Base de datos lens.org [27] Licencia CC:BY-NC

Dentro del electrospinning, existen diferentes técnicas para incorporar fármacos, proteínas u otro tipo de compuestos activos a las fibras poliméricas. Deshmukh y colaboradores [37] presentan 6 tipos de técnicas para cargar compuestos, como lo son co-electrospinning, lado a lado, multi aguja, coaxial, emulsión e inmovilización de superficie.

Figura 1-7: Técnicas para cargar fármacos, proteínas o compuestos bioactivos en scaffold.



Nombre de la fuente: Deshmukh y colaboradores [37] © 2019 Springer Nature Switzerland AG

Así también Strobel y colaboradores [38], presentan 3 tipos de técnicas para incorporar compuestos en las fibras:

- **Mezcla directa:** se usa cuando el polímero y el factor de crecimiento tienen una solubilidad similar. El polímero y el agente terapéutico se combinan antes del electrospinning para formar una solución, lo cual es ventajoso debido a la simplicidad en la fabricación. Sin embargo, esto puede resultar en una alta liberación inicial del compuesto cargado, ya que tienden a ubicarse predominantemente en la superficie de la fibra.
- **Emulsión:** una solución típicamente acuosa de factor de crecimiento se emulsiona en una solución de polímero, lo que conduce a que las gotas de solución de factor de crecimiento se encapsulan dentro de una cubierta de polímero después del electrospinning.
- **Coaxial:** utiliza dos bombas diferentes para permitir el electrospinning de dos soluciones diferentes juntas para crear fibras núcleo-cubierta, donde un núcleo de solución de factor de crecimiento está contenido en una cubierta de polímero.

Para este trabajo se selecciona la técnica de mezcla directa para incorporar el compuesto bioactivo y se estudian también la configuración side-to-side (T-Electrospinning) y coaxial disponibles en el Laboratorio de Electrospray y Electrospinning.

1.4 Solution Blow Spinning

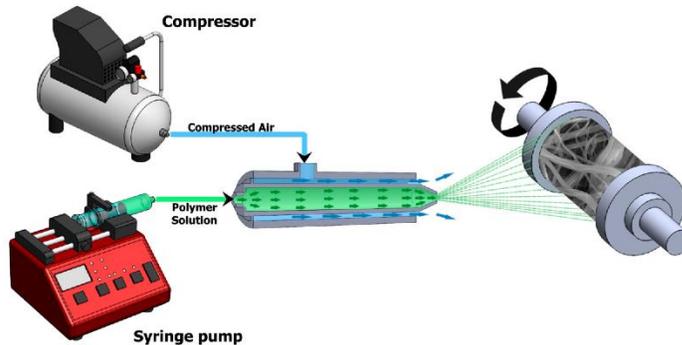
Esta técnica permite obtener nano/microfibras de diámetros similares a los obtenidos por electrospinning, pero a una mayor tasa de producción [39]. La producción de fibras utiliza una bomba de jeringa que transporta la solución de polímero a la aguja interior de una boquilla coaxial, mientras que un gas a alta velocidad fluye a través de la aguja exterior (ver **Figura 1-8**).

El principio de funcionamiento hidrodinámico se explica a detalle en el artículo de Dadol y colaboradores [39], que se describe en 4 pasos: la formación de cono, el estiramiento del chorro, la solidificación del chorro y la deposición de las fibras. El cono es formado debido a la alta velocidad del aire en la salida de la aguja exterior, como se puede ver en la

Figura 1-9, el aire que sale en la parte exterior de la boquilla se fusiona con el centro, creando una zona de baja presión alrededor del cono, esta disminución en la presión

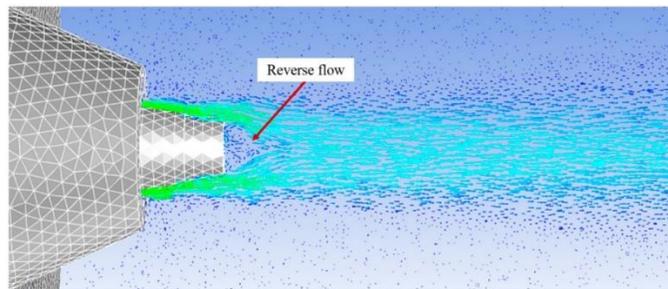
ocasiona un flujo inverso [39], [40], el cual a su vez genera cizallamiento en la interfaz de solución polimérica con aire, dando como resultado la formación de una hebra fina de polímero, que irá disminuyendo su diámetro a medida que el chorro sale de la boquilla.

Figura 1-8: Dibujo conceptual de la técnica solution blow spinning.



Nombre de la fuente: Atif y colaboradores [40] Open Access

Figura 1-9: Flujo inverso en las proximidades de la punta de la jeringa de solución de polímero que puede obstruir la jeringa.



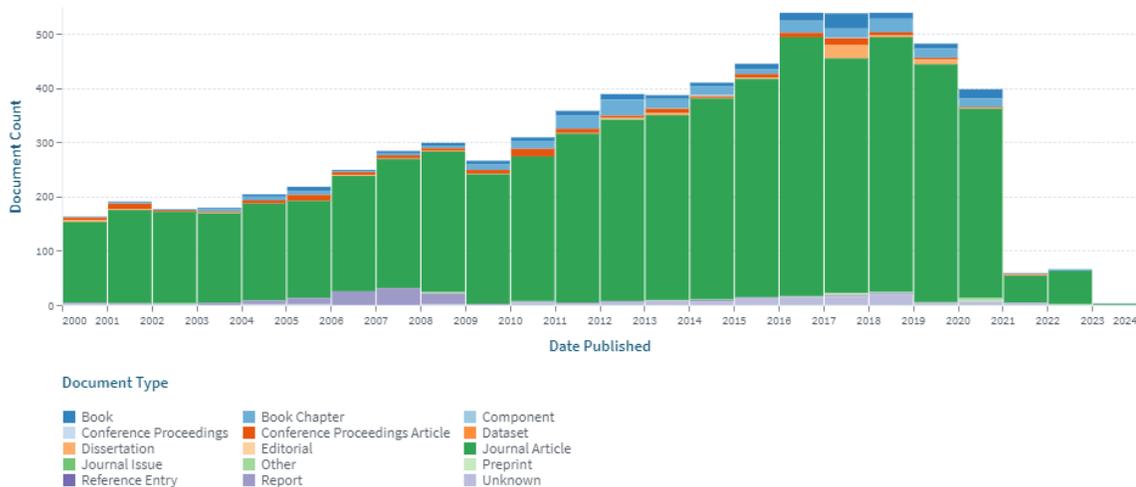
Nombre de la fuente: Atif y colaboradores [40] Open Access

Encontrar los parámetros que con los que se obtengan fibras con morfología adecuada, presenta dificultad experimental, por lo que investigaciones como la presentada por Czarnecka y colaboradores[41] aportan una ayuda valiosa para el desarrollo de esta técnica. Allí se buscó establecer un protocolo de selección de parámetros, para la fabricación de matrices fibrosas de PCL en tetrafluoretileno (TFE) con un diámetro promedio deseado, grados de alineación y morfología de fibra uniforme. La viscosidad de la solución determina una “ventana de hilado” ellos observan que, para su boquilla, el 9% de PCL en TFE es un valor de ventana superior, es decir, a partir de este punto se crea

un proceso de formación de chorro inestable con concentraciones de solución de polímero altas, lo que hace que el solvente se evapore rápidamente en la punta de la aguja evitando la formación de chorros de Taylor y dando como resultado fibras no uniformes y con grandes gotas irregulares.

A pesar de que con esta técnica se pueden lograr nano/microfibras, aun no es tan popular entre los científicos. Esto se confirma con las gráficas generadas por lens.org [27], ya que para electrospinning se logra un pico de estudios realizados por encima de 3000 documentos como se observa en la **Figura 1-6**. Mientras que para el caso de solution blow spinning, la misma gráfica generada desde el año 2000, en la misma plataforma muestra un pico de alrededor de 500 documentos.

Figura 1-10: Gráfica de número de documentos académicos publicados sobre solution blow spinning desde 2000.



Nombre de la fuente: Página Web – Base de datos lens.org [27] Licencia CC:BY-NC

En cuanto a investigaciones desarrolladas con esta técnica en los últimos años, para aplicaciones biomédicas, se encuentran varias referencias en la literatura. Una de ellas es el estudio publicado en 2021 por Llorente y colaboradores [42], quienes fabricaron un scaffold para regeneración de piel a partir de una mezcla de PCL y colágeno. El autor menciona que la técnica SBS tiene la dificultad de encontrar los parámetros adecuados para obtener fibras homogéneas, es una opción más versátil porque no es necesario trabajar en presencia de un campo eléctrico intenso, lo que permite preparar el material

in situ. Como resultados de la investigación encuentran que la presencia de colágeno mejora la proliferación celular y su concentración con respecto a PCL no afecta la biocompatibilidad de los materiales. Asimismo, identificaron una correlación directa entre la porosidad, la rugosidad, el ángulo de contacto y la proliferación celular.

De forma similar, Tomecka [43] utiliza la técnica de SBS para obtener nano fibras de poli (ácido L-láctico) (PLLA) y poliuretano (PU) y evalúan la proliferación de células cardíacas sobre estas fibras. En este caso, los autores prefieren SBS sobre SE, pues permite fabricar nanofibras con rangos de diámetro similares al SE, con la ventaja de tener un menor costo y una mayor tasa de productividad, por lo que el método se puede escalar más fácilmente a nivel industrial. En cuanto a los resultados de su trabajo, reportan que las nanofibras de PLLA y PU fabricadas permiten realizar un cultivo de células cardíacas en condiciones más similares a las del entorno *in vivo*.

Otro uso de polímeros como PCL y PLLA, que se reconocen por la FDA como biocompatibles es en el uso de membranas fabricadas por SBS para la limpieza de contaminante de aceite en agua. Trabajo realizado por Li y colegas [44], donde miden el rendimiento de adsorción y la reciclabilidad en crudo de petróleo, diésel y aceite de cacahuete, encontrando una capacidad de absorción de hasta 24.65 g/g. Asimismo encontraron que el aumento de la cantidad de PLLA ocasiona una disminución en el diámetro y la densidad, mientras que su porosidad aumentó, incrementándose a su vez su capacidad de adsorción. El estudio también resalta que la técnica de SBS presenta una ventaja para preparar membranas de material compuesto por varios tipos de polímeros con diferentes propiedades físicas y químicas.

1.5 Selección de materiales

1.5.1 Polímero base del scaffold

Los materiales usados en ingeniería tisular de cartílago se resumen en el artículo de revisión realizado por Yilmaz y Zeugolis[45], allí se presenta una lista de polímeros sintéticos utilizados, dentro de los cuales se encuentran PGA, PLA, PCL y sus copolímeros, aprobados por la FDA para su uso clínico. Los autores comentan que en cuanto a propiedades mecánicas y estructura robusta en el scaffold se destacan los polímeros PLLA y PCL, por otro lado, en términos de proliferación celular se sobresale

PLLA y en términos de degradación del polímero los scaffold de PGA, PLLA y PLGA (50:50 y 85:15) se degradan más rápido. Adicionalmente, resaltan la policaprolactona (PCL) como un polímero que favorecedor en la reparación y regeneración del cartílago, además de otras características atractivas como su bajo costo, estabilidad, larga rata de degradación y largos periodos de regeneración para el cartílago, capaz de promover la proliferación celular y alta diferenciación condrogénica.

Adicionalmente otros estudios recientes encontrados con este polímero (**Tabla 1-3**), se elige como punto de partida o base para el diseño de un scaffold que pueda ser coadyuvante del scaffold a diseñar.

Tabla 1-3: Investigaciones recientes, que han utilizado PCL como biomaterial.

Material	Solvente	Orientación	Config.	Comp. Bioactivo	Tamaño fibras	Ref.
PCL	Acetato de etilo	Aleatoria	Mezclado	Fitoquimicos	208 ± 9.6 nm 316 ± 7.0 nm	[46]
PGS/PCL	TFE	Aleatorio y alineado	Co-axial y mezclado	Kartogenin	505–738 nm	[47]
ac-HA/PCL	DMSO/DMF	Alineado	Mezclado	-	475.1-1.179 nm	[7]
PCL	Cloroformo DMF	Aleatorio	Mezclado y co-axial	BSA	6000nm	[48]
PCL-PTHF Colageno I	HFIP	Aleatorio	Mezclado	-	444-523 nm	[49]
PCL/GAS	HFIP	Aleatorio	Co-axial	-	573-1318 nm	[33]
PCL/GEL	TFE Ácido acético	Alineadas	Mezclado	-	300-690 nm	[50]
PCL/CHT	HFIP	Aleatorio	Mezclado	Sulfato de condroitina	~300nm	[51]
PCL / fibroína de seda	HFIP	Aleatorio	Mezclado	Sr ²⁺	200-600 nm	[52]

A pesar de las ventajas que presenta la policaprolactona como biomaterial, cuenta con varias desventajas notables, como su hidrofobicidad y falta de adhesión e interacción celular, las cuales disminuyen la probabilidad de recepción del biomaterial en el cuerpo. Para aumentar su afinidad con el tejido se revisaron algunos polímeros con características hidrofílicas, que puedan complementar la matriz,[53] [54]:

- Quitosano: Es uno de los amino polisacáridos naturales más abundantes. Es derivado de la forma desacetilada de Chitin nativo obtenido de conchas de cangrejo y camarones. Su composición química incluye D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina, los cuales son precursores de glicosaminoglicanos y proteoglicanos, algunos de los compuestos de la matriz extracelular del cartílago. Este polímero presenta características de no toxicidad, biocompatibilidad y biodegradabilidad. Es altamente sensible al agua, sin embargo, en condiciones fisiológicas es insoluble. (pKA 6.5). También cuenta con mayor solubilidad en medios ácidos, bajas propiedades mecánicas y un rendimiento de spinning deficiente, por lo que se mezcla con polímeros.
- PGA: ácido poli-glicólico: es aprobado por la FDA y está disponible con el nombre de Dexon®. Fue de los primeros materiales biodegradables utilizados en aplicaciones clínicas como sutura.
- PVA: es un polímero semicristalino hidrofílico que cuenta con resistencia mecánica y biocompatibilidad. PVA un material prometedor para aplicaciones biológicas, incluso para apósitos para heridas, con membranas, reparaciones quirúrgicas, piel artificial y materiales de polímero correlacionados.
- Colágeno: El cual es abundante en la matriz extracelular del cartílago, es una macromolécula basada en aminoácidos en su mayoría glicina, prolina e hidroxiprolina. Como es un constituyente natural del cuerpo, las fibras de colágeno proveen una adhesión natural de la superficie de las células. El comportamiento de las células es afectado por el tipo de colágeno usado en la matriz, ya que por ejemplo los condrocitos mantienen más su fenotipo en el colágeno tipo II en comparación con el tipo I. Si bien el uso de colágeno tipo II en injertos de cartílago imita más el entorno natural, el colágeno tipo I se aísla fácilmente basándose en la disolución del ácido acético como subproducto animal y, por lo tanto, se utiliza a menudo en ingeniería de tejidos.

Asimismo, se consideran las ventajas y desventajas presentadas Puppi y sus colaboradores [55] y Patel y colaboradores [56], las cuales se presentan en la **Tabla 1-4**.

Tabla 1-4: Tabla comparativa de ventajas y desventajas de polímeros de interés.

Polímero	Ventajas	Desventajas
Colágeno y derivados.	Baja antigenicidad y buenas propiedades de unión a células. Excelente biocompatibilidad, bioreabsorbible, componente natural de ECM, ya utilizado clínicamente.	Baja rigidez biomecánica y rápida biodegradación. Toxicidad de algunos de los agentes reticulantes. El colágeno de tipo II (específico del cartílago) puede ser inmunogénico, con una biomecánica relativamente baja.
Fibroína de seda	Una larga historia de uso en aplicaciones clínicas. Degradabilidad lenta, versatilidad en el procesamiento, notable resistencia mecánica y estabilidad térmica. Decoración química sencilla, composición y secuencia genéticamente adaptables.	Necesidad de purificación. La contaminación por sericina residual puede causar problemas de biocompatibilidad.
Quitosano	Superficie hidrófila que promueve la adhesión, proliferación y diferenciación celular. Buena biocompatibilidad, no citotóxico y respuesta aceptable del huésped. Actividad antibacterial. Contiene componentes de cartílago.	Debilidad e inestabilidad mecánica. Incapacidad para mantener una forma predefinida. Impurezas que afectan las propiedades del material. Gelificación lenta para aplicaciones <i>in situ</i> .
Ácido hialurónico	Sin propiedades inmunogénicas, facilidad de manipulación del tamaño de la cadena, interacciones con receptores de superficie celular. Producción mediante fermentación microbiana a gran escala.	Solubilidad del agua. Su superficie aniónica no promueve termodinámicamente la unión celular y la formación de tejido.
Poliésteres alifáticos saturados de cadena corta (PGA, PLA, PLGA)	Aprobación de la FDA para diversas aplicaciones médicas. Tasa de degradación, propiedades físicas y mecánicas ajustables cambiando la relación de copolímero.	Posible falla prematura del andamio debido a la hidrólisis en masa. Reacciones tisulares adversas causadas por productos de degradación ácidos. Poca humectabilidad y falta de adhesión e interacción celular. Subproductos ácidos

En cuanto a polímeros naturales, el cuerpo los eliminara fácilmente. Sin embargo, la tasa de degradación rápida, puede permitir el ingreso de contaminantes microbianos y posibles respuestas inmunes, lo que ha entorpecido su uso como scaffolds. En la **Tabla 1-5** tomada de este artículo [45] se resumen los polímeros naturales con la técnica electrospinning para el desarrollo de scaffold para cartílago.

Tabla 1-5: Polímeros naturales utilizados para realizar scaffold por la técnica electrospinning.

Polímero	Solvente	Diámetro de fibras	Orientación de fibras	Tipo de células
Colágeno II	Hexafluoroisopropanol	110-1750 nm	Aleatorio	Condrocitos humanos
Colágeno II	Hexafluoroisopropanol	70-2740 nm	Aleatorio	Condrocitos humanos inmortalizados
Quitosano	Composición patentada	3000nm	Alineadas	Condrocitos caninos
Quitosano	Hexafluoroisopropanol/Cloruro de metileno	20-300 nm	Aleatorio	Condrocitos bovinos
Gelatina	Trifluoroetanol/Ácido acético glacial	100-1000 nm	Aleatorio	Condrocitos de becerro
Queratina	Buffer de bicarbonato y carbonato de sodio / Dodecil sulfato de sodio	4800 nm	Aleatorio	ADSCs humanos

Nombre de la fuente: Yilmaz y Zeugolis [45]

Con lo presentado anteriormente y debido a que las fuentes de quitosano son abundantes en la naturaleza, se elige como segundo componente de investigación para el diseño del scaffold. Este polímero se encuentra en conchas de crustáceos, cutículas de insectos y paredes celulares de hongos; las actividades antimicrobiana, antioxidantes, antitumoral, hidrofiliidad, tiene una buena biocompatibilidad, biodegradabilidad y similitud con compuestos de matriz extracelular del cartílago[57]. Asimismo, también se tuvieron en cuenta los comentarios de Comblain y colaboradores [58] que han demostrado que el quitosano promueve la expresión de compuestos de la matriz del cartílago, reducen la inflamación y la producción de mediadores metabólicos por los condrocitos. También un estudio de scaffold acelular para modelar simultáneamente las

zonas nativas del cartílago articular y el hueso subcondral. Demostró que la micro y macro arquitectura de los scaffold hidrofílicos de quitosano-alginato podrían controlarse combinando moldes impresos en tres dimensiones y congelación direccional. Mejoró drásticamente la entrada y distribución de células dentro del scaffold.

Y como tercer material de investigación se selecciona la gelatina, ya que es un derivado del colágeno, por lo que posee una composición y propiedades similares a este componente presente en el cartílago[35]. En la selección se prefiere la gelatina frente al colágeno, pues este último presenta dificultad para formar fibras en electrospinning en solventes no fluorados y se requiere agregar polímeros adicionales a la solución para aumentar su capacidad de formar fibras[59], asimismo la gelatina presenta mayor asequibilidad, manipulación, facilidades en almacenamiento y transporte.

1.5.2 Compuesto bioactivo

Desde la segunda generación en el desarrollo de biomateriales, se plantea la funcionalización de estos con compuestos bioactivos, que permita favorecer la aceptación del implante, aumentar la proliferación celular, tratar enfermedades in situ, entre otros. En el caso de la regeneración de cartílago, han sido utilizados fármacos, corticosteroides y factores de crecimiento en estudios clínicos e investigaciones emergentes, que alivian la inflamación y promueven la formación del tejido. Actualmente los compuestos bioactivos más estudiados en los últimos años los presenta Patel y colaboradores[56], quienes realizaron una búsqueda bibliográfica sistemática, donde determinaron que TGF- β 1 y TGF- β 3 son los factores más utilizados (18 de 44 estudios), seguidos de las BMP (BMP-2, BMP-7), IGF-1 y FGF. Otros factores comunes, incluidos los fármacos y los biocompuestos, son la insulina, la dexametasona, y la kartogenina.

Por otra parte, Chen y colaboradores [60], realizaron un artículo de revisión de solamente factores de crecimiento que se utilizan en ingeniería de tejidos de cartílago y toda esta información la resumen en la siguiente tabla:

Tabla 1-6: Factores de crecimiento utilizados en ingeniería tisular de cartílago.

Factor de crecimiento	Señal	Efectos regulatorios
TGF- β	-Smad -MAPK	- Estimula la proliferación y diferenciación. -Mejora la producción de ECM. -Inhibe degradación de cartílago.

BMP	-Smad -MARK	-Induce síntesis de ECM. -Promueve la diferenciación de MSCs
IGF	-PI3K-PKB -ERK 1/2	-Promueve la proliferación de condrocitos. -Induce síntesis de ECM. -Mantiene el fenotipo de cartílago.
FGF	-STAT -MAPK	-Estimula la proliferación de condrocitos. -Homeostasis de matriz de cartílago.
PDGF	-ERK 1/2	-Estimula la proliferación. -Mejora deposición de ECM. -Promueve la formación de cartílago heterotópico.

En cuanto a los fármacos de venta libre más populares para el tratamiento de la osteoartritis, Hungerford y Jones establecen una lista en su artículo[61]:

- Paracetamol
- Aspirina
- Sulfato de condroitina
- CMO (cerasomal-cis-9-cetilmiristoleato)
- Glucosamina
- Extracto de mejillón de labios verdes (*Perna canaliculus*)
- Ibuprofeno
- Ketoprofeno
- MSM (metilsulfonilmetano)
- Naproxeno sódico
- SAM-e (s-adenosilmetionina)
- Productos tópicos
- Zinaxin

Como se mencionó anteriormente, la administración oral de NSAIDs (Fármacos Antiinflamatorios No Esteroides) sigue siendo un modo común de tratamiento tanto para el cartílago degenerado como para las lesiones focales, estos fármacos inhiben las enzimas ciclooxigenasa, reduciendo la producción de mediadores biológicos implicados en la inflamación. Si bien estos proporcionan alivio del dolor y la inflamación, se requiere el uso diario en dosis más altas para proporcionar un beneficio notable. Estas dosis mayores pueden conducir a complicaciones gastrointestinales y cardiovasculares. Para disminuir estos efectos secundarios y reducir la inflamación ocasionada por la osteoartritis y además la que pueda generarse por la intervención quirúrgica, se elige ibuprofeno, un NSAID para funcionalizar el scaffold.

1.6 Parámetros de referencia para técnica *electrospinning*

Habiendo seleccionado los polímeros de trabajo y el compuesto activo, se revisa la literatura para contar con parámetros de referencia para iniciar con los ensayos experimentales de preparación de muestras y fabricación de scaffolds por la técnica electrospinning. Considerando que el polímero PCL se ha trabajado previamente en el grupo de investigación y se cuentan con parámetros de referencia para la formación de fibras, se procede con la revisión de los siguientes materiales.

1.6.1 Quitosano

Teniendo en cuenta que este polímero no se quiere adicionar en mezcla con PCL, si no aplicar otras técnicas para funcional es scaffold, como T-electrospinning y Coaxial electrospinning, se requiere parámetros de referencia para la formación de fibras a partir de soluciones que contengan únicamente quitosano. Esta decisión se toma, considerando que en la literatura se encuentra un alto número de investigaciones en la mezcla PCL/quitosano, sin embargo, para las otras adaptaciones es mucho menor y presenta oportunidades de innovación.

De la revisión bibliográfica, se encuentra que para fabricar fibras únicamente de quitosano se proponen soluciones en ácido acético al 90%V a una concentración de 3,5 y 7% P/V de quitosano [62] [63] [64] o soluciones en ácido trifloro acético (TFA) con concentraciones de 3-7% P/V del polímero [65] [66] .

Tabla 1-7: Parámetros de referencia para la fabricación de fibras de quitosano con la técnica electrospinning.

Referencia	[62]	[63]	[64]	[65]	[66]
Aguja	-	20 G	22G	20G	21G
Colector	Placa	Placa	Placa	Rotatorio	Placa
Voltaje (kV)	20	22.5	17	25	20
Distancia (cm)	10	7.5	16	20	15
Flujo (ml/h)	0.3	1.2mL/h	0.0016mL/h	Gravedad	0.5mL/h
Resultado	70nm	100-290nm	140nm	126nm	235nm

Asimismo, se revisa en la literatura parámetros de referencia para la fabricación de fibras de material compuesto por PCL/quitosano (CHT) con la técnica coaxial electrospinning, las cuales se resumen en la **Tabla 1-8**.

Tabla 1-8: Parámetros para el uso de PCL y quitosano con la técnica coaxial electrospinning.

Referencia	[67]	[68]	[69]	[70]
Solución interna (core)	15% PCL en Cl/MOH (75:25)	9% PCL en TFE	8% PCL Cl:Carbinol (3:1)	6% PCL en DCM
Solución externa (shell)	8% CHT en TFA	1.5% CHT en AA + 3% PEO en DMSO 10% en agua. (70/30)	2% CHT TFA:DCM (2:1)	6% CHT en AA al 80%
Aguja	24G 20G	20G 14G	-	24G 19G
Colector	Placa	Rotatorio	Placa	Placa
Voltaje (kV)	25	15	15	20
Distancia (cm)	15	18	15	10
Flujo (ml/h)	core:0,9 shell:0.12	0.5	0.6	0.5
Tatm/H	24°C	-	25°C / 90%	25°C/46%
Resultado	3.2 micras	1.31 micras	0.21-0.45 micras	S:120nm-C.60nm

1.6.2 Gelatina

Para la preparación de soluciones de gelatina para uso en electrospinning, se encuentra en la literatura soluciones de 4.5 – 15% de gelatina en 9:1 de Agua:Etanol[71], así como soluciones de 7-20% en 20%V de ácido acético [72] [73], 2.5-15% en TFE [74] o 2.5 – 6% en ácido fórmico [75]. Así como se realizó para el quitosano, se efectúa una búsqueda bibliográfica de los parámetros de referencia para la fabricación de fibras de solo gelatina por la técnica electrospinning. La **Tabla 1-9** muestra el resumen de los parámetros hallados.

Tabla 1-9: Parámetros de referencia para la fabricación de fibras de gelatina con la técnica electrospinning.

Referencia	[71]	[72]	[73]	[74]	[75]
Aguja	-	21 G	-	18G	20G
Colector	Placa	Placa	Placa	Placa	rodillo
Voltaje (kV)	22 kV	12kV	28kV	10.5 kV	20
Distancia (cm)	15	10	10	12	20
Flujo (ml/h)	3.6	0.3	1 ml/h	0.8ml/h	-
Tatm/H	-	25°C/30%	-	19.9°C/80%	-
Resultado	200nm	~220nm	50nm	140nm	190-300nm

Asimismo, se revisa en la literatura parámetros de referencia para la fabricación de fibras de material compuesto por PCL/Gelatina con la técnica coaxial electrospinning, las cuales se resumen en la **Tabla 1-10**.

Tabla 1-10: Parámetros para el uso de PCL y gelatina (GI) con la técnica coaxial electrospinning.

Referencia	[76]	[77]		[78]	[79]
Core	9% PCL en TFE	15% PCL AA:AF 1:1	7% y 12% PCL en TFE	8% PCL en HFIP	7% PCL en TFE
Shell	10% GI TFE:Agua 3:1	15% GI AA:AF 1:1	5% GI en TFE	12% GI en HFIP	8% GI en TFE
Aguja	21 G 15G	17G 14G	17G 14G	-	20G 14G
Colector	Placa	Placa	Placa	Rotatorio	Placa
Voltaje (kV)	8.5	25-30	25-30	20	15
Distancia (cm)	15	15	15	20	12
Flujo core	0.02 mm/min	0.2-0.4	0.2-0.4	1	0.4
Flujo (ml/h)	0.04 mm/min	0.2-0.6	0.2-0.6	4	0.6
Tatm/H	-	40% RH	40% RH	-	-
Resultado	222 nm	400-500nm	740-890nm	2.39 μ m	400 nm

1.6.3 Ibuprofeno

El ibuprofeno es un analgésico para el dolor de espalda, calambres menstruales, dolor de muelas, dolores musculares o articulares. También se utiliza para reducir la fiebre y los síntomas del resfriado o gripe. Este fármaco también bloquea la producción de sustancias que provocan inflamación, por lo que se clasifica también como fármaco antiinflamatorio no esteroideo (NSAID), gracias a esta propiedad es utilizado para el tratamiento de afectaciones crónicas como artritis[80], [81]. Las presentaciones comerciales de este fármaco son tabletas, cápsulas, gránulos y líquido para tragar. También viene en forma de gel, mousse y spray que se frota en la piel. Los efectos secundarios más comunes de este fármaco son dolores de cabeza, mareo, náuseas, vómito e indigestión, y a largo plazo puede causar úlceras en el estómago o el intestino, especialmente si lo toma por vía oral durante mucho tiempo o en grandes dosis. Si necesita tomarlo durante mucho tiempo, su médico también puede recetarle un medicamento para ayudar a proteger su estómago[80].

Algunos estudios que han incluido Ibuprofeno en scaffold poliméricos por la técnica electrospinning son:

Tabla 1-11: Parámetros para el uso de IBU, PCL y gelatina (GI) con la técnica coaxial electrospinning.

Especificación	[82]	[83]	[84]	[85]
Material	PCL/PLGA	PCL	PLGA/PEG-g-CHN	PEG/PCL/AgNO ₃ IBU/HA/PEO
Configuración	Mezclado	Coaxial	Mezclado	Coaxial
Aguja	21G	20G 16G	19G	25G 18G
Colector	-	Placa	Rotatorio	Placa
Voltaje (kV)	18	13.26	20-30	25
Distancia (cm)	15	19	15	15
Flujo (ml/h)	2	0.5	300-6000	1

1.7 Sistemas de liberación de fármacos

Dentro de la ingeniería de tejidos y medicina regenerativa, es conocido el triángulo de la proliferación celular, allí se destaca que los elementos necesarios lograr la regeneración de un tejido son: andamio soporte o scaffold, células y factores de crecimiento o moléculas bioactivas [86]. En el caso de las moléculas bioactivas (como fármacos), pueden combinarse con los polímeros que forman el scaffold y crear un sistema de liberación, que actúe en un tiempo prolongado, de forma puntual y favorezca el crecimiento del nuevo tejido. Es importante prevenir efectos secundarios en el sitio de implantación durante la liberación del fármaco, que pueden ser producidas por fluctuaciones en los niveles de fármaco de múltiples administraciones secuenciales de liberación inmediata de medicamentos [53]. La carga de moléculas bioactivas en andamios poliméricos puede realizarse por mezcla previa del polímero y el fármaco, remojar el andamio de fármaco libre en la solución del fármaco, unión específica del fármaco al polímero, precarga en nano/micropartículas y conjugación del polímero del fármaco[53]. Los factores que influyen en la liberación del fármaco son la solubilidad del fármaco, la dosis o el contenido del fármaco, el peso molecular y el tamaño; el tamaño y la forma de las partículas, el estado físico, la difusión en el polímero y el medio [87].

Para entender el comportamiento de la dosificación del fármaco, predecir los efectos de los parámetros de formulación y facilitar el desarrollo de productos, se cuentan con modelos matemáticos para la liberación. Los principales se describen a continuación [87] [88]:

- **Cinética de orden cero**

Puede dar lugar a periodos de subexposición o sobreexposición, esta cinética sigue la liberación de un agente activo dosificado de forma rápida, por lo que es necesaria la repetición de la dosificación para mantener la concentración efectiva del fármaco. Considerando que la disolución es un proceso cinético que se refleja con la cantidad de fármaco por unidad de tiempo la velocidad de liberación se puede representar las siguientes ecuaciones:

$$\frac{dM}{dt} = \frac{DS}{l} (C_s - C) \quad (1.2)$$

$$\frac{dC}{dt} = \frac{DS}{Vl} (C_s - C) \quad (1.3)$$

Donde M es la masa de soluto disuelta durante el tiempo t , $\frac{dM}{dt}$ es la velocidad de la masa disuelta (masa/tiempo), D es el coeficiente de difusión de soluto en la solución, S es la el área de soluto expuesta, l es el espesor de la capa de difusión, C_s es la solubilidad del sólido y C es la concentración de soluto en la solución en el tiempo t . $\frac{dC}{dt}$ es la velocidad de disolución y V el volumen de solución.

Considerando que la liberación se da sin cambios en las condiciones de equilibrio, la **Ecuación 1-4** sería válida.

$$W_0 - W_i = K t \quad (1.4)$$

Donde W_0 , es la masa inicial del agente activo, W_i la masa remanente en el scaffold, t el tiempo y K la constante de proporcionalidad. Ahora, dividiendo entre W_0 para simplificar, se obtiene:

$$f_i = K_0 t \quad (1.5)$$

Donde, f_i representa la fracción de agente activo disuelto durante el t y K_0 es la constante de la velocidad aparente de disolución.

En términos de cantidad la ecuación se sería:

$$Q_t = Q_0 + K_0 t \quad (1.6)$$

Donde, Q_t es la cantidad de agente liberado al tiempo t , Q_0 es la cantidad inicial de agente liberado (usualmente $Q_0 = 0$) y K_0 la constante de orden cero.

Este tipo de liberación es solo función del tiempo y el proceso es a una velocidad constante, independiente de la concentración del fármaco.

- **Cinética de primer orden**

Este modelo se describe por una ecuación diferencial de primer orden, en el cual la velocidad de liberación depende de la concentración.

$$\frac{dC}{dt} = -KC \quad (1.7)$$

Donde C es la concentración del fármaco y K es la constante de primer orden. Resolviendo la ecuación diferencial se puede llegar a:

$$\log Q_1 = \log Q_0 + \frac{K_1 t}{2.303} \quad (1.8)$$

Donde Q_1 es la cantidad de agente activo liberado en el tiempo t , Q_0 es la cantidad inicial de fármaco disuelto y K_1 es la constante de primer orden. Este tipo de liberación es común en matrices porosas, donde la cantidad de fármaco liberado es proporcional a la cantidad de fármaco restante en la matriz.

- **Modelo Higuchi**

Este se publicó en 1961, para describir la liberación de fármacos en sistemas de matriz, usualmente utilizada para la descripción de ungüentos cargados con compuestos de interés. Este modelo es aplicable para estudiar la liberación de fármacos solubles en agua y poco solubles incorporando matrices sólidas.

$$Q = \sqrt{D(2C - C_s)C_s t} \quad (1.9)$$

Donde Q es la cantidad de fármaco liberado en el tiempo t por unidad de área, C es la cantidad inicial de fármaco contenido en la matriz, C_s es la solubilidad del agente activo en el medio y D es el coeficiente de difusión al medio.

El modelo se puede simplificar a la **Ecuación 1-10**, suponiendo la matriz contiene una cantidad de fármaco mucho mayor a la solubilidad en el medio, la difusión es unidireccional, el grosor de la matriz es mucho mayor al tamaño de la molécula del fármaco, la disolución de la matriz es insignificante, la difusividad es constante y las condiciones de sumidero son perfectas.

$$Q = K_H \sqrt{t} \quad (1.10)$$

Donde K_H es la constante de liberación de Higuchi.

- **Modelo Hixson-Crowel**

Propuesto en 1931, para describir la liberación en los sistemas donde hay un cambio en el área superficial o diámetro de las partículas. Sigue la ecuación:

$$\sqrt[3]{W_0} = \sqrt[3]{W_i} + K_{HC} t \quad (1.11)$$

Donde, W_0 es la cantidad inicial del sistema de liberación, W_i es la cantidad remanente en el sistema y K_{HC} la constante que relaciona superficie y volumen. Que al simplificarse queda como:

$$\sqrt[3]{1 - f_i} = 1 - K_\beta t \quad (1.12)$$

Donde, $f_i = 1 - \left(\frac{W_i}{W_0}\right)$ y representa la fracción de fármaco disuelto y K_β la constante de liberación.

- **Modelo de Korsmeyer-Peppas**

Este modelo está basado en la ley de potencia, sigue la ecuación:

$$f_1 = \frac{M_i}{M_\infty} = K t^n \quad (1.13)$$

Donde, f_1 es la cantidad de fármaco liberado, M_∞ es la cantidad de fármaco en el estado de equilibrio, M_i es la cantidad de fármaco liberado al tiempo t, K es la constante de incorporación de modificaciones estructurales o características geométricas del sistema, n es el exponente de liberación en función del tiempo.

Tabla 1-12: Interpretación de modelos de liberación de agente activo según modelo Korsmeyer-Peppas.

Exponente de liberación (n)	Mecanismo de transporte de fármaco	Tiempo en función de n	Mecanismo de liberación de fármacos
n<0.5	Difusión Quasi-Fickiana	t^n	Únicamente depende de la difusión
0.5	Difusión Fickiana	$t^{0.5}$	
0.5<n<1.0	Anómalo (Transporte no fickiano)	t^{n-1}	Difusión y hinchazón (el reordenamiento de las cadenas poliméricas ocurre lentamente.
1.0	Caso II transporte	<i>Independiente</i>	Modelo de orden cero (hinchamiento o relajación de cadenas poliméricas)
>1.0	Super caso II transporte	t^{n-1}	Relajación y luego erosión, debido a la expansión de fuerzas ejercidas por el gel hinchado en el núcleo vítreo.

Dependiendo el resultado del exponente de liberación, se puede interpretar el mecanismo de liberación según lo que indica la **Tabla 1-12**.

1.8 Esterilización UV

El proceso de esterilización es uno de los pasos más importantes al momento de realizar ensayos *in vivo* o la implantación de un scaffolds, ya que si este está contaminado por

algún agente microbiológico patógeno podría ser transmitido directamente al usuario y perjudicarlo de manera irreversible. Estos microorganismos pueden adherirse al scaffold durante el proceso de fabricación o transporte, por lo que la esterilización se debería realizar al final del proceso. El tratamiento debe asegurar su eficacia en cuanto a crecimiento microbiano, para así prevenir infecciones u otras enfermedades derivadas de la contaminación.

La esterilización es un reto para scaffold fabricados de polímeros biodegradables, ya que las técnicas tradicionales no son fácilmente aplicables y pueden afectar las características del polímero. En el caso de la policaprolactona, la esterilización por calor se descarta, pues la temperatura de fusión de este es 60°C. Por lo que las técnicas de esterilización por radiación son una buena alternativa. En el caso de la esterilización UV, esta consiste en exponer cierto tiempo el scaffold a radiación de longitud de onda entre 200 y 280 nm. La irradiación UV da como resultado la excitación de electrones y la acumulación de foto productos. Esto causa daños a las moléculas de ADN e impide la replicación del ADN, lo que lleva a la inactivación de los microorganismos[89].

El tiempo de exposición es uno de los factores más importantes en esta técnica, por ejemplo en el estudio de Preem y colaboradores [90], se realizó esterilización UV por 15, 30 y 60 min a 4 muestras de scaffold de PCL fabricados por electrospinning encontrando que la eficiencia de esterilidad fue favorable a más de 30min para todas las muestras. En el caso de la investigación de Tort y colegas [91], con fibras de PEO fabricadas por electrospinning, se encontró que 1 h de exposición UV no es suficiente, ya que en las muestras se presentó crecimiento microbiano en el día 5. Sin embargo, encontraron que la exposición a 2 horas o más fue eficiente. Otra investigación que estudia el efecto del tiempo de esterilización UV, es la realizada por Tapia-Guerrero y colaboradores [92], donde se analiza la eficiencia de esterilización en nanopartículas de PCL, encontrando que para muestras sólidas, después de 2h de exposición no se encuentran unidades formadoras de colonia. El artículo [89], también recomienda mínimo 2h de exposición para asegurar la esterilización de la muestra, por lo que se establece que el tiempo de esterilización en este estudio serán 2h.

2. Metodología

2.1 Materiales

Los reactivos utilizados fueron:

- PCL (Sigma Aldrich, CAS: 134490-19-0 y peso molecular $M_n=80.000$ g/mol)
- Gelatina Tipo B (Sigma Aldrich, CAS: 9000-70-8, origen biológico: piel bovina)
- Quitosano (Sigma Aldrich, CAS: 9012-76-4, peso molecular medio)
- Etanol (Sigma Aldrich, 99,5 %, CAS: 64-17-5)
- Cloroformo (Sigma Aldrich, 99,5 %, CAS: 67-66-3)
- Alcohol isopropílico (Sigma Aldrich, 99,7% CAS: 67-63-0)
- Ácido acético glacial (EMSURE®, 100% CAS: 64-19-7)
- Cloruro de sodio (NaCl) (Merck, mw: 58.44 g/mol)
- Cloruro de Potasio (KCl) (Merck, mw: 74.55 g/mol)
- Fosfato de sodio dibásico (Na_2HPO_4) (Merck, mw: 141.96 g/mol)
- Fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4) (Merck, mw: 136.09 g/mol)

2.2 Preparación de soluciones

2.2.1 Quitosano

Con base en la literatura revisada, se prepararon las siguientes soluciones de quitosano en balones aforados de 5ml:

- 5% P/V de quitosano en ácido acético glacial
- 3% P/V de quitosano en ácido acético glacial
- 3% P/V de quitosano en ácido acético 90%
- 2% P/V de quitosano en ácido acético 90%
- 1.5% P/V de quitosano en ácido acético 86%

Las soluciones se llevaron a ultrasonido por 1h y se realizó seguimiento visual por 15 días, evaluando la obtención de una mezcla homogénea.

2.2.2 Gelatina

De acuerdo a lo encontrado en la literatura, se realizaron tres soluciones: (1) 15% de gelatina en mezcla agua:etanol 9:1, (2) 8% de gelatina en ácido acético glacial y (3) 20% de gelatina en ácido acético 50%. Las soluciones se llevaron a ultrasonido por 1h y fueron utilizadas a los 8 días. Adicionalmente la doctora Dianney Clavijo, desarrolló una formulación al 12% de gelatina en mezcla de etanol 50%, agua 5% y ácido acético 45%. La preparación de esa solución requiere el mezclado inicial del polímero con el solvente a 40°C durante 2h, adición de cloruro de sodio hasta saturación para evitar la gelificación de la solución. Se agita por ultrasonido 1h a 40°C, se deja enfriar y se mantiene por 7 días, mientras se logra la disolución completa.

2.2.3 PCL

Se preparó una solución de PCL al 9% P/V en una mezcla de cloroformo y alcohol isopropílico 50:50. Se agitó en un baño ultrasónico durante 1 hora y se volvió a agitar a los 7 días. Cada vez que se utilizó la solución, se agitó previamente en ultrasonido.

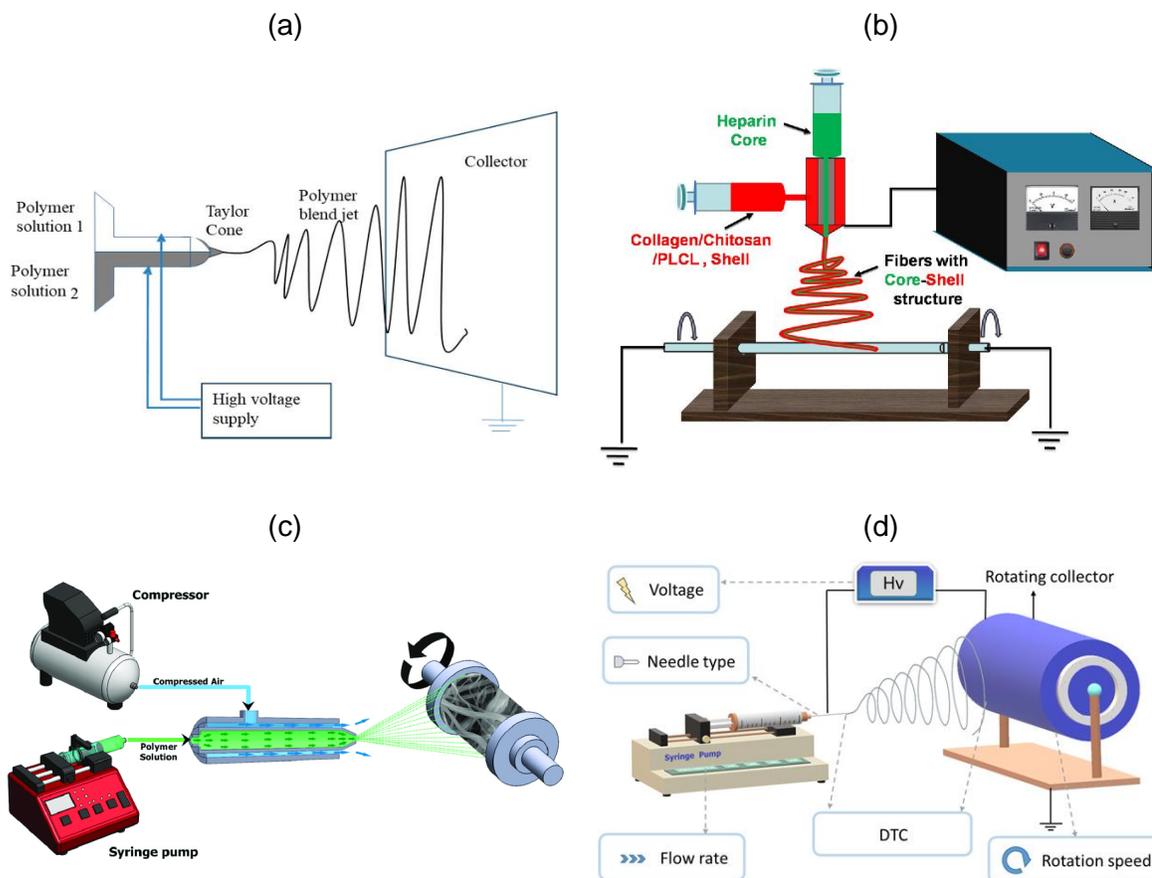
2.2.4 PCL-IBU

Para la incorporación del compuesto bioactivo, se pesó el polímero base PCL y el ibuprofeno (IBU) en las cantidades correspondientes para obtener una solución de 9% y 1% P/V, respectivamente. Luego se incorporó la mezcla de solvente 50:50 cloroformo y alcohol isopropílico hasta completar el aforo del balón. La solución se agitó en un baño ultrasónico durante 1 hora y se volvió a agitar a los 7 días. Cada vez que se utilizó la solución, se agitó previamente en ultrasonido.

2.3 Fabricación de scaffold

La fabricación de las muestras se planteó por 4 técnicas de formación de nano/microfibras, *T-electrospinning (TE)*, *coaxial electrospinning (CE)*, *solution blow spinning (SBS)* y *simple electrospinning (SE)*.

Figura 2-1: Técnicas para la formación de nano/microfibras. (a) *T* electrospinning (b) Coaxial electrospinning (c) Solution blow spinning (d) Simple electrospinning



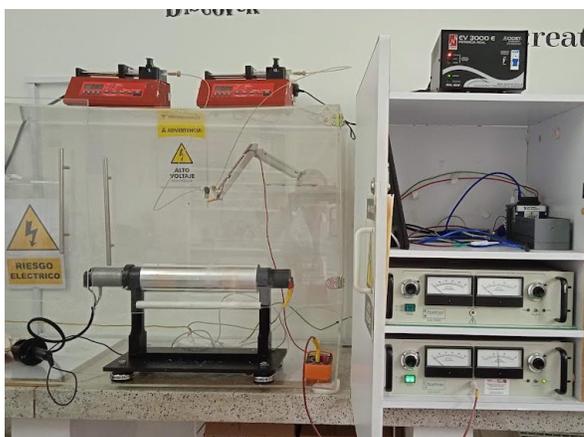
Nombre de la fuente: (a) [93] (b) [94] (c) [40] (d)[95]

Debido a que existen muchas variables que afectan el resultado de las fibras obtenidas por las técnicas de hilado de polímeros no se establece un diseño experimental estadístico, sino que se parte de las variables de proceso indicados por la literatura para sistemas iguales o similares, se revisa el resultado en el microscopio óptico y se va modificando una variable del proceso a la vez según lo requerido. Estas modificaciones se decidieron consideraron los impactos de las variables sobre la morfología de las fibras, como lo indica la literatura [35], [36]. Las variables se modifican en el orden de afectación, primero modificando el voltaje, luego la distancia entre el colector y la aguja y el flujo de la bomba. Si ninguna de estas modificaciones logra generar fibras, se modifican las propiedades de la solución polimérica.

2.3.1 T-electrospinning (TE)

Las fibras se desarrollaron en un equipo electrospinning con boquilla en T, compuesto por una fuente de alto voltaje (CZE1000R, Spellman), dos bombas dosificadoras (New Era Instruments), dos jeringas plásticas, una aguja y un colector rotatorio (SED30s). Los parámetros del proceso fueron: voltaje (15 kV), distancia entre la punta de la aguja y el colector (14 cm), velocidad de rotación del colector (2000 rpm), flujo de solución de PCL (0.8 ml/h), flujo de solución de gelatina (0.2 ml/h) y tiempo de deposición (45 min). La recolección de las muestras para visualización en microscopio se realizó sobre láminas de vidrio y la recolección para las otras técnicas de caracterización se efectuó sobre papel de aluminio. El proceso se realizó a 20,8°C de temperatura ambiente y 57% HR.

Figura 2-2: Montaje experimental para la configuración *Te electrospinning*.



Nombre de la fuente: Autor.

2.3.2 Coaxial electrospinning (CE)

Las fibras se desarrollaron en un equipo electrospinning con boquilla coaxial (Fluidnatek), compuesto por una fuente de alto voltaje (CZE1000R, Spellman), dos bombas dosificadoras (New Era Instruments), dos jeringas plásticas y un colector rotatorio (SED30s). Los parámetros del proceso fueron: voltaje (17 kV), distancia entre la punta de la aguja y el colector (14 cm), velocidad de rotación del colector (2000 rpm), flujo de solución de PCL (0.4 ml/h), flujo de solución de gelatina (0.1 ml/h) y tiempo de deposición (90 min). La recolección de las muestras para visualización en microscopio se realizó sobre láminas de vidrio y la recolección para las otras técnicas de caracterización se

efectuó sobre papel de aluminio. El proceso se realizó a 20,8°C de temperatura ambiente y 57% de humedad relativa.

Figura 2-3: Montaje experimental para la configuración *Coaxial electrospinning*.

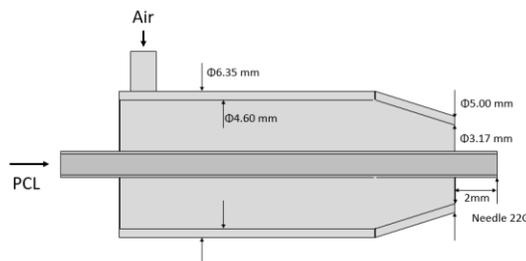


Nombre de la fuente: Autor.

2.3.3 Solution Blow Spinning (SBS)

Ya que el laboratorio no contaba con la configuración de Solution Blow Spinning (SBS), el proceso se llevó a cabo con una boquilla coaxial adaptada (**Figura 2-4**), tomando como referencias los diseños de Atif et al. y Zhang et al. [40], [96]. Inicialmente se realizó un diseño para que la aguja exterior fuera de la referencia 12G y la aguja interior de 22G, sin embargo, al realizar los ensayos experimentales el poco espacio que tenía con la aguja interior generaba una caída de presión muy alta que no permitía el flujo necesario de aire. El diseño se mejoró cambiando la aguja externa a un mayor diámetro y agregando una tobera al final para aumentar la velocidad del aire, esta se fabricó con tubing en acero inoxidable 304 de 1/4" al cual fue soldada una reducción 1/4" / 1/8".

Figura 2-4: Dimensiones de boquilla coaxial adaptada.



Nombre de la fuente: realizada por el autor y publicada en [97]

Adicional a la boquilla, los equipos utilizados en el proceso de fabricación fue un compresor de 2HP (EliteAIR) como fuente de aire comprimido, bomba de jeringa (New Era Instruments) y colector rotacional (SED30s). La solución se suministró con una bomba de jeringa a un caudal constante de 15 ml/h en la aguja interior de la boquilla coaxial. Se usó aire comprimido como gas de trabajo y se suministró a través de la aguja exterior con una presión de entrada de 0,2 MPa usando una bomba de aire. Se utilizó un colector cilíndrico rotacional de acero inoxidable de 14 mm de diámetro, con una velocidad de rotación de 2000 rpm. La distancia desde la boquilla hasta la superficie del colector y la cara de la placa era de 15 cm. Las fibras se recogieron durante 3 minutos. El proceso se realizó a 21,9°C de temperatura ambiente y 54% HR.

Figura 2-5: Montaje experimental para la configuración *Solution Blow Spinning*



Nombre de la fuente: Autor.

2.3.4 Simple Electrospraying (SE)

Las fibras se desarrollaron en un equipo electrospinning compuesto por una fuente de alto voltaje (CZE1000R, Spellman), una bomba dosificadora (New Era Instruments), una jeringa, una aguja y un colector rotatorio (SED30s). Los parámetros del proceso SE fueron: voltaje (15 kV), distancia entre la punta de la aguja y el colector (15 cm), velocidad de rotación del colector (2000 rpm), flujo de solución (1 ml/h) y tiempo de depósito (45 min). La recolección de fibras se realizó sobre láminas de aluminio colocadas sobre el colector. El proceso se realizó a 20,8°C de temperatura ambiente y 57% HR. Los parámetros se calcularon para usar cantidades equivalentes de polímero en los procesos SE y SBS.

Figura 2-6: Montaje experimental para la configuración *Simple Electrospraying*.



Nombre de la fuente: Autor.

2.4 Caracterización morfológica

La morfología de las fibras se estudió mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) en los equipos VEGA3 TSECAN y Jeol, JSM-6010LA en bajo vacío. Las imágenes se obtuvieron utilizando un voltaje de aceleración de 15 kV, una distancia de trabajo al plano focal de 8 mm y un aumento de 500x y 5000x. El diámetro de fibra se determinó con una muestra ampliada a 5000x y utilizando el software de análisis de imagen (Imagen J).

2.5 Caracterización química

La caracterización química se realizó por espectroscopia FTIR. Los primeros espectros obtenidos se utilizaron para comparar las trazas de solvente en los scaffold de SE y SBS. Estos se llevaron a cabo en el equipo FTIR (espectrofotómetro Shimadzu Prestige-21, adaptado al módulo ATR utilizando 32 barridos y una resolución de 4,0 cm⁻¹ en el rango de 700 a 4000 cm⁻¹). Se fabricaron muestras de 2cm x 2cm, 48 h antes de la prueba y se sellaron herméticamente.

Los segundos espectros tomados para reconocer la presencia del ibuprofeno en el scaffold se determinaron utilizando un espectrómetro FTIR (Nicolet iS5) en modo de reflectancia total atenuada (ATR). La resolución espectral del instrumento es de 0,482 cm⁻¹. Para cada muestra se obtuvieron 16 escaneos en el rango de número de onda de 400-4000 cm⁻¹.

2.6 Pruebas mecánicas

Las pruebas de resistencia a la tracción de las muestras se realizaron utilizando una máquina de prueba universal (AG-IS 5KN, Shimadzu). Los ensayos se realizaron según la norma ASTM D882 con una precarga de 50 N ya una velocidad de 50 mm/min a temperatura ambiente (20,8 °C). La orientación de las muestras (120 x 10 x 0,0342 mm) para los ensayos mecánicos fue longitudinal.

2.7 Ángulo de contacto

Se realizaron pruebas de ángulo de contacto en el goniómetro del Laboratorio de Polímeros, de la Facultad de Ingeniería Química. Las muestras se colocaron en portaobjetos y se depositaron gotas de 2,5 µL de agua desionizada en la superficie. Las imágenes fueron obtenidas con una cámara digital OEM – 1600x. Los ángulos de contacto se calcularon utilizando el cálculo indirecto mostrado en la patente de Wright y Blitshteyn [98] a partir de la Ecuación (2.1).

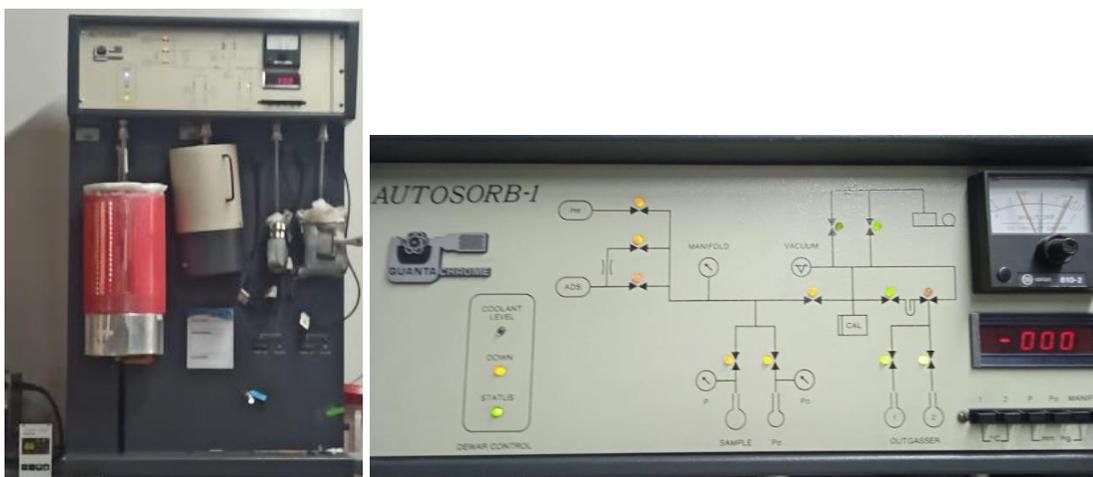
$$\theta = 2 * \arctan\left(\frac{H}{r}\right) \quad (2.1)$$

Donde, H es la altura de la gota y r es el radio de la base de la gota.

2.8 Isoterma de BET

El área superficial interna de los scaffold fue estimada por la técnica de isotermas de absorción y desorción de BET. El análisis fue llevado a cabo a -196°C , temperatura lograda con nitrógeno líquido en el sortómetro AUTOSORB-1 QUANTA-CHROME. Las muestras fueron desgasificadas con nitrógeno a 25°C durante 3 días.

Figura 2-7: Sortómetro del laboratorio de Ingeniería Química.



Nombre de la fuente: Autor.

2.9 Curva de liberación controlada

2.9.1 Identificación de ibuprofeno

Debido a que el ibuprofeno utilizado en este proyecto fue una donación de una empresa farmacéutica colombiana y no se contaba con la ficha técnica, se efectuó una prueba de identificación del compuesto para su verificación, de acuerdo a la Farmacopea Europea[99].

Para esta prueba, se preparó una solución de $500\mu\text{g/mL}$ de ibuprofeno en agua desionizada con 0.1M de hidróxido de sodio. Luego esta solución se llevó al espectrofotómetro UV-Vis (Evolution 300, Thermo Scientific), en el cual se obtuvo un espectro con las siguientes condiciones en el instrumento de medición: Longitud de onda de inicio 300nm , longitud de onda final 240nm , ancho de banda 1nm , tiempo de integración 1s y velocidad de escaneo 30nm/min . Para obtener la línea base del

espectro, se utilizó la solución de 0.1M de hidróxido de sodio y luego se realizó el escaneo de la muestra.

2.9.2 Preparación de solución PBS

La solución de buffer fosfato salino (PBS) se utilizó como medio de liberación del compuesto con potencial bioactivo, la cual se preparó teniendo en cuenta la formulación encontrada en la literatura [100]–[102] (Ver

Tabla 2-1):

Tabla 2-1: Componentes utilizados para la preparación de 1 litro de PBS.

Componente	Formula Molecular	Cantidad (g)	Concentración (M)
Cloruro de sodio	NaCl	8	0.137
Cloruro de Potasio	KCl	0.2	0.0027
Fosfato de sodio dibásico	Na ₂ HPO ₄	1.44	0.01
Fosfato de potasio monobásico	KH ₂ PO ₄	0.245	0.0018

2.9.3 Curva de calibración

Para la obtención de la curva de calibración, se prepararon soluciones a 0.116, 0.072, 0.043, 0.018, 0.007, 0.004, 0.002 y 0.00036 mg/ml de ibuprofeno en PBS. Para obtener valores de concentración más precisos, se pesó la cantidad de solución madre adicionada al balón de dilución y se calculó el volumen a partir de la densidad de la solución. Esta se determinó por medio de un picnómetro de 5ml, donde se realizó la medición de la densidad de la solución PBS, obteniendo un valor de 1.007 ± 0.002 g/ml. Los valores de absorbancia de cada solución se midieron en el espectrofotómetro UV-Vis (Evolution 300, Thermo Scientific) a una longitud de onda de 222nm, un ancho de banda de 1nm y un tiempo de integración de 1s, siguiendo los protocolos de medición de [82], [83], [103], [104]. Este proceso se realizó por triplicado.

2.9.4 Curva de liberación controlada

La liberación *in vitro* de ibuprofeno fue llevada a cabo en placas de cultivo NSET de 6 pozos, allí el scaffold fue inmerso en 10mL de PBS a pH=7.4. La placa fue instalada en una incubadora Thermo Shaker (Lab Scient - ST60-4) y se mantuvo a las condiciones de

temperatura 37°C y agitación 210 rpm. Los intervalos de tiempo para refrescar la muestra con solución PBS fueron: 2, 5, 10, 15, 30, 45 min y 1, 2, 3, 4, 8, 12, 24, 48 y 72 h. Para cada uno de estos tiempos, el medio de inmersión del scaffold fue remplazado por solución nueva. La solución retirada se reservó y se tomó una alícuota de 3ml para medición en el espectrofotómetro UV. Con el valor de absorbancia obtenido y la curva de calibración, se obtiene el valor de concentración de ibuprofeno. Los datos obtenidos se reportan gráficamente como la liberación acumulada en función del tiempo.

Figura 2-8: Incubadora del laboratorio de Electropray y Electrospinning, donde se llevó a cabo el ensayo de liberación controlada de ibuprofeno.



Nombre de la fuente: Autor.

2.10 Esterilización

La esterilización del scaffold se realiza durante 2h en el equipo para esterilización de objetos UVCLEAN con dos lámparas UV que emiten radiación a una longitud de onda de 254nm, las cuales están ubicadas en la parte superior e interior de la cámara. La muestra es colocada en el intermedio de la cámara a 15cm de cada lámpara, sobre acetato, acrílico transparente y una malla metálica de soporte.

Figura 2-9: Cámara de esterilización UV laboratorio de Electropray y Electrospinning.



Nombre de la fuente: Autor.

2.11 DSC

Ensayo de calorimetría diferencial de barrido (DSC), se realizó en el equipo METTLER TOLEDO con un flujo constante de nitrógeno de 50ml/min, iniciando con una rampa de calentamiento de 10°C/min desde la temperatura ambiente (20°C) hasta 70°C, continuando con una isoterma a 70°C, luego una rampa de enfriamiento de 10°C/min desde 70°C hasta -60°C, luego una isoterma a -60°C y finalizando con una rampa de retorno a temperatura ambiente de 10°C/min. La cristalinidad relativa se determinó con la división entre la entalpia de fusión de la muestra (ΔH_f) sobre la entalpia de fusión de pellets PCL a 100% de cristalinidad ($\Delta H_f^0 = 139.5 \text{ J/g}$) [105], [106].

$$\text{Cristalinidad (\%)} = \frac{\Delta H_f}{\Delta H_f^0} \times 100 \quad (2.2)$$

Para mejorar la resolución de la medida de temperatura de transición vítrea de los scaffold, se utiliza el analizador STA (Linseis) del Laboratorio de catálisis heterogénea de la Facultad de Química, el cual realiza las mediciones simultaneas TGA-DTA y DSC. Allí se realiza el enfriamiento del equipo con nitrógeno líquido, desde temperatura ambiente hasta -94°C, luego se ejecuta una rampa de calentamiento de 5°C/min hasta 30°C.

Figura 2-10: Analizador STA de Laboratorio de catálisis heterogénea.



Nombre de la fuente: Autor.

3.Resultados y discusión

3.1 Preparación de soluciones y fabricación de fibras

3.1.1 Quitosano

A continuación, se presentarán los resultados de la fabricación de las soluciones planteadas y las razones por las que la solución de quitosano no pudo ser utilizada en electrospinning. También se presentan las variantes de la metodología propuesta que trataron de solucionar los inconvenientes encontrados.

Durante un trabajo previo, el grupo de investigación del Laboratorio de Electrospinning y Electro spray había obtenido nanopartículas de quitosano, partiendo de soluciones entre 1-2% de quitosano en ácido acético glacial. Este trabajo se tomó como punto de partida y se realizaron soluciones a mayor concentración (3 y 5%), para seguir lo indicado por la teoría, a mayor concentración de polímero en la solución se formarán fibras. Sin embargo, la disolución del polímero en estas cantidades no fue exitosa, debido a que a tan altas concentraciones se supera la solubilidad en ácido acético glacial. Para facilitar la disolución del quitosano se cambió el solvente a ácido acético al 90 y 86%.

El peso molecular medio de quitosano utilizado corresponde a 190.000 a 310.000 g/mol, el cual fue utilizado también en el estudio de Vrieze y colaboradores [62], por lo que se buscó replicar esta metodología. En esta investigación reportan una solución al 3% p/v de quitosano en ácido acético al 90%, la cual experimentalmente no se logra transportar por la manguera y aguja de equipo de electrospinning, debido a la alta viscosidad. Por esta razón se diluyó la solución previa para lograr una concentración del 1.5% p/v de quitosano y se preparó una nueva al 2%p/v de quitosano al 90%. Los resultados de los ensayos con quitosano en ácido acético se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 3-1: Parámetros y resultados de ensayos con Quitosano en ácido acético.

Concentración de Quitosano (%p/v)	Concentración de ácido acético (% v/v)	Flujo (ml/h)	Distancia (cm)	Voltaje (kV)	Resultado
1.5	86%	0.3	10	26	Flujo muy lento
		0.5	10	22	Goteo
		1	10	20	Intenta hilar, pero gotea
		1.5	10	20	Destellos de chorros de hilado
		1.5	8	22	Destellos de chorros de hilado
		1.5	7.5	18	Destellos de chorros más continuos
2	90%	1	10	20	Se descontrola el cono
		1	7.5	25	Cono inestable
		1	15	12	Gotas frecuentes
		1.5	15	25	Gotas
		1.5	7.5	24	Cono más estable, pero sin fibras
		1.5	7.5	24	Cono estable, con bote.

Como se puede ver en los resultados, en ningún caso se logran parámetros para la obtención de fibras lisas. En investigaciones previas Geng y colaboradores [63], utilizan quitosano de peso molecular de 398.000 g/mol y logran obtener fibras con beads a una concentración de 2.5% p/v a 4kV/cm. De manera que, si se quisiera utilizar una distancia aguja a colector de 10 cm, se requerirían 40kV, los cuales no se podrían lograr en el equipo disponible en la universidad (permite hasta 30kV). Además, el fabricante de la bomba de jeringa sugiere que esta no sea utilizada con voltajes superiores 25kV. En el mismo estudio, para las concentraciones de 1.5 y 2% obtienen resultados de poca presencia de fibras, similar a lo presentado en este proyecto. Lo que sugieren los autores es trabajar con quitosano de menor peso molecular (106.000 g/mol), con el cual obtuvieron fibras lisas a 7% p/v de quitosano en 90% de ácido acético. Por lo anterior, se consultó una manera de disminuir el peso molecular del quitosano disponible, encontrando el estudio de Homayoni y colaboradores [64], quienes sugieren la hidrólisis de quitosano con NaOH al 50%. Considerando que es un proceso que depende del tiempo de hidrólisis, se toma el tiempo que dio mejores resultados al autor (48h) y se realiza la solución al 5% de quitosano hidrolizado en ácido acético 90%. Obteniendo los siguientes resultados:

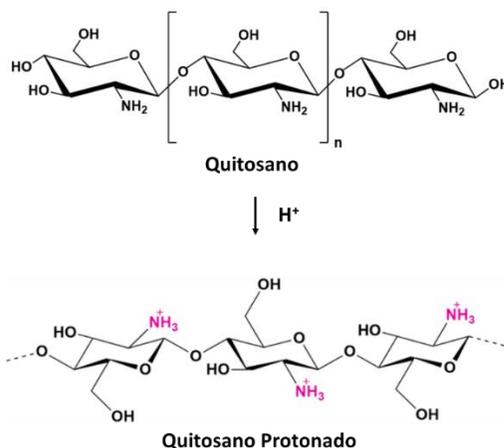
Tabla 3-2: Parámetros y resultados de ensayos con solución de 5% de quitosano hidrolizado en ácido acético al 90%.

Flujo (ml/h)	Distancia (cm)	Voltaje (kV)	Resultado
1	16	20	Goteo
0.5	16	20	Goteo
0.2	16	20	Goteo
0.2	10	16	Requiere alta corriente

No se logran fibras lisas con los parámetros estudiados. Se reconoce que la solución tiene muy poca conductividad y requiere aumento de la corriente para que el voltaje aplicado no se desestabilice.

Debido a que el quitosano se disuelve en medio ácido, cuando se aplica carga eléctrica se favorece la protonación de este polímero, haciendo que las fuerzas repulsivas entre las moléculas actúen y separen las moléculas de polímero, dificultando su capacidad de formar fibras.

Figura 3-1: Protonación del quitosano en medio ácido.



Nombre de la fuente: Adaptado de [107]

Lo anterior también es comentado por Sun y colaboradores [108] en el estudio que realizaron sobre el electrospinning de quitosano, donde sugieren el uso de solventes como ácido trifluoroacético (TFA) para que el quitosano forme sales con el solvente, lo que puede destruir de manera efectiva las interacciones intermoleculares entre las moléculas de quitosano y así facilitar la formación de fibras lisas. Sin embargo, es importante

agregar que el TFA, no está clasificado para uso médico dentro de la lista de solventes aprobados por la FDA [109], debido a que no se cuentan con datos toxicológicos adecuados. Otros autores comentan también la dificultad de obtener fibras de quitosano puro y sugieren la mezcla con polímeros de más fácil electrospinning como PEO [110], PCL[111] o PVA [112]. Ante estas dificultades de obtener fibras de quitosano puro y conociendo que, lo que se buscaba era una solución de polímero natural para combinar de manera adyacente con el polímero base PCL, no en mezcla. Se continúa con la revisión del segundo polímero natural planteado, la gelatina.

3.1.2 Gelatina

Siguiendo la metodología propuesta se preparó la solución 15% de gelatina en mezcla agua:etanol 9:1, la cual formó un gel por la alta cantidad de agua y no fue posible cargarla a la bomba del equipo de *electrospinning*, pues se requería calentamiento constante superior a 40°C. Se continuó con la solución de gelatina 8%P/V en ácido acético glacial, la cual disolvió adecuadamente, pero al ensayarla en la configuración SE, los resultados mostraron dificultades para lograr estabilidad del cono de Taylor, como se presenta en **Tabla 3-3**.

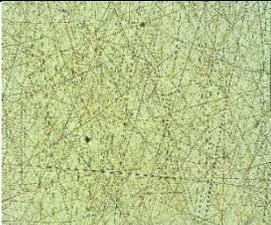
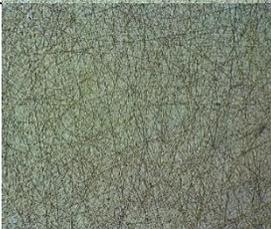
Tabla 3-3: Parámetros y resultados de ensayos con solución de 8% de gelatina en ácido acético glacial.

Flujo (ml/h)	Distancia (cm)	Voltaje (kV)	Resultado
1	10	24	Inestable
0.5	10	24	Inestable
0.8	12	24	Inestable
0.8	13	24	Inestable
0.6	12	17	Spray
0.6	12	15	Gotea
0.4	12	16	Gotea
0.4	15	20	Inestable
0.2	12	15	Estable
0.2	15	15	Estable, no fibras

Con la segunda solución propuesta en la metodología se obtuvieron fibras lisas, como se muestra en la **Tabla 3-4**. Sin embargo, se presentó goteo permanente en la deposición,

que dañaba la muestra y provocaba pérdida continua de polímero, ocasionando un bajo rendimiento en el proceso de electrospinning.

Tabla 3-4: Parámetros y resultados de ensayos con solución de 20% de gelatina en ácido acético a 50%.

Flujo (ml/h)	Distancia (cm)	Voltaje (kV)	Microscopía óptica 20x
0.2	12	17	
0.2	12	15	
0.2	12	12	
0.5	15	10	
0.5	10	12	

0.5	10	10	
0.5	15	15	

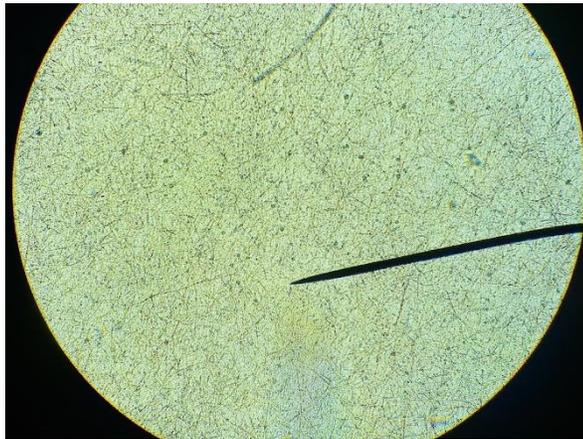
Figura 3-2: Goteo presentado en electrospinning de solución de 20% de gelatina en ácido acético a 50%.



Nombre de la fuente: Autor.

Con la solución desarrollada por la profesora Dianney Clavijo, se evita el goteo y se favorece la formación de fibras lisas de diámetro pequeño y con muy pocos beads (**Figura 3-3**). Los parámetros para obtener fibras lisas con esta solución son flujo de 0.2ml/h, distancia entre aguja y colector 15cm y voltaje de 16kV. Para utilizar esta solución es necesario considerar que debido a la hidrólisis que presenta la gelatina, debe utilizarse a los 8 días de estar preparada. Si se utiliza antes, su viscosidad es demasiado alta para que fluya y si se utiliza después, disminuye su peso molecular y no se obtienen fibras.

Figura 3-3: Fotografía de microscopía óptica 20x de fibras de gelatina obtenidas con la formulación de la doctora Dianney Clavijo



Nombre de la fuente: Autor.

3.1.3 PCL

La preparación de esta solución no generó inconvenientes y se mantuvo la metodología planteada. Los parámetros definitivos para la solución de PCL fueron voltaje (15 kV), distancia entre la punta de la aguja y el colector (15 cm), velocidad de rotación del colector (2000 rpm), flujo de solución (1 ml/h).

Figura 3-4: Fotografía de microscopía óptica 20x de fibras de PCL.

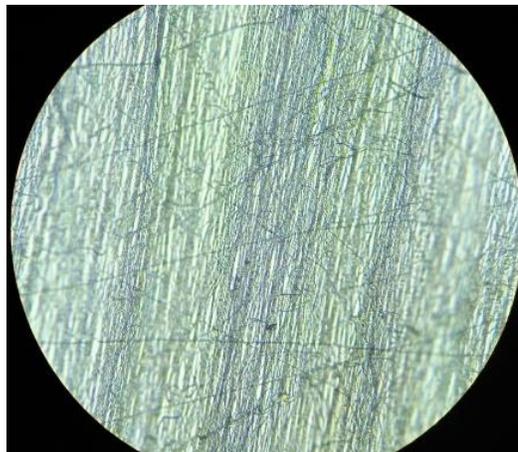


Nombre de la fuente: Autor.

3.1.4 PCL-IBU

La solución se preparó de acuerdo con la metodología propuesta sin cambios y la preparación de esta solución no generó inconvenientes y se mantuvo la metodología planteada. Los parámetros definitivos fueron los mismos que para PCL sin ibuprofeno.

Figura 3-5: Fotografía de microscopía óptica 20x de fibras de PCL+IBU.



Nombre de la fuente: Autor.

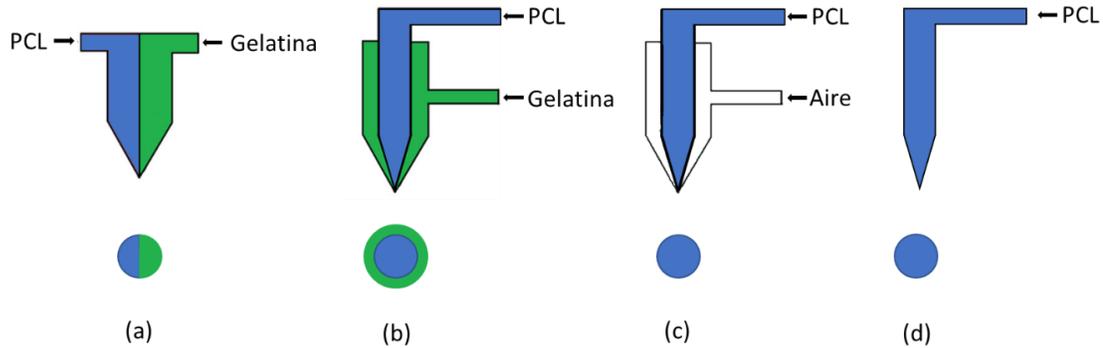
3.2 Fabricación de scaffold

Durante esta etapa, se buscaban mejorar la biocompatibilidad de los scaffold mediante:

- I. Disminución de la hidrofobicidad de PCL con la ayuda de un polímero natural.
- II. Obtención fibras lisas con las técnicas planteadas.
- III. Funcionalización del scaffold de PCL con el compuesto bioactivo (Ibuprofeno).

Debido a que la PCL tiene una alta hidrofobicidad, se exploró la opción de adicionar un polímero natural hidrofílico al scaffold, considerando que los condrocitos lo reconocieran similar a la matriz extracelular y se favoreciera la biocompatibilidad. Se consideraron dos polímeros, el quitosano y la gelatina (producto de degradación de colágeno). Sin embargo, como se mencionó en la sección anterior, con el quitosano fue descartado, mientras que con la gelatina si se obtuvieron fibras lisas. En la **Figura 3-6** se observan las configuraciones del equipo para la fabricación de scaffolds de PCL y gelatina con las diferentes técnicas.

Figura 3-6: Configuraciones de electrospinning ensayadas. *T electrospinning* (a), *Coaxial electrospinning*(b), *Solution Blow Spinning*(c) y *Simple electrospinning*(d).



Nombre de la fuente: Autor.

3.2.1 T-electrospinning (TE)

Con la solución de gelatina y PCL, formando fibras lisas de manera independiente en el montaje SE, se iniciaron los ensayos con la configuración T. La **Tabla 3-5** muestra los resultados con un tiempo de deposición de 10 min:

Tabla 3-5: Parámetros y resultados de ensayos con solución de PCL y Gelatina en la configuración de TE.

Flujo PCL (ml/h)	Flujo Gelatina (ml/h)	Distancia (cm)	Voltaje (kV)	Notas
0.5	0.2	15	14	Algunas fibras
0.5	0.2	18	14	Spray
0.5	0.2	15	16	Spray
0.5	0.2	12	14	Fibras
0.9	0.1	15	14	Fibras
0.8	0.2	15	14	Fibras
0.7	0.3	15	14	Taponamiento a los 5s

Teniendo en cuenta las fibras más regulares, con menos defectos, un cono de Taylor más estable y mayor flujo de gelatina, se seleccionaron por los parámetros flujo de PCL 0.8ml/h, flujo de gelatina 0.2 ml/h, distancia de colector a aguja de 15 cm y voltaje 14kv.

3.2.2 Coaxial electrospinning (CE)

Para mantener la misma composición en el scaffold de PCL/Gelatina, se tomó la máxima cantidad de flujo lograda con la técnica *T-electrospinning* (0.8/0.2) y se buscó que la técnica *coaxial electrospinning* mantuviera esta relación. A continuación, se muestran los resultados obtenidos:

Tabla 3-6: Parámetros y resultados de ensayos con solución de PCL y Gelatina en la configuración *coaxial electrospinning*.

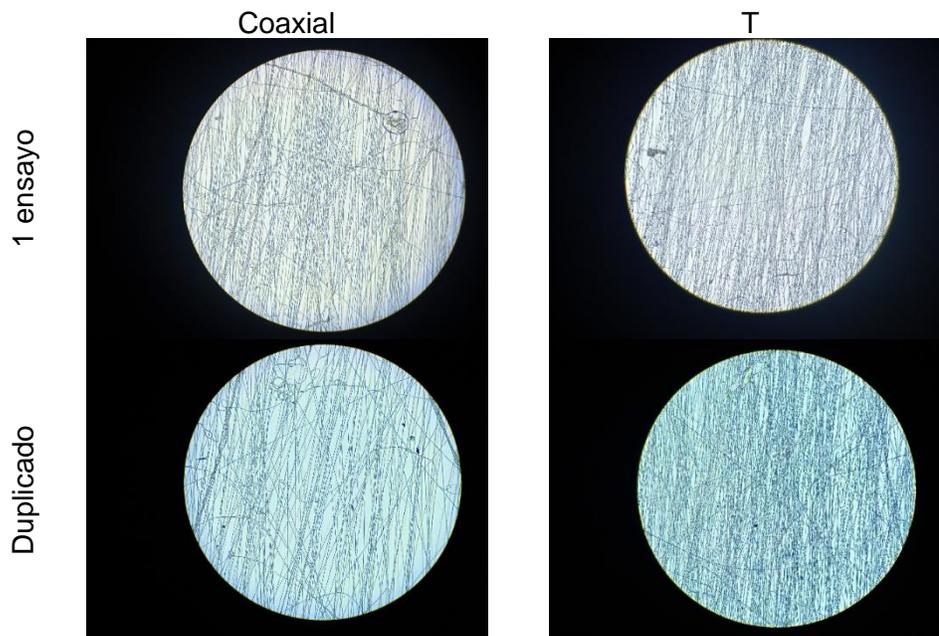
Flujo PCL (ml/h)	Flujo Gelatina (ml/h)	Distancia (cm)	Voltaje (kV)	Notas
0	0.2	15	15	Pocas fibras
0	0.2	10	17	Goteo
0	0.1	10	17	Fibras con beads
0	0.1	12	17	Fibras lisas
0	0.1	12	15	Fibras lisas con goteo
0.4	0.1	14	15	No salen fibras
0.4	0.1	14	17	Fibras lisas con algunos beads
0.4	0.1	14	18	Spray
0.4	0.1	15	17	Fibras con muchos beads

Considerando que las fibras fueran lisas, con menor cantidad de goteo, con un cono de Taylor más estable y con los menores defectos, se seleccionaron los mejores parámetros, flujo de PCL 0.4 ml/h, flujo de gelatina 0.1 ml/h, distancia de colector a aguja de 14 cm y voltaje 17 kv.

3.2.3 Comparación entre scaffold obtenidas por TE y CE

En la **Figura 3-7** se muestran las microfotografías ópticas de las scaffolds obtenidas con los parámetros seleccionados previamente con las técnicas coaxial y T, con un tiempo de deposición de 10 min.

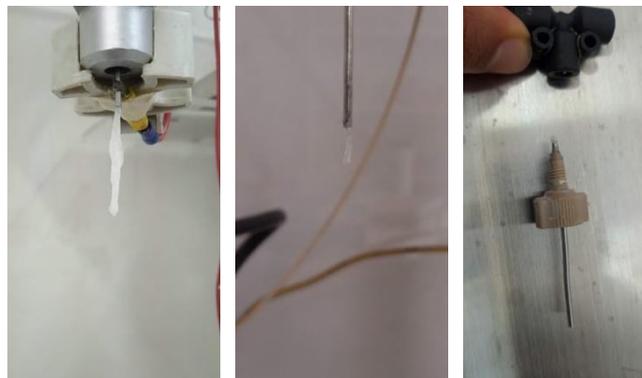
Figura 3-7: Imágenes de microscopio óptico con ampliación 20x para resultados obtenidos con las técnicas *T-electrospinning* y *coaxial electrospinning*.



Nombre de la fuente: Autor.

Con el objetivo de que la cantidad de polímero sea igual en los scaffold de las dos técnicas, se calculó que el tiempo de deposición para T-electrospinning es de 45 min y para coaxial electrospinning 90 minutos. La **Figura 3-8** muestra que, con estos tiempos de deposición, se presentan taponamientos y acumulación de polímero en las boquillas de trabajo.

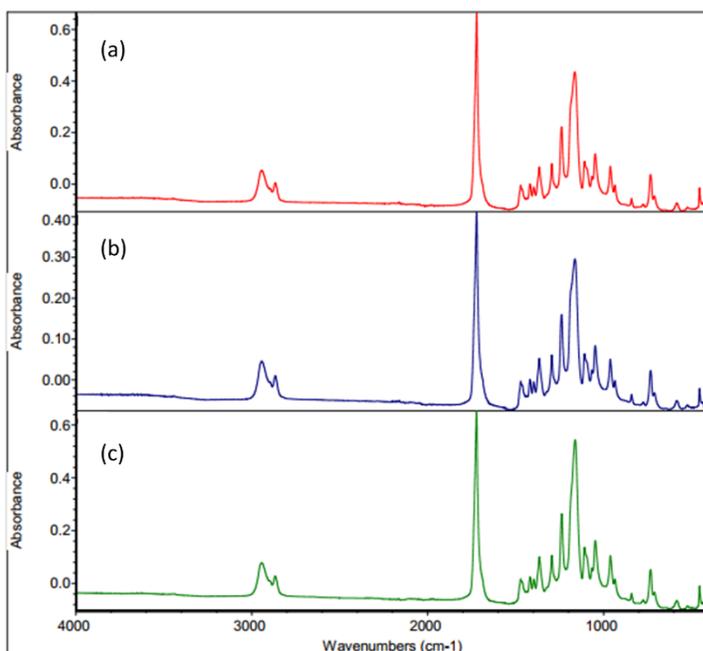
Figura 3-8: Fotografías de taponamientos presentados en boquillas Coaxial y Te.



Nombre de la fuente: Autor.

Para determinar las causas de los taponamientos y acumulación de polímero, los scaffold se caracterizaron por FTIR y microscopia de fluorescencia. La **Figura 3-9** compara el espectro de las fibras de PCL, con respecto a los scaffold obtenidas por TE y CE, las cuales deberían contener la composición de 80% PCL y 20% gelatina.

Figura 3-9: Espectros FTIR para fibras de (a)PCL por *simple electrospinning* (b)PCL/Gelatina con *coaxial electrospinning*, (c)PCL/Gelatina con *T electrospinning*.



Nombre de la fuente: Autor.

Los espectros de las tres muestras se observan los picos característicos de PCL, correspondientes a los enlaces CH_2 en el rango de onda $2940\text{-}2865\text{cm}^{-1}$ y el grupo cetona en 1724cm^{-1} , picos similares a el espectro de referencia SpectraBase PCL [113]. Sin embargo, no se visualizan los picos que diferencian a la gelatina de la PCL, en la longitud de onda 3300cm^{-1} y 1550cm^{-1} correspondiente a los enlaces O-H y N-H, de acuerdo al espectro de referencia de SpectraBase Gelatine [114]. Lo anterior indica que no hay presencia de gelatina en las muestras fabricadas con TE y CE. También se podría concluir que esta cantidad es muy baja y no es perceptible en el equipo, pero ya que se esperaba una composición del 20% de gelatina. El estudio de Gong y colaboradores[115], en el cual tiene una composición en el scaffold de nanofibras de 20%

de gelatina y en los espectros FTIR se distinguen claramente los picos, principalmente el que se encuentra en el rango de $1500 - 1600 \text{ cm}^{-1}$.

Dados los resultados anteriores, la microscopía de fluorescencia se utilizó para determinar la ubicación final de la gelatina y PCL y para identificar la presencia de fibras coaxiales, de acuerdo al estudio de Drexler y Powell[116], en donde cargan la solución de gelatina con rodamina B antes del electrospinning y la solución de PCL con fluoresceína sódica. Experimentalmente se realizó la misma carga de compuestos fluorescente **Figura 3-10** y se llevó a análisis en microscopia de fluorescencia.

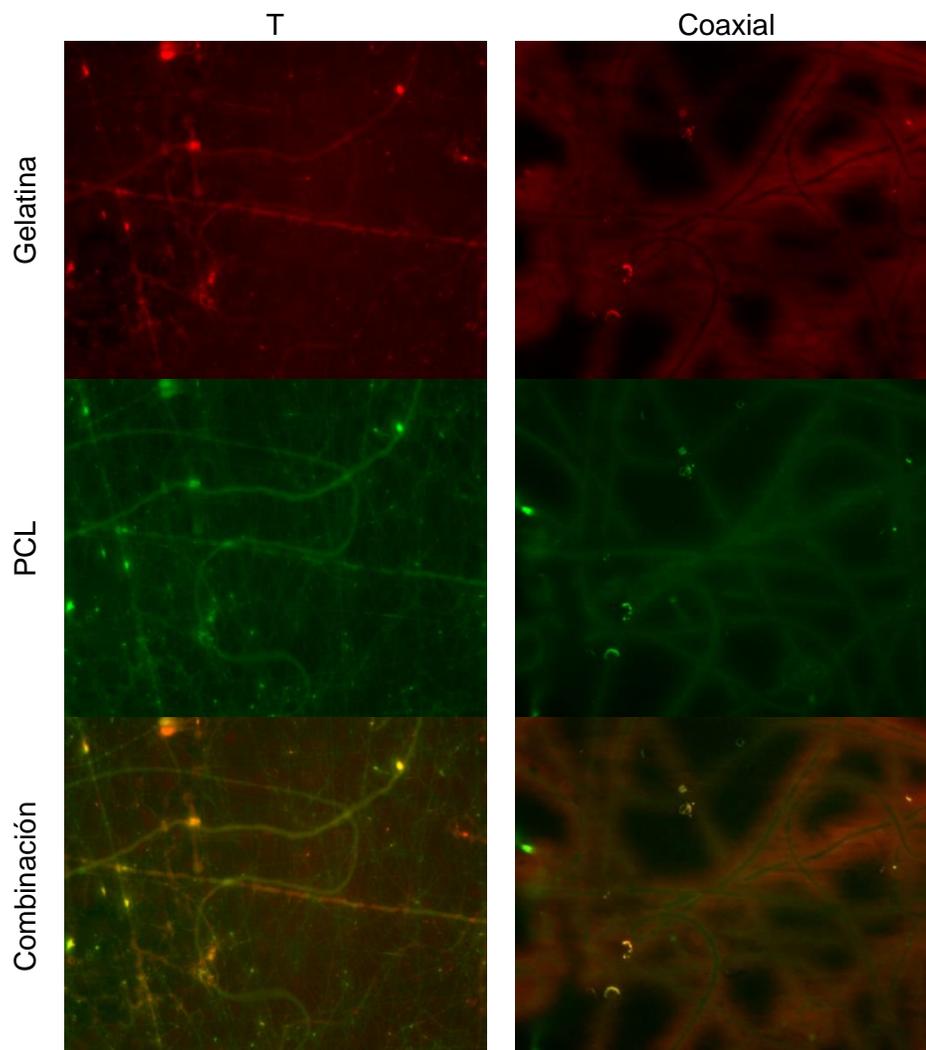
Figura 3-10: Color de soluciones cargadas con compuestos fluorescentes.



Nombre de la fuente: Autor.

La **Figura 3-11** muestra las imágenes obtenidas. En el caso de CE, se puede ver que la rodamina B (color rojo) este alrededor de las fibras y lo cual indica que las fibras si tienen una estructura coaxial. Sin embargo, por la resolución de la imagen, no permite determinar el ancho de la capa de gelatina. En el caso de la imagen de T, el color rojo y verde se puede visualizar sobre todas las fibras. Algunas de ellas tienen, como la que se ve de mayor diámetro en forma horizontal, cuenta con mayor cantidad de Rodamina B, indicando que, para esta configuración, se logran fibras de dos tipos: exclusivamente de PCL y algunas de PCL/Gelatina.

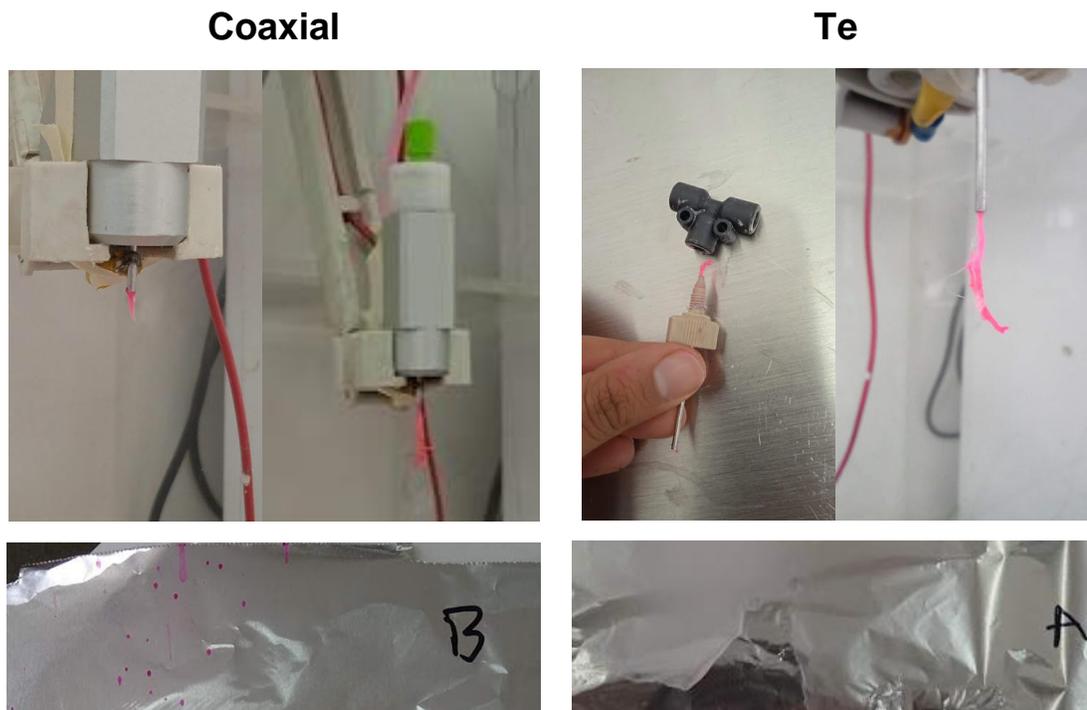
Figura 3-11: Micrografías de fluorescencia para scaffold PCL/Gelatina por *coaxial electrospinning* y PCL/Gelatina por *T-electrospinning*.



Nombre de la fuente: Autor.

Experimentalmente se siguen visualizando taponamientos y acumulación de polímero en las boquillas, el color rosado indica el componente que genera estos inconvenientes es la gelatina. Tal como se observa en la **Figura 3-12**, donde se puede ver la boquilla coaxial con la acumulación de gelatina en la salida y las salpicaduras sobre el colector.

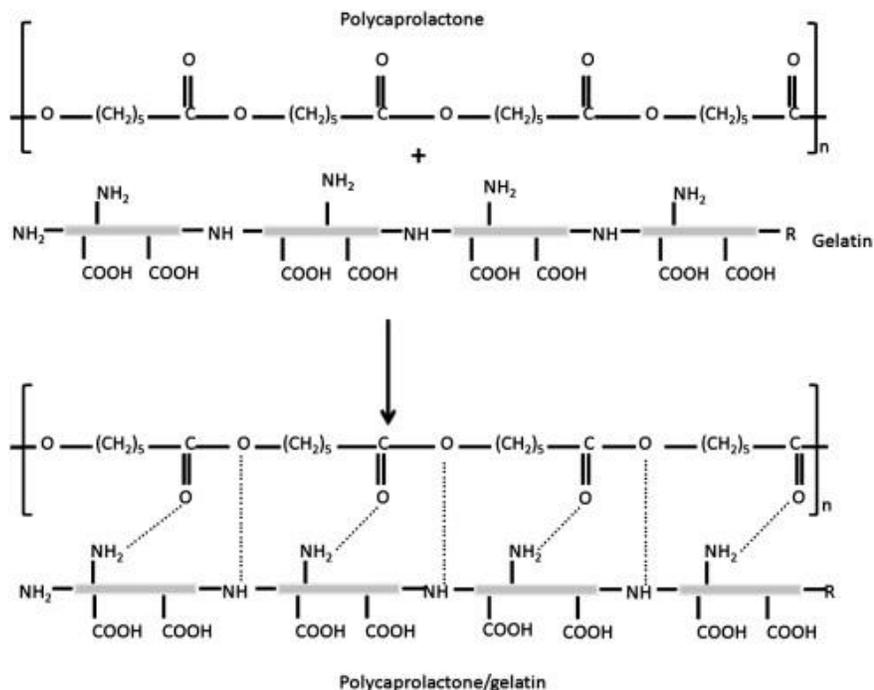
Figura 3-12: Fotografías de acumulación de gelatina en boquilla coaxial y te.



Nombre de la fuente: Autor.

Estos taponamientos y acumulación de gelatina, son ocasionados por el contacto con los solventes de la solución de PCL, ya que la gelatina es insoluble en cloroformo y el alcohol isopropílico [117]. En la configuración del electrospinning coaxial utilizada, los solventes de la PCL, de mayor volatilidad, se encuentran en la aguja interna (Cloroformo {60°C} e alcohol isopropílico {82.3°C}). En la aguja externa se encuentran los solventes para la gelatina (Ácido acético {117°C}, Agua {100°C} y Etanol {63.5°C}) tienen menor volatilidad y velocidad de evaporación. Las diferencias en estas velocidades de evaporación de los solventes facilitan el contacto de la gelatina con el cloroformo y el alcohol isopropílico, ocasionando su coagulación y precipitación, y por lo tanto su acumulación y taponamiento en la boquilla. Adicionalmente, otra causa de taponamiento es la reticulación que se puede dar, por la interacción de los grupos cetona de PCL y el grupo amino de la gelatina, reacción en la **Figura 3-13**.

Figura 3-13: Presentación esquemática de la posible reacción entre PCL y gelatina en un andamio compuesto de PCL/gelatina.



Nombre de la fuente: Artículo de Gautam y coautores [118]

En la literatura se encuentran scaffold PCL/gelatina fabricados exitosamente con la técnica CE, sin embargo en estos estudios los solventes utilizados fueron 2,2,2-trifluoroetanol (TFE) [76], [77] [119] o 1,1,1,3,3,3 Hexafluoro-2-propanolol (HFIP) [120] [78], los cuales no están aprobados por la FDA, y según sus fichas de seguridad presentan toxicidad, pueden provocar daños oculares graves, daños en la piel, perjudicar la fertilidad y causar daños en los órganos internos por larga exposición. Además la manipulación de sustancias puede acarrear problemas de salud a largo plazo para los investigadores, operarios y posibles pacientes usuarios de estas scaffold.

Para la técnica TE el taponamiento se localiza en el punto de contacto entre ambas soluciones de polímero. A pesar de que al inicio fluyen las dos soluciones, la manguera que lleva la solución de gelatina se obstruye, aumentando gradualmente la presión en la misma, ocasionando fugas de gelatina en la conexión entre la aguja y la manguera, al final del proceso, e incluso pequeñas fisuras, como se observa en la **Figura 3-14**.

Figura 3-14: Fotografía de ruptura de manguera por sobrepresión.



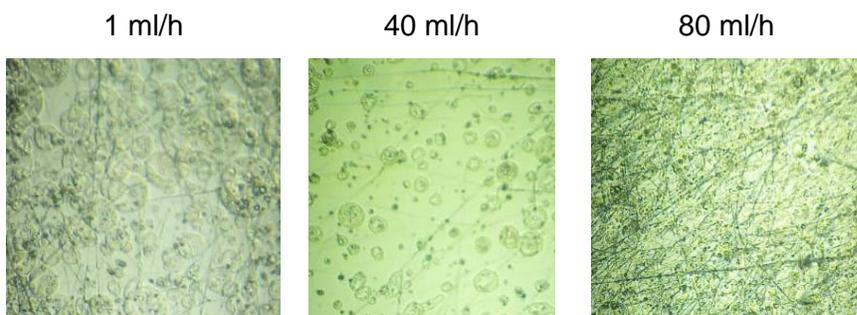
Nombre de la fuente: Autor.

Dados los resultados anteriores, se descarta cargar con ibuprofeno los scaffold de PCL/Gelatina fabricados por TE y CE. La baja cantidad de gelatina no sería suficiente para modificar la hidrofobicidad de las fibras de PCL y esta sería similar a estudiar las fibras de PCL sin polímero natural.

3.2.4 Solution Blow Spinning (SBS)

Con el objetivo de establecer el efecto de las variables de la configuración de SBS desarrollada, se realizaron pruebas de fabricación de fibras de PCL a diferentes condiciones de flujo, presión y concentración de la solución. La **Figura 3-15** muestra los efectos de los cambios en el flujo para la solución de 9% PLC en Cl:IA 50:50 a 20 cm del colector y 3 bares de presión de aire.

Figura 3-15: Resultados de microscopía óptica a diferentes condiciones de flujo en configuración SBS.

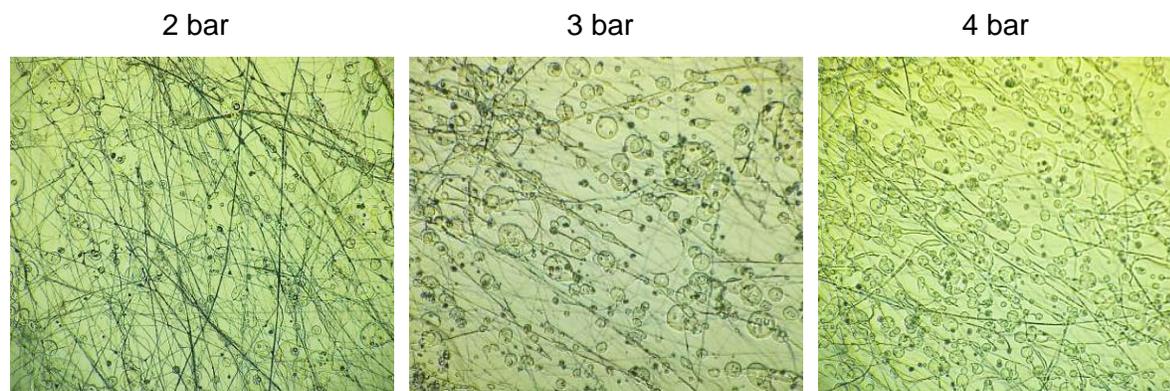


Nombre de la fuente: Autor.

Para flujos bajos (1ml/h), no se observa cono y se forman pocas fibras, debido al alto goteo. El aire en exceso aumenta el flujo de evaporación del solvente y se acumula polímero en la punta de la boquilla. Para flujos altos (80ml/h), en la parte central, donde apunta la boquilla, se genera una zona con alta cantidad de chorros de polímero que no logra encontrarse con las corrientes de aire para la formación de fibras y cae en solución sobre el colector. Sin embargo, a este flujo en las zonas laterales se puede ver que las fibras se forman adecuadamente. En el flujo intermedio 40ml/h, se forman más fibras, con menos defectos y se presenta menos goteo.

El efecto de la presión del aire que ingresa a la boquilla se observa en la **Figura 3-16**, a medida que aumenta la presión del aire, el diámetro de las fibras disminuye y se presentan más goteos. Esta tendencia de disminución de diámetro también fue reportada por Vasireddi y colaboradores [121].

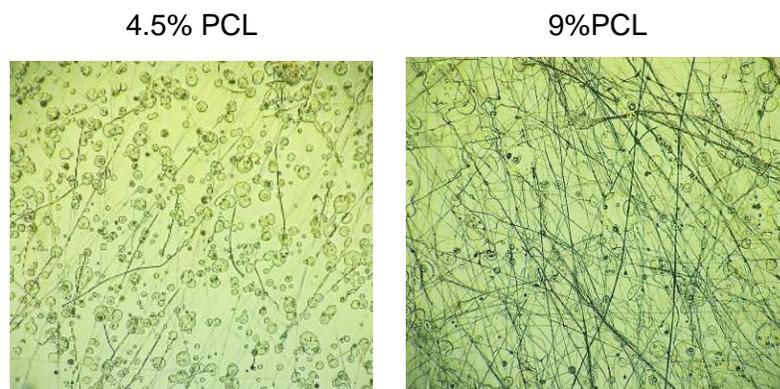
Figura 3-16: Resultados de microscopía óptica a diferentes condiciones de presión en configuración SBS para solución de 9% PLC en Cl:IA 50:50 a 20 cm del colector y 15ml/h de flujo.



Nombre de la fuente: Autor.

En cuanto al efecto la concentración de la solución **Figura 3-17**, concentraciones bajas (4.5%PCL), las fibras son más delgadas y se presentan muchos más goteos, debido a que no se logra un cono estable, similar a lo obtenido por Vasireddi y colaboradores [121]. Concentraciones mayores (9%), presentan una mayor densidad de fibras por campo, fibras más largas y menor goteo.

Figura 3-17: Resultados de microscopía óptica a diferentes concentraciones en configuración SBS a 20 cm del colector, 2 bar de presión y 15ml/h de flujo.



Nombre de la fuente: Autor.

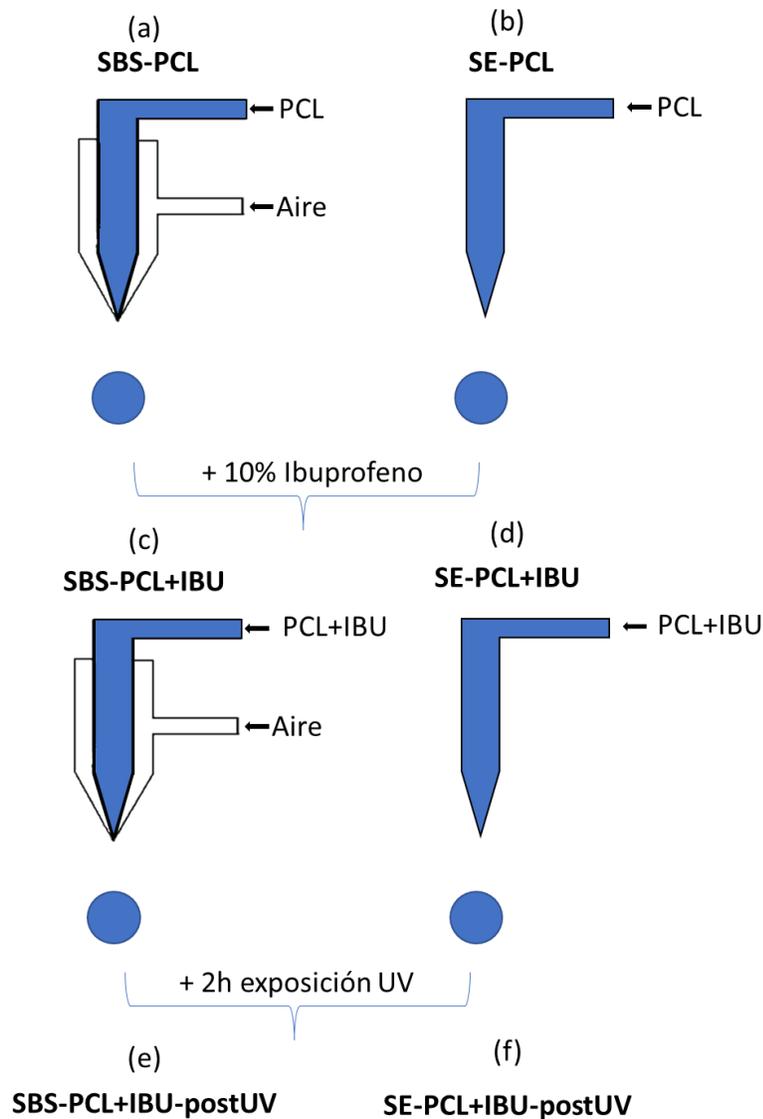
Por lo anterior se considera que los parámetros para la fabricación por SBS son 9% de concentración de PCL, 15ml/h de flujo, 15 cm de distancia al colector y presión de 2bar.

3.2.5 Simple Electrospinning (SE)

Esta configuración, en la que se utiliza una única aguja, ya se venían trabajando en el grupo de investigación del Laboratorio de Electropray y Electrospinning [122], por lo que su montaje y parámetros para obtención de fibras lisas, ya se habían determinado previamente.

3.2.6 Adición de ibuprofeno a los scaffold

De acuerdo con los resultados anteriores, se determinó que se agregaría el ibuprofeno a las configuraciones de SBS y SE, obteniendo un total de 6 scaffold a caracterizar: (a) 100% PCL por SBS (b) 100% PCL por SE, (c) 90% PCL + 10% IBU por SBS (d) 90% PCL + 10% IBU por SE, (e) 90% PCL 10% IBU por SBS post UV, (f) 90% PCL 10% IBU por SE post UV.

Figura 3-18: Diagrama gráfico de scaffolds a caracterizar.

Nombre de la fuente: Autor.

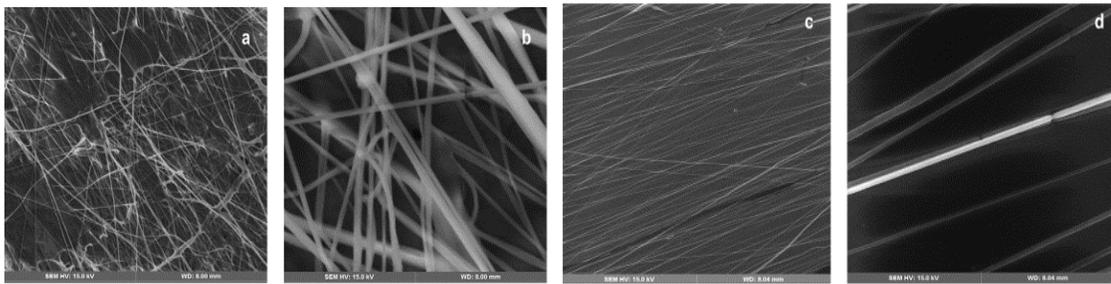
3.3 Caracterización morfológica por microscopía SEM

3.3.1 Scaffold de PCL sin Ibuprofeno

Las fibras de PCL obtenidas por SBS, se observan distribuidas aleatoriamente, con morfología rectilínea y espiral y algunas perlas, provocadas posiblemente por las salpicaduras del polímero en la boquilla y arrastradas por las corrientes radiales de aire

(Figura 3-19 (a) y (b)). Estas corrientes podrían ser causadas por la dirección perpendicular del flujo de aire lo cual es un hallazgo similar al observado por otros trabajos. Se encontraron grandes perlas de polímero crudo utilizando boquillas comerciales y personalizadas, lo que demuestra una correlación directa entre el área de la perla y la concentración de polímero[123]. Los scaffold obtenidos por SE se observan sin defectos y más regulares, rectilíneos y alineados (Figura 3-19 (c) y (d)).

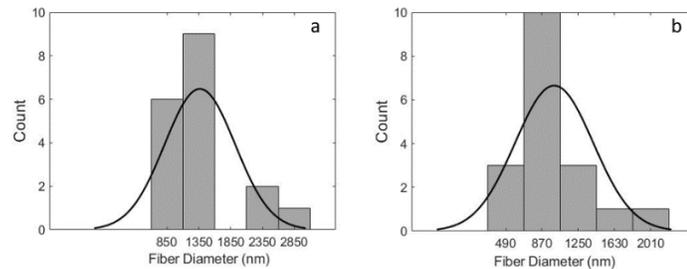
Figura 3-19: Micrografías SEM de fibras de PCL. (a) SBS 500X, (b) SBS 5000X, (c) SE 500X y (d) SE 5000X.



Nombre de la fuente: Autor y [97].

La Figura 3-20 muestra la distribución de los diámetros de las fibras obtenidas. Las fibras obtenidas por SE tienen un diámetro promedio de 997 ± 410 nm, al igual que las obtenidas en estudios previos donde se utilizó la misma solución polimérica [124]. En el scaffold obtenido por SBS las fibras tienen un diámetro promedio de 1365 ± 554 nm. Los investigadores encontraron diámetros similares (1380 ± 406 nm) usando un cepillo de aire comercial [44].

Figura 3-20: Histogramas de diámetro de fibras de PCL fabricadas por SBS (a) y SE (b).



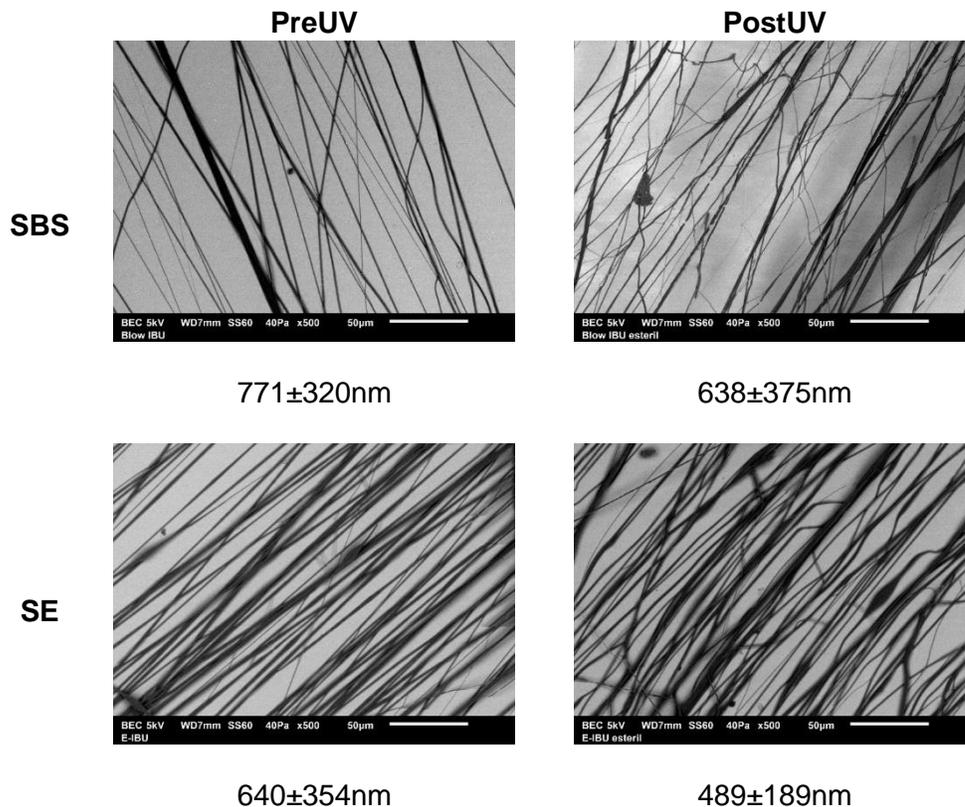
Nombre de la fuente: Autor y [97].

Al implementar el análisis de varianza (ANOVA) para datos experimentales de diámetro de fibra, se encontró un factor estadístico F de 5.12 y un valor de p de 0.0302, ya que es menor a 0.05 indica una diferencia significativa entre el diámetro de fibra de SBS y SE.

3.3.2 Scaffold de PCL con Ibuprofeno pre y post esterilización

Al visualizar las fibras de PCL con ibuprofeno (**Figura 3-21**), se puede observar que estas son lisas y no tienen defectos o cristales visibles, indicando que el ibuprofeno se incorporó completamente en la matriz polimérica y que la morfología de las fibras no cambia al adicionar el fármaco. También se reconoce el efecto esperado de alineación de las fibras, por el uso del colector rotatorio a 2000rpm.

Figura 3-21: Micrografías SEM de fibras de PCL + ibuprofeno (500 X) pre y post esterilización.



Nombre de fuente: Autor.

Asimismo, después de adicionar el ibuprofeno a la solución de PCL y realizar el proceso de electrospinning con los mismos parámetros, se encontró que las fibras obtenidas con la mezcla de PCL e ibuprofeno (771 nm y 640 nm) fueron de menor diámetro en comparación a PCL puro (1380 nm y 997 nm), para SBS y SE respectivamente. Este fenómeno también fue encontrado por Rakina et al. [125] al adicionar 5% IBU (1495 nm) y 10% IBU (1373 nm) en nano/microfibras de PCL puro (1826 nm), encontrando una tendencia decreciente en el diámetro con el aumento de la concentración de fármaco. En comparación con otro estudio, Batool et al. [83] reporta un diámetro de 374 ± 87 nm para un scaffold de PCL y 10% de IBU, las diferencias con respecto al diámetro de las fibras obtenidos en este trabajo, pueden ser causadas por los parámetros utilizados para la formación de las fibras, sin embargo morfológicamente tienen similitudes.

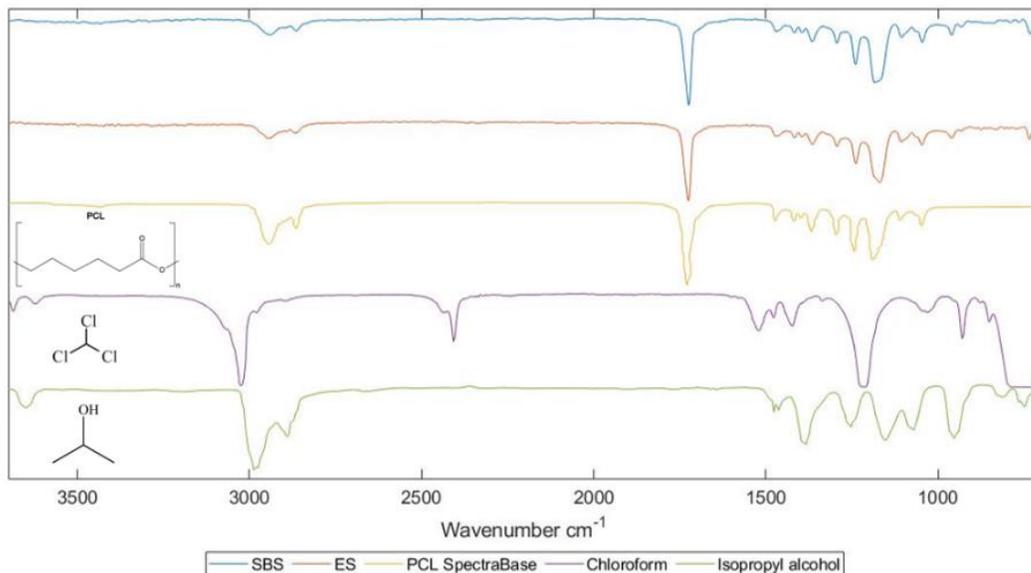
En cuanto a las fibras que fueron expuestas a radiación UV, el tratamiento no muestra grandes cambios en la morfología lisa de las fibras y la alineación, similar a lo encontrado por Horakova et al. [126]. Las pequeñas diferencias encontradas fueron una mayor cantidad de fibras con curvas y de forma perpendicular a la alineación general. En cuanto al diámetro de las fibras, para la fabricación por ambas técnicas este valor se redujo en promedio. La reducción encontrada en electrospinning, también fue vista en el estudio de Tort y colaboradores [91] donde a medida que aumentaban el tiempo de exposición a radiación UV en el scaffold tipo sándwich, las fibras reducían su diámetro.

3.4 Caracterización química

3.4.1 Scaffold de PCL sin ibuprofeno

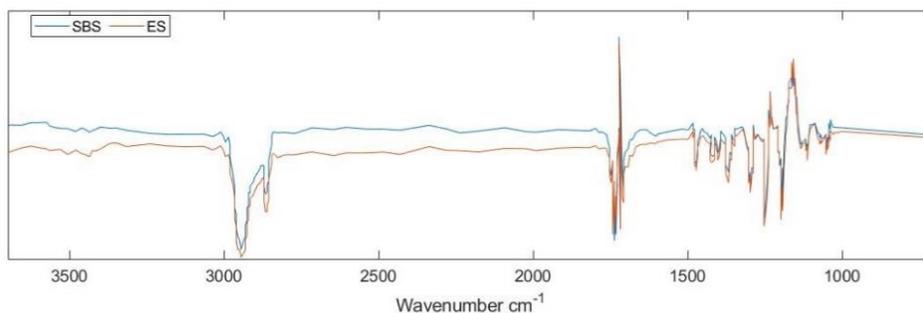
La **Figura 3-22** muestra los espectros FTIR para los scaffold de PCL fabricados por SBS y SE, cuyos picos son similares que al espectro de referencia para PCL SpectraBase [113].

Los picos para PCL están en el correspondiente de 2940 y 2865 cm^{-1} al enlace CH_2 , 1724 cm^{-1} para enlaces cetonas y una serie de picos en la región de huellas digitales 1200-700 cm^{-1} . Ese resultado fue similar a los picos característicos reportados en [44].

Figura 3-22: Espectros FTIR para fibras de PCL fabricadas por SBS y SE.

Nombre de la fuente: Espectros comparados con referencias PCL SpectraBase [113], chloroform [127], and isopropyl alcohol [128].

Por otro lado, debido a que los picos característicos de los solventes cloroformo y alcohol isopropílico no se reconocen a simple vista en el espectro del SBS y SE, se restó el espectro PCL de los resultados de la muestra y estos se muestran en la **Figura 3-23**. Estos revelan una concentración muy baja de alcohol isopropílico en ambos especímenes.

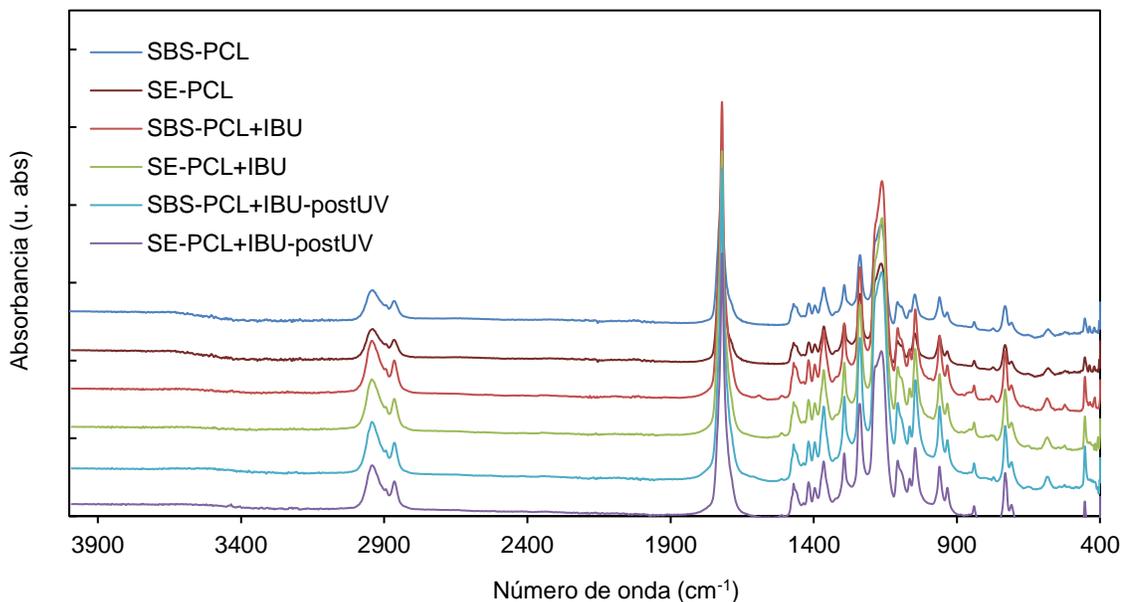
Figura 3-23: Resta de los espectros FTIR para fibras de PCL fabricadas por SBS y SE.

Nombre de la fuente: Autor y [97].

3.4.2 Efecto de adición de ibuprofeno

En los espectros tomados con el otro equipo FTIR, se pueden reconocer los picos para PCL están en el correspondiente de 2940 y 2865 cm^{-1} al enlace CH_2 , 1724 cm^{-1} para enlaces cetonas, como se aprecia en la siguiente figura.

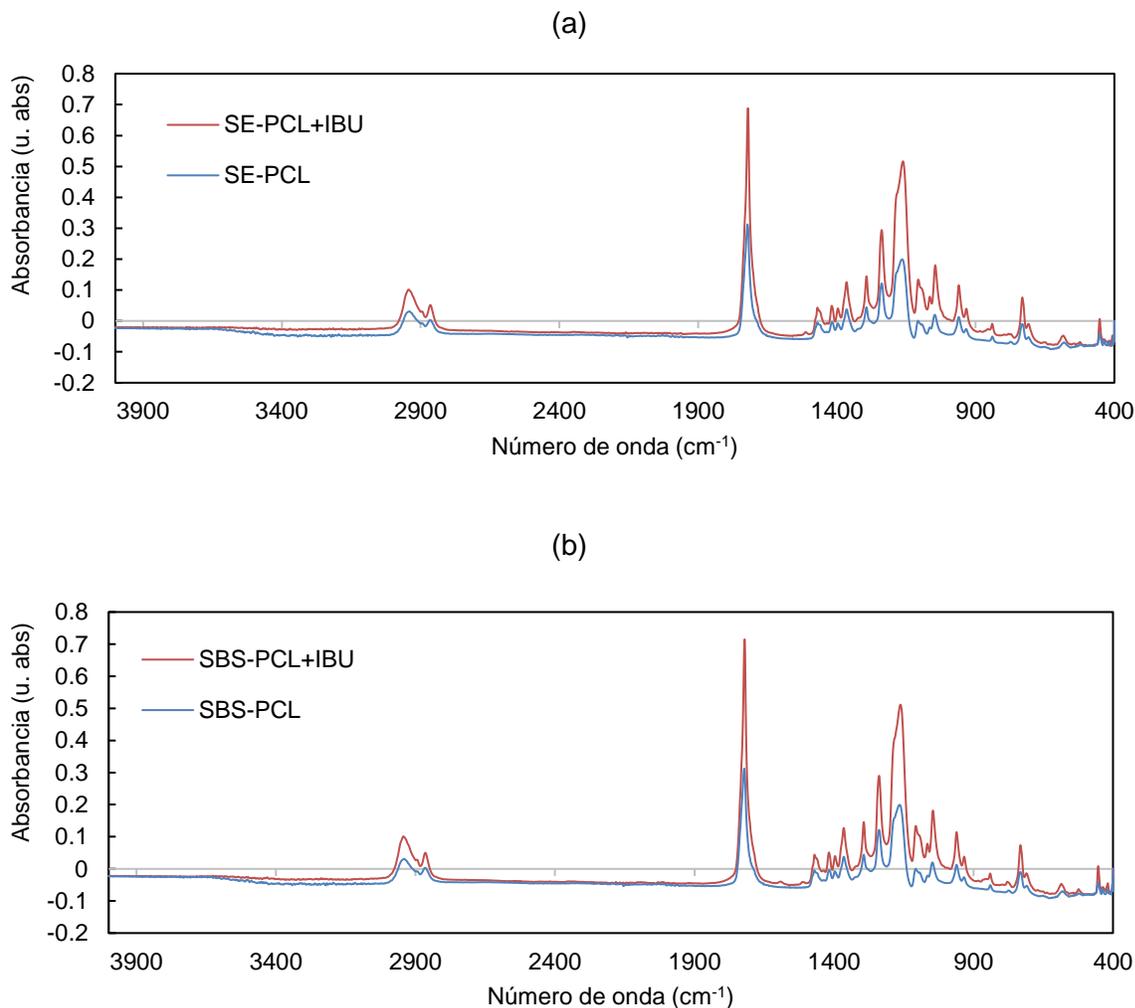
Figura 3-24: Espectros FTIR para todas las muestras caracterizadas.



Nombre de la fuente: Autor.

Para reconocer la presencia de ibuprofeno en el scaffold, se analizan los picos del espectro de referencia SpectraBase [129] y los enlaces en la molécula. Se reconoce que la molécula cuenta con el grupo funcional del ácido carboxílico que contiene un enlace O-H que se refleja en el pico alrededor del número de onda 3100 cm^{-1} , así como un enlace C=O que se refleja en el pico alrededor de 1700 cm^{-1} . También se destaca la presencia de un anillo que estaría ubicado en la zona de huella digital del espectro en 700 cm^{-1} . Estos enlaces son similares a los presentes en la molécula de PCL, por lo que no se esperan nuevos picos, sino un aumento en la señal de absorción. Lo anterior se puede reconocer en las gráficas comparativas para las muestras fabricadas con SE y SBS con y sin ibuprofeno.

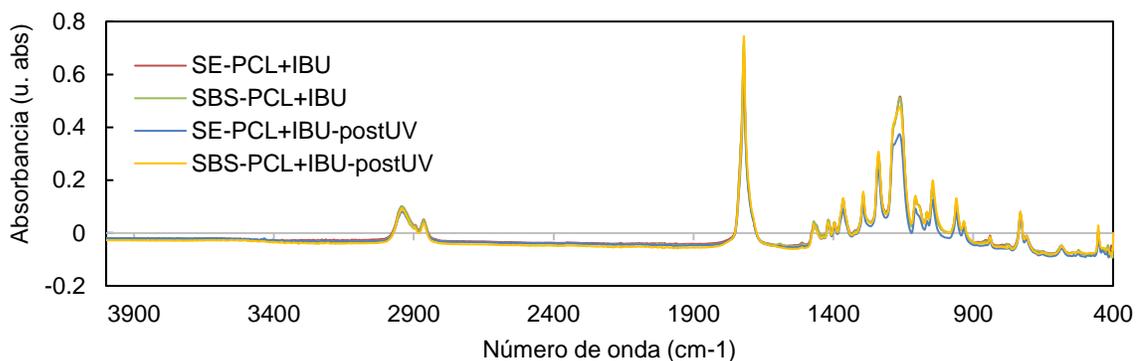
Figura 3-25: Espectros FTIR para muestras con y sin ibuprofeno, fabricadas por (a) SE y (b) SBS.



Nombre de la fuente: Autor.

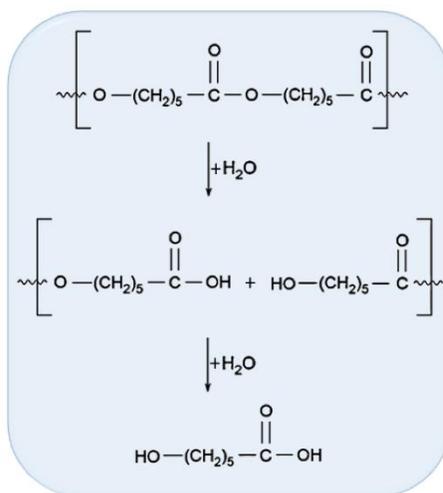
3.4.3 Scaffold de PCL con ibuprofeno pre y post esterilización

Al exponer a radiación UV el polímero y el compuesto bioactivo, no se modifican los picos existentes, de manera que el proceso de esterilización no afecta químicamente los enlaces presentes. Este resultado es similar al encontrado por Preem y colaboradores [90] para matrices de PCL cargado con antibiótico cloranfenicol.

Figura 3-26: Espectros FTIR para muestras con ibuprofeno, pre y post esterilización.

Nombre de la fuente: Autor.

Cabe resaltar que para la muestra esterilizada fabricada por electrospinning, se observa una reducción en el pico alrededor de 1100 cm^{-1} correspondiente al enlace C-O, que es un indicativo del inicio de la degradación del PCL por hidrólisis intermedia, separando el polímero en el grupo éster, formando un ácido carboxílico [105], [130]. Este mecanismo se muestra en la siguiente figura:

Figura 3-27: Mecanismo de degradación de PCL por hidrólisis.

Nombre de la fuente: Tomado de Erdal et al. [131]

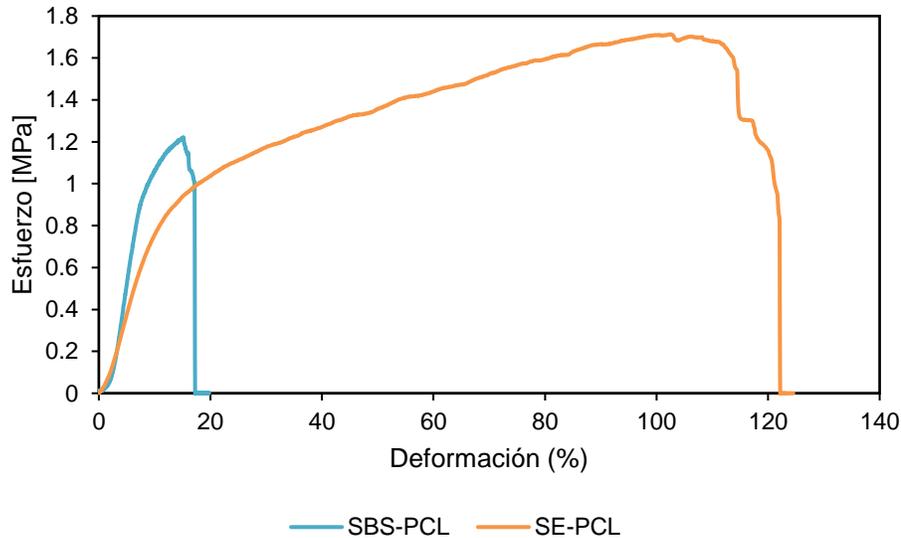
3.5 Pruebas mecánicas

3.5.1 Scaffold de PCL sin ibuprofeno

La **Tabla 3-7** resume las propiedades mecánicas encontradas en el ensayo de tracción. La película SBS mostró menor elongación a la rotura ($0.36 \pm 0.18 \epsilon$) versus la película SE

($1.76 \pm 0.63 \epsilon$), lo que podría deberse a la uniformidad y alineación de las fibras, otorgándoles la propiedad de almacenar más energía, como se muestra en la **Figura 3-28**, donde el área bajo la curva SE es mayor que la obtenida en SBS.

Figura 3-28: Curva esfuerzo vs deformación, en ensayo de tracción para scaffold de PCL fabricadas por SBS y SE.



Nombre de la fuente: Autor y [97].

El módulo de Young es mayor para la película SBS ($15,23 \pm 2,62$ MPa) en comparación con la película SE ($10,49 \pm 1,02$ MPa). Estos valores se encuentran en el mismo orden de magnitud que los reportados por Can-Herrera[132], entre 10-20MPa para películas de PCL fabricadas por electrospinning a diferentes voltajes. Una posible causa es la diferencia en la orientación de las fibras. Los especímenes de prueba de tracción se cortaron paralelos a la rotación para aplicar tensión en la misma dirección que la alineación de las fibras. Si cualquier fibra para la película SBS se orientara perpendicularmente a la tensión y con dobleces, disiparía las tensiones hacia los ejes x de la muestra. La resistencia a la tracción es similar para los scaffold fabricados por ambos métodos.

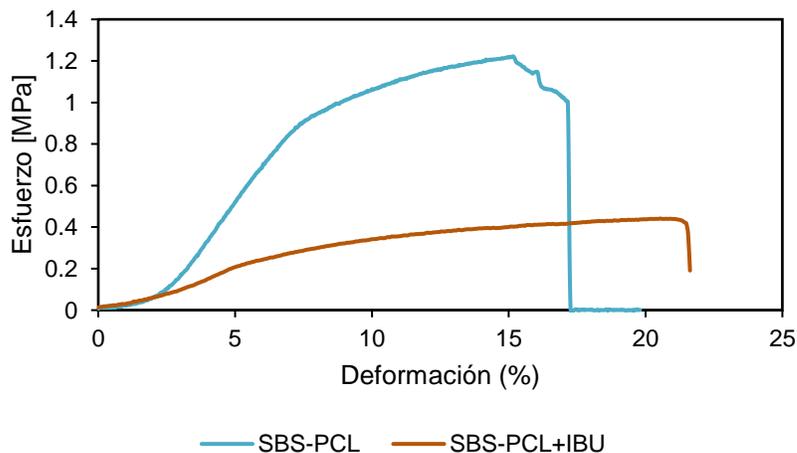
Tabla 3-7: Comparación de propiedades mecánicas de las probetas fabricadas por SBS y electrospinning

Scaffold	Módulo de Young (MPa)	Resistencia a la tensión (MPa)	Elongación (ϵ)
SBS-PCL	15.23 \pm 2,62	1.48 \pm 0.24	0.36 \pm 0.18
SE-PCL	10.49 \pm 1.02	1.55 \pm 0.16	1.76 \pm 0.63

3.5.2 Efecto de adición de ibuprofeno

Al adicionar ibuprofeno al scaffold de PCL, las propiedades mecánicas varían significativamente. En el caso de las muestras fabricadas por SBS, como se puede ver en la **Figura 3-29**, al adicionar ibuprofeno la resistencia ultima de reacción disminuyó, la zona elástica inicial se mantuvo y la elongación aumentó, los valores calculados se presentan en la **Tabla 3-8**. Los scaffolds con ibuprofeno pueden almacenar o absorber menor cantidad de energía de deformación que los scaffolds de solo PCL, indicando una disminución en la cristalinidad. Lo cual puede ser causado por el corto tiempo de evaporación del solvente (favorecido también por el aire), pues el polímero tendría un menor tiempo para la organización molecular y las moléculas de ibuprofeno presentes dificultarían aún más esta organización.

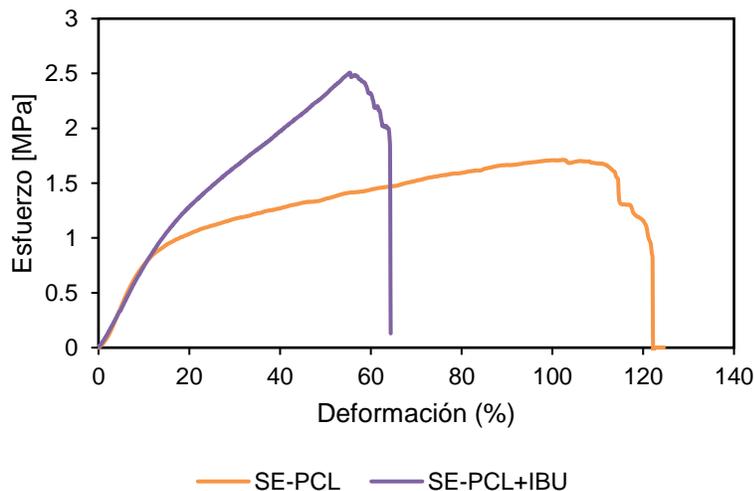
Figura 3-29: Curva esfuerzo vs deformación, en ensayo de tracción para scaffold de PCL con y sin ibuprofeno fabricadas por SBS.



Nombre de fuente: Autor.

En la **Figura 3-30** se muestra el efecto de la adición de ibuprofeno a los scaffold de PCL fabricados con las técnicas SE. Allí se observa que en la zona elástica no se presenta afectación al comportamiento mecánico, sin embargo, después del límite elástico, la muestra con ibuprofeno muestra un comportamiento de un material con mayor grado de cristalinidad. En la **Tabla 3-8** se presentan los parámetros mecánicos calculados a partir de la gráfica. En el caso de las fibras fabricadas por SE, la resistencia a la tensión aumenta a 2.34 ± 0.9 MPa desde un valor de 1.55 ± 0.16 MPa, sin embargo, la elongación se reduce en un 64%. La adición de ibuprofeno presenta cambios significativos en el comportamiento mecánico del scaffold, lo que podría ser ocasionado por la interferencia que presenta una molécula más pequeña en la matriz polimérica. Cuando inicia el ensayo de tensión, el comportamiento estaría regido por las moléculas de PCL, teniendo en cuenta que su composición es de 90%, y cuando las moléculas empiezan a alinearse para enfrentar la zona plástica, se toparían con las moléculas de ibuprofeno, que dificultan la alineación y disminuyen la elongación. Otra posible causa del cambio en la zona plástica, es la naturaleza cristalina de este fármaco [133]. De manera que al fabricar el material compuesto de una matriz polimérica con adiciones de un material polvo compactible de estructura cristalina, se combinan ambas características, dando como resultado un material que es más frágil, pero que soporta más carga.

Figura 3-30: Curva esfuerzo vs deformación, en ensayo de tracción para scaffold de PCL con y sin ibuprofeno fabricadas por SE.



Nombre de fuente: Autor.

En **Tabla 3-8** se muestran las propiedades mecánicas para las muestras sin y con ibuprofeno, con su respectiva técnica de fabricación.

Tabla 3-8: Comparación de propiedades mecánicas de las probetas fabricadas por SBS y electrospinning al adicionar el compuesto bioactivo.

Scaffold	Módulo de Young (MPa)	Resistencia a la tensión (MPa)	Elongación (ϵ)
SBS-PCL	15.23 \pm 2,62	1.48 \pm 0.24	0.36 \pm 0.18
SE-PCL	10.49 \pm 1.02	1.55 \pm 0.16	1.76 \pm 0.63
SBS-PCL+IBU	5.2 \pm 1.4	0.42 \pm 0.03	0.17 \pm 0.1
SE-PCL+IBU	9.0 \pm 1.4	2.34 \pm 0.9	0.62 \pm 0.1

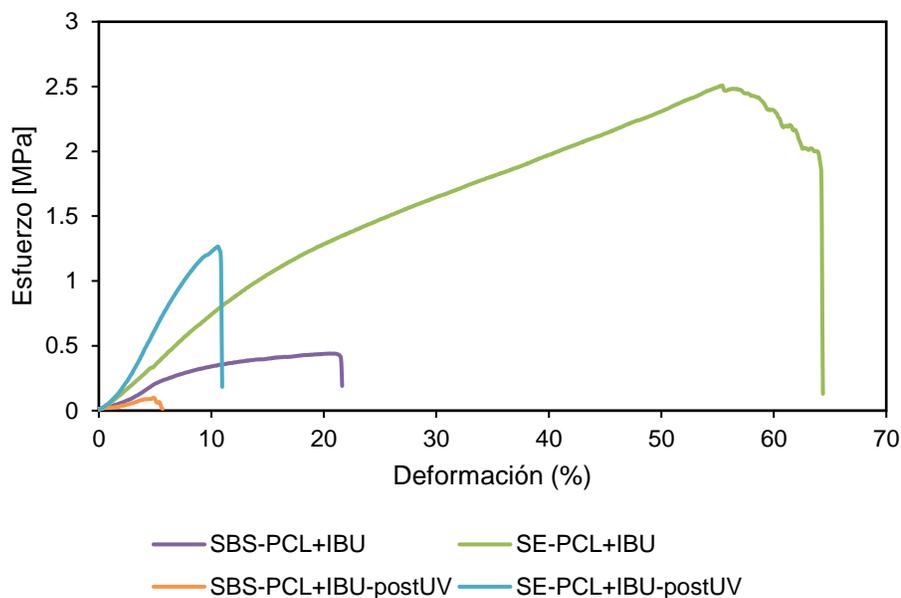
El efecto de la adición del ibuprofeno en la matriz polimérica presentó fenómenos diferentes en ambas técnicas. Esto podría explicarse por el flujo de polímero y la rapidez de secado, ya que en el caso de SBS el flujo de polímero es 15 veces mayor que el de SE, de manera que, para un intervalo definido de tiempo, con la técnica SBS se ha depositado más polímero, pero a su vez este ya se ha secado por efecto del aire. La rápida evaporación en SBS evitaría la formación de cristales y el ibuprofeno entorpece la alineación de las fibras de polímero. En el caso de SE, el flujo es más lento, y si bien se considera un secado rápido en comparación a otras técnicas, el polímero tendría una mayor probabilidad de organizarse y el ibuprofeno favorecería la formación de puntos de nucleación heterogéneos.

3.5.3 Scaffold de PCL con ibuprofeno pre y post esterilización

En la **Figura 3-31** se presenta la curva esfuerzo deformación obtenida para las muestras antes y después del tratamiento de esterilización UV. Se observa que la resistencia a la tensión después de esterilizar los scaffold disminuyo para ambos tipos de fabricación de nano/microfibras. Siendo este resultado un posible indicativo de degradación en las moléculas de polímero y la afectación estructural de las fibras. Experimentalmente también se pudieron visualizar los cambios, ya que, al finalizar la exposición a radiación,

se observó un cambio en la coloración de los scaffold (color amarillento) y un aumento en la temperatura de la cámara de esterilización.

Figura 3-31: Curva esfuerzo vs deformación, en ensayo de tracción de scaffold PCL+IBU pre y post esterilización.



Nombre de fuente: Autor.

La **Tabla 3-9** muestra los resultados de las propiedades mecánicas pre y post esterilización para los scaffolds con ibuprofeno, fabricados por SBS y SE.

Tabla 3-9: Comparación de propiedades mecánicas pre y post esterilización de las probetas fabricadas por SBS y electrospinning con compuesto bioactivo.

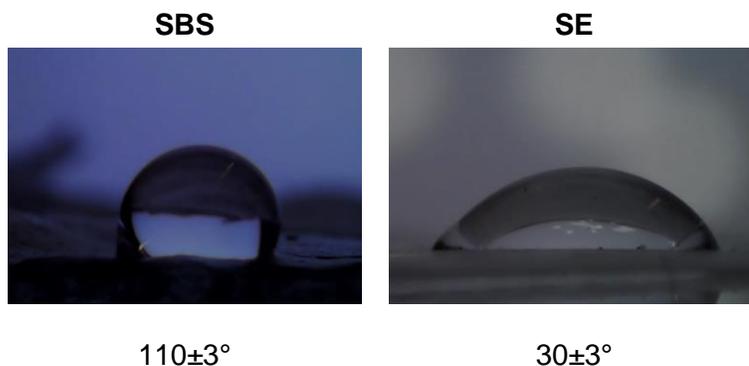
Scaffold	Módulo de Young (MPa)	Resistencia a la tensión (MPa)	Elongación (ϵ)
SB-PCL+IBU	5.2± 1.4	0.42±0.03	0.17±0.1
SE-PCL+IBU	9.0±1.4	2.34±0.9	0.62±0.1
SBS-PCL+IBU-postUV	1.8± 0.6	0.08±0.03	0.07±0.01
SE-PCL+IBU-postUV	14.1±2.3	1.05±0.3	0.113±0.03

Considerando los resultados del módulo de Young para las muestras fabricadas por SBS, se redujo este parámetro en comparación a pre-esterilización 5.2 ± 1.4 MPa. Contrario al cambio encontrado en las muestras fabricadas por SE, las cuales aumentaron el módulo al ser esterilizadas, mostrando ser un material más frágil. Esto podría ser producto de la degradación por hidrólisis del polímero, que aumenta la cristalinidad, lo que permitiría que el material disminuya su deformación a una misma carga aplicada, pero que el esfuerzo último sea mucho menor. En otros estudios, se encuentra que la esterilización por radiación UV puede aumentar la cristalinidad del material [90], [134], [131].

3.6 Ángulo de contacto

El ángulo de contacto para el scaffold de PCL sin ibuprofeno fabricado por SBS, está dentro del rango de 90° a 120° , correspondiente a superficies hidrófobas, como se muestra en la **Figura 3-32**.

Figura 3-32: Ángulo de contacto para scaffold de PCL, fabricados por las técnicas SE y SBS.



Nombre de fuente: Autor.

Para el scaffold de PCL fabricado por SE, se encontró que el ángulo de contacto es menor a 90° indicando que la superficie es hidrofílica. Este fenómeno es inesperado, ya que el material del scaffold es PCL y se espera un comportamiento hidrofóbico, sin embargo para esta superficie la gota de agua se alinea con las nano/microfibras fabricadas por SE. Como se observa en las fotografías de la **Figura 3-33**, experimentalmente se observa esta alineación, como las gotas permanecen sobre la superficie y no se impregnan en el scaffold.

Figura 3-33: Fotografías de gotas de agua sobre scaffold de PCL, fabricados por la técnica SE.



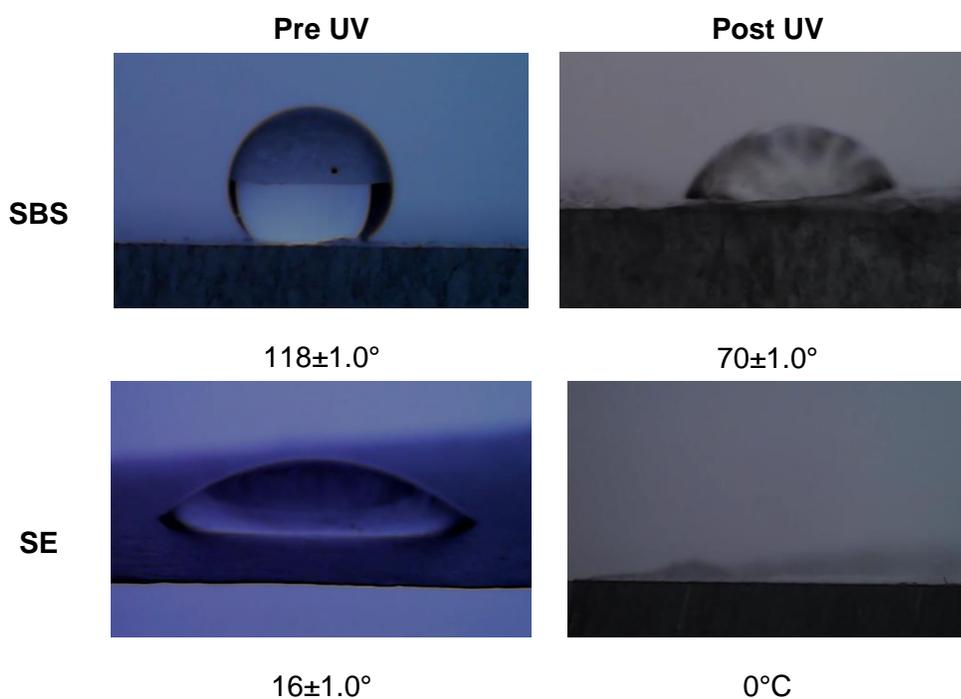
Nombre de fuente: Autor.

Al adicionar el fármaco IBU para la fabricación por SBS, se encontró que las muestras son más hidrófobas (**Figura 3-34**). Por el contrario, el scaffold fabricado por SE presenta disminución en el ángulo de contacto y en el tiempo de absorción (menos de 5 segundos). Asimismo, la gota de agua se alineó en el mismo sentido de las fibras, como ocurre sin el IBU.

Analizando ahora el efecto del tratamiento de esterilización, sobre el ángulo de contacto, se encuentra que el scaffold fabricado por SBS pierde las propiedades hidrofóbicas, pasando a ser altamente hidrofílico y las gotas se impregnan rápidamente. En el caso de la fabricación por electrospinning, aumenta su comportamiento hidrofílico, tanto que este tiempo es tan corto, que no alcanza a percibirse la gota y no es posible obtener un valor de ángulo de contacto. Este resultado, es parcialmente similar a lo encontrado por Preem y colaboradores [90], pues este resultado se obtiene con el procedimiento de esterilización con plasma, pero comparando con tratamiento UV analizado en este estudio, ambos procedimientos ocasionaron degradación en las cadenas del polímero. Esto se explicaría con el incremento del número de grupos de ácido carboxílico

presentes en la superficie, confiriendo mayor polaridad al scaffold y aumentando las interacciones moleculares con la polaridad del agua. Este resultado mostraría que con la esterilización se ha iniciado la degradación del scaffold, lo cual reduciría el soporte mecánico del scaffold durante la implantación como se presentó en la sección anterior, pero por otro lado daría ventajas en la interacción y aceptación del implante por las células.

Figura 3-34: Ángulo de contacto para scaffold pre y post esterilizado de PCL+IBU, fabricados por las técnicas SE y SBS.



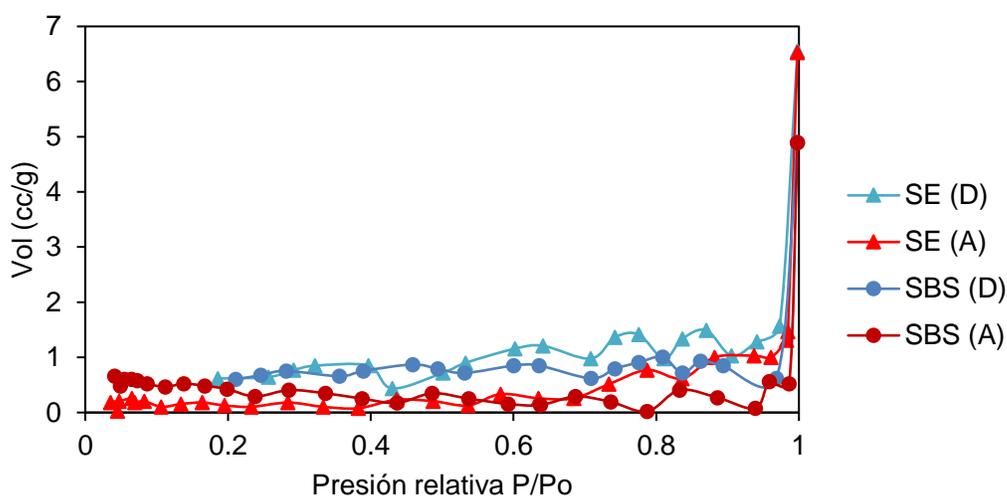
Nombre de fuente: Autor.

3.7 Isoterma de BET

Esta prueba de caracterización se realizó con el objetivo de comparar el área superficial y tamaño de poro que se obtiene en las fibras por cada técnica de fabricación de nano/microfibras. Estos parámetros permiten aclarar un poco más los efectos difusivos de la liberación del ibuprofeno del scaffold. Al realizar las mediciones, se tuvieron dificultades por la baja temperatura de fusión del polímero base (60°C), causando que la

desgasificación se tuviese que hacer a una menor temperatura y se alargara el tiempo de este proceso. También se tuvieron dificultades por la densidad de las muestras, por lo que se trabajaron con las celdas de mayor volumen del equipo que permitían el ingreso de más cantidad de masa. A continuación, se muestran las isothermas obtenidas:

Figura 3-35: Isothermas de absorción (A) y desorción (D) de nitrógeno, para scaffold de PCL fabricadas por SE y SBS.



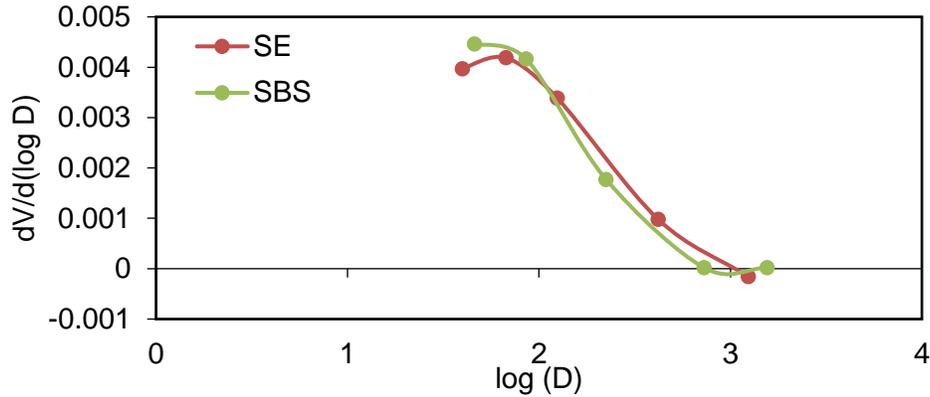
Nombre de fuente: Autor.

A partir de estos datos y el método de análisis de Brunauer, Emmett and Teller (BET), el software del equipo calcula y genera la gráfica de área superficial (ver Anexo A). Dando como resultado un área superficial de $0.07 \text{ m}^2/\text{g}$ para la muestra fabricada por SE y $0 \text{ m}^2/\text{g}$ para SBS. Este resultado indicaría que con la técnica de electrospinning se puede lograr una mayor área superficial interna y que podría favorecer la liberación del ibuprofeno. En el caso de la fabricación por SBS, los defectos o grandes aglomerados de polímero, pueden reducir el área superficial de la muestra. Para reducir estos efectos, se requeriría más tiempo para la optimización de los parámetros utilizados o cambios en la boquilla para disminuir las corrientes radiales de aire por el ingreso tangente a la aguja.

Al realizar la deriva de la gráfica de volumen de poro acumulado (**Figura 3-36**), se encuentra que el promedio de poro para la muestra de SE es de 6.76 nm y para SBS es

de 4.57 nm. En cuanto al volumen total de mesoporos, para SE se obtuvo un valor de 0.0042 cc/g y para SBS de 0.0033 cc/g. Resultados que indican que la porosidad de las fibras fabricadas por electrospinning es más alta que por solution blow spinning.

Figura 3-36: Derivada de la curva de volumen de poro acumulado por el método BJH.

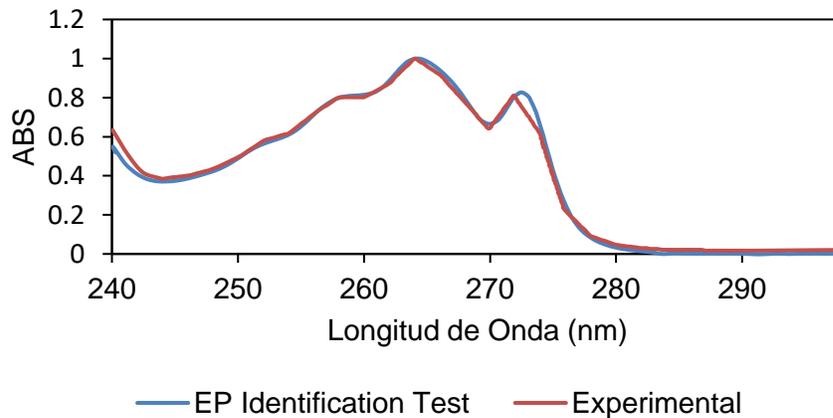


Nombre de fuente: Autor.

3.8 Curva de liberación controlada

Como resultado de la prueba de identificación, se encuentra que curva de escaneo UV obtenida experimentalmente es similar a la reportada por la Farmacopea Europea, como se muestra en la **Figura 3-37**. Dando seguridad de que el reactivo recibido es efectivamente ibuprofeno.

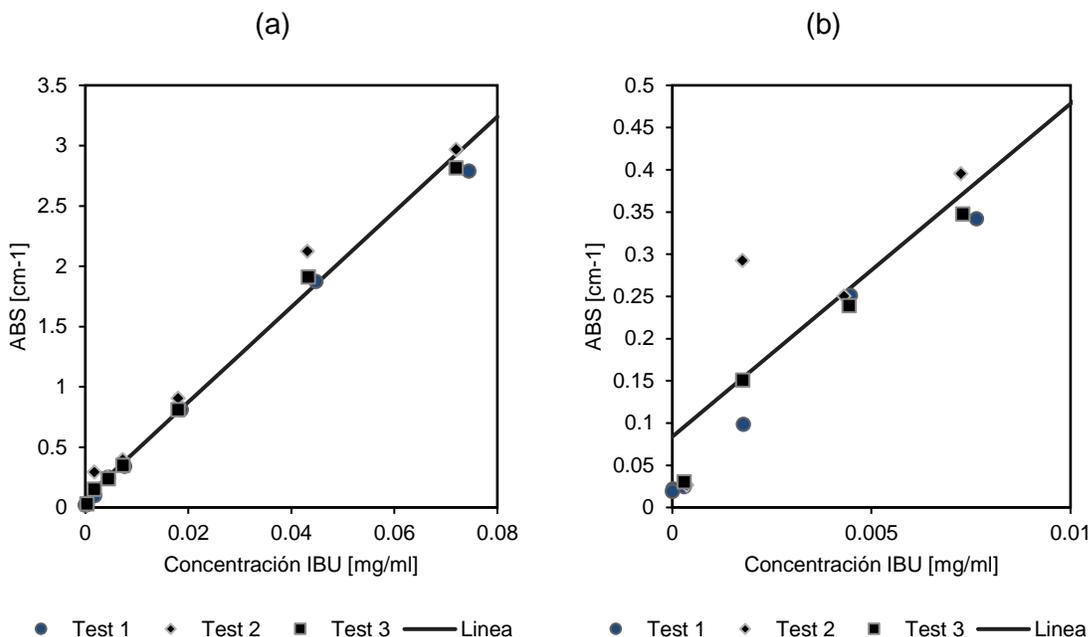
Figura 3-37: Gráfica comparativa del escaneo UV de la muestra, frente al reportado por la Farmacopea Europea [99].



Nombre de la fuente: Autor y Farmacopea Europea [99].

Después de esta comprobación, se realizó la curva de calibración partiendo de 3 soluciones madre, obteniendo la recta $ABS = 39.45 (C) + 0.084$ con un coeficiente $R^2 = 0.9878$, donde C es la concentración de ibuprofeno en mg/ml y ABS es la absorbancia.

Figura 3-38: Curva de calibración para medición de concentración de ibuprofeno, (a) rango completo alta concentración, (b) ampliación para concentraciones bajas.



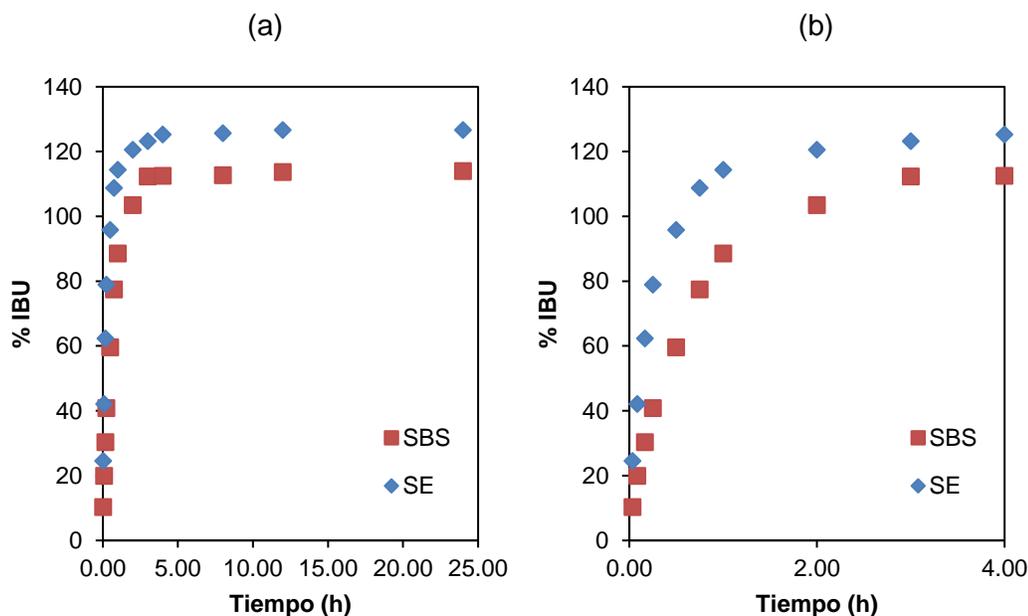
Nombre de la fuente: Autor.

Al realizar el montaje de liberación en 10ml de PBS, se encontró que la liberación del ibuprofeno es rápida, ya que en las primeras 4h ya ha liberado en su totalidad. Este resultado es confirmado para la scaffold fabricados por electrospinning por Batool et al. [83] en un estudio de liberación de IBU inmerso en un scaffold de PCL, así mismo por lo reportado por Mao et al. [82] para fibras de PLGA/PCL y similar también a la liberación inmediata encontrada por Bai et al. [135] para fibras de PVP con ibuprofeno.

Comparando la curva de SE y SBS, se registra una liberación más rápida para la muestra SE, la cual también obtuvo en el ensayo de isoterma de BET los mayores valores de área superficial, tamaño de poro y volumen total de poro. Lo cual mostraría que cuando se tiene un mayor tamaño de poro en la fibra, se aumenta el contacto entre la fase líquida y la parte interna de la fibra, facilitando la salida de ibuprofeno. Otra característica que sustenta los resultados obtenidos, son los defectos o acumulación de polímero presentes

en las muestras SBS, ya que estos cuentan con una menor relación área/volumen, dificultando la salida del fármaco del scaffold y mejorando su liberación controlada.

Figura 3-39: Curva de liberación de ibuprofeno en scaffold fabricados por SE y SBS. (a) curva completa (b) ampliación para las primeras 4 h.



Nombre de la fuente: Autor.

Particularmente, para el montaje realizado, se libera más ibuprofeno del cargado inicialmente en el scaffold, para ambas muestras. Lo cual no tiene sentido, dentro del balance de materia del sistema. Una razón que podría explicar este resultado es la posible liberación de compuestos de degradación o tramos pequeños de PCL en el medio de liberación PBS. Esto debido a que el espectro UV de PCL muestra alta absorbancia para valores menores a 300nm [136]. De manera que, si durante la fabricación se forman algunas nanopartículas que quedaron adheridas al scaffold o tramos cortos de fibras, al entrar en contacto con el PBS y presentar un sistema de agitación, podrían suspenderse en el líquido, aumentando el valor de absorbancia medido y mostrando una concentración más alta de ibuprofeno liberado que no sería solamente fármaco. Para confirmar estos resultados, habría que utilizar otra técnica de medición de concentración que pueda diferenciar la concentración únicamente del ibuprofeno, como lo es la cromatografía.

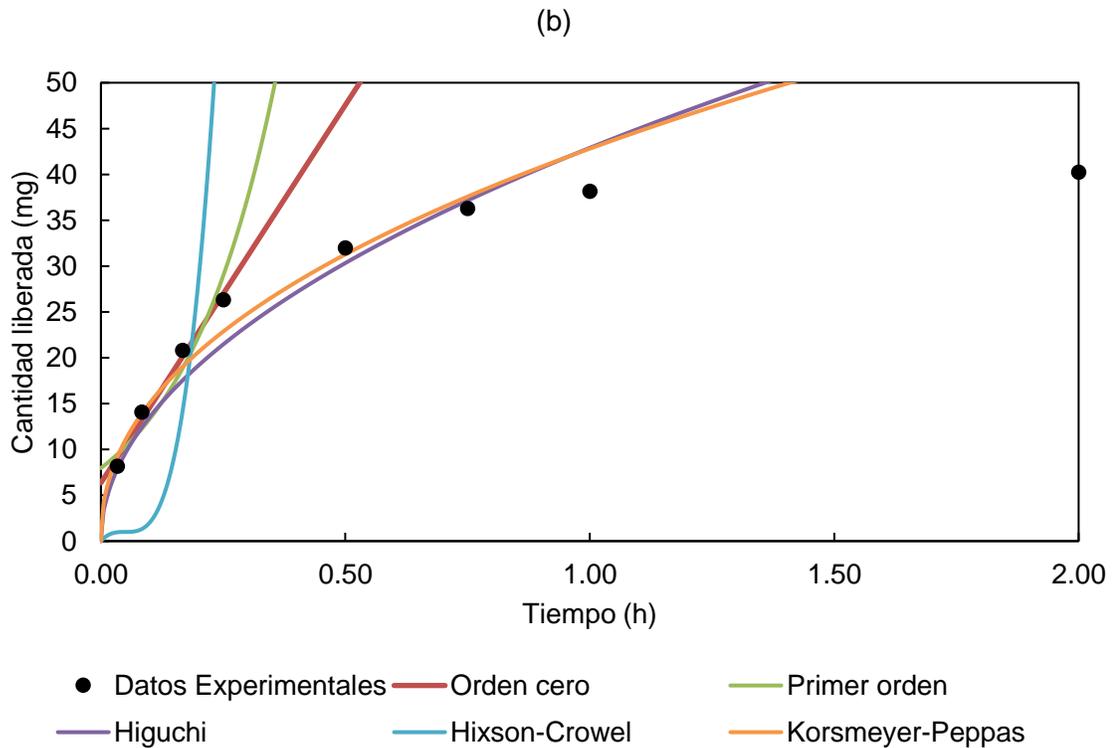
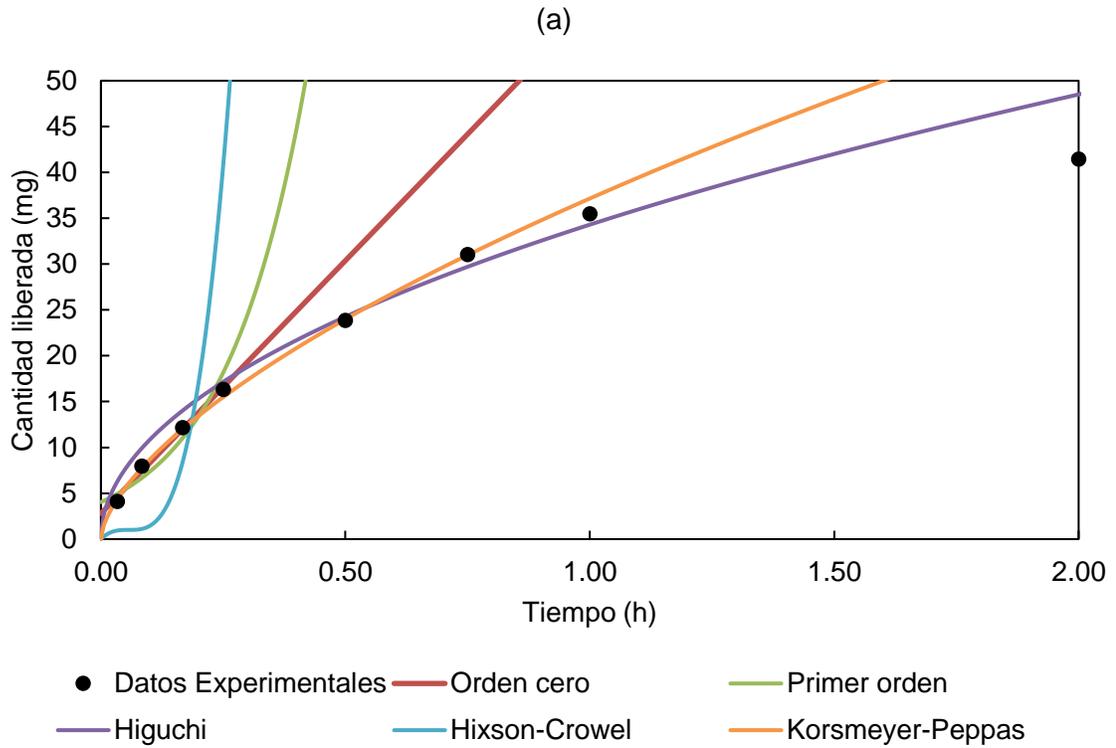
El resultado del cálculo de las constantes de los principales modelos de liberación de fármacos, para el sistema ibuprofeno/scaffold PCL se muestra en la tabla **Tabla 3-10**. Allí se destaca que la liberación del scaffold fabricado por SBS muestra un exponente para el modelo de Korsmeyer-Peppas de 0.63 lo que indica que los mecanismos de liberación fueron por difusión y hinchazón, debido al reordenamiento de las cadenas poliméricas que ocurre lentamente. Por el contrario, para el scaffold fabricado por SE el exponente $n=0.45$, indicando que el mecanismo de liberación de este sistema es netamente por difusión. Lo anterior podría ser causado por las gotas o defectos que se presentan en la fabricación con aire (SBS), ya que estas salpicaduras, crean capsulas que deben hincharse o relajar las moléculas de polímero para permitir la salida del ibuprofeno acumulado en el interior.

Tabla 3-10: Comparativa de las constantes obtenidas para los modelos matemáticos de liberación de los scaffold SBS y SE.

Modelo	Constante	SBS	SE
Orden cero	K0	55.2	82.4
	Q0	2.8	6.4
Primer orden	K1	6.0	5.2
	log (Q0)	0.61	0.90
Higuchi	Kh	34.3	42.9
Hixson-Crowel	Kb	17.6	20.1
Korsmeyer-Peppas	K	0.81	1.01
	n	0.63	0.45

En la **Figura 3-40**, se muestra la gráfica comparativa de los datos experimentales obtenidos para la liberación de ibuprofeno en scaffolds de PCL por ambas técnicas de fabricación y los principales modelos matemáticos. Encontrando que los modelos de orden cero y primer orden pueden modelar el comportamiento de los datos hasta 0.25 h para ambas técnicas, por lo que no representan el total de la liberación. En el caso del modelo Higuchi, se acerca mucho más al comportamiento de la mayoría de los datos, para SBS hasta 1h y para SE hasta 0.75h.

Figura 3-40: Modelos matemáticos de liberación comparados con los datos experimentales de ibuprofeno para scaffold fabricado por (a) SBS (b) SE.

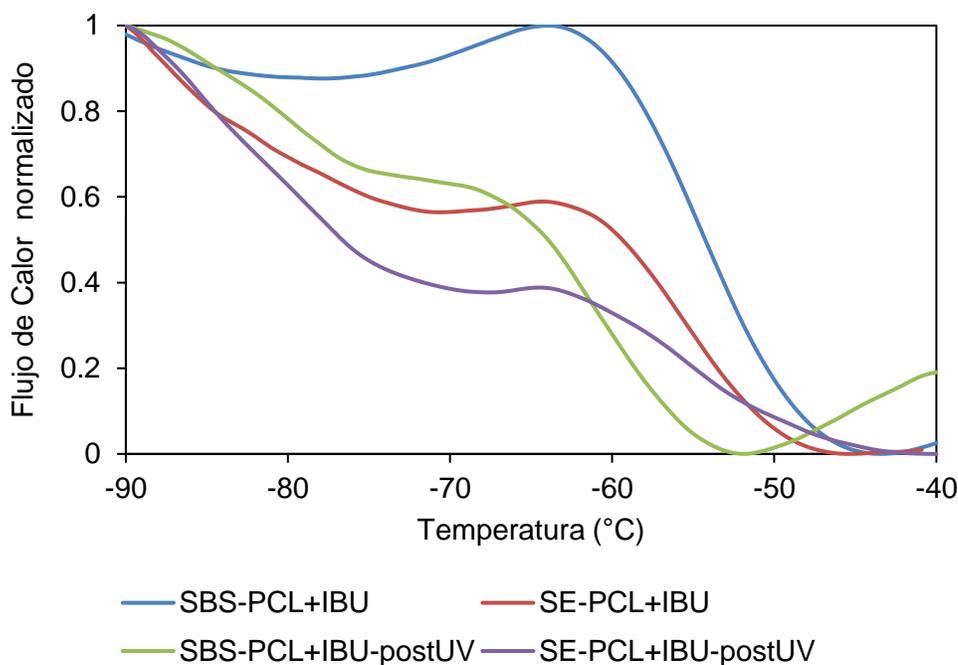


Nombre de la fuente: Autor.

3.9 DSC

Al medir las propiedades térmicas de los scaffold de PCL con el compuesto bioactivo pre y post esterilización, se buscaba determinar la temperatura de transición vítrea del polímero, que se encuentra alrededor de -60°C . Sin embargo, no se visualizó un valor significativo de esta transición, como se puede observar en las curvas generadas por el calorímetro diferencial de barrido METTLER TOLEDO en el Anexo B. Posiblemente por la cantidad de masa que puede ser ingresada en la capsula y la sensibilidad del equipo. Por lo que se continuaron con las mediciones con el equipo STA (Linseis) en el cual se utilizó una masa de muestra mayor a 40mg y se obtuvieron los termogramas que se muestran en la **Figura 3-41**, los cuales se normalizaron para facilitar la visualización.

Figura 3-41: Termogramas DSC para scaffold de PCL+IBU pre y post esterilización desde -90°C hasta -40°C .



Nombre de la fuente: Autor.

En la **Tabla 3-11** se resumen las propiedades térmicas medidas. Para la temperatura de fusión de las muestras es 55°C , la cual es menor a la temperatura de fusión de nano/microfibras de PCL puro reportadas en la literatura 61.39°C [137], 60°C [138] y

62°C [126]. Este cambio se debe a la adición de 10% de ibuprofeno en el scaffold, así lo encuentra también Riaz [139] que al adicionar 5% de IBU reduce en 6°C la temperatura de fusión. También otro estudio realizado por Riaz [138] en años posteriores, muestra que adicionar ácido hialurónico a scaffold de PCL no modifica la temperatura de fusión (60°C), pero la adición de IBU al 5% y 7% si disminuye esta temperatura.

En los resultados mostrados en la **Tabla 3-11**, también se puede distinguir que al realizar el proceso de esterilización del scaffold, la temperatura de fusión no se modifica, como lo reportado por Preem [90] para PCL puro con un valor de 60.4°C y PCL esterilizado 30min 60.4°C y Horakova [126] PCL pre esterilización 62°C y esterilizado UV 30 min a cada lado 62°C.

Tabla 3-11: Características térmicas obtenidas por DSC*, de scaffold de PCL pre y post esterilización: temperatura de transición vítrea, temperatura de fusión, entalpía de fusión, grado de cristalinidad y temperatura de cristalización.

Muestra	Tg (°C)	T _m (°C)	ΔH _m (J/g)	Cristalinidad (%)	Tc (°C)
SBS-PCL+IBU	-49.8	55.1287	77.83	55.79	22.1511
SE-PCL+IBU	-47.6	55.1817	74.73	53.57	22.1192
SBS-PCL+IBU-postUV	-54.8	55.0665	86.31	61.87	26.4879
SE-PCL+IBU-postUV	-50.8	55.1400	96.01	68.82	26.4608

*Las curvas generadas por el calorímetro diferencial de barrido METTLER TOLEDO se encuentran en el Anexo B.

En cuanto a la cristalinidad de los scaffold, se puede ver que es menor a la de la materia prima en pellets de PCL 100%. Esto puede ser causado por el corto tiempo de evaporación del solvente en el proceso de SE [140], que no da tiempo para que las moléculas cristalicen y por lo tanto mantienen una estructura amorfa [141].

Asimismo, se reconoce que exponer el scaffold a radiación UV durante 2h aumenta la cristalinidad del scaffold por ambas técnicas, mostrando que hubo degradación durante este proceso. Este resultado no solo se confirmaría con el aumento en las entalpias de fusión, resultados similares de aumento de cristalinidad por esterilización fueron encontrados por [90], [134], [131], sino también con la disminución en la temperatura de transición vítrea, pues indicaría una disminución en el peso molecular del polímero, facilitando el movimiento de las cadenas.

4. Conclusiones y recomendaciones

4.1 Conclusiones

Este proyecto tuvo como objetivo la obtención de dos scaffold poliméricos cargados con compuesto con potencial bioactivo. El compuesto con potencial bioactivo que se seleccionó para el estudio fue el ibuprofeno y este fue cargado exitosamente en los scaffold de PCL. Uno de los scaffold fue obtenido por la técnica *simple electrospinning* (SE) y el otro por *solution blow spinning* (SBS). Para esta última, se modificó exitosamente la boquilla coaxial para el ingreso de aire comprimido y la obtención de nano/microfibras por acción de las fuerzas cortantes del aire. Esta técnica presenta ventajas en cuanto al uso de un mayor flujo de polímero y la seguridad para el operario del equipo, ya que se evita el uso de alto voltaje.

La morfología de las fibras obtenidas por SE, es alineada, lisa y sin defectos, en cuanto a SBS, se obtienen también estas características, pero con algunos defectos de acumulación de polímero. Las fibras obtenidas por la técnica SE son de menor diámetro y más uniformes que las obtenidas por SBS. Al adicionar ibuprofeno a la solución de partida, las fibras mantienen la morfología lisa y alineada, pero disminuyen su diámetro. También se encontró que al exponer el scaffold a radiación UV, las fibras disminuyen su diámetro y se observan signos de desgaste en las fibras, mostrando algunas de ellas dobleces en dirección contraria a la alineación inicial.

La caracterización química por la técnica FTIR muestra los picos característicos de los enlaces de la molécula de policaprolactona. Y al adicionar ibuprofeno al scaffold de PCL, estos picos iniciales aumentan su intensidad, debido a que presentan enlaces con frecuencias de absorción similares. Asimismo, la esterilización UV no genera cambios en los picos encontrados inicialmente, y solo se observa una pequeña reducción en los enlaces C-O, causada posiblemente por la hidrólisis de PCL favorecida por la irradiación. Mecánicamente las muestras fabricadas por SE tienen una mayor resistencia a la tensión y elongación, que las fabricadas por SBS. Al adicionar el compuesto bioactivo al scaffold

se modifica el comportamiento mecánico, mostrando un material más frágil y que puede soportar más carga, siendo posiblemente un efecto de la cristalinidad y tamaño de la molécula de ibuprofeno frente a PCL. En cuanto a los cambios mecánicos que presenta el scaffold al ser esterilizado son significativos, por ambas técnicas de fabricación se reconoce una reducción en la resistencia a la tensión y la elongación, sin embargo, para los scaffold por SE se ve un aumento en el módulo de Young que puede ser originado por el aumento de cristalinidad del polímero al estar expuesto a irradiación UV. Esta exposición también ocasiona superficies hidrofílicas en el scaffold, posiblemente por la aparición de mayor contenido de terminaciones del grupo ácido carboxílico que aumenta la polaridad del polímero. Lo anterior podría favorecer la recepción del implante, ya que simularía mejor las características polares de la matriz extracelular. También se destaca que, al realizar las mediciones de ángulo de contacto, previo a la esterilización, las gotas depositadas en los scaffold fabricados por SE, se alargan y se alinean con las fibras, En las dos técnicas se observa la misma tendencia de liberación rápida del compuesto bioactivo en las primeras 4 horas. Sin embargo, por SE la liberación es más rápida posiblemente porque el área superficial y la porosidad de las fibras fabricadas por electrospinning es mayor que las obtenidas solution blow spinning. Asimismo, los defectos de acumulación de polímero en SBS, retienen el fármaco y amortiguan la liberación. La adición del ibuprofeno disminuye la temperatura de fusión del scaffold y la esterilización aumenta la entalpia de fusión mostrando un incremento en la cristalinidad de los scaffold después de la exposición a radiación.

4.2 Recomendaciones

- Al utilizar la boquilla coaxial con el ingreso de aire, se debe verificar que la aguja central (por donde sale la solución polimérica) este totalmente centrada con respecto al componente externo, ya que alguna desviación puede provocar corrientes de aire en sentidos diferentes y orientar el chorro de polímero en otro sentido y causando que retorne y se pegue a la boquilla. También estas desviaciones pueden generar defectos de chorreado en las muestras.
- Mejorar el diseño de la boquilla de solution blow spinning, para que la tubería que dirige el aire genere un perfil de velocidad del fluido que en tu mayoría sea paralelas a la dirección de flujo o con menos corrientes radiales. Ya que, en el

diseño actual el aire ingresa de forma tangencial a la boquilla, generando corrientes radiales, que desestabilizan el cono de solución polimérica en la punta de la boquilla y ocasionan la formación de defectos o fibras no alineadas.

- Para permitir una liberación más lenta y controlada del ibuprofeno, manteniendo el diámetro de fibra en escala nano-micrométrica para su similitud con la matriz extracelular, se podría complementar el diseño del scaffold adicionando una pared alrededor de la fibra (core/shell) o diseñar un dispositivo tipo sándwich. Si bien en este trabajo se buscó una estructura de fibra core/shell, esta no se logró exitosamente debido a la incompatibilidad de la gelatina con los solventes de PCL, por lo que se recomienda en estudios posteriores hacer nuevas formulaciones para la solución de PCL que tenga como solventes sustancias ácidas, compatibles con la gelatina o con tasas de evaporación menores que solución de la coraza. Y en el caso de la boquilla T, se recomienda seleccionar solventes que sean compatibles con ambos polímeros, realizando estudios previos de miscibilidad entre ellas.
- Para la mejor visualización de las fibras en el microscopio electrónico de barrido se recomienda realizar recubrimiento con oro o utilizar placas vidrio como colector de las muestras, ya que los silicatos generan el contraste molecular adecuado para visualizar las fibras orgánicas. En el estudio se intentaron visualizar las fibras fabricadas sobre cinta de carbono y no se pudieron observar adecuadamente.
- Realizar estudios de estabilidad del compuesto bioactivo, pre y post esterilización.
- Identificar por cromatografía en capa delgada de alta eficiencia (HPLC) la concentración de ibuprofeno liberado en la solución de PBS y compáralo con el valor obtenido por espectroscopia UV. Para determinar si los aumentos en absorbancia son causados por compuestos de degradación o trazas de PCL.
- En la articulación de la rodilla, el cartílago está en contacto directo con el líquido sinovial, por lo que se recomienda hacer el estudio de liberación de ibuprofeno en un fluido con características y viscosidad similar al líquido sinovial.
- Al realizar los análisis de área superficial y porosidad, no desgasificar el scaffold a más de 30°C o verificar que la inercia del calentamiento no sea tan alta que llegue a fundir la muestra.
- Como trabajo futuro se recomiendan realizar pruebas de dureza para conocer su compatibilidad mecánica con los materiales adicionales de implantes o al mismo cartílago. Asimismo, se deben realizar ensayos toxicológicos y de proliferación celular in vitro, antes de ser llevado a estudios in vivo.

4.3 Producción académica

4.3.1 Ponencias orales

Evento: 7th international conference on industrial biotechnology (IBIC 2022) – Nápoles, Italia

WEDNESDAY, June 8th

WE 09:00-
09:40

Plenary Lecture

Room: CAPRI, Chairperson: Marco Bravi



WATER BASED SOLUTIONS FOR BIOREFINERIES

[Coutinho J. A. P.](#)

WE 09:40-
10:40

BIORESOURCES

Room: CAPRI, Chairperson: Marco Bravi



STUDY OF LIPASE PRODUCTION BY YARROWIA LIPOLYTICA GROWN IN HIGH CONCENTRATION OF HYDROPHOBIC CARBON SOURCES

[Colacicco Mattia, Biundo Antonino, Ciliberti Cosetta, Agrimi Gennaro, Pisano Isabella](#)



CHARACTERIZATION AND EVALUATION OF SOLVENT RETENTION IN POLYCAPROLACTONE NANO/MICROFIBERS OBTAINED BY ELECTROSPINNING AND SOLUTION BLOW SPINNING

[Ciro Casadiego-Torrado, Dianney Clavijo-Grimaldo, Quiroga-Vergel Angela](#)



EVALUATION OF LACTIC ACID PRODUCTION BY DIFFERENT BACILLUS SUBTILIS STRAINS ISOLATED FROM THEOBROMA CACAO CROPS IN ECUADOR

[Castells Antonia, Leon Antonio, Sosa Daynet, Cadena Inés, Ramirez Dario, Alvarez-Barreto Jose, Serrano Lizeth, Larrea Fernando, Almeida Streitweiser Daniela](#)

Enlace de programa: <https://www.aidic.it/ibic2022/final/pro.html>

Evento: XI Congreso Internacional de Materiales (XI CIM 2022) – Santa Marta, Colombia



**El comité organizador del XI Congreso Internacional de Materiales
XI CIM 2022**

Certifica que el trabajo titulado:

*Comparación de liberación controlada de ibuprofeno
en scaffold poliméricos obtenidos por
electrospinning y solution blow spinning.*

Fue presentado por:

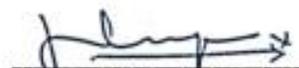
Ángela Quiroga Vergel, Dianney Clavijo Grimaldo, Ruth
Lancheros

En la modalidad de Ponencia Oral

Santa Marta Colombia, 26-28 octubre, 2022


Darío Yesid Peña Ballesteros
Organizador, UIS


Félix Echeverría Echeverría
Organizador, UdeA


Hugo Armando Estupiñán Durán
Organizador, Director, UNAL

4.3.2 Artículo de investigación

“Characterization and Evaluation of Solvent Retention in Polycaprolactone Nano/Microfibers Obtained by Electrospinning and Solution Blow Spinning”



Vol 93 (2022)

Characterization and Evaluation of Solvent Retention in Polycaprolactone Nano/Microfibers Obtained by Electrospinning and Solution Blow Spinning

RESEARCH ARTICLES

<https://doi.org/10.3303/CET2293020>

Published 15 July 2022

Abstract

The properties of polymeric nanofibers make them versatile materials with multiple applications in the health area. Electrospinning (ES) and Solution Blow Spinning (SBS) are techniques commonly used in the manufacture of nanofibers because the experimental processes are simple, replicable, inexpensive, and carried out under environmental conditions. However, both techniques require the use of solvents whose retention may limit their use in biomedical applications. The objective of this work is to compare the morphological and mechanical characteristics of polycaprolactone nano/microfibers (PCL-F) obtained by these two techniques, as well as to evaluate the retention of the solvents used. Significant differences were found in the mechanical test, morphology, diameter and orientation of the PCL-F

Quiroga-Vergel, Angela
Clavijo-Grimaldo, Dianney
Casadiego-Torrado, Ciro

How to Cite

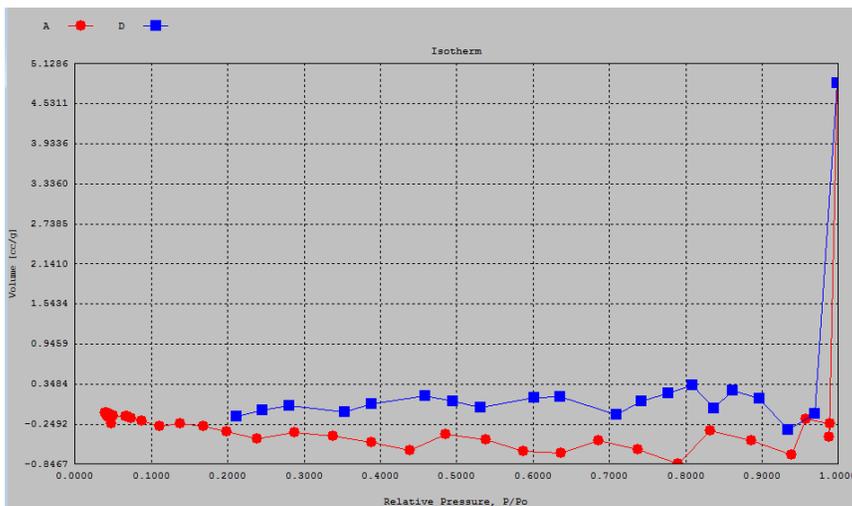
Quiroga-Vergel A., Clavijo-Grimaldo D., Casadiego-Torrado C., 2022, Characterization and Evaluation of Solvent Retention in Polycaprolactone Nano/Microfibers Obtained by Electrospinning and Solution Blow Spinning, Chemical Engineering Transactions, 93, 115-120.

<https://www.cetjournal.it/index.php/cet/article/view/CET2293020>

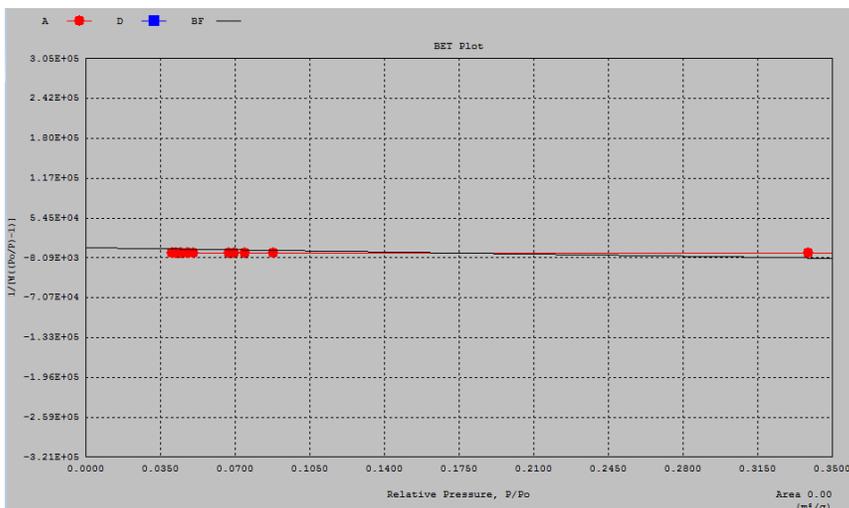
A. Anexo: Gráficas medición de isotermas de BET

Nombre de muestra: 1. B-PCL (Peso: 0.2387g)

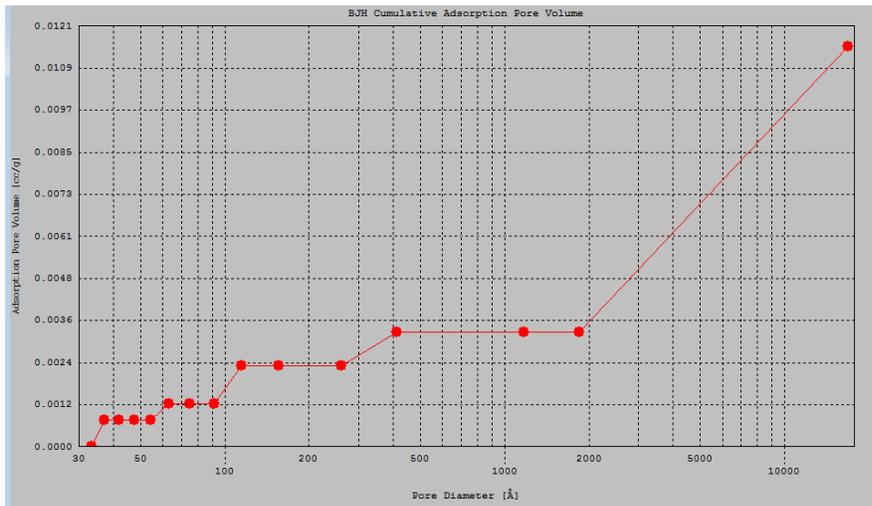
Isoterma de BET



Área Superficial

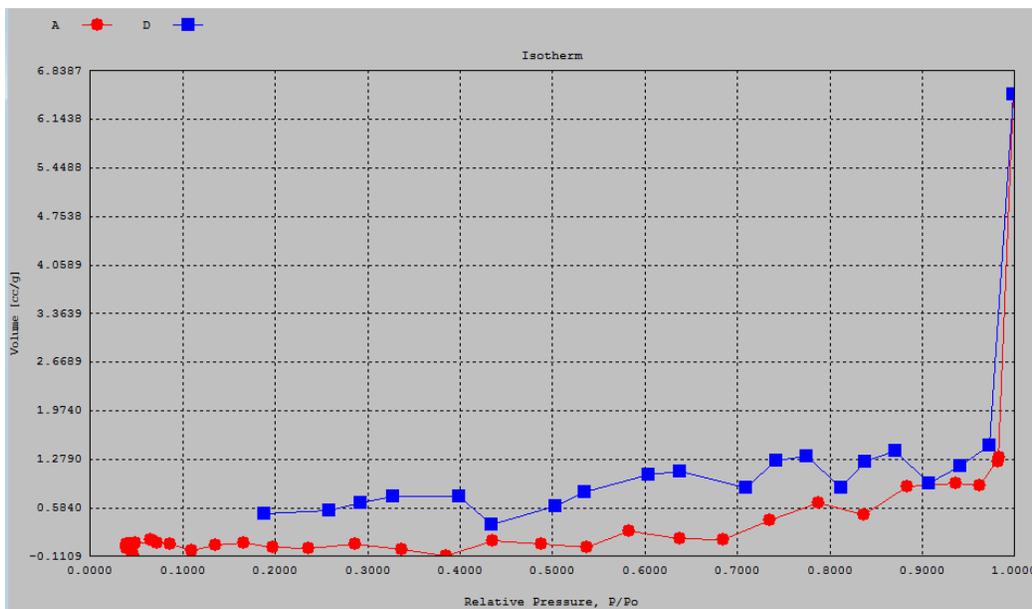


Porosidad - modelo BJH

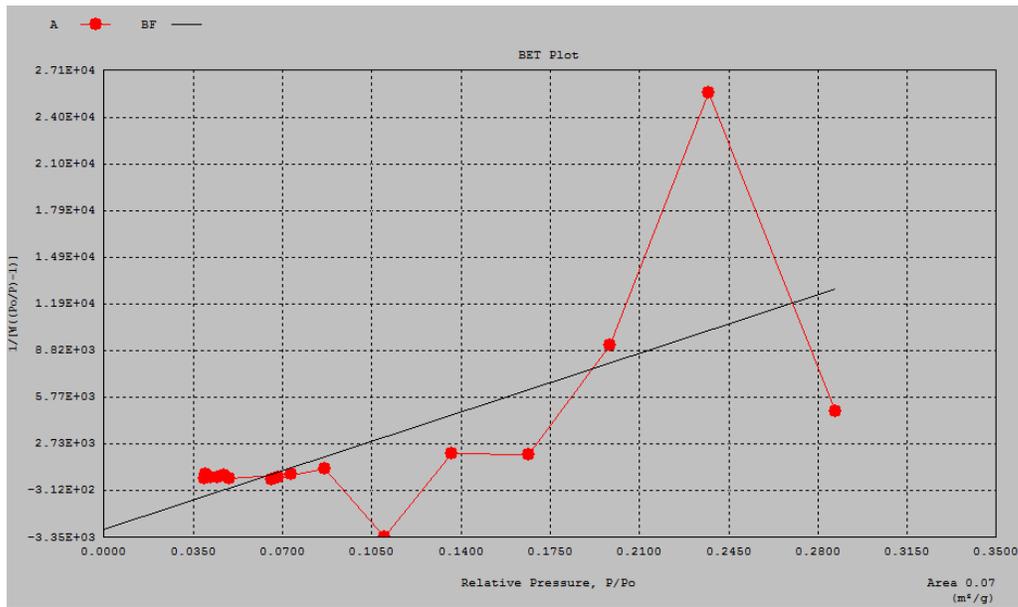


Nombre de muestra: 2. E-PCL (Peso: 0.2301g)

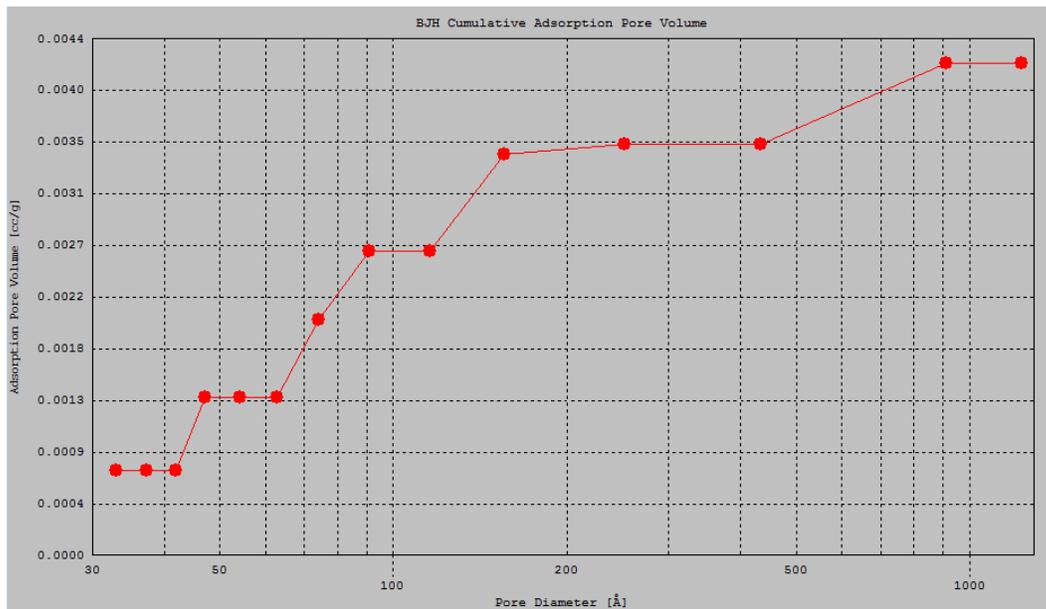
Isotermas de BET



Área Superficial

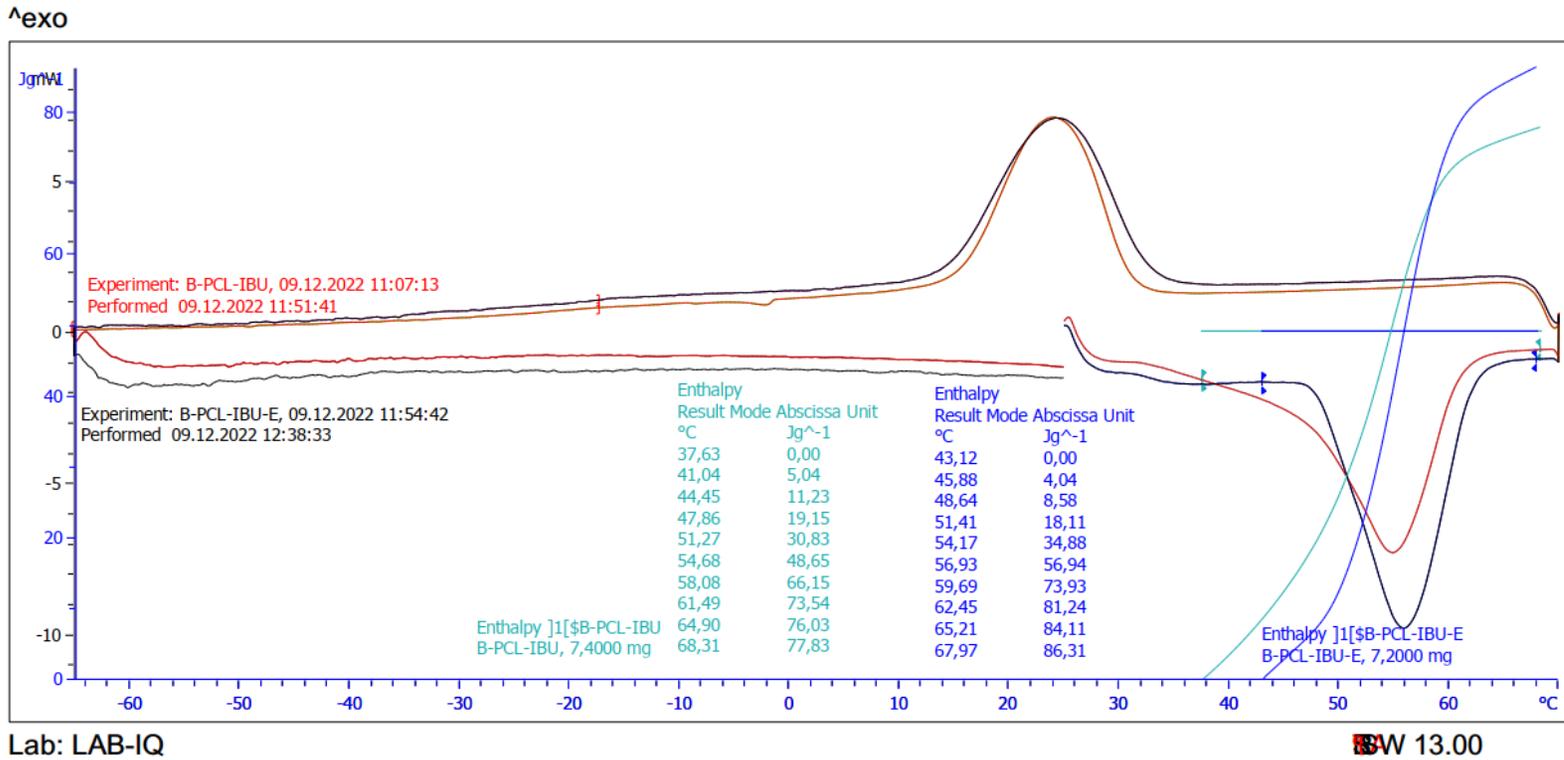


Porosidad - modelo BJH



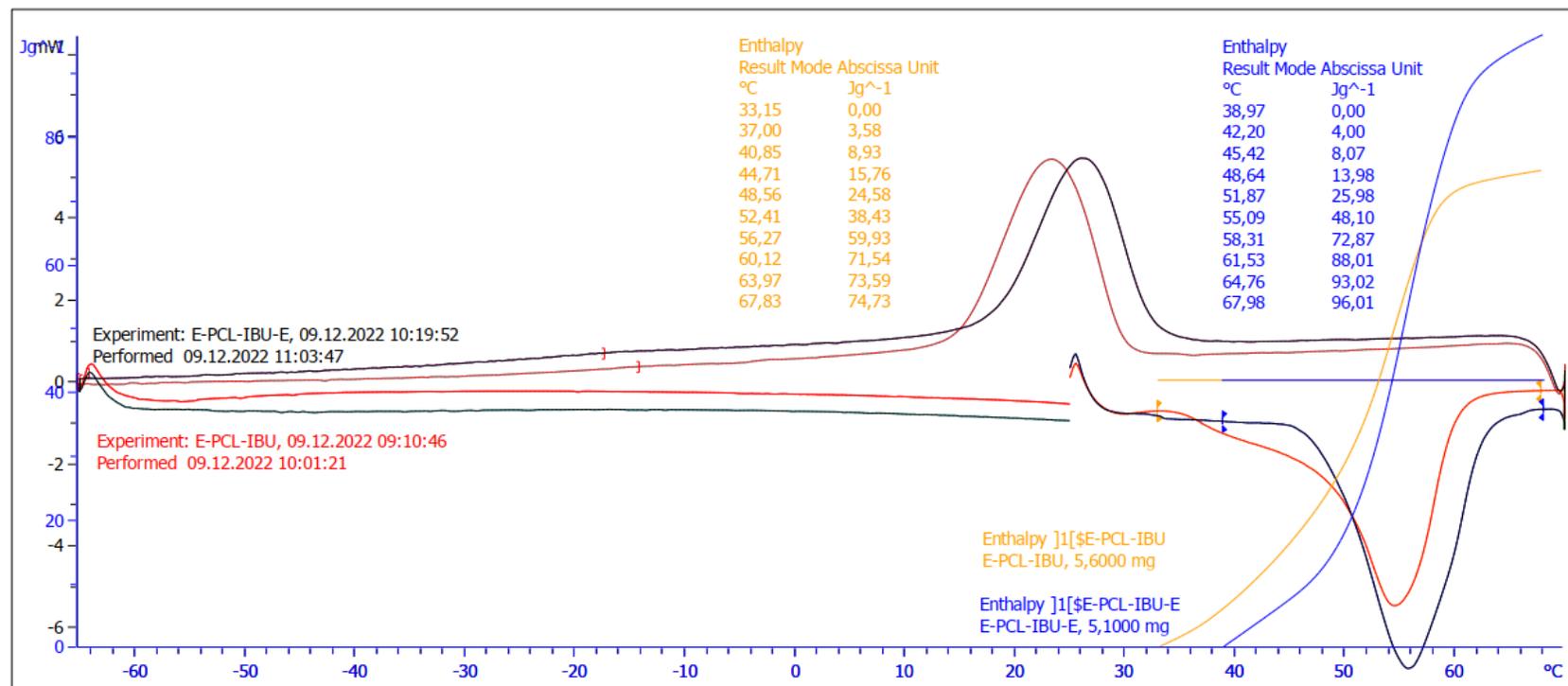
B. Anexo: Curvas DSC

Muestras 3. B-PCL-IBU y 5. B-PCL-esteril



Muestras 4. E-PCL-IBU y 6. E-PCL-esteril

^exo



Lab: LAB-IQ

SW 13.00

Bibliografía

- [1] J. Londoño *et al.*, «Prevalencia de la enfermedad reumática en Colombia, según estrategia COPCORD-Asociación Colombiana de Reumatología. Estudio de prevalencia de enfermedad reumática en población colombiana mayor de 18 años», *Revista Colombiana de Reumatología*, vol. 25, n.º 4, pp. 245-256, oct. 2018, doi: 10.1016/j.rcreu.2018.08.003.
- [2] «WHO | Chronic rheumatic conditions», *WHO*. <http://www.who.int/chp/topics/rheumatic/en/> (accedido 10 de mayo de 2020).
- [3] D. G. Jones, «Articular Cartilage Degeneration: Etiologic Association With Obesity», *Ochsner J*, vol. 9, n.º 3, pp. 137-139, 2009.
- [4] «Osteoarthritis - Treatment and support», *nhs.uk*, 23 de octubre de 2017. <https://www.nhs.uk/conditions/osteoarthritis/treatment/> (accedido 25 de noviembre de 2020).
- [5] A. J. Kompel, F. W. Roemer, A. M. Murakami, L. E. Diaz, M. D. Crema, y A. Guermazi, «Intra-articular Corticosteroid Injections in the Hip and Knee: Perhaps Not as Safe as We Thought?», *Radiology*, vol. 293, n.º 3, pp. 656-663, oct. 2019, doi: 10.1148/radiol.2019190341.
- [6] «Arthritis of the Knee - OrthoInfo - AAOS». <https://www.orthoinfo.org/en/diseases--conditions/arthritis-of-the-knee/> (accedido 25 de noviembre de 2020).
- [7] S. Mahsa Khatami, K. Parivar, A. Naderi Sohi, M. Soleimani, y H. Hanaee-Ahvaz, «Acetylated hyaluronic acid effectively enhances chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells seeded on electrospun PCL scaffolds», *Tissue and Cell*, p. 101363, abr. 2020, doi: 10.1016/j.tice.2020.101363.
- [8] S. Chen, R. Li, X. Li, y J. Xie, «Electrospinning: An enabling nanotechnology platform for drug delivery and regenerative medicine», *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 132, pp. 188-213, jul. 2018, doi: 10.1016/j.addr.2018.05.001.
- [9] K. Andreas *et al.*, «Biodegradable insulin-loaded PLGA microspheres fabricated by three different emulsification techniques: Investigation for cartilage tissue engineering», *Acta Biomaterialia*, vol. 7, n.º 4, pp. 1485-1495, abr. 2011, doi: 10.1016/j.actbio.2010.12.014.
- [10] «Articulación de la rodilla», *Kenhub*. <https://www.kenhub.com/es/library/anatomias/articulacion-de-la-rodilla> (accedido 27 de noviembre de 2022).
- [11] U. Welsch y J. Sobotta, *Histología*. Ed. Médica Panamericana, 2008.
- [12] Stanford Medicine Children's Health, «Dolor y problemas de rodilla», *Stanford Medicine Children's Health*. <https://www.stanfordchildrens.org/es/topic/default?id=knee-pain-and-problems-85-P04020> (accedido 27 de noviembre de 2022).
- [13] M. Ross y W. Pawlina, *Histología: Texto y atlas. Correlación con biología molecular y celular.*, 8a Edición. USA: Wolters Kluwer, 2020.

- [14] Elsevier, «Tipos de cartílago: características, localización y pericondrio», *Elsevier Connect*. <https://www.elsevier.com/es-es/connect/medicina/edu-histologia-tipos-de-cartilago-caracteristicas-localizacion> (accedido 26 de enero de 2023).
- [15] D. F. Rodríguez-Camacho, J. F. Correa-Mesa, D. F. Rodríguez-Camacho, y J. F. Correa-Mesa, «Biomecánica del cartílago articular y sus respuestas ante la aplicación de las fuerzas», *Medicas UIS*, vol. 31, n.º 3, pp. 47-56, dic. 2018, doi: 10.18273/revmed.v31n3-2018005.
- [16] J. Arnal, «Lesion del Cartilago de Rodilla: Tratamientos Sin Prótesis - Juan Arnal: Traumatologo en Madrid», 3 de noviembre de 2018. <https://traumatologomadrid.es/lesion-cartilago-rodilla-tratamientos/> (accedido 26 de enero de 2023).
- [17] «Knee Cartilage Regrowth Options | Damaged Cartilage | GelrinC Implant». <https://gelrinc.com/> (accedido 27 de noviembre de 2020).
- [18] Regentis Biomaterials, «A Prospective, Open-Label, Multicenter Pivotal Study to Evaluate the Safety and Efficacy of GelrinC® for the Treatment of Symptomatic Articular Cartilage Defects of the Femoral Condyle: A Comparison to Historical Control Microfracture», *clinicaltrials.gov*, Clinical trial registration NCT03262909, mar. 2020. Accedido: 26 de noviembre de 2020. [En línea]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03262909>
- [19] Vericel Corporation, «A Prospective, Randomized, Open-label, Parallel-group, Multi-center Study to Demonstrate the Superiority of MACI® Versus Arthroscopic Microfracture for the Treatment of Symptomatic Articular Cartilage Defects of the Femoral Condyle Including the Trochlea.», *clinicaltrials.gov*, Clinical trial registration results/NCT00719576, oct. 2019. Accedido: 24 de noviembre de 2020. [En línea]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT00719576>
- [20] «The MACI procedure, step-by-step». <https://www.maci.com/healthcare-professionals/about-the-procedure/the-maci-procedure.html> (accedido 27 de noviembre de 2020).
- [21] «MaioRegen». <https://www.medandcare.pl/en/products/orthopedics/maioregen-membrane-for-osteocondral-regeneration> (accedido 27 de noviembre de 2020).
- [22] D. C. Crawford, T. M. DeBerardino, y R. J. I. Williams, «NeoCart, an Autologous Cartilage Tissue Implant, Compared with Microfracture for Treatment of Distal Femoral Cartilage Lesions: An FDA Phase-II Prospective, Randomized Clinical Trial After Two Years», *JBJS*, vol. 94, n.º 11, pp. 979-989, jun. 2012, doi: 10.2106/JBJS.K.00533.
- [23] Histogenics Corporation, «A Randomized Comparison of NeoCart to Microfracture for the Repair of Articular Cartilage Injuries in the Knee», *clinicaltrials.gov*, Clinical trial registration NCT01066702, mar. 2019. Accedido: 26 de noviembre de 2020. [En línea]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01066702>
- [24] «NOVOCART 3D». <https://www.aesculapbiologics.com/en/patients/novocart-3d.html> (accedido 27 de noviembre de 2020).
- [25] Tetec AG, «A Prospective Randomized Controlled Multicenter Phase-III Clinical Study to Evaluate the Safety and Effectiveness of NOVOCART® 3D Plus Compared to the Standard Procedure Microfracture in the Treatment of Articular Cartilage Defects of the Knee», *clinicaltrials.gov*, Clinical trial registration NCT01656902, ago. 2020. Accedido: 26 de noviembre de 2020. [En línea]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01656902>
- [26] «Microfracture Technique». <https://www.thesteadmanclinic.com/patient-education/knee/microfracture-technique> (accedido 7 de diciembre de 2020).

- [27] «The Lens - Free & Open Patent and Scholarly Search», *The Lens - Free & Open Patent and Scholarly Search*. <https://www.lens.org/lens> (accedido 22 de junio de 2020).
- [28] K. To, B. Zhang, K. Romain, C. Mak, y W. Khan, «Synovium-Derived Mesenchymal Stem Cell Transplantation in Cartilage Regeneration: A PRISMA Review of in vivo Studies», *Front. Bioeng. Biotechnol.*, vol. 7, 2019, doi: 10.3389/fbioe.2019.00314.
- [29] R. Zhang, J. Ma, J. Han, W. Zhang, y J. Ma, «Mesenchymal stem cell related therapies for cartilage lesions and osteoarthritis», *Am J Transl Res*, vol. 11, n.º 10, pp. 6275-6289, oct. 2019.
- [30] K. Jain y P. Ravikumar, «Recent advances in treatments of cartilage regeneration for knee osteoarthritis», *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, vol. 60, p. 102014, dic. 2020, doi: 10.1016/j.jddst.2020.102014.
- [31] A. R. Martín, J. M. Patel, H. M. Zlotnick, J. L. Carey, y R. L. Mauck, «Emerging therapies for cartilage regeneration in currently excluded 'red knee' populations», *npj Regen Med*, vol. 4, n.º 1, Art. n.º 1, may 2019, doi: 10.1038/s41536-019-0074-7.
- [32] K.-S. Park *et al.*, «Versatile effects of magnesium hydroxide nanoparticles in PLGA scaffold-mediated chondrogenesis», *Acta Biomaterialia*, vol. 73, pp. 204-216, jun. 2018, doi: 10.1016/j.actbio.2018.04.022.
- [33] W. Chen *et al.*, «Incorporating chitin derived glucosamine sulfate into nanofibers via coaxial electrospinning for cartilage regeneration», *Carbohydrate Polymers*, vol. 229, p. 115544, feb. 2020, doi: 10.1016/j.carbpol.2019.115544.
- [34] T. J. Sill y H. A. von Recum, «Electrospun materials for affinity-based engineering and drug delivery», *J. Phys.: Conf. Ser.*, vol. 646, n.º 1, p. 012060, sep. 2015, doi: 10.1088/1742-6596/646/1/012060.
- [35] B. Ding, X. Wang, y J. Yu, *Electrospinning: nanofabrication and applications*, 1st edition. Waltham, MA: Elsevier, 2018.
- [36] S. Thomas, Y. Grohens, y N. Ninan, Eds., *Nanotechnology applications for tissue engineering*. Oxford, England ; Waltham, Massachusetts: William Andrew, 2015.
- [37] K. Deshmukh, S. Sankaran, M. Basheer Ahamed, y S. K. Khadheer Pasha, «Biomedical Applications of Electrospun Polymer Composite Nanofibres», en *Polymer Nanocomposites in Biomedical Engineering*, K. K. Sadasivuni, D. Ponnamma, M. Rajan, B. Ahmed, y M. A. S. A. Al-Maadeed, Eds. Cham: Springer International Publishing, 2019, pp. 111-165. doi: 10.1007/978-3-030-04741-2_5.
- [38] H. A. Strobel, E. I. Qendro, E. Alsberg, y M. W. Rolle, «Targeted Delivery of Bioactive Molecules for Vascular Intervention and Tissue Engineering», *Front. Pharmacol.*, vol. 9, 2018, doi: 10.3389/fphar.2018.01329.
- [39] G. C. Dadol *et al.*, «Solution blow spinning (SBS) and SBS-spun nanofibers: Materials, methods, and applications», *Materials Today Communications*, vol. 25, p. 101656, dic. 2020, doi: 10.1016/j.mtcomm.2020.101656.
- [40] R. Atif *et al.*, «Solution Blow Spinning of High-Performance Submicron Polyvinylidene Fluoride Fibres: Computational Fluid Mechanics Modelling and Experimental Results», *Polymers*, vol. 12, n.º 5, Art. n.º 5, may 2020, doi: 10.3390/polym12051140.
- [41] K. Czarnecka, M. Wojasiński, T. Ciach, y P. Sajkiewicz, «Solution Blow Spinning of Polycaprolactone—Rheological Determination of Spinnability and the Effect of Processing Conditions on Fiber Diameter and Alignment», *Materials*, vol. 14, n.º 6, p. 1463, mar. 2021, doi: 10.3390/ma14061463.
- [42] M. A. Lorente, A. Corral, y J. González-Benito, «PCL /collagen blends prepared by solution blow spinning as potential materials for skin regeneration», *J Appl Polym Sci*, vol. 138, n.º 21, p. 50493, jun. 2021, doi: 10.1002/app.50493.

- [43] E. Tomecka, M. Wojasinski, E. Jastrzebska, M. Chudy, T. Ciach, y Z. Brzozka, «Poly(L-lactic acid) and polyurethane nanofibers fabricated by solution blow spinning as potential substrates for cardiac cell culture», *Materials Science and Engineering: C*, vol. 75, pp. 305-316, jun. 2017, doi: 10.1016/j.msec.2017.02.055.
- [44] R. Li *et al.*, «Polycaprolactone/poly(L-lactic acid) composite micro/nanofibrous membrane prepared through solution blow spinning for oil adsorption», *Materials Chemistry and Physics*, vol. 241, p. 122338, feb. 2020, doi: 10.1016/j.matchemphys.2019.122338.
- [45] E. N. Yilmaz y D. I. Zeugolis, «Electrospun Polymers in Cartilage Engineering—State of Play», *Front. Bioeng. Biotechnol.*, vol. 8, 2020, doi: 10.3389/fbioe.2020.00077.
- [46] E. Venugopal, K. S. Sahanand, A. Bhattacharyya, y S. Rajendran, «Electrospun PCL nanofibers blended with Wattakaka volubilis active phytochemicals for bone and cartilage tissue engineering», *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, vol. 21, p. 102044, oct. 2019, doi: 10.1016/j.nano.2019.102044.
- [47] J. C. Silva *et al.*, «Kartogenin-loaded coaxial PGS/PCL aligned nanofibers for cartilage tissue engineering», *Materials Science and Engineering: C*, vol. 107, p. 110291, feb. 2020, doi: 10.1016/j.msec.2019.110291.
- [48] M. Rafiei, E. Jooybar, M. J. Abdekhodaie, y M. Alvi, «Construction of 3D fibrous PCL scaffolds by coaxial electrospinning for protein delivery», *Materials Science and Engineering: C*, vol. 113, p. 110913, ago. 2020, doi: 10.1016/j.msec.2020.110913.
- [49] T. Jiang *et al.*, «Mechanically cartilage-mimicking poly(PCL-PTHF urethane)/collagen nanofibers induce chondrogenesis by blocking NF- κ B signaling pathway», *Biomaterials*, vol. 178, pp. 281-292, sep. 2018, doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.06.023.
- [50] Â. Semitela *et al.*, «Electrospinning of bioactive polycaprolactone-gelatin nanofibres with increased pore size for cartilage tissue engineering applications», *J Biomater Appl*, vol. 35, n.º 4-5, pp. 471-484, oct. 2020, doi: 10.1177/0885328220940194.
- [51] O. Urbanek, P. Sajkiewicz, y F. Pierini, «The effect of polarity in the electrospinning process on PCL/chitosan nanofibres' structure, properties and efficiency of surface modification», *Polymer*, vol. 124, pp. 168-175, ago. 2017, doi: 10.1016/j.polymer.2017.07.064.
- [52] Y. Li *et al.*, «Cell-free 3D wet-electrospun PCL/silk fibroin/Sr²⁺ scaffold promotes successful total meniscus regeneration in a rabbit model», *Acta Biomaterialia*, vol. 113, pp. 196-209, sep. 2020, doi: 10.1016/j.actbio.2020.06.017.
- [53] I. R. Calori, G. Braga, P. da C. C. de Jesus, H. Bi, y A. C. Tedesco, «Polymer scaffolds as drug delivery systems», *European Polymer Journal*, vol. 129, p. 109621, abr. 2020, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2020.109621.
- [54] R. M. Jeuken *et al.*, «Polymers in Cartilage Defect Repair of the Knee: Current Status and Future Prospects», *Polymers*, vol. 8, n.º 6, Art. n.º 6, jun. 2016, doi: 10.3390/polym8060219.
- [55] D. Puppi, F. Chiellini, A. M. Piras, y E. Chiellini, «Polymeric materials for bone and cartilage repair», *Progress in Polymer Science*, vol. 35, n.º 4, pp. 403-440, abr. 2010, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2010.01.006.
- [56] J. M. Patel, K. S. Saleh, J. A. Burdick, y R. L. Mauck, «Bioactive factors for cartilage repair and regeneration: Improving delivery, retention, and activity», *Acta Biomaterialia*, vol. 93, pp. 222-238, jul. 2019, doi: 10.1016/j.actbio.2019.01.061.
- [57] H. Li, C. Hu, H. Yu, y C. Chen, «Chitosan composite scaffolds for articular cartilage defect repair: a review», *RSC Adv.*, vol. 8, n.º 7, pp. 3736-3749, ene. 2018, doi: 10.1039/C7RA11593H.

- [58] F. Comblain, G. Rocasalbas, S. Gauthier, y Y. Henrotin, «Chitosan: A promising polymer for cartilage repair and viscosupplementation», *BME*, vol. 28, n.º s1, pp. S209-S215, mar. 2017, doi: 10.3233/BME-171643.
- [59] B. P. Sutherland, «Electrospinning Crosslinked Gelatin, Collagen, and Elastin Nanofibers for Tissue Engineering Applications», Master of Science, Drexel University, 2014. doi: 10.17918/etd-4498.
- [60] L. Chen, J. Liu, M. Guan, T. Zhou, X. Duan, y Z. Xiang, «Growth Factor and Its Polymer Scaffold-Based Delivery System for Cartilage Tissue Engineering», *IJN*, vol. Volume 15, pp. 6097-6111, ago. 2020, doi: 10.2147/IJN.S249829.
- [61] D. S. Hungerford y L. C. Jones, «Glucosamine and chondroitin sulfate are effective in the management of osteoarthritis», *The Journal of Arthroplasty*, vol. 18, n.º 3, Supplement 1, pp. 5-9, abr. 2003, doi: 10.1054/arth.2003.50067.
- [62] S. De Vrieze, P. Westbroek, T. Van Camp, y L. Van Langenhove, «Electrospinning of chitosan nanofibrous structures: feasibility study», *J Mater Sci*, vol. 42, n.º 19, pp. 8029-8034, oct. 2007, doi: 10.1007/s10853-006-1485-6.
- [63] X. Geng, O. Kwon, y J. Jang, «Electrospinning of chitosan dissolved in concentrated acetic acid solution», *Biomaterials*, vol. 26, n.º 27, pp. 5427-5432, sep. 2005, doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.01.066.
- [64] H. Homayoni, S. A. H. Ravandi, y M. Valizadeh, «Electrospinning of chitosan nanofibers: Processing optimization», *Carbohydrate Polymers*, vol. 77, n.º 3, pp. 656-661, jul. 2009, doi: 10.1016/j.carbpol.2009.02.008.
- [65] P. Sangsanoh, O. Suwantong, A. Neamnark, P. Cheepsunthorn, P. Pavasant, y P. Supaphol, «In vitro biocompatibility of electrospun and solvent-cast chitosan substrata towards Schwann, osteoblast, keratinocyte and fibroblast cells», *European Polymer Journal*, vol. 46, n.º 3, pp. 428-440, mar. 2010, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2009.10.029.
- [66] S. Haider y S.-Y. Park, «Preparation of the electrospun chitosan nanofibers and their applications to the adsorption of Cu(II) and Pb(II) ions from an aqueous solution», *Journal of Membrane Science*, vol. 328, n.º 1, pp. 90-96, feb. 2009, doi: 10.1016/j.memsci.2008.11.046.
- [67] S. Surucu y H. Turkoglu Sasmazel, «Development of core-shell coaxially electrospun composite PCL/chitosan scaffolds», *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 92, pp. 321-328, nov. 2016, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.07.013.
- [68] P. Vaidya, T. Grove, K. J. Edgar, y A. S. Goldstein, «Surface grafting of chitosan shell, polycaprolactone core fiber meshes to confer bioactivity», *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, vol. 30, n.º 3, pp. 258-274, may 2015, doi: 10.1177/0883911515571147.
- [69] K. Kalwar, W.-X. Sun, D.-L. Li, X.-J. Zhang, y D. Shan, «Coaxial electrospinning of polycaprolactone@chitosan: Characterization and silver nanoparticles incorporation for antibacterial activity», *Reactive and Functional Polymers*, vol. 107, pp. 87-92, oct. 2016, doi: 10.1016/j.reactfunctpolym.2016.08.010.
- [70] P. Yousefi, G. Dini, B. Movahedi, S. Vaezifar, y M. Mehdikhani, «Polycaprolactone/chitosan core/shell nanofibrous mat fabricated by electrospinning process as carrier for rosuvastatin drug», *Polym. Bull.*, feb. 2021, doi: 10.1007/s00289-021-03566-4.
- [71] J. Li, A. He, J. Zheng, y C. C. Han, «Gelatin and gelatin-hyaluronic acid nanofibrous membranes produced by electrospinning of their aqueous solutions», *Biomacromolecules*, vol. 7, n.º 7, pp. 2243-2247, jul. 2006, doi: 10.1021/bm0603342.

- [72] A. Laha, C. S. Sharma, y S. Majumdar, «Electrospun gelatin nanofibers as drug carrier: effect of crosslinking on sustained release», *Materials Today: Proceedings*, vol. 3, n.º 10, pp. 3484-3491, 2016, doi: 10.1016/j.matpr.2016.10.031.
- [73] «Affecting parameters on electrospinning process and characterization of electrospun gelatin nanofibers», *Food Hydrocolloids*, vol. 39, pp. 19-26, ago. 2014, doi: 10.1016/j.foodhyd.2013.12.022.
- [74] Z.-M. Huang, Y. Z. Zhang, S. Ramakrishna, y C. T. Lim, «Electrospinning and mechanical characterization of gelatin nanofibers», *Polymer*, vol. 45, n.º 15, pp. 5361-5368, jul. 2004, doi: 10.1016/j.polymer.2004.04.005.
- [75] J. Ratanavaraporn, R. Rangkupan, H. Jeeratawatchai, S. Kanokpanont, y S. Damrongsakkul, «Influences of physical and chemical crosslinking techniques on electrospun type A and B gelatin fiber mats», *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 47, n.º 4, pp. 431-438, nov. 2010, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2010.06.008.
- [76] M. Lin *et al.*, «Synergistic Effect of Co-Delivering Ciprofloxacin and Tetracycline Hydrochloride for Promoted Wound Healing by Utilizing Coaxial PCL/Gelatin Nanofiber Membrane», *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 23, n.º 3, Art. n.º 3, ene. 2022, doi: 10.3390/ijms23031895.
- [77] «Elaboration and Characterization of Coaxial Electrospun Poly(ϵ -Caprolactone)/Gelatin Nanofibers for Biomedical Applications», doi: 10.1002/adv.21475.
- [78] D. Sridharan *et al.*, «In situ differentiation of human-induced pluripotent stem cells into functional cardiomyocytes on a coaxial PCL-gelatin nanofibrous scaffold», *Materials Science and Engineering: C*, vol. 118, p. 111354, ene. 2021, doi: 10.1016/j.msec.2020.111354.
- [79] A. Joshi, Z. Xu, Y. Ikegami, S. Yamane, M. Tsurashima, y H. Ijima, «Co-culture of mesenchymal stem cells and human umbilical vein endothelial cells on heparinized polycaprolactone/gelatin co-spun nanofibers for improved endothelium remodeling», *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 151, pp. 186-192, may 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.02.163.
- [80] «About ibuprofen for adults», *nhs.uk*, 14 de diciembre de 2021. <https://www.nhs.uk/medicines/ibuprofen-for-adults/about-ibuprofen-for-adults/> (accedido 28 de enero de 2023).
- [81] «Ibuprofen Oral: Uses, Side Effects, Interactions, Pictures, Warnings & Dosing - WebMD». <https://www.webmd.com/drugs/2/drug-5166-9368/ibuprofen-oral/ibuprofen-oral/details> (accedido 28 de enero de 2023).
- [82] Y. Mao *et al.*, «Potential of a facile sandwiched electrospun scaffold loaded with ibuprofen as an anti-adhesion barrier», *Materials Science and Engineering: C*, vol. 118, p. 111451, ene. 2021, doi: 10.1016/j.msec.2020.111451.
- [83] F. Batool *et al.*, «Synthesis of a Novel Electrospun Polycaprolactone Scaffold Functionalized with Ibuprofen for Periodontal Regeneration: An In Vitro and In Vivo Study», *Materials*, vol. 11, n.º 4, Art. n.º 4, abr. 2018, doi: 10.3390/ma11040580.
- [84] H. Jiang, D. Fang, B. Hsiao, B. Chu, y W. Chen, «Preparation and characterization of ibuprofen-loaded poly(lactide-co-glycolide)/poly(ethylene glycol)-g-chitosan electrospun membranes», *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, vol. 15, n.º 3, pp. 279-296, ene. 2004, doi: 10.1163/156856204322977184.
- [85] K. T. Shalumon *et al.*, «Multi-functional electrospun antibacterial core-shell nanofibrous membranes for prolonged prevention of post-surgical tendon adhesion and inflammation», *Acta Biomaterialia*, vol. 72, pp. 121-136, may 2018, doi: 10.1016/j.actbio.2018.03.044.

- [86] A. A. M. Shimojo, I. C. P. Rodrigues, A. G. M. Perez, E. M. B. Souto, L. P. Gabriel, y T. Webster, «Scaffolds for Tissue Engineering: A State-of-the-Art Review Concerning Types, Properties, Materials, Processing, and Characterization», en *Racing for the Surface: Antimicrobial and Interface Tissue Engineering*, B. Li, T. F. Moriarty, T. Webster, y M. Xing, Eds. Cham: Springer International Publishing, 2020, pp. 647-676. doi: 10.1007/978-3-030-34471-9_23.
- [87] M. P. Paarakh, P. A. Jose, C. Setty, y G. V. Peter, «RELEASE KINETICS – CONCEPTS AND APPLICATIONS».
- [88] M. L. Bruschi, Ed., «5 - Mathematical models of drug release», en *Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems*, Woodhead Publishing, 2015, pp. 63-86. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100092-2.00005-9>.
- [89] Z. Dai, J. Ronholm, Y. Tian, B. Sethi, y X. Cao, «Sterilization techniques for biodegradable scaffolds in tissue engineering applications», *J Tissue Eng*, vol. 7, p. 2041731416648810, ene. 2016, doi: 10.1177/2041731416648810.
- [90] L. Preem *et al.*, «Effects and efficacy of different sterilization and disinfection methods on electrospun drug delivery systems», *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 567, p. 118450, ago. 2019, doi: 10.1016/j.ijpharm.2019.118450.
- [91] S. Tort, F. T. Demiröz, S. Yıldız, y F. Acartürk, «Effects of UV Exposure Time on Nanofiber Wound Dressing Properties During Sterilization», *J Pharm Innov*, vol. 15, n.º 3, pp. 325-332, sep. 2020, doi: 10.1007/s12247-019-09383-7.
- [92] Y. S. Tapia-Guerrero *et al.*, «Effect of UV and Gamma Irradiation Sterilization Processes in the Properties of Different Polymeric Nanoparticles for Biomedical Applications», *Materials*, vol. 13, n.º 5, Art. n.º 5, ene. 2020, doi: 10.3390/ma13051090.
- [93] R. S. Bhattarai, R. D. Bachu, S. H. S. Boddu, y S. Bhaduri, «Biomedical Applications of Electrospun Nanofibers: Drug and Nanoparticle Delivery», *Pharmaceutics*, vol. 11, n.º 1, Art. n.º 1, ene. 2019, doi: 10.3390/pharmaceutics11010005.
- [94] A. Yin, R. Luo, J. Li, X. Mo, Y. Wang, y X. Zhang, «Coaxial electrospinning multicomponent functional controlled-release vascular graft: Optimization of graft properties», *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 152, pp. 432-439, abr. 2017, doi: 10.1016/j.colsurfb.2017.01.045.
- [95] B. Zaarour, L. Zhu, y X. Jin, «Maneuvering the secondary surface morphology of electrospun poly (vinylidene fluoride) nanofibers by controlling the processing parameters», *Mater. Res. Express*, vol. 7, n.º 1, p. 015008, dic. 2019, doi: 10.1088/2053-1591/ab582d.
- [96] J. Zhang, H. Kitayama, y Y. Gotoh, «High strength ultrafine cellulose fibers generated by solution blow spinning», *European Polymer Journal*, vol. 125, p. 109513, feb. 2020, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2020.109513.
- [97] Quiroga-Vergel Angela, Clavijo-Grimaldo Dianney, y Casadiego-Torrado Ciro, «Characterization and Evaluation of Solvent Retention in Polycaprolactone Nano/Microfibers Obtained by Electrospinning and Solution Blow Spinning», *Chemical Engineering Transactions*, vol. 93, pp. 115-120, jul. 2022, doi: 10.3303/CET2293020.
- [98] R. Wright y M. Blitshteyn, «Method and apparatus for measuring contact angles of liquid droplets on substrate surfaces», US5268733A, 7 de diciembre de 1993. Accedido: 2 de enero de 2023. [En línea]. Disponible en: <https://patents.google.com/patent/US5268733A/en?q=5268733>
- [99] Thermo Fisher Scientific, «Spectrophotometric Analysis of Ibuprofen According to USP and EP Monographs», 2020.

- [100] «PBS (Phosphate Buffered Saline) (1X, pH 7.4) Preparation and Recipe | AAT Bioquest». <https://www.aatbio.com/resources/buffer-preparations-and-recipes/pbs-phosphate-buffered-saline> (accedido 3 de enero de 2023).
- [101] «Phosphate-buffered saline (PBS)», *Cold Spring Harb Protoc*, vol. 2006, n.º 1, p. pdb.rec8247, ene. 2006, doi: 10.1101/pdb.rec8247.
- [102] «Phosphate buffered saline powder, pH 7.4, for preparing 1 L solutions | Sigma-Aldrich». <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/p3813?lang=es®ion=CO> (accedido 7 de diciembre de 2020).
- [103] I. Cantón *et al.*, «Development of an Ibuprofen-releasing biodegradable PLA/PGA electrospun scaffold for tissue regeneration», *Biotechnol Bioeng*, vol. 105, n.º 2, pp. 396-408, feb. 2010, doi: 10.1002/bit.22530.
- [104] M. Audumbar, J. Santosh, y T. Ashpak, «Development and Validation of UV Spectrophotometric Estimation of Ibuprofen in Bulk and Tablet Dosage Form Using Area under Curve Method», vol. 2015, n.º 2, 2015.
- [105] A. Heimowska, M. Morawska, y A. Bocho-Janiszewska, «Biodegradation of poly(ϵ -caprolactone) in natural water environments», *Polish Journal of Chemical Technology*, vol. 19, n.º 1, pp. 120-126, mar. 2017, doi: 10.1515/pjct-2017-0017.
- [106] N. B. Erdal, G. A. Lando, A. Yadav, R. K. Srivastava, y M. Hakkarainen, «Hydrolytic Degradation of Porous Crosslinked Poly(ϵ -Caprolactone) Synthesized by High Internal Phase Emulsion Templating», *Polymers*, vol. 12, n.º 8, Art. n.º 8, ago. 2020, doi: 10.3390/polym12081849.
- [107] A. Guarnieri *et al.*, «Antimicrobial properties of chitosan from different developmental stages of the bioconverter insect *Hermetia illucens*», *Sci Rep*, vol. 12, n.º 1, Art. n.º 1, may 2022, doi: 10.1038/s41598-022-12150-3.
- [108] K. Sun y Z. H. Li, «Preparations, properties and applications of chitosan based nanofibers fabricated by electrospinning», *Express Polym. Lett.*, vol. 5, n.º 4, pp. 342-361, 2011, doi: 10.3144/expresspolymlett.2011.34.
- [109] «Q3C — Tables and List Guidance for Industry».
- [110] S. R. Gomes *et al.*, «In vitro and in vivo evaluation of electrospun nanofibers of PCL, chitosan and gelatin: A comparative study», *Materials Science and Engineering: C*, vol. 46, pp. 348-358, ene. 2015, doi: 10.1016/j.msec.2014.10.051.
- [111] E. Saatcioglu *et al.*, «Design and fabrication of electrospun polycaprolactone/chitosan scaffolds for ligament regeneration», *European Polymer Journal*, vol. 148, p. 110357, abr. 2021, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2021.110357.
- [112] L. Cao, F. Zhang, Q. Wang, y X. Wu, «Fabrication of chitosan/graphene oxide polymer nanofiber and its biocompatibility for cartilage tissue engineering», *Materials Science and Engineering: C*, vol. 79, pp. 697-701, oct. 2017, doi: 10.1016/j.msec.2017.05.056.
- [113] John Wiley & Sons, «SpectraBase Compound ID=DReJiCKiDTF SpectraBase Spectrum ID=FdPg9tn4xup», <https://spectrabase.com/spectrum/FdPg9tn4xup>, 23 de enero de 2022. <https://spectrabase.com/spectrum/FdPg9tn4xup> (accedido 23 de enero de 2022).
- [114] «Gelatine - Optional[FTIR] - Spectrum - SpectraBase». <https://spectrabase.com/spectrum/FXP6FivXBOY> (accedido 10 de enero de 2023).
- [115] M. Gong *et al.*, «Icariin-loaded electrospun PCL/gelatin nanofiber membrane as potential artificial periosteum», *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 170, pp. 201-209, oct. 2018, doi: 10.1016/j.colsurfb.2018.06.012.

- [116] J. W. Drexler y H. M. Powell, «Regulation of electrospun scaffold stiffness via coaxial core diameter», *Acta Biomaterialia*, vol. 7, n.º 3, pp. 1133-1139, mar. 2011, doi: 10.1016/j.actbio.2010.10.025.
- [117] Sigma Aldrich, «Product Information Gelatin», 2020.
<https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/product/documents/333/625/g9382pis.pdf> (accedido 12 de enero de 2023).
- [118] S. Gautam, A. K. Dinda, y N. C. Mishra, «Fabrication and characterization of PCL/gelatin composite nanofibrous scaffold for tissue engineering applications by electrospinning method», *Materials Science and Engineering: C*, vol. 33, n.º 3, pp. 1228-1235, abr. 2013, doi: 10.1016/j.msec.2012.12.015.
- [119] M. Adeli-Sardou, M. M. Yaghoobi, M. Torkzadeh-Mahani, y M. Dodel, «Controlled release of lawsone from polycaprolactone/gelatin electrospun nano fibers for skin tissue regeneration», *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 124, pp. 478-491, mar. 2019, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.237.
- [120] H. Alissa Alam, A. D. Dalgic, A. Tezcaner, C. Ozen, y D. Keskin, «A comparative study of monoaxial and coaxial PCL/gelatin/Ploxamer 188 scaffolds for bone tissue engineering», *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, vol. 69, n.º 6, pp. 339-350, abr. 2020, doi: 10.1080/00914037.2019.1581198.
- [121] R. Vasireddi *et al.*, «Solution blow spinning of polymer/nanocomposite micro-/nanofibers with tunable diameters and morphologies using a gas dynamic virtual nozzle», *Sci Rep*, vol. 9, n.º 1, Art. n.º 1, oct. 2019, doi: 10.1038/s41598-019-50477-6.
- [122] D. Clavijo-Grimaldo, C. A. Casadiego-Torrado, J. Villalobos-Elías, A. Ocampo-Páramo, y M. Torres-Parada, «Characterization of Electrospun Poly(ϵ -caprolactone) Nano/Micro Fibrous Membrane as Scaffolds in Tissue Engineering: Effects of the Type of Collector Used», *Membranes*, vol. 12, n.º 6, Art. n.º 6, jun. 2022, doi: 10.3390/membranes12060563.
- [123] W. Tutak, G. Gelven, C. Markle, y X.-L. Palmer, «Rapid polymer fiber airbrushing: Impact of a device design on the fiber fabrication and matrix quality», *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 132, n.º 47, p. n/a-n/a, dic. 2015, doi: 10.1002/app.42813.
- [124] Clavijo-Grimaldo Dianney, Ponce-Zapata Nubia, y Casadiego-Torrado Ciro, «Control of Bacterial Proliferation and Formation of Biofilm in Membranes for Food Packaging Manufactured by Electrospinning», *Chemical Engineering Transactions*, vol. 75, pp. 241-246, jun. 2019, doi: 10.3303/CET1975041.
- [125] A. A. Rakina *et al.*, «Ibuprofen controlled release from E-beam treated polycaprolactone electrospun scaffolds», *J. Phys.: Conf. Ser.*, vol. 1115, p. 032051, nov. 2018, doi: 10.1088/1742-6596/1115/3/032051.
- [126] J. Horakova *et al.*, «Impact of Various Sterilization and Disinfection Techniques on Electrospun Poly- ϵ -caprolactone», *ACS Omega*, vol. 5, n.º 15, pp. 8885-8892, abr. 2020, doi: 10.1021/acsomega.0c00503.
- [127] COBLENTZ SOCIETY, «Trichloromethane», 2018.
<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C67663&Type=IR-SPEC&Index=2> (accedido 23 de enero de 2022).
- [128] COBLENTZ SOCIETY, «Isopropyl Alcohol», 2018.
<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C67630&Type=IR-SPEC&Index=2> (accedido 23 de enero de 2022).
- [129] «Ibuprofen - Optional[FTIR] - Spectrum - SpectraBase».
<https://spectrabase.com/spectrum/AYjMTFKYSNo> (accedido 13 de enero de 2023).

- [130] M. Bartnikowski, T. R. Dargaville, S. Ivanovski, y D. W. Hutmacher, «Degradation mechanisms of polycaprolactone in the context of chemistry, geometry and environment», *Progress in Polymer Science*, vol. 96, pp. 1-20, sep. 2019, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2019.05.004.
- [131] «Polymers | Free Full-Text | Hydrolytic Degradation of Porous Crosslinked Poly(ϵ -Caprolactone) Synthesized by High Internal Phase Emulsion Templating». <https://www.mdpi.com/2073-4360/12/8/1849> (accedido 13 de enero de 2023).
- [132] L. A. Can-Herrera, A. I. Oliva, M. a. A. Dzul-Cervantes, O. F. Pacheco-Salazar, y J. M. Cervantes-Uc, «Morphological and Mechanical Properties of Electrospun Polycaprolactone Scaffolds: Effect of Applied Voltage», *Polymers*, vol. 13, n.º 4, Art. n.º 4, ene. 2021, doi: 10.3390/polym13040662.
- [133] Y. Shi, Z. Wei, H. Zhao, T. Liu, A. Dong, y J. Zhang, «Electrospinning of Ibuprofen-Loaded Composite Nanofibers for Improving the Performances of Transdermal Patches», *J Nanosci Nanotechnol*, vol. 13, n.º 6, pp. 3855-3863, jun. 2013, doi: 10.1166/jnn.2013.7157.
- [134] D. Yixiang, T. Yong, S. Liao, C. K. Chan, y S. Ramakrishna, «Degradation of Electrospun Nanofiber Scaffold by Short Wave Length Ultraviolet Radiation Treatment and Its Potential Applications in Tissue Engineering», <https://home.liebertpub.com/tea>, 4 de agosto de 2008. <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/ten.tea.2007.0395> (accedido 14 de enero de 2023).
- [135] Y. Bai *et al.*, «Testing of fast dissolution of ibuprofen from its electrospun hydrophilic polymer nanocomposites», *Polymer Testing*, vol. 93, p. 106872, ene. 2021, doi: 10.1016/j.polymertesting.2020.106872.
- [136] P. A. Christensen, T. A. Egerton, S. M. Martins-Franchetti, C. Jin, y J. R. White, «Photodegradation of polycaprolactone/poly(vinyl chloride) blend», *Polymer Degradation and Stability*, vol. 93, n.º 1, pp. 305-309, ene. 2008, doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2007.08.008.
- [137] M. M. Machado-Paula *et al.*, «A comparison between electrospinning and rotary-jet spinning to produce PCL fibers with low bacteria colonization», *Materials Science and Engineering: C*, vol. 111, p. 110706, jun. 2020, doi: 10.1016/j.msec.2020.110706.
- [138] T. Riaz, N. Gull, A. Islam, M. R. Dilshad, L. I. Atanase, y C. Delaite, «Needleless electrospinning of poly (ϵ -caprolactone) nanofibers deposited on gelatin film for controlled release of Ibuprofen», *Chem. Pap.*, ene. 2023, doi: 10.1007/s11696-022-02655-6.
- [139] T. Riaz, N. Khenoussi, D. M. Rata, L. I. Atanase, D. C. Adolphe, y C. Delaite, «Blend Electrospinning of Poly(ϵ -Caprolactone) and Poly(Ethylene Glycol-400) Nanofibers Loaded with Ibuprofen as a Potential Drug Delivery System for Wound Dressings», *Autex Research Journal*, vol. {"content-type": "ahead-of-print", "content": 0}, n.º 0, sep. 2021, doi: 10.2478/aut-2021-0017.
- [140] J. R. Dias, A. Sousa, A. Augusto, P. J. Bártolo, y P. L. Granja, «Electrospun Polycaprolactone (PCL) Degradation: An In Vitro and In Vivo Study», *Polymers*, vol. 14, n.º 16, Art. n.º 16, ene. 2022, doi: 10.3390/polym14163397.
- [141] Z.-M. Huang, Y.-Z. Zhang, M. Kotaki, y S. Ramakrishna, «A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites», *Composites Science and Technology*, vol. 63, n.º 15, pp. 2223-2253, nov. 2003, doi: 10.1016/S0266-3538(03)00178-7.