



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD IZTAPALAPA
POSGRADO EN INGENIERÍA BIOMÉDICA

**“MATRICES DE FIBRAS ELECTROHILADAS DE ÁCIDO
POLILÁCTICO (PLA) COMO SISTEMAS DE LIBERACIÓN
CONTROLADA: OBTENCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y
ESTUDIOS DE LIBERACIÓN CON CAFEÍNA”**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:
L.Q. ROBERTO CARLOS MARTÍNEZ HERNÁNDEZ

ASESORES:
DR. ROBERTO OLAYO GONZALEZ
DR. JUAN MORALES CORONA

CIUDAD DE MÉXICO, JULIO DE 2018

JURADO CALIFICADOR:

DRA. G. MAYELI ESTRADA VILLEGAS

DR. ROBERTO ALEXANDER-KATZ KAUFFMANN

DR. JUAN MORALES CORONA

Agradecimientos

A la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, por haberme brindado la oportunidad de continuar mi formación académica en sus aulas y laboratorios.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca número 594791 otorgada para el desarrollo de este proyecto de tesis.

Al Doctor Roberto Olayo González por haberme permitido trabajar bajo su dirección, por el tiempo dedicado a la supervisión de este proyecto, por sus críticas acertadas, por el conocimiento transmitido y por su paciencia.

Al Doctor Juan Morales Corona, quien fungió como mi codirector, gracias por todo el apoyo otorgado para el desarrollo de este trabajo y por sus importantes observaciones y aportaciones.

Un especial agradecimiento a la Doctora Mayeli Estrada Villegas por su importante contribución para la planeación y desarrollo de este proyecto, por sus consejos y su amistad.

A la Ingeniero Patricia Castillo del Laboratorio de Microscopía Electrónica, por su amabilidad en la realización de las microscopías SEM.

Al ingeniero Ricardo Rosas por los análisis de difracción de rayos X.

A los Laboratorios de Docencia en Química bajo la dirección de la Doctora Irais Vega y a la Doctora Judith Cardoso por las facilidades mostradas para el uso del equipo de espectroscopía UV-Visible.

A Omar Favela y Omar Uribe por su apoyo en la obtención de las microscopías Raman-Confocal.

Al Doctor Humberto Vázquez y al Doctor Rafael Godínez por sus valiosas observaciones a mi proyecto.

A mis compañeros del laboratorio, Erika, Gaby, Daniel y Diana quiénes se convirtieron en un gran apoyo dentro y fuera del aula, además de valiosos y entrañables amigos.

A mis compañeros de generación, Blanca y Luis, con quiénes compartí gratos momentos que hicieron más amena mi estancia en la universidad y fueron un importante apoyo en la primera etapa de la maestría, gracias por su amistad.

A Cristina y Juan, mis padres, a quiénes amo profundamente, gracias por brindarme su cariño y apoyo incondicional; siempre estaré en deuda con ustedes y agradecido con Dios por haberles encomendado mi camino.

A mis hermanos, Rocío, Cris, Chuy y Beto quiénes siempre me han apoyado en cada decisión y cuyo ejemplo me impulsa a seguir adelante; espero algún día regresar un poco de lo mucho que me han dado. Un especial agradecimiento a mi hermana Rocío, sin ti, este sueño ahora cumplido, no hubiera sido posible, gracias por confiar en mí.

A mis amigos, Ulises, Carlos, Silvia, Marlene, Jess, Susan, Artur y Adán por brindarme su apoyo siempre que lo necesito.



Dedicatoria

*A mis padres, los principales motores de mi vida,
su amor es la luz que ilumina mi camino.*

*A Cayetano; mi abuelo, mi guía y fortaleza espiritual,
tus enseñanzas y ejemplo regirán por siempre mi camino.*

*A Lesly, Abi, Dieguito, Alan y Jimena, valiosos incentivos que motivan mi
crecimiento personal y profesional.*



Resumen

En el campo de las ciencias farmacéuticas, la liberación controlada se refiere a sistemas de administración de fármacos a los cuales se les ha variado las características de liberación, mediante modificaciones físicas o químicas, con la finalidad de lograr un efecto terapéutico más prolongado en el tiempo. Numerosos materiales y técnicas de fabricación han sido exploradas para la obtención de soportes de liberación, entre las que destacan la potente técnica del electrohilado. El electrohilado permite la fabricación de fibras de polímero a escala nano y micrométrica. Las fibras se generan mediante la aplicación de un campo eléctrico fuerte sobre una solución polimérica. Varios polímeros (sintéticos, naturales e híbridos) se han electrohilado con éxito. Las ventajas de usar fibras electrohiladas en la administración de fármacos incluyen: (1) alta carga de fármaco (hasta 60% en relación con el peso de polímero empleado) y eficiencia de encapsulación del fármaco (hasta 100%), (2) la variedad de polímeros que se pueden electrohilar disminuye el problema de compatibilidad con el fármaco a encapsular (3) capacidad para modular la liberación, variando la composición, morfología o funcionalización de la matriz y (4) simplicidad del proceso y bajo costo. Los polímeros más comúnmente utilizados para liberación sostenida son los poliésteres biodegradables como el ácido poliláctico (PLA), ya que es un material biocompatible, biológicamente inerte y aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), además de que, al ser biodegradable, no es necesario realizar cirugía para extraerlo del cuerpo y sus productos de degradación no son tóxicos. La cafeína es una metilxantina que estimula el sistema nervioso central, creando una condición de vigilia y una mayor actividad mental y motora. Además, se usa en combinación con analgésicos en el tratamiento de algunos tipos de migraña, enfermedad que en casos graves resulta incapacitante. En este estudio, se obtuvieron matrices de fibras de PLA mediante electrohilado cargadas con diferentes concentraciones de cafeína (como fármaco modelo). Para su caracterización morfológica y fisicoquímica se utilizaron las técnicas de microscopía electrónica de barrido (SEM), espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), microscopía Raman confocal, Difracción de Rayos X (DRX), resonancia magnética nuclear (RMN) y análisis termogravimétrico (TGA). El perfil de liberación de cafeína fue obtenido mediante ensayos de liberación *in vitro*, en PBS bajo condiciones controladas. La cuantificación del fármaco se realizó mediante espectroscopía UV-Visible a una longitud de onda de 273 nm. Además, se evaluaron los modelos matemáticos propuestos por Higuchi, Korsmeyer-Peppas y Orden 0 para establecer las cinéticas y mecanismos que rigen la liberación de cafeína desde las matrices de PLA.

Abstract

Controlled release is a field of pharmaceutical science that refers to a drug delivery system whose release properties have been varied through physical or chemical modifications to achieve a longer therapeutic effect over the time. A wide variety of materials and manufacturing techniques have been explored to obtain release matrices. One of the most powerful technique is electrospinning. That is a simple and versatile method to obtain polymer fibers at nano and micrometer scales. Those fibers are generated by the application of a strong electric field on a polymer solution. Several polymers (synthetic, natural and hybrids) have been electrospun successfully. The advantages of the use electrospun fibers in drug delivery include: (1) high drug loading (up to 60%) and drug encapsulation efficiency (up to 100%), (2) a variety of polymers that can be processed by electrospinning mitigate the problem of non-compatibility with the drug to be encapsulated (3) ability to modulate the release, varying the composition, morphology or functionalization of the matrix and (4) simplicity of the process and low cost. Most commonly polymers used for sustained release are biodegradable, polyesters such as polylactic acid (PLA), that is a biocompatible, biologically and inert material approved by the Food and Drug Administration (FDA) has good biodegradability properties that make unnecessary to perform surgery to remove it from the body and its degradation products are not toxic. Caffeine is a methylxanthine that stimulates the central nervous system, creating a wakefulness condition and increased mental and motor activity. In addition, it is used in combination with analgesics in the treatment of some types of migraine, a disease that in severe cases cause incapacity. In this study, matrices of PLA fibers were obtained by electrospinning loaded with different concentrations of caffeine (as a model drug). Morphological and physicochemical characterization was performed using scanning electron microscopy (SEM), infrared spectroscopy with Fourier transform (FTIR), confocal Raman microscopy, X-ray diffraction (XRD) and thermogravimetric analysis (TGA). Caffeine release profile was obtained by in vitro release assays, in PBS under controlled conditions. Drug quantification was performed by UV-Visible spectroscopy at 273 nm. In addition, mathematical models proposed by Higuchi, Korsmeyer-Peppas, and Zero-Order were evaluated to establish the kinetics and mechanisms that govern the caffeine release from the PLA matrices.

Lista de figuras

		Pág.
Figura 1	Perfil de liberación del fármaco en tratamientos de una o múltiples dosis	4
Figura 2	Perfiles de liberación de diferentes sistemas de liberación controlada	7
Figura 3	Esquema de los mecanismos de liberación de fármacos de una matriz polimérica	9
Figura 4	Tipos de dispositivos de liberación controlada de fármacos controlados por difusión	10
Figura 5	Tipos de dispositivos de liberación de fármacos controlada químicamente	12
Figura 6	Configuración básica de un equipo de electrohilado para la fabricación de fibras poliméricas	15
Figura 7	Estructura química de las dos formas isoméricas de PLA	19
Figura 8	Estructura química de la molécula de cafeína	21
Figura 9	Representación gráfica del modelo de orden cero cuyo comportamiento se ajusta a una curva del tipo $f(t) = a + bt$.	27
Figura 10	Representación gráfica del modelo de Higuchi que sigue el Comportamiento de una curva del tipo $f(t) = a + bt^{0.5}$.	28
Figura 11	Micrografía MEB y distribución de diámetros de la matriz de fibras de PLA	43

		Pág.
Figura 12	Micrografías MEB y distribución de diámetros de las matrices de PLA con 10%, 30% y 50% de cafeína.	44
Figura 13	Espectro FTIR de las fibras de PLA y PLA/cafeína	47
Figura 14	TGA y DTG de las formulaciones de PLA/cafeína y de los precursores puros	49
Figura 15	Difractograma de rayos X de las fibras electrohiladas de las tres formulaciones PLA/cafeína y PLA puro	50
Figura 16	Espectro RMN de cafeína pura y de PLA+cafeína	51
Figura 17	Espectro Raman de PLA, cafeína y PLA/cafeína	52
Figura 18	Microscopía Confocal Raman de las matrices de PLA cargadas con 10%, 30% y 50% de cafeína	54
Figura 19	Curva de calibración para la cuantificación de cafeína	55
Figura 20	Perfil de liberación de cafeína soportada en las matrices de PLA	57
Figura 21	Micrografías MEB de las matrices de fibras de PLA al término de los ensayos de liberación de cafeína	58
Figura 22	Comportamiento de la liberación de cafeína de las matrices con 10% y 50%. Las líneas punteadas representan el ajuste mediante el modelo de Korsmeyer-Peppas para la cinética de liberación.	60
Figura 23	Comportamiento de la liberación de cafeína de la matriz con 30% en dos etapas. La línea punteada representa el ajuste mediante Korsmeyer-Peppas y orden cero respectivamente.	61
Figura 24	Modelo combinado de la liberación de cafeína desde la matriz con 30%.	62

Lista de abreviaturas

API	Ingrediente farmacéutico activo (por sus siglas en inglés)
PDF	Forma farmacéutica de liberación (por sus siglas en inglés)
CME	Concentración mínima efectiva
CMT	Concentración mínima tóxica
IT	Índice terapéutico
PLA	Ácido poliláctico
MEB	Microscopía electrónica de barrido
FTIR-ATR	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier y reflectancia total atenuada
TGA	Análisis termogravimétrico
PBS	Buffer salino de fosfatos
ppm	partes por millón
rpm	revoluciones por minuto
m/v	masa/volumen
m/m	masa/masa
UA	unidades de absorbancia

Índice

Agradecimientos	III
Dedicatoria	V
Resumen	VI
Lista de Figuras	VIII
Lista de Abreviaturas	X
Introducción	XIII
1. Fundamento Teórico	
1.1 Liberación de fármacos	2
1.1.1 Sistemas de liberación de fármacos	2
1.1.2 Liberación controlada de fármacos	5
1.1.3 Mecanismos de liberación de fármacos	8
1.2 Electrohilado	14
1.3 Polímeros biodegradables	17
1.3.1 Ácido poliláctico (PLA)	18
1.4 Cafeína	20
1.4.1 Propiedades físicas y químicas	20
1.4.2 Farmacocinética y farmacodinámica	22
1.4.3 Propiedades farmacológicas	22
1.5 Modelamiento matemático de la liberación	25
2. Justificación	31
3. Objetivos	
3.1 Objetivo general	35
3.2 Objetivos específicos	35

4. Metodología Experimental	
4.1 Materiales	37
4.2 Fabricación de las matrices de PLA	37
4.3 Caracterización	38
4.3.1 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	38
4.3.2 Espectroscopia Infrarroja (FTIR-ATR)	38
4.3.3 Análisis Termogravimétrico (TGA)	38
4.3.4 Difracción de Rayos X (DRX) y Resonancia Magnética Nuclear (RMN)	39
4.3.5 Espectroscopía Confocal Raman	39
4.4 Liberación y cuantificación de cafeína	40
4.4.1 Curva de calibración	40
4.4.2 Eficiencia de carga	40
4.4.3 Ensayos de liberación <i>in vitro</i>	41
5. Resultados y Discusión	
5.1 Fabricación de las matrices de PLA	43
5.2 Caracterización fisicoquímica	47
5.3 Estudio de la cristalinidad e integridad de la cafeína	50
5.4 Distribución de cafeína en las fibras de PLA	52
5.5 Curva de calibración	55
5.6 Eficiencia de carga	55
5.7 Perfil de liberación de cafeína	56
5.8 Comparación superficial de las matrices al término de los ensayos de liberación	57
5.9 Modelamiento matemático	58
6. Conclusiones	65
7. Perspectivas	67
8. Referencias	68

Introducción

Los productos de la industria farmacéutica, durante la mayor parte de su historia, han consistido principalmente en compuestos químicos simples, de acción rápida que se suministran por vía enteral (en forma de pastillas, tabletas o jarabes) o bien por la vía parenteral [1]. Estas formas de dosificación presentan numerosas desventajas; por ejemplo, la distribución del fármaco en el organismo se realiza según sus propiedades físicas, tales como su solubilidad, coeficiente de partición y carga; además, sufren degradación parcial antes de que lleguen al punto específico deseado en el cuerpo. En consecuencia, los fármacos pueden alcanzar gran variedad de sitios en los cuales puede que se encuentren fuera de su intervalo terapéutico, que sean inactivados, o que su acción sea indeseada o nociva, y, por tanto, con efectos secundarios negativos.

Actualmente existen dos vías para mejorar la acción de los fármacos:

- a) La liberación controlada, que trata de eliminar o reducir los efectos secundarios produciendo una concentración terapéutica del fármaco que sea estable en el organismo. Idealmente, se trata de alcanzar una cinética de liberación de orden cero y no suelen existir cambios en la concentración del fármaco en el organismo (comparándolo con los cambios intermitentes de concentración en las dosificaciones convencionales), y
- b) Liberación dirigida hacia lugares específicos, que trata de asegurar que el fármaco sea liberado en el lugar requerido, y al mismo tiempo, mantener el fármaco inactivo en cualquier otro lugar del organismo [2].

La liberación controlada de fármacos puede ser usada para lograr: (1) una concentración sostenida constante del principio activo en la sangre con un mínimo de fluctuaciones; (2) liberación predecible y reproducible sobre periodos largos; (3) protección de compuestos bioactivos que tengan un tiempo de vida media muy corto; (4) eliminación de efectos secundarios que los residuos de los fármacos

pudieran ocasionar así como disminuir la dosificación frecuente; (5) optimización de terapias y mejora en el cumplimiento del tratamiento por parte del paciente [3].

En ese sentido, el desarrollo de sistemas de liberación de fármacos que logren una dosificación controlada y entrega específica en el sitio de acción resulta de gran importancia. Para lograr este objetivo, se han investigado una variedad de materiales y técnicas de fabricación de matrices que puedan funcionar como soportes de liberación controlada. Los materiales que más ampliamente se han investigado para lograr tal fin son los polímeros, tales como poliésteres biodegradables como el ácido poliláctico, debido a su facilidad de procesamiento y factibilidad para diseñar y controlar características tales como su forma y tamaño.

Una de las técnicas que recientemente ha recibido gran atención debido a la versatilidad de sus aplicaciones es el electrohilado. Esta técnica permite procesar una variedad de polímeros para obtener matrices de micro y nanofibras que pueden ser usadas como sistemas de liberación controlada de fármacos, además de su uso como andamios en ingeniería de tejidos, así como sistemas de filtración y aplicaciones textiles.

En el campo de la liberación de fármacos, el electrohilado se ha empleado para fabricar una gran cantidad de matrices poliméricas cargadas con distintos agentes farmacológicos, factores de crecimiento y otras moléculas que funcionan como fármaco modelo para conocer el comportamiento de las matrices fabricadas como sistemas de liberación y establecer los mecanismos involucrados aplicando modelos matemáticos.

CAPÍTULO 1

FUNDAMENTO TEÓRICO

1.1 Liberación de fármacos

1.1.1 Sistemas de liberación de fármacos

En las ciencias farmacéuticas, el ingrediente farmacéutico activo (API, por sus siglas en inglés) se administra al cuerpo a través de diferentes rutas utilizando varios vehículos que se denominan sistemas de liberación de medicamentos. El vehículo podría considerarse como un medio para la estabilización de la API que lo hace administrable. Este vehículo puede ser el API en sí mismo (por ejemplo, etanol), o agua en su forma más simple, o pueden ser vehículos altamente especializados tales como liposomas conjugados con anticuerpos. La forma y el método de aplicación del vehículo que se utiliza en este sentido, se llama forma farmacéutica de dosificación (PDF, por sus siglas en inglés). Una PDF proporciona una forma conveniente de consumo, una dosis precisa de los ingredientes farmacéuticos activos, la mejor vía de acción del fármaco y su administración controlada. Protege a la API contra factores ambientales como el pH gástrico, la degradación enzimática u otros factores limitantes dentro del cuerpo, enmascara el sabor y puede proporcionar la entrega al sitio específico de acción. En resumen, las formas farmacéuticas hacen que un ingrediente farmacéutico activo sea administrable.

El proceso para producir un PDF se llama formulación. En la formulación, se usan métodos de mezcla y técnicas de procesamiento apropiadas sobre API y excipientes para producir una forma de dosificación farmacéutica adecuada para la administración de fármacos al cuerpo. Los excipientes (que se cree que no tienen ningún efecto sobre los efectos terapéuticos de un fármaco) son componentes adicionales en un PDF que hacen posible la entrega de la droga al cuerpo, con precisión y de manera adecuada [4,5].

Las formas farmacéuticas más usadas en la actualidad son tabletas, inyectables, suspensiones, cremas, ungüentos, jarabes y aerosoles. Su elección dependerá tanto de sus propiedades fisicoquímicas como también las de la API y sus requisitos terapéuticos [1].

Para todo ingrediente farmacéutico activo (API) existen dos concentraciones límites, que dependen de la naturaleza del fármaco y las interacciones con el organismo, estas son: la concentración mínima efectiva (CME) y la concentración mínima tóxica (CMT) [6]. La CME es un límite que indica que dosis administradas por debajo de ella no presentan valor terapéutico, por lo tanto, el fármaco resulta totalmente ineficaz y; por otra parte, la CMT indica que sobre ella el fármaco resulta tóxico para el organismo.

Con ambos límites se define el índice terapéutico (IT), que relaciona la CMT con la CME:

$$\text{Índice Terapéutico (IT)} = \frac{\text{Concentración mínima tóxica (CMT)}}{\text{Concentración mínima efectiva (CME)}}$$

El objetivo de los sistemas de liberación es mantener el fármaco en el apropiado intervalo terapéutico por un periodo específico. Con los métodos convencionales (como tabletas de liberación inmediata), luego de una dosis única, la concentración del fármaco aumenta hasta un valor máximo (quizás por encima de la CMT) y luego decae hasta una concentración por debajo de la CME debido a procesos farmacocinéticos como la excreción y/o biotransformación metabólica [Fig. 1]. Este método es útil para tratamientos que requieran un periodo corto de acción. Para problemas crónicos, el objetivo es mantener los niveles de fármaco en el intervalo terapéutico por un periodo sostenido. La administración de múltiples dosis es el método para proveer tal efecto. Sin embargo, estas terapias presentan múltiples desventajas, incluyendo variaciones de los niveles plasmáticos del fármaco durante el tratamiento y requiere el cumplimiento del paciente con la dosis que requiere el régimen [7,8].

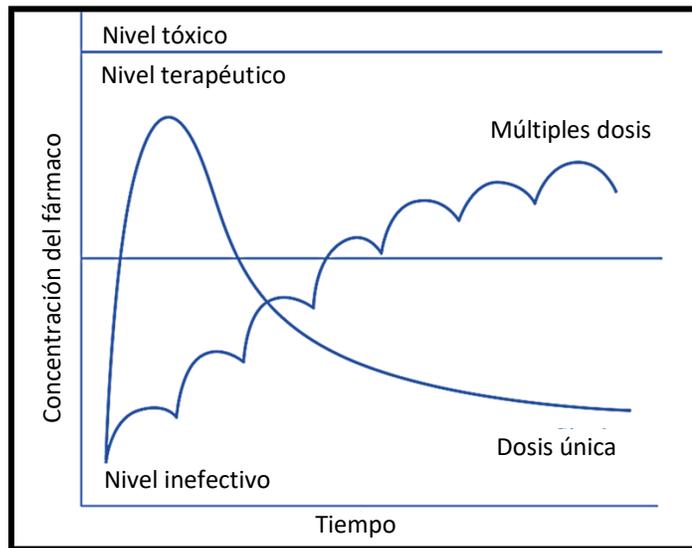


Figura 1. Perfil de liberación del fármaco en tratamientos de una o múltiples dosis.

Adaptada de Wang et al. [8]

Para solucionar este problema se han desarrollado los sistemas de liberación controlada de fármacos, los cuales son tecnologías de la ingeniería a los cuales se les ha variado las características de liberación del fármaco, mediante modificaciones de tipo físico o químico, con el fin de conseguir una liberación en un sitio específico (Targeted Drug Delivery) y/o lograr un efecto más prolongado en el tiempo (Controlled Drug Delivery) [9].

Este tipo de sistemas presentan múltiples ventajas como son: intervalos de dosificación más amplios, lo que conlleva a un menor número de tomas al día, debido al sostenimiento del fármaco en los niveles plasmáticos; disminución de efectos secundarios, dado por la posibilidad de liberación en sitios específicos y porque las fluctuaciones dentro del intervalo terapéutico se hacen menores; adecuación a la farmacocinética particular, puesto que es posible variar la velocidad de liberación del fármaco, entre otros [3], conllevando a que este tipo de sistemas le confieran un valor agregado a fármacos ya existentes en el mercado.

1.1.2 Liberación controlada de fármacos

Los sistemas de liberación controlada de fármacos pueden ser definidos como dispositivos químicos, mecánicos o electromecánicos capaces de liberar sustancias farmacológicas activas en el sistema circulatorio o en sitios específicos del cuerpo a tasas de liberación predeterminadas y controladas [10,11]. El sistema ideal debería poder liberar el fármaco dentro del cuerpo a la tasa requerida durante el tiempo que dure el tratamiento y liberarlo específicamente en el sitio de acción. En general, las tasas de liberación son determinadas por el diseño del sistema y son casi independientes de las condiciones ambientales, como el pH. Estos dispositivos también pueden liberar el fármaco durante un intervalo amplio de tiempo [12].

Los sistemas de liberación controlada ofrecen variadas ventajas, entre las que se pueden mencionar:

- Mejora en la administración de fármacos que presentan escasa solubilidad en agua, fármacos sensibles a pH ácido, que presentan efectos adversos a nivel del tracto gastrointestinal o que es necesario mantener concentraciones estables en un largo periodo de tiempo.
- Mejora en el cumplimiento del tratamiento dado que:
 - Simplifica la posología al aumentar los intervalos de administración.
 - Se reduce los riesgos de olvidos evitando problemas relacionados con el incumplimiento de los pacientes.
- Se logran mantener niveles sanguíneos constantes dentro del margen terapéutico, de este modo se minimizan o se eliminan los efectos adversos provocados por una liberación rápida, como ocurre en algunos sistemas de liberación convencional.
- Se utilizan menos cantidades de principio activo, ya que no es necesario aumentar la dosis total para obtener niveles elevados del fármaco en un tiempo prolongado.
- Mejoran la absorción de fármacos que cursan procesos de absorción saturables, puesto que son liberados lentamente desde la forma farmacéutica [3,13].

Los sistemas de liberación controlada se pueden dividir en cuatro tipos, los cuales se describen a continuación:

- a) Sistemas de liberación retardada: Estos sistemas liberan el fármaco completamente después de 2 a 4 horas de su administración. Su objetivo generalmente es sobrepasar la barrera gástrica, de manera que el fármaco sea liberado en la zona intestinal de forma inmediata. Las tabletas gastroresistentes y los sistemas de liberación a nivel de colon son ejemplos de estos sistemas
- b) Sistemas de liberación prolongada: este tipo de sistemas presenta una cesión inicial de una cierta cantidad del fármaco que logra una respuesta terapéutica. Después, la liberación continúa de manera lenta pero no constante, lo que ocasiona que los niveles plasmáticos varíen dentro del intervalo terapéutico y su comportamiento se describe como una curva amplia en función del tiempo. Algunos ejemplos son los sistemas matriciales hidrofílicos y lipofílicos.
- c) Sistemas de liberación sostenida: en estas formulaciones, después de una cesión parcial del fármaco, con la que se consigue una respuesta terapéutica inicial, la liberación continúa de manera uniforme, asegurando niveles plasmáticos terapéuticos durante un tiempo relativamente largo, por lo general 24 horas. Este tipo de sistemas generalmente presenta una cinética de liberación de orden cero, manteniendo constante la concentración plasmática del principio activo. Un ejemplo de estos sistemas son las bombas osmóticas.
- d) Sistemas de liberación repetida: en estas formas farmacéuticas se da una liberación inicial, correspondiente a una dosis del principio activo y después de transcurrido un tiempo determinado, otra dosis similar. Estos sistemas logran suministrar dos o más dosis de fármaco a determinados intervalos de tiempo. Ejemplo de estos sistemas son los microgránulos o pellets encapsulados, con diferentes velocidades de liberación del activo en función del tipo de recubrimiento que tengan [14-16].

Los sistemas de liberación controlada mantienen niveles del fármaco más consistentes que si se emplearán múltiples dosis manteniendo la ventaja de requerir menos dosis, lo que ayuda al cumplimiento del tratamiento por parte del paciente. La desventaja de estos sistemas de liberación es su incapacidad para detener la liberación si reacciones adversas son observadas en el paciente [4]. La concentración plasmática característica de cada sistema de liberación controlada se muestra en la Figura 2.

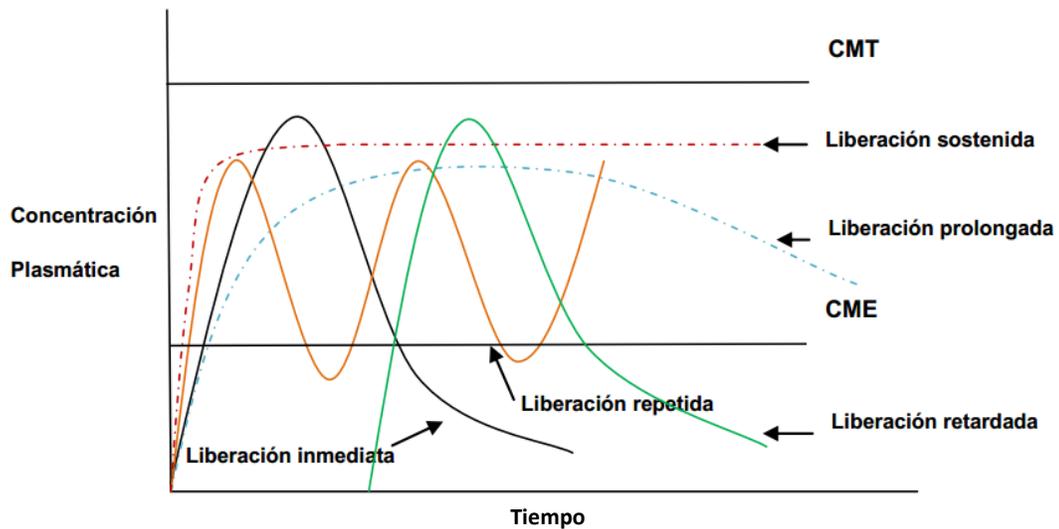


Figura 2. Perfiles de liberación de diferentes sistemas de liberación controlada [17].

Las propiedades fisicoquímicas de la droga son críticas en el diseño de la forma de dosificación farmacéutica. La solubilidad, estabilidad y el pH pueden afectar fuertemente la liberación efectiva del fármaco de un dispositivo de liberación controlada.

Los sistemas basados en materiales poliméricos están ganando atención e interés porque pueden lograr una mejor respuesta farmacológica. Estos sistemas son una herramienta apropiada para la distribución y el suministro controlado de medicamentos. Los mecanismos implicados en la liberación requieren polímeros con una variedad de propiedades fisicoquímicas. Por lo tanto, se han probado varios tipos de polímeros (naturales y sintéticos) como posibles sistemas de administración

de fármacos, en formas que incluyen nanopartículas y micropartículas, dendrímeros, nano y microesferas, capsosomas, micelas y micro y nanofibras. En todos estos sistemas, los fármacos pueden encapsularse o conjugarse en la matriz. Estos sistemas poliméricos se han utilizado para una amplia gama de tratamientos, por ejemplo, actividad antineoplásica, infecciones bacterianas y procesos inflamatorios, además de vacunas [18,19]. De manera general, de acuerdo con el método de encapsulación, los sistemas de liberación basados en polímeros pueden clasificarse como sistemas depósito y sistemas matriciales, y diversos mecanismos físicos y químicos están involucrados en la liberación del fármaco contenido en ellos.

1.1.3 Mecanismos de liberación

En la mayoría de los sistemas de liberación controlada, el fármaco o cualquier otro agente biológico, se introduce en el interior de lo que se denomina transportador, pudiendo ser este, un polímero. La velocidad deseada de liberación de la sustancia está prácticamente controlada por las propiedades del polímero, aunque, por otra parte, existen otros factores de menor influencia, tales como el pH del medio en el que se va a realizar la liberación.

Existen 3 mecanismos generales mediante los cuales es posible clasificar los sistemas de liberación controlada basados en polímeros: (1) sistemas controlados por difusión, (2) sistemas activados por un disolvente y (3) sistemas controlados químicamente [20]. La Fig. 3 ilustra de manera esquemática los diferentes mecanismos de liberación.

a) Sistemas controlados por difusión

Son sistemas en los cuales la matriz permanece intacta y su permeabilidad inalterada hasta que la droga que contiene se libere [21]. Los sistemas controlados por difusión involucran dos tipos: depósito y matriz.

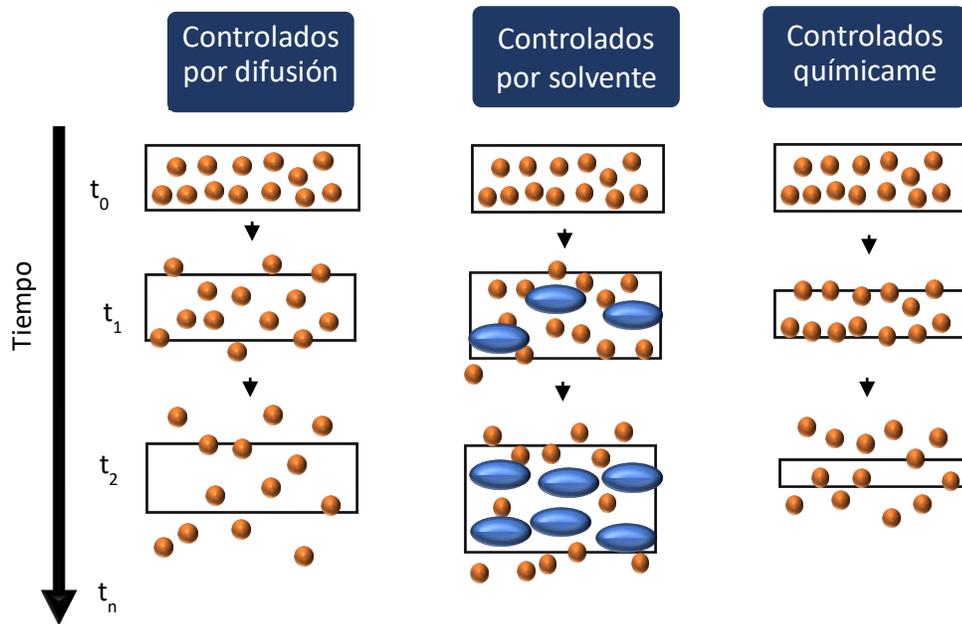


Figura 3. Esquema de los mecanismos de liberación de fármacos de una matriz polimérica. Adaptada de Bajpai et al [21].

Un depósito es generalmente esférico, cilíndrico o en forma de disco y consiste en un núcleo de fármaco en forma de polvo o líquido. Una capa de material polimérico no biodegradable, a través del cual el fármaco se difunde lentamente, rodea el núcleo. Las propiedades del fármaco y el polímero gobiernan la velocidad de difusión del fármaco y su velocidad de liberación en el torrente sanguíneo. Uno de los problemas con este sistema es debe ser eliminado del cuerpo después de que el fármaco se haya agotado debido a que el polímero permanece intacto. Otro posible problema es que, si la membrana del reservorio se rompe accidentalmente, una gran cantidad de droga puede liberarse repentinamente en el torrente sanguíneo.

En el tipo matriz, el fármaco se distribuye uniformemente por toda la matriz del polímero y se libera a una velocidad uniforme a medida que las partículas del fármaco se desprenden de la red del polímero. En un sistema de este tipo, a diferencia del de depósito, aquí no hay peligro de descarga elevada de fármaco en caso de una ruptura accidental de la membrana [20].

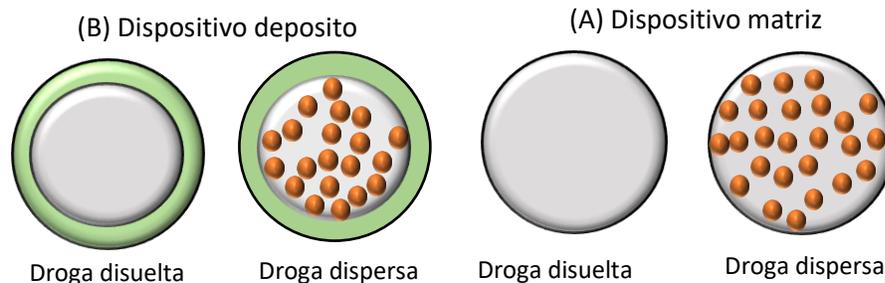


Figura 4. Tipos de dispositivos de liberación controlada de fármacos controlados por difusión.

El fármaco se puede disolver o dispersar dentro del dispositivo como lo muestra la Fig. 4. La liberación por difusión de un fármaco dispersado en una matriz polimérica ocurre en cuatro pasos:

1. Disolución del fármaco en el polímero o poros circundantes
2. Difusión molecular del fármaco o a través del polímero por gradiente de concentración
3. Desorción del fármaco de la matriz polimérica.
4. Difusión en el medio externo o tejido.

En el caso de un fármaco disuelto, la fuerza de conducción termodinámica es el gradiente de concentración y las predicciones de liberación se pueden realizar con base en la ley de difusión de Fick. Cuando el fármaco se dispersa como partículas en lugar de disolverse, se puede usar una ecuación derivada de la ley de Fick para predecir las tasas de liberación.

La liberación difusional depende de la solubilidad relativa (o permeabilidad) y difusividad del fármaco tanto en la membrana como en el medio circundante. El tamaño molecular del fármaco determina en gran medida su difusividad, que es proporcional a su peso molecular [21].

b) Sistemas controlados por el disolvente

Estos sistemas se dividen en dos: sistemas controlados osmóticamente y sistemas controlados por hinchamiento. En el sistema osmótico, un fluido externo que contiene una baja concentración de un fármaco se mueve a través de una membrana semipermeable a una región dentro del dispositivo, donde el fármaco se encuentra en alta concentración. La presión osmótica tiende a disminuir el gradiente de concentración entre un lado de la membrana y el otro. El movimiento hacia adentro del fluido fuerza al fármaco disuelto a salir del dispositivo a través de un pequeño orificio.

En los sistemas controlados por hinchamiento, el polímero retiene una gran cantidad de agua sin disolverse [20,22]. Estos sistemas están inicialmente secos y cuando se colocan en un cuerpo absorberán agua u otros fluidos corporales y se hincharán. El hinchamiento aumenta el contenido de disolvente acuoso dentro de la formulación, así como el tamaño del polímero, lo que permite que el fármaco difunda a través de la red hinchada hacia el entorno externo [21].

c) Sistemas controlados químicamente

Los sistemas controlados químicamente también se dividen en dos clases [Fig. 5]: sistemas de matriz covalente (a veces llamados de "cadena colgante") y sistemas biodegradables. Un sistema covalente es aquel en el que la molécula del fármaco está químicamente unida a la cadena principal del polímero. En el cuerpo, en presencia de enzimas y fluidos biológicos, la liberación del fármaco ocurre mediante hidrólisis química o escisión enzimática a una velocidad controlada. El medicamento se puede unir directamente al polímero a través de diversos grupos funcionales.

En los sistemas biodegradables, el fármaco se dispersa uniformemente por todo el polímero y se libera lentamente a medida que el polímero se desintegra. Dos ventajas principales de estos sistemas son: (1) los polímeros no tienen que ser eliminados del cuerpo después de que se agote el suministro del medicamento, y (2) el medicamento no tiene que ser soluble en agua. De hecho, debido a estos

factores, es probable que el uso de polímeros bioerosionables aumente más que cualquier otro tipo de polímero en el futuro [21, 3]



Figura 5. Tipos de dispositivos de liberación de fármacos controlada químicamente

Aunque cada mecanismo se discutió por separado, en la mayoría de los casos, los dispositivos de liberación de fármacos actúan mediante una combinación de los tres mecanismos. El marco temporal en el que se libera el fármaco a menudo define el mecanismo que controla la liberación. Las condiciones óptimas en las tasas de liberación del fármaco se pueden lograr mediante variaciones del peso molecular del polímero, composición química de la matriz, el tamaño de las partículas y la concentración del fármaco.

Los dispositivos hechos de polímeros biodegradables pueden ser implantados en sitios específicos del cuerpo logrando una liberación puntual del fármaco o ser liberados en el sistema circulatorio para que lleguen a un sitio específico. Particularmente, vehículos como micro y nanopartículas son adecuados para ambas aplicaciones, es decir, se pueden usar como implantes y pueden ser inyectados, mientras que dispositivos cilíndricos y de mayor tamaño son destinados para usarse como implantes [23].

Recientemente, matrices de nano y microfibras, han sido usados en el campo de la ingeniería biomédica como sistemas de liberación de fármacos, que, aunado a su uso como andamios en ingeniería de tejidos, le confieren doble valor. Además, la técnica permite modular la liberación variando las características de las matrices. La ventaja principal de estos sistemas es que al poder ser implantado en un sitio

específico o de manera transdermal ofrece la posibilidad de liberar cualquier agente terapéutico desde la matriz polimérica al cuerpo receptor [24,25].

La técnica de electrospinning o electrohilado, comparada con otros métodos, proporciona gran flexibilidad en la selección de materiales que pueden ser procesados y aplicados en administración de fármacos. Ha sido ampliamente estudiada durante los últimos años gracias a la posibilidad de crear fibras en escala micro y nanométrica, además, esta técnica aporta a los elementos desarrollados diversas características que la hace atractiva a nivel biotecnológico [19-26].

1.2 Electrohilado

La técnica de electrohilado es un método simple y versátil para la fabricación de fibras de polímero a escala nano y micrométrica. Las fibras ultrafinas se generan mediante la aplicación de un campo eléctrico sobre la solución polimérica [27]. Las principales características de las fibras generadas son: una mayor superficie por unidad de área, volumen, flexibilidad para su funcionalización de superficie y propiedades mecánicas superiores a las de las fibras de mayor tamaño [28].

La configuración de un equipo de electrohilado consta de tres componentes principales: una fuente de alimentación de alto voltaje, una bomba inyectora (conectada a una aguja metálica) y un colector (con conexión a tierra) como se muestra en la Fig. 6 [19]. En el proceso de electrohilado, la solución polimérica contenida en la jeringa se alimenta a través de la bomba inyectora a una velocidad constante y controlada; mediante la aplicación de un alto voltaje (usualmente en el rango de 1-30 kV) lo cual generará un campo eléctrico entre la punta de la aguja y el colector metálico. Como resultado, sobre la superficie de la gota de solución polimérica en la punta de la aguja se induce una carga uniformemente distribuida. Bajo la acción de las interacciones electrostáticas, la gota se distorsiona en un objeto cónico que se conoce como "cono de Taylor" como se muestra en la Fig. 6 [29,30]. Una vez que la fuerza de las interacciones electrostáticas entre el campo eléctrico externo y las cargas superficiales en el cono de Taylor sobrepasa un valor umbral, la fuerza electrostática puede vencer la tensión superficial de la solución polimérica lo que genera que esta se expulse continuamente como un chorro de líquido cargado eléctricamente el cual es atraído por el colector conectado a tierra. Durante este recorrido, el disolvente se evapora y las fibras de polímero sólido se depositarán como una estera no tejida sobre la superficie del colector [31,32].

La morfología de las fibras electrohiladas depende de parámetros relacionados con la solución polimérica, parámetros intrínsecos al proceso de electrohilado y parámetros ambientales. Aquellos relacionados a la solución son su viscosidad, conductividad y tensión superficial y los pertenecientes al proceso, son variables

controlables como la presión hidrostática en el capilar (flujo), el voltaje aplicado y la distancia aguja-colector. Los parámetros ambientales incluyen la temperatura, humedad y velocidad del aire en la cámara de electrohilado. [33,34]. Por lo tanto, variando estos parámetros se puede obtener una diversidad de tamaño y morfología de la fibra.

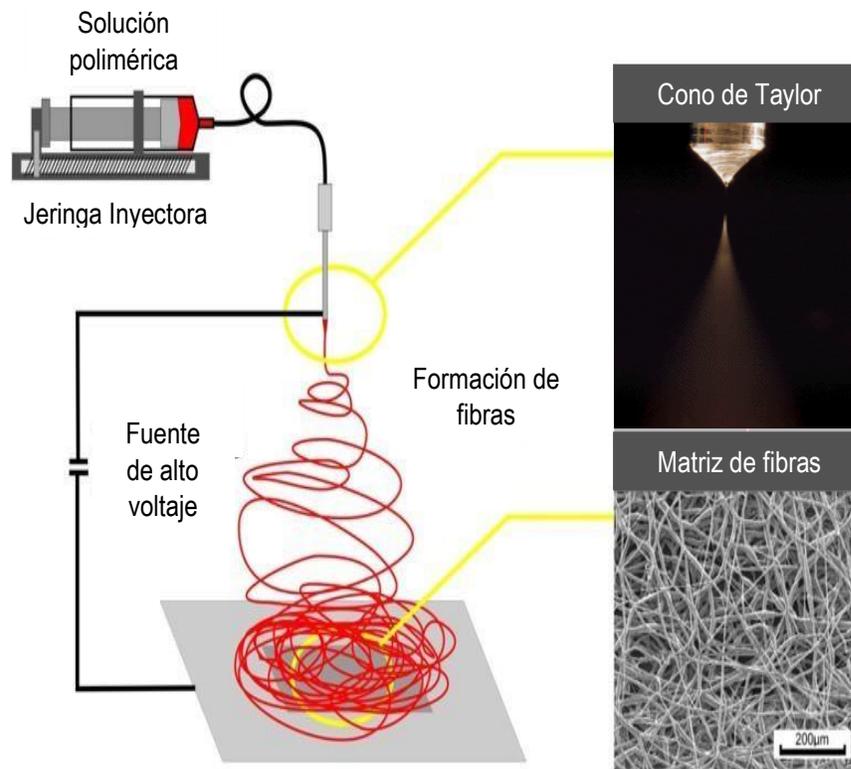


Figura 6. Configuración básica de un equipo de electrohilado para la fabricación de fibras poliméricas. Adaptado de Pillay et al [35].

Como sistemas de liberación, pueden emplearse para transportar diversos tipos de fármacos, genes y factores de crecimiento. El perfil de liberación que seguirán estará dado por su morfología, porosidad y su composición, por lo tanto modulando estas variables el perfil se puede controlar de manera precisa [24].

Las ventajas de utilizar fibras electrohiladas en la administración de fármacos incluyen: (I) alta carga de fármaco (de hasta un 60% en relación con el peso de

polímero empleado) y eficacia de encapsulación (hasta 100% del fármaco encapsulado), (II) capacidad de modular la liberación, y (III) simplicidad y bajo costo del proceso [36-39].

Existen diversas vías para la carga del fármaco que dependen de las propiedades de este y del polímero empleado. Si ambos son solubles en el mismo solvente, el fármaco se puede disolver directamente en la solución polimérica, o en el caso contrario, el fármaco puede ser solubilizado en otro disolvente antes de añadirlo a la solución de polímero. [40-42]. Otra vía cuando se presenta insolubilidad del fármaco y polímero en un disolvente común es la obtención de dos soluciones separadas, es decir, el fármaco se puede disolver en un disolvente que no sea miscible con aquel en el que se disuelve el polímero y las dos soluciones se pueden cargar en capilares separados para electrohilarse coaxialmente, o las dos soluciones podrían mezclarse, dando como resultado una emulsión que puede ser electrohilada. Los métodos anteriores, dan como resultado la encapsulación del fármaco en la matriz polimérica. Sin embargo, también se puede cargar el fármaco una vez obtenida la matriz polimérica, sumergiéndola en una solución de fármaco dando lugar una absorción/adsorción superficial [43-45].

La liberación del fármaco a partir de matrices de nanofibras se debe principalmente a los mecanismos de: desorción superficial de la fibra, difusión a través de los canales y poros de las fibras o degradación de la matriz [19]. Retomando los puntos mencionados a lo largo de este apartado, la cinética de liberación del fármaco puede modularse mediante la elección del polímero y mediante el control sobre el diámetro, la porosidad, la geometría y la morfología de las fibras mediante el ajuste de las diversas variables del proceso de electrohilado.

1.3 Polímeros usados en liberación de fármacos

Los polímeros sintéticos (Fig. 7) fueron algunos de los biomateriales más antiguos utilizados para la administración de fármacos. Esta clase de materiales mostró ventajas muy importantes como una fácil producción a gran escala y propiedades altamente ajustables, en contraposición con las ventajas de los polímeros derivados naturalmente, lo que contribuyó al desarrollo de gran cantidad de formulaciones presentes en la literatura. Además, es evidente la posibilidad de reducir los riesgos alérgicos utilizando un material biocompatible completamente artificial carente de proteínas animales [46,47].

Entre los polímeros sintéticos, los poliésteres están ganando cada vez más interés en la industria y la investigación. Son una clase de polímeros que contienen un enlace éster alifático en su cadena principal, lo que permite su degradación a través de la hidrólisis de este enlace. Las ventajas de estos polímeros son su biocompatibilidad y su variación en la velocidad de degradación en función de (1) su peso molecular, (2) su grado de cristalinidad y (3) la composición de sus comonómeros y/o aditivos [48].

La mayoría de los sistemas poliméricos biodegradables aplicados en medicina actualmente son poliésteres como el ácido poliláctico (PLA), el ácido poliglicólico (PGA), el ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA) y la poli(ϵ -caprolactona) (PCL) [49].

Sin embargo, en años recientes, el ácido poliláctico ha recibido gran interés, debido a que puede ser sintetizado de fuentes renovables, a su alta pureza, procesamiento conveniente y buenas propiedades mecánicas, además de su biodegradabilidad y biocompatibilidad (sus productos de degradación pueden reabsorberse a través de rutas metabólicas normales); características que lo perfilan como un excelente candidato como soporte de liberación controlada [50,51,22]

1.3.1 Ácido poliláctico (PLA)

El PLA es sintetizado a partir de L y D ácido láctico, que se produce a partir de la fermentación del azúcar y polisacáridos como el maíz, almidón y otras fuentes renovables [53]. La polimerización del ácido láctico puede ser por dos vías, por apertura del anillo [54] o polimerización por condensación [55].

Debido a que la molécula de PLA tiene un carbono quiral, existen dos isómeros ópticos (Fig. 7), el D (-) y el L (+) (a veces como R y S, respectivamente) y una forma racémica constituida por fracciones equimolares de las formas D (-) y L (+). Para los homopolímeros, las formas enantioméricas son poli (D-ácido láctico) (PDLA) y poli (L-ácido láctico) (PLLA). Las propiedades fisicoquímicas de PDLA y PLLA ópticamente activos son casi las mismas, mientras que el PLA racémico tiene características muy diferentes. Por ejemplo, PLLA tiene una Tg 56 ° C y es altamente cristalino con una Tm de 170°C [56], mientras que el PLA racémico, poli (DL-láctico) (PDLLA) es un polímero amorfo debido a la distribución aleatoria de las unidades L- y D-láctico y tiene una temperatura de transición vítrea de 55-60 °C. Debido a su naturaleza amorfa, el polímero muestra propiedades mecánicas diferentes, por ejemplo, su resistencia es mucho menor (1,9 GPa) en comparación con el poli (L-láctico). Este polímero pierde su fuerza dentro de 1-2 meses cuando se hidroliza y sufre una pérdida de masa en 12-16 meses [57]. Al ser un polímero de baja resistencia con una tasa de degradación más rápida en comparación con el poli (L-láctido), es un candidato preferido para desarrollar vehículos de administración de fármacos y como material de andamiaje de baja resistencia para la regeneración de tejidos [58].

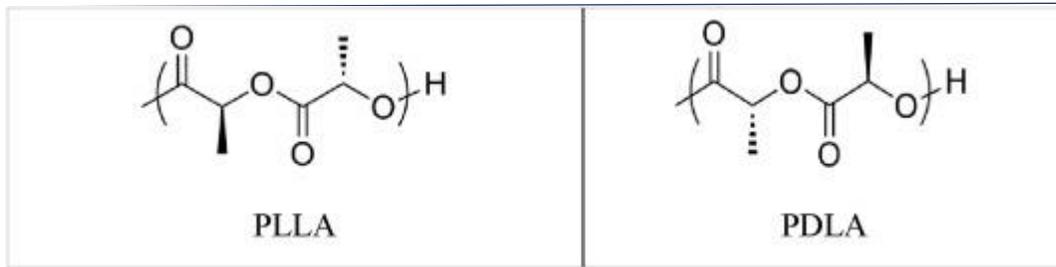


Figura 7. Estructura química de las dos formas isoméricas de PLA.
(A) L-láctico y (B) D-Láctico. Tomada de Gu et al. [60].

Las polilactidas experimentan degradación hidrolítica a través del mecanismo de erosión a granel mediante la escisión aleatoria de la cadena principal del éster. Se degrada en ácido láctico, un subproducto metabólico humano normal, que se descompone en agua y dióxido de carbono a través del ciclo del ácido cítrico [57,59]. La biocompatibilidad del monómero es la base de la biocompatibilidad de los sistemas de polímeros degradables. Con este fin, los productos de degradación a menudo definen la biocompatibilidad de un polímero, no necesariamente el polímero en sí [56].

1.4 Cafeína

La cafeína se extrae en gran escala de la planta *Coffea arabica*, que se originó en Etiopía y se extendió a otras regiones del mundo entre los siglos XII y XV A.C. En la actualidad, la cafeína es el principio activo más consumido en el mundo, comúnmente en forma de bebidas como café, té o refrescos, aunque también como componente de muchos preparados farmacéuticos. Estimaciones muestran que cerca del 80% de la población consume diariamente productos que contienen cafeína [61, 62].

Como parte de formulaciones médicas, la cafeína es utilizada como un estimulante del sistema nervioso central, siendo indicada por vía intravenosa para tratar la apnea en neonatos bajo la forma de citrato de cafeína [63, 64].

Es utilizada junto con benzoato de sodio como un estimulante o para el tratamiento de la cefalea posterior a la anestesia subaracnoidea. También es usada en combinación con antiinflamatorios y analgésicos, en diversos medicamentos para el tratamiento de la cefalea, potenciando su efecto [65].

1.4.1 Propiedades físicas y químicas

La cafeína está catalogada dentro del grupo de las metilxantinas, sustancias derivadas de las purinas, su fórmula química es $C_8H_{10}N_4O_2$ y su estructura molecular se muestra en la Fig. 8.

Se presenta como un sólido cristalino blanco y de sabor amargo. Es una molécula orgánica de peso molecular de 194.19 g/mol, su nombre IUPAC es 1,3,7-trimetilpurina-2,6-diona y tiene un punto de fusión de 235°C.

La cafeína es soluble en agua, 1 g se disuelve en 46 ml de agua a 20°C, en 5.5 ml a 80°C y 1.5 ml de agua hirviendo. También es soluble en solventes orgánicos como cloroformo (1 g en 5.5 mL), etanol, acetona, benceno, entre otros. Su pKa es de 10.4.

Una solución que contiene 1 g de cafeína en 100 mL de agua tiene un pH de 6.9 [66].

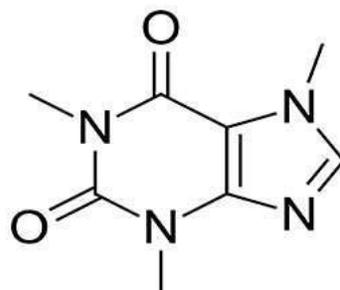


Figura 8. Estructura química de la molécula de cafeína.

La cafeína se encuentra de forma natural en hojas de té, granos de café, hojas de mate, pasta de guaraná y nueces de cola. La cafeína se puede obtener mediante extracción con solventes orgánicos de productos naturales o como subproducto de la producción de café descafeinado u otros productos de consumo con la misma característica. El proceso semisintético involucra la metilación de varias xantinas, incluida la teofilina y teobromina. Sin embargo, las rutas sintéticas más actuales, utilizan dimetilurea y ácido malónico como precursores, pero estos métodos son menos comunes.

La cafeína pura es un producto muy estable, pero llega a descomponerse por la presencia de bases y por calentamiento. La polimerización de cafeína no ocurre.

En cuanto a propiedad espectrales, la cafeína presenta un máximo de absorción en el rango UV-Vis a 273 nm, longitud de onda más empleada para su determinación mediante espectrometría UV-Vis. El espectro infrarrojo (FTIR) muestra bandas entre 1800 cm^{-1} y 1500 cm^{-1} y una banda adicional en 1050 cm^{-1} , y las bandas más intensas ocurren a 1710 cm^{-1} (grupo carbonilo), 1659 (grupo carbonilo) y 1554 cm^{-1} [67].

1.4.2 Farmacocinética y farmacodinámica

Después de la administración por vía oral, la concentración plasmática máxima ocurre de 30 minutos a 2 horas y puede ser prolongado con la ingesta de alimentos. La cafeína es absorbida por el tracto intestinal de forma rápida y total, presentando una biodisponibilidad del 100% y una alta solubilidad, tanto en el agua como en los solventes orgánicos no polares. Su vínculo con las proteínas plasmáticas, principalmente con la albúmina, es de un 10% a un 35% y el volumen de distribución es de 0,6 a 0,7 L.kg⁻¹. La cafeína atraviesa rápidamente las membranas celulares, como también la barrera hematoencefálica y placentaria, alcanzando grandes concentraciones en todo el cuerpo, inclusive en el encéfalo [68,69].

Hasta ahora, ya se han descrito 25 metabolitos de la cafeína, ocurriendo su metabolismo en el hígado por desmetilación por la CYP1A2. Las grandes diferencias observadas en la concentración plasmática de la cafeína en cada individuo, después de la administración de la misma dosis, están relacionadas principalmente con las variaciones del metabolismo. La subfamilia CYP1A2 de la isoenzima citocromo P450, metaboliza por desmetilación la mayor parte de la cafeína (95%) transformándola en paraxantina (85%), teobromina (10%) y teofilina (5%). Parte de la cafeína es metabolizada por la CYP1A2 en monoxantinas, que serán sustrato de la xantino-oxidasa. La N-acetiltransferasa-2 metaboliza la paraxantina a la AFMU. Participan de forma minoritaria otras enzimas, tales como CYP2E1 y CYP3A3 [70,71].

1.4.3 Propiedades farmacológicas

La administración de cafeína afecta la función de los sistemas cardiovascular, respiratorio, renal y nervioso como resultado de la acción en diversos objetivos moleculares a través de diversos mecanismos [72]:

1. Antagonismo de los receptores de adenosina
2. Inhibición de fosfodiesterasas
3. Liberación de calcio

-
4. Antagonismo de receptores de benzodiazepina
 5. Acción en receptores GABAA
 5. Otros

La cafeína tiene efectos estimulantes en el sistema nervioso central, creando una condición de vigilia e incrementando la actividad mental y motora. Los efectos estimulantes de la cafeína provienen de su interacción con receptores de adenosina.

La cafeína es antagonista de los receptores de adenosina, de tal forma que la inhibición de la adenosina sumada a la liberación de la noradrenalina en el sistema nervioso simpático, provocan un estado de estimulación en el que las reservas corporales se movilizan, ocurre un aumento en la tasa de activación de las neuronas noradrenérgicas, produciendo efectos de estimulación cardíaca, aumento de la presión arterial, reducción de la movilidad intestinal, todas estas reacciones prepararan al cuerpo para estar en un estado de alerta.

Aumenta la sensibilidad del centro respiratorio bulbar al dióxido de carbono, estimula el impulso respiratorio central y aumenta la contracción de la musculatura esquelética, mejorando la contractilidad diafragmática. La prevención de la apnea puede ocurrir por medio de la inhibición competitiva de la adenosina [73].

La cafeína se usa para el tratamiento de la depresión respiratoria en los adultos, por vía intramuscular o venosa [8]. Las xantinas y sus análogos heterocíclicos han sido desarrollados para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. El consumo de bebidas que contienen cafeína parece protegernos de esa enfermedad [74].

Existe una extensa literatura sobre los posibles efectos anticancerígenos de la cafeína y de otras xantinas. Fue reportado el efecto antimetastásico de la cafeína en un modelo de tumor de mamas en ratones [75,76]. Los antagonistas de los receptores de adenosina A2a parecen tener un papel en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson, y el consumo de bebidas que contengan cafeína parece estar asociado con un menor riesgo de desarrollarla [77,78]

Es usada en el tratamiento de algunos tipos de cefaleas o migrañas, enfermedad que en casos graves resulta incapacitante. Este efecto se produce por la disminución del flujo sanguíneo cerebral por vasoconstricción. Además, en combinación con analgésicos, aumenta su efecto terapéutico. Las concentraciones plasmáticas y terapéuticas suelen ser de 2 a 25 mg/L en los adultos [79, 80]

1.5 Modelamiento matemático de la liberación

La liberación controlada de fármacos es un claro ejemplo de proceso de transferencia donde el transporte de masa, en este caso del fármaco, es el fenómeno por estudiar. Es muy común en esta área que se conozca la dosis necesaria para que un tratamiento terapéutico sea efectivo y se necesita diseñar un dispositivo capaz de suministrar la droga a la velocidad requerida. También puede ocurrir que se tenga el dispositivo ya manufacturado y lo que se desea es determinar el flujo de fármaco liberado para luego optimizarlo. En ambos casos, es de vital importancia conocer la interrelación de los distintos factores que afectan no sólo el proceso de liberación sino también la fabricación del dispositivo para poder alcanzar el objetivo deseado.

Entre los factores que afectan el proceso de manufacturación de los dispositivos se encuentran el tipo y naturaleza del polímero, el tipo de droga, el estado de agregación de esta, la temperatura y presión de trabajo, el pH, el tiempo de procesamiento de las distintas sustancias, entre otros. Para poder establecer las condiciones óptimas para fabricar el dispositivo deseado, es necesario conocer en profundidad el fenómeno de transporte de masa presente para acoplarlo exitosamente al proceso de fabricación [81,82].

Gracias al modelado matemático, el fenómeno de transferencia de masa puede ser estudiado, analizado y descrito en forma íntegra. Los modelos empleados para esta tarea están integrados por ecuaciones que gobiernan las transferencias de materia y por condiciones iniciales y de contorno asociadas al sistema en cuestión. Así, se plantea un problema inicial que es resuelto mediante las herramientas matemáticas conocidas pudiéndose arribar a una solución que describirá el comportamiento del sistema. En líneas generales, los modelos matemáticos permiten imaginar y comprender en mayor o menor medida los mecanismos de transporte que ocurren en estos procesos y predecir los efectos de los distintos parámetros que se introducen en las fórmulas sobre la velocidad de liberación [5].

Existen diversos modelos matemáticos, modelo-dependiente y modelo-independiente, que pueden ser utilizados para describir el perfil de una disolución. Los modelos-dependientes se basan en ecuaciones matemáticas, en este grupo se encuentran los modelos de orden cero, de primer orden, de Higuchi, de Hixson-Crowell, de Korsmeyer-Peppas, de Baker-Lonsdale, de Weibull, de Hopfenberg y de Gompertz [83].

En el presente trabajo, los modelos analíticos usados para estudiar el mecanismo de liberación de cafeína de las matrices de PLA fueron los propuestos por Higuchi, Korsmeyer-Peppas y modelo de orden cero, los cuáles se describen a continuación:

- **Orden cero**

El modelo de orden cero es utilizado para aquellos sistemas que no se disgregan y liberan el fármaco lentamente, por ejemplo, en algunos sistemas transdermales:

$$M_t = M_0 + K_0 t$$

Donde M_t es la cantidad disuelta del fármaco a tiempo t ; M_0 la cantidad inicial de fármaco en solución (la mayoría de las veces $M_0 = 0$); K_0 la constante de liberación de orden 0 expresada en unidades de concentración/tiempo.

Esta ecuación puede usarse para describir la liberación del fármaco desde varios tipos de formas de dosificación de liberación controlada como en el caso de sistemas transdérmicos y tabletas con baja solubilidad del fármaco, formas recubiertas, sistemas osmóticos, etc. Las formas de dosificación farmacéutica regidas por este modelo liberan la misma cantidad de fármaco por unidad de tiempo y es el método ideal de liberación para lograr una acción farmacológica de manera sostenida (sistemas de liberación sostenida) [84]. La Fig. 9 muestra la representación gráfica del modelo de orden cero que sigue la forma $f(t) = a + bt$ (línea recta).

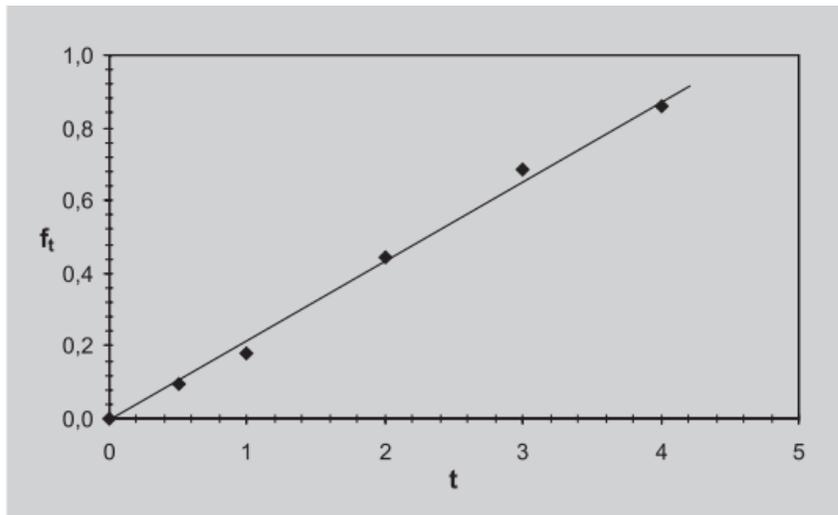


Figura 9. Representación gráfica del modelo de orden cero cuyo comportamiento se ajusta a una curva del tipo $f(t) = a + bt$.

- Higuchi

Higuchi desarrolló en 1961 y 1963 varios modelos teóricos para estudiar la liberación de fármacos solubles en agua y poco solubles incorporados en matrices sólidas que se comportan como medios de difusión. Este modelo describe las características de liberación del fármaco como un proceso de difusión basado en la ley de Fick, estableciendo una relación entre la raíz cuadrada del tiempo y la cantidad de fármaco total liberada y expresado mediante la siguiente fórmula:

$$M_t = K_H \sqrt{t}$$

Donde M_t = Cantidad de fármaco liberada a tiempo t ; K_H = Constante de Higuchi; \sqrt{t} = Raíz cuadrada del tiempo al cual se considera la cantidad liberada.

El modelo de Higuchi se puede usar para describir la disolución del fármaco de varios tipos de formas de dosificación de liberación controlada, como en el caso de sistemas transdérmicos y tabletas con baja solubilidad del fármaco. La Fig. 10 muestra la representación gráfica de este modelo.

Esta ecuación se basa en las siguientes hipótesis:

- La concentración inicial (C_0) en el sistema ha de ser superior a la solubilidad del fármaco.
- La difusión del fármaco se realiza sólo en una única dimensión (efecto de los bordes han de ser insignificantes).
- El tamaño de las partículas es más pequeño que el grosor del sistema
- La matriz no se disuelve ni se hincha.
- La difusión del fármaco es constante.
- Se mantienen condiciones "sink" en todo el experimento, es decir que la máxima concentración del fármaco en el medio es menor o igual al 10 % de su solubilidad en el mismo. [85,86].

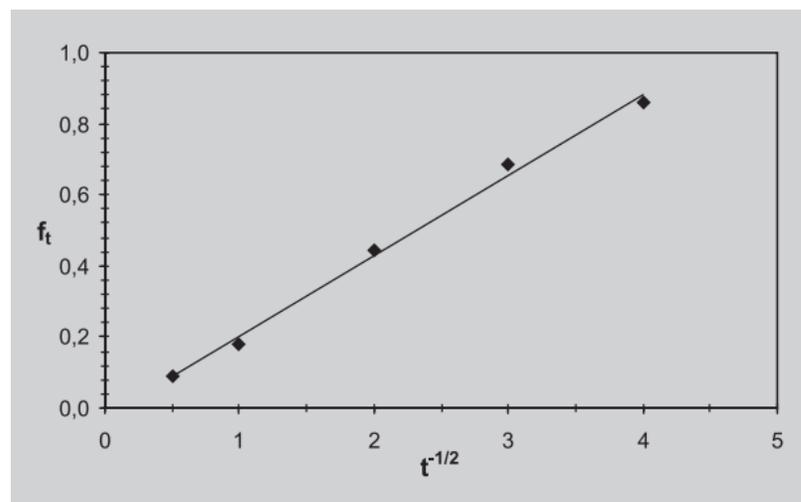


Figura 10. Representación gráfica del modelo de Higuchi que sigue el Comportamiento de una curva del tipo $f(t) = a + bt^{0.5}$.

- Korsmeyer-Peppas

Korsmayer y Peppas desarrollaron en 1983 un modelo empírico simple relacionando exponencialmente la liberación del fármaco con el tiempo transcurrido mediante el uso de valores 'n', con el fin de caracterizar varios mecanismos de liberación. En

algunas condiciones experimentales, el mecanismo de liberación se desvía de las ecuaciones de Fick siguiendo un comportamiento anómalo, en este caso debe expresarse mediante la siguiente ecuación [88]:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n$$

Donde M_t = cantidad absoluta acumulada de fármaco liberado a tiempo t ; M_∞ = cantidad absoluta acumulada de fármaco liberado a tiempo infinito; K = constante que incorpora las características estructurales y geométricas de los sistemas; n = exponente de liberación que indica el mecanismo por el cual se ha llevado a cabo la liberación.

Peppas en 1985 utilizó el valor de n para caracterizar los diferentes mecanismos de liberación, habiendo llegado a valores de $n = 0,5$ para difusión (Fickiana) y valores de n entre 0,5 y 1,0 en un sistema plano para la transferencia de masa según un modelo no-Fickiano. En el caso de los cilindros (comprimidos) n es 0,45 en lugar de 0,5 y 0,89 en lugar de 1,0 [89]. La Tabla 1 resume los valores del exponente n para diversas geometrías de liberación y el mecanismo involucrado de acuerdo con el valor del exponente.

Tabla 1. Exponente n de la ecuación de Korsmeyer-Peppas y mecanismo asignado a la liberación del fármaco a partir de sistemas poliméricos de liberación controlada de diferentes formas geométricas.

Geometría			Mecanismo de liberación
Capa delgada	Cilindro	Esfera	
0,5	0,45	0,43	Difusión "Fickiana"
$0,5 < n < 1,0$	$0,45 < n < 0,89$	$0,43 < n < 0,85$	Transporte anómalo
1,0	0,89	0,85	Transporte tipo II

CAPÍTULO 2

JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, la industria farmacéutica busca implementar nuevas formas de liberación que resulten más eficaces en la entrega de medicamentos y con ello mejorar el tratamiento de las enfermedades. En ese sentido, el desarrollo y aplicación de sistemas de liberación controlada de fármacos se ha convertido en uno de los aspectos de mayor importancia en el ámbito de la salud. La utilización de materiales poliméricos como soportes de principios activos para regular y dosificar su liberación en aplicaciones específicas, es un aspecto que ha adquirido gran interés, esto se atribuye a las características fisicoquímicas propias de estos materiales, así como a la capacidad que tienen de liberar fármacos de forma controlada y proveer diversas de rutas de administración.

Para conocer y describir el comportamiento de estos materiales como sistemas liberadores de fármacos se han empleado una diversidad de moléculas que sirven como fármacos modelos. Estas moléculas son moléculas sencillas y de fácil cuantificación; además de sus importantes implicaciones farmacéuticas en el tratamiento de distintas enfermedades actuando como fármaco principal o como coadyuvantes. Uno de los fármacos que se ha empleado como modelo, es la cafeína, que cumple con las características antes mencionadas. Su principal función la realiza sobre el sistema nervioso central creando una condición de vigilia y aumentando el estado de alerta, además de aumentar la actividad mental y motora. Se usa frecuentemente en combinación con analgésicos para el tratamiento de diversos tipos de migraña, enfermedad que en muchos casos resulta incapacitante.

Shakeel y Ramadan (2010) encapsularon cafeína en nanoemulsiones de agua y diversos aceites para liberación transdermal para la protección de la piel contra el cáncer causado por exposición al sol [76]. En otro estudio para aplicación transdermal, Kuznetsova et al. (2008) fabricaron una matriz para la liberación de cafeína/benzoato de sodio basada en compuestos poliméricos y emulsiones. Los resultados experimentales *in vivo* usando conejos mostraron la ausencia de reacciones alérgicas. Además, los datos de la eficiencia de estos sistemas (con 50 mg de cafeína) en voluntarios sanos mostraron que este medicamento podría ser

utilizado como un psicoactivador no narcótico para mejorar las actividades mentales y físicas y la concentración [90].

En el trabajo de Mohammad y colaboradores (2015), se encapsuló cafeína en coloidosomas a base de hidrogel, optimizando su fabricación, caracterizándolos y realizando estudios de liberación *in vitro* logrando una máxima liberación del 33% en 5 horas mediante difusión Fickiana [91].

Diversos materiales poliméricos se han investigado como posibles soportes de liberación utilizando cafeína como fármaco modelo. Sin embargo, algunos trabajos han usado otro tipo de vehículos no poliméricos como las nano y micropartículas metálicas, mostrando la versatilidad para la encapsulación de la cafeína en diferentes formas farmacéuticas. Así, Reena y colaboradores (2016) utilizaron nanopartículas de oro cargadas con cafeína conjugadas con el copolímero PLA-PEG-PLA en ensayos *in vitro* de citotoxicidad y actividad antiinflamatoria [92]. Sacchetti et al. (2002) estudiaron la influencia de distintos excipientes en las propiedades de micropartículas cargadas con cafeína con miras a ser usadas para liberación nasal [93].

Por otro lado, Dona y colaboradores (2006) fabricaron una tableta basada en una matriz polimérica para la liberación sostenida de cafeína. Los polímeros que utilizaron fueron PEG, PVP, PVA, EC y PLGA, logrando una liberación cercana al 100% durante las primeras 4 horas y observando el efecto "burst" en todos los casos durante la primera hora [94].

Así pues, uno de los materiales poliméricos con gran potencial en el campo de la liberación controlada de medicamentos son las fibras nano y micrométricas fabricadas por electrohilado debido a la versatilidad de la técnica que permite emplear y combinar una diversidad de polímeros y fármacos, y que además, modificando los parámetros implicados en el proceso, se puede controlar las características de la fibra consiguiendo con ello controlar también el perfil de liberación del agente terapéutico contenido en la matriz.

Xiaonqiang y colaboradores (2013) encapsularon cafeína y riboflavina en fibras electrohiladas de PVA como sistemas orales de disolución rápida. Mas del 60% de la cafeína fue liberada dentro de los primeros 30 segundos. Después de 60

segundos, toda la cafeína contenida en las fibras fue liberada al medio [95]. En otro trabajo del mismo grupo de investigación, se utilizó cafeína y suero bovino de albúmina, obteniendo un 100% de liberación de cafeína dentro del primer minuto en matrices de fibras de PVA y PLLA-PCL [96].

Illangakoon et al. (2014) elaboraron matrices de fibras de polivinilpirrolidona cargadas con paracetamol y cafeína mediante electrohilado y exploraron su potencial como sistemas de liberación rápida. Los resultados mostraron que la carga total es liberada alrededor de los 150 segundos [97].

Finalmente, Sóti y colaboradores (2015) reportan un sistema de liberación de cafeína de manera sostenida durante periodos más largos utilizando fibras electrohiladas reabsorbibles de PLGA y PLA. Sus resultados mostraron una liberación muy cercana al 100% alrededor de las 40 h en la concentración más alta de cafeína empleada (50%) y una liberación que se mantiene alrededor del 10% durante 4 días en la matriz cargada con la menor cantidad de cafeína (10%) [98].

La mayoría de los trabajos con cafeína reportan sistemas que liberan la carga total del fármaco en pocos minutos e inclusive algunas horas, pues su objetivo es obtener sistemas de liberación rápida. Sin embargo, el desarrollo de sistemas de liberación controlada de fármacos que logren una liberación sostenida en un periodo más amplio en el tiempo resulta relevante ya que permiten prolongar su efecto reduciendo dosis. El uso de polímeros con una tasa de degradación más lenta como el ácido poliláctico (PLA), permitiría obtener un sistema con estas características. Pocos son los trabajos que reportan su uso en liberación controlada a pesar de ser un biomaterial ampliamente utilizado en otras aplicaciones biomédicas, es por ello por lo que en este trabajo se pretende mostrar que procesado por la técnica de electrohilado es un potente candidato para su empleo como sistema de liberación sostenida, además de que es posible modificar el perfil de liberación variando la concentración inicial del fármaco usando cafeína como fármaco modelo.

CAPÍTULO 3

OBJETIVOS

OBJETIVO

Fabricar y caracterizar matrices de fibras de ácido poliláctico (PLA) mediante la técnica de electrohilado para su posible uso como sistemas de liberación controlada, usando cafeína como fármaco modelo.

Objetivos específicos:

- Fabricar matrices de fibras de ácido poliláctico (PLA) cargadas con diferentes concentraciones de cafeína y caracterizarlas mediante MEB, FTIR, TGA, XDR y RMN.
- Evaluar cualitativamente la distribución superficial de cafeína en las fibras de PLA mediante microscopía Raman Confocal.
- Determinar la eficiencia de carga de cafeína en las matrices de PLA.
- Evaluar el efecto de la concentración de cafeína sobre el perfil de liberación de este fármaco contenido en las matrices de PLA
- Establecer la cinética y los mecanismos de liberación implicados mediante la aplicación de modelos matemáticos.

CAPÍTULO 4

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

4.1 Materiales

El ácido poliláctico (biopolymer 3251D) de peso molecular de 45000 g/mol, empleado en la fabricación de los andamios fue obtenido de Natureworks (USA). La cafeína (194.19 g/mol) fue obtenida de Sigma-Aldrich (USA). El cloroformo (CHCl_3 , 99.99%) utilizado como solvente y el etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, 99.92%) fueron obtenidos de J.T. Baker ACS.

4.2 Fabricación de las matrices de fibras de PLA

Para la obtención de las matrices, previamente se realizó la estandarización de las variables del proceso de electrohilado: la concentración de la solución, la distancia aguja-colector, el voltaje aplicado y la velocidad de inyección que afectan el diámetro y la forma de las fibras.

La concentración final de PLA empleada fue de 12.5% (m/v) utilizando cloroformo como disolvente a temperatura ambiente. La solución preparada se colocó en agitación magnética durante 12 h hasta su completa disolución. Antes de iniciar el proceso de electrohilado, se agregó 1 ml de etanol y posteriormente se agitó por 1 minuto en vórtex. La adición de etanol aumenta la viscosidad de la solución y disminuye la tensión superficial. Ambos efectos favorecen la formación de fibras lisas. Al mismo tiempo, la adición de etanol hace que el disolvente sea más fácil de evaporar, lo que aumenta su viscosidad y ralentiza la velocidad de formación de beads. Para eliminar las burbujas, la solución se colocó en baño ultrasónico por 1 minuto. La concentración de cafeína agregada a la solución fue de 10, 30 y 50% (m/m) en relación con el peso de PLA. Para asegurar la uniformidad del contenido del fármaco en las fibras, la cafeína fue disuelta antes de agregar el PLA.

Se obtuvieron las microfibras en un equipo de electrohilado TL Electro-spinning & Spray Unit, Tong Li, la solución se colocó en una jeringa conectada mediante una manguera a una aguja metálica posicionada a 15 cm de distancia del colector, se empleó un flujo de 0.8 ml/h, un voltaje de 18 kV y una temperatura de 27°C.

4.3 Caracterización

4.3.1 Microscopia electrónica de barrido (MEB)

Para conocer la morfología y homogeneidad de las matrices fabricadas de PLA y de PLA/caféina, se obtuvieron microscopías utilizando la técnica MEB. Para ello se utilizó un Microscopio Electrónico de Barrido (Scanning Microscope JEOL JSM 7600F). Previamente, las muestras fueron recubiertas por una película de oro mediante plasma lo que favorece su conductividad.

Así mismo, se obtuvieron micrografías al término de los ensayos de liberación para identificar cambios superficiales o morfológicos en las matrices después de este periodo.

4.3.2 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier y Reflectancia Total Atenuada (FTIR-ATR)

El análisis mediante espectroscopia infrarroja se realizó para la comprobación de la carga de caféina en los andamios electrohilados mediante la identificación de los grupos funcionales de los componentes presentes en la muestra, además de evidenciar posibles interacciones físicas/químicas. Este análisis se realizó en un intervalo de 4000 a 500 cm^{-1} empleando un equipo Spectrum GX, Perkin Elmer.

4.3.3 Análisis Termogravimétrico (TGA)

En el análisis termogravimétrico se utiliza una barra sensible, que sigue el cambio de peso de la muestra en función de la temperatura a una tasa térmica constante con el fin de evaluar la estabilidad térmica y temperatura de descomposición, además, permite identificar la presencia de un segundo componente mediante los cambios en el perfil de degradación. Para este análisis se empleó un equipo Pyris 1 TGA, Perkin Elmer realizando un calentamiento desde 30°C hasta 600°C en intervalos de 10°C/min en una atmosfera inerte de nitrógeno.

4.3.4 Difracción de Rayos X (DRX) y Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

La difracción de rayos X (XRD) brinda información sobre la cristalinidad de los materiales empleados, por tal razón se utilizó para caracterizar los materiales fabricados, principalmente para identificar la presencia de fases cristalinas de la molécula de cafeína. Para este análisis se utilizó un difractómetro BRUKER, modelo DS ADVANCE ECO, con radiación $K\alpha$ de Cu (0.15406 nm). Se utilizó un portamuestras de bajo fondo de silicio y las condiciones usadas fueron un ángulo de barrido de rayos x de $2\theta=2^\circ$ a 70° , sin giro y sin cuchilla.

Con el fin de descartar posibles transformaciones químicas de la molécula de cafeína por la presencia del PLA o por el proceso de electrohilado que pudieran afectar la integridad química del fármaco y por ende su actividad biológica, se analizaron por resonancia magnética nuclear de protón (RMN) la matriz de PLA + 30% de cafeína y la cafeína pura para su posterior comparación. Los espectros fueron adquiridos en un espectrómetro de RMN, marca Bruker, modelo AVANCE-III 500, empleando un probe BBI (31P-129Ag) de 5mm con z-gradiente de campo.

4.3.5 Espectroscopía Confocal Raman

Para este análisis se utilizó un equipo Alpha300 RA, WITec ($\lambda= 514.5$ nm) acoplado a un microscopio confocal. La información obtenida mediante espectroscopía Raman complementa, en general, a aquella obtenida mediante espectroscopía infrarroja; sin embargo, este ensayo se realizó principalmente para, una vez identificados y obtenidos los espectros de cada componente, mapear a la cafeína en las fibras de PLA mediante la obtención de micrografías por medio del microscopio confocal utilizando los objetivos de 20X y 50X.

4.4 Liberación y cuantificación de cafeína

4.4.1 Curva de calibración

Para la cuantificación de cafeína, se obtuvo una curva de calibración preparando soluciones estándar con concentraciones de 2, 3, 5, 7, 10, 15, 25, 35 y 50 ppm de cafeína en buffer de fosfatos (PBS) partiendo de una solución madre de 1000 ppm. Se midió la absorbancia de las soluciones con un espectrómetro UV/Vis Lambda 40, Perkin Elmer, a una longitud de onda de 273 nm. La curva se realizó por quintuplicado.

4.4.2 Eficiencia de carga

Para conocer la concentración real de cafeína en las matrices de PLA, se tomaron muestras de 2x3 cm de las esteras obtenidas y se disolvieron en 10 mL de cloroformo. Posteriormente, fue medida su absorbancia mediante espectroscopia UV-Vis (Lambda 40, Perkin Elmer) a una longitud de onda de 273 nm. Este análisis se realizó por triplicado. El resultado fue expresado como efectividad de carga:

$$\text{Eficiencia de carga (\%)} = \frac{\text{Concentración de cafeína experimental}}{\text{Concentración de cafeína teórica}} \times 100$$

Cabe mencionar que previamente se prepararon soluciones estándar de cafeína/cloroformo y se obtuvieron absorbancias similares a aquellas obtenidas con las soluciones cafeína/PBS, por lo que la curva de calibración obtenida en PBS, se utilizó indistintamente para ambos tipos de muestras.

4.4.3 Ensayos de liberación *in vitro*.

Se tomaron muestras de aproximadamente 5 mg de andamio, las cuales se depositaron en viales conteniendo 10 ml de solución salina de fosfatos (PBS). Los estudios de liberación de cafeína se realizaron a 37°C y 110 rpm en incubador termostático de agitación.

Los ensayos se realizaron por triplicado. Muestras de 0.5 mL de PBS fueron tomadas después de 15, 30, 60 y 90 min; 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 24 hr; 2, 3, 4, 5, 6 y 7 días. Un volumen igual de PBS fresco fue adicionado al medio como reemplazo. La cafeína fue determinada por espectrometría UV-Vis (Lambda 40, Perkin Elmer) a una longitud de onda de 273 nm. Los resultados fueron presentados en términos de porcentaje de liberación como función del tiempo con corrección por volumen.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Fabricación de las matrices de fibras de PLA

Se obtuvieron con éxito matrices de fibras de PLA mediante electrohilado uniaxial. La micrografía MEB del andamio de PLA sin cafeína obtenido con los parámetros establecidos anteriormente (Fig. 11), usada como control, muestra fibras de morfología uniforme, ordenadas de manera aleatoria, con una superficie lisa y diámetros que van de 0.1-1.5 μm y un diámetro promedio de $0.6 \pm 0.3 \mu\text{m}$.

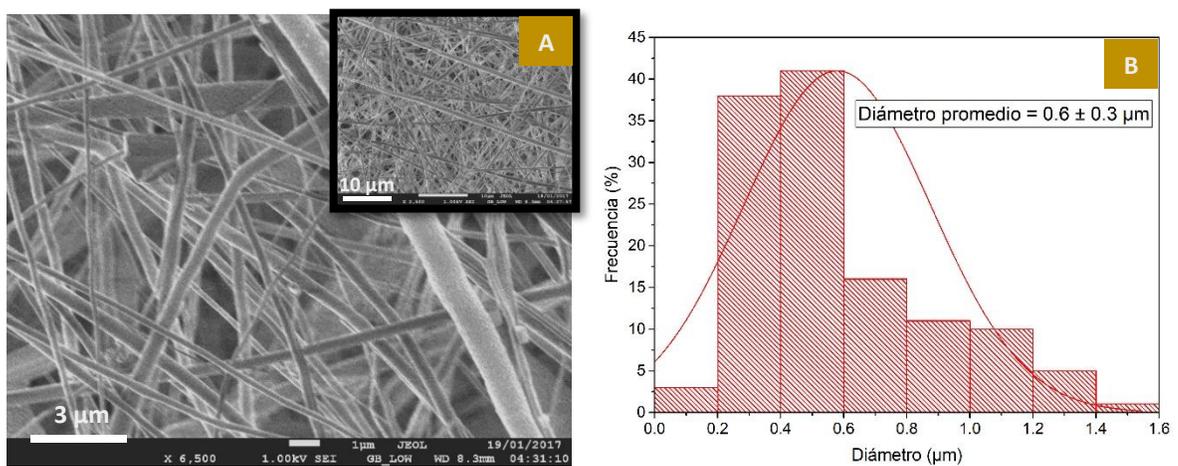


Figura 11. A) Micrografía MEB de la matriz de fibras de PLA y B) Distribución de diámetros.

La Fig. 12 muestra las imágenes MEB de las matrices de PLA cargadas con 10%, 30% y 50% de cafeína. Las fibras cargadas con 10% de cafeína presentan una superficie lisa, organización aleatoria y algunas zonas de engrosamiento a lo largo de la fibra (beads). Sus diámetros van de los 0.3-4.2 μm y un diámetro promedio de $1.2 \pm 0.8 \mu\text{m}$. Por otro lado, es notorio que las fibras de PLA cargadas con 30% de cafeína (Fig. 2B) se alejan de la forma cilíndrica uniforme y sus diámetros presentan mayor dispersión, una superficie semirugosa y un mayor número de rosarios (beads) a lo largo de ellas. Además, presentan formación de pequeñas ramificaciones en forma de aguja sobre la superficie de las fibras. La morfología de las fibras cargadas con 50% de cafeína presentan un comportamiento similar a las descritas anteriormente, con la diferencia en el tamaño superior de los rosarios formados.

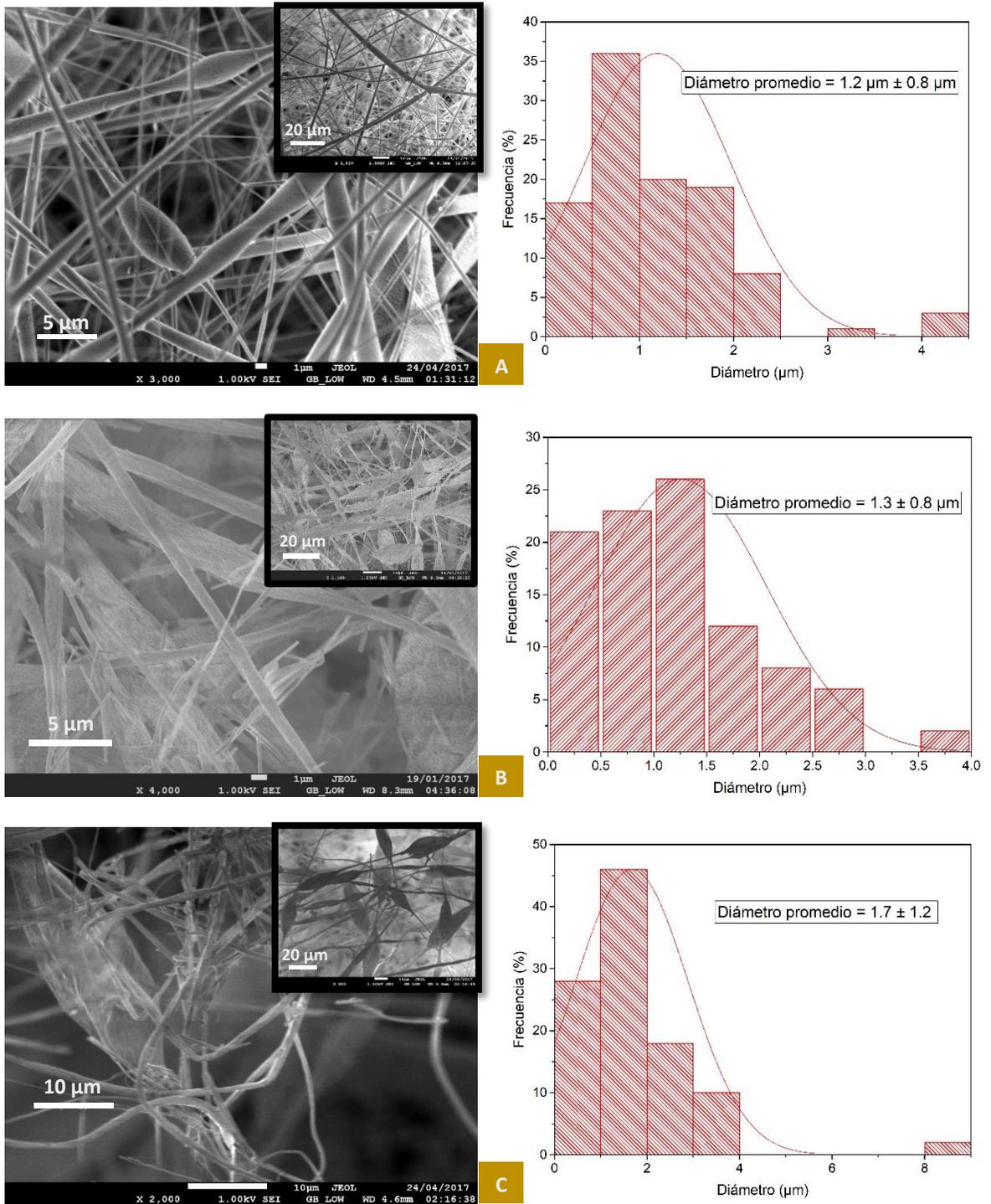


Figura 12. Micrografías MEB y distribución de diámetros de las matrices de fibras de PLA cargadas con A) 10%, B) 30% y C) 50% de cafeína.

Las fibras cargadas con 30% de cafeína presentan diámetros que van de los 0.2-3.7 μm y con un promedio de 1.3 μm ; por otra parte, los andamios cargados con 50% de cafeína presentan diámetros de 0.5-8.7 μm y diámetro promedio de 1.7 μm . Estos resultados muestran un ligero aumento en el diámetro de la fibra conforme aumenta la concentración de cafeína.

La matriz de PLA puro tomada como control fue elegida después de haber realizado la optimización de las variables de electrohilado que permitieron obtener fibras de morfología lisa sin formación de beads. Sin embargo, con la adición de cafeína a la solución y manteniendo las mismas condiciones de electrohilado, se obtuvieron fibras con beads a lo largo de ellas. El mecanismo de formación de beads se debe a la inestabilidad de Rayleigh impulsada por la tensión superficial ya que obliga a un líquido a asumir una superficie más pequeña por unidad de masa que tiene la forma de una esfera (Fong et al., 1999). En el caso de PLA puro esta inestabilidad fue suprimida completamente por el comportamiento viscoelástico del jet de polímero dando como resultado fibras lisas; por el contrario, la formación de beads en las matrices con cafeína se puede atribuir a la modificación de la elasticidad de la solución, es decir, la presencia de cafeína provocó que la viscosidad extensional de la solución polimérica disminuyera dando como resultado la formación de estas estructuras debido a que su fuerza viscoelástica no fue suficiente para resistir la inestabilidad.

Por otra parte, las diferencias observadas en la apariencia superficial de las fibras sugieren separación de fases en las matrices con 30% y 50% de cafeína dada por su superficie rugosa y formación de agujas; en contraste, la superficie suavizada de las fibras con 10% de cafeína sugieren que no hay separación de fases. Aproximadamente el 70% de los ingredientes farmacéuticos activos (API) exhiben polimorfismo [99], es decir pueden existir en más de una forma cristalina [100]. La cafeína no es la excepción, ya que puede cristalizar en dos formas polimórficas diferentes, llamadas I y II (también α y β) que crecen como cristales en forma de aguja [101]. Tanto en las matrices con 30% y con 50% se observa la presencia de estructuras en forma de aguja a lo largo de la superficie de la fibra, lo que indica que la concentración elevada de cafeína en esas formulaciones permite la formación

de cristales de cafeína en su forma estable (II o β) que es la forma comercial usada en las formulaciones farmacéuticas existentes [102]. En los andamios con 10% de cafeína no se observó la formación de agujas debido a que la cantidad de cafeína es menor lo que facilita que las moléculas se distribuyan a lo largo de la fibra evitando su aglomeración y con ello la formación de agujas, sin embargo, es posible que también existan cristales de menor tamaño en esta matriz.

5.2 Caracterización fisicoquímica.

La Fig. 13 muestra el espectro de absorción infrarroja (FTIR) de las matrices en estudio. El espectro infrarrojo de PLA en la parte superior muestra bandas de absorción características de esta molécula en 1087 cm^{-1} y 1182 cm^{-1} correspondientes al estiramiento del enlace C-O del grupo éster, en 1457 cm^{-1} y 1360 cm^{-1} correspondientes a la flexión del enlace Csp³-H del grupo metilo y 2990 cm^{-1} al estiramiento del mismo enlace. En 1750 cm^{-1} se observa una banda correspondiente al estiramiento del carbonilo del grupo éster. Los espectros inferiores corresponden a los andamios cargados con 10%, 30% y 50% de cafeína en azul, rojo y negro respectivamente, los cuales presentan las mismas bandas de PLA mencionadas anteriormente además de la adición de bandas correspondientes a la absorción de los grupos funcionales típicos de la molécula de cafeína. Las bandas en 1555 cm^{-1} y 1664 cm^{-1} corresponden al estiramiento del doble enlace Csp²-Csp² del anillo aromático y en 1706 cm^{-1} que pertenece al estiramiento del carbonilo cetónico. La Tabla 2 resume las principales bandas asignadas a los grupos funcionales de PLA y cafeína, así como el tipo de vibración correspondiente.

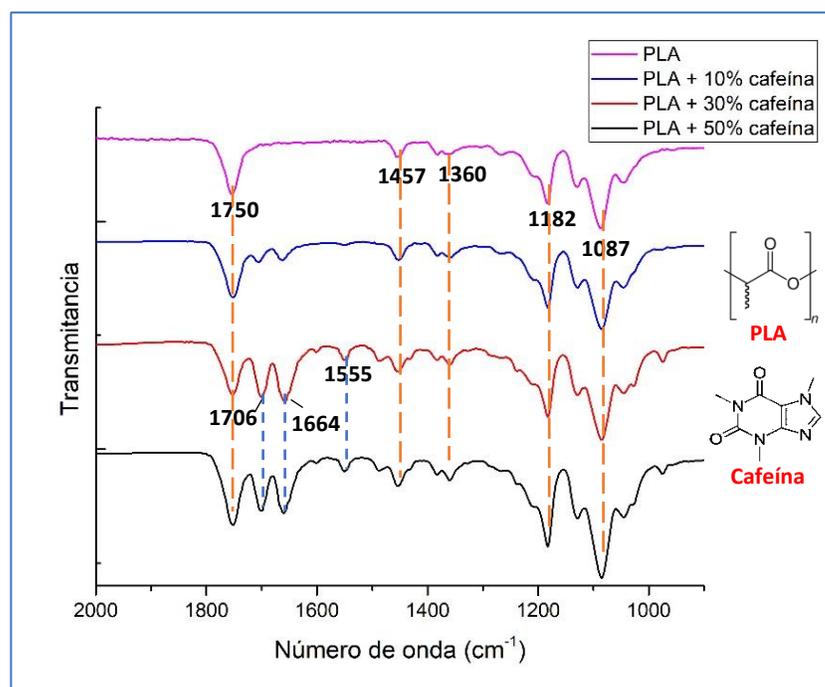


Figura 13. Espectro FTIR de las fibras de PLA y PLA/cafeína.

Los espectros FTIR de las fibras cargadas con cafeína no mostraron diferencias en las absorciones moleculares de PLA en comparación con PLA puro. Los picos de los grupos funcionales que pertenecen a la cafeína aumentan en intensidad conforme la cantidad de este fármaco aumenta. Los datos anteriores sugieren que aparentemente no hay interacciones físicas o químicas entre el PLA y la cafeína, sin embargo, los corrimientos de las bandas podrían ser muy ligeros y no se observan.

Tabla 2. Grupos funcionales característicos de la molécula de PLA y cafeína en IR.

Molécula	Frecuencia de vibración experimental (cm ⁻¹)	Frecuencia de vibración teórica (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Tipo de vibración
PLA	1750	1750-1730	C=O (éster)	Estiramiento
	1457 y 1360	1450 y 1375	Csp ³ -H	Flexión
	1182 y 1087	1300-1000	C-O	Estiramiento
Cafeína	1706	1725-1705	C=O (cetona)	Estiramiento
	1664 y 1555	1600 y 1475	C=C (aromático)	Estiramiento

Con el fin de estudiar la influencia de la cantidad de cafeína en la estabilidad térmica de las matrices compuestas fabricadas se realizó el análisis termogravimétrico (TGA) a cada formulación PLA/cafeína, así como a los componentes puros. Los resultados se muestran en la Fig. 14. El termograma en color rojo corresponde a cafeína pura, la pérdida de masa se da en una sola etapa desde los 200°C hasta los 260 °C. Por otro lado, el PLA (en color negro) pierde su masa desde los 300°C hasta los 360°C en una sola etapa. Los termogramas de las matrices cargadas con cafeína (línea azul, rosa y verde) muestran una modificación en el perfil de descomposición con respecto a la estera de polímero puro (línea negra), por la presencia de cafeína. En estas tres matrices se da una primera pérdida de masa alrededor de los 250°C que corresponde a la cantidad de cafeína presente en la muestra. En el caso de la matriz cargada con 10% de cafeína, la pérdida de masa en tal punto es de 10%, para la matriz cargada con 30% de cafeína, la pérdida de masa correspondiente es de 20% y finalmente para la matriz con 50% de cafeína la pérdida de masa es de 28%. Los resultados anteriores son un primer acercamiento para conocer la cantidad total de

cafeína cargada en los andamios, los cuales se corroborarán más adelante mediante la cuantificación de cafeína por espectroscopía UV-Vis. La Fig. 14B muestra las curvas DTG donde se hace más evidente que la temperatura de descomposición de las matrices de PLA disminuye conforme aumenta la concentración de cafeína.

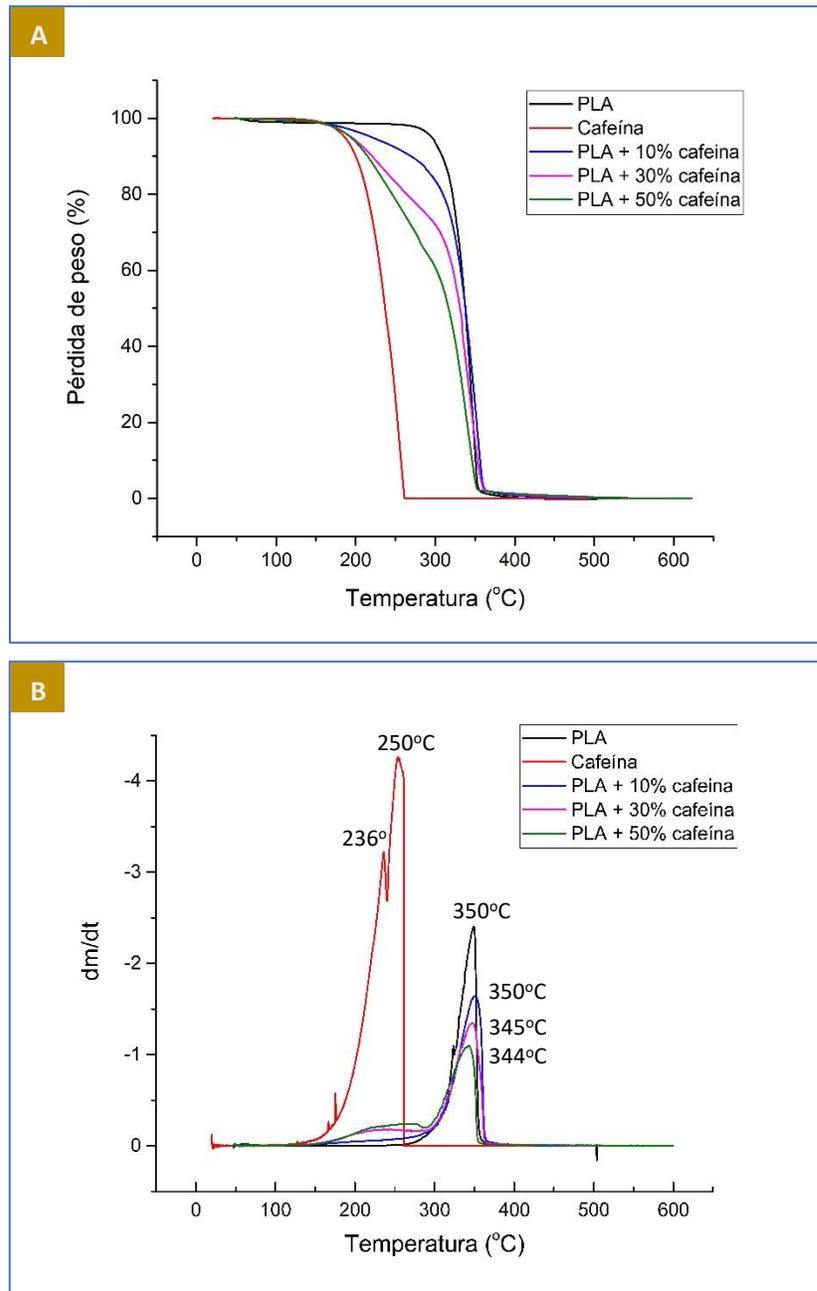


Figura 14. (A) TGA y (B) DTG de las formulaciones de PLA/cafeína y de los precursores puros.

5.3 Estudio de la cristalinidad e integridad de cafeína

La Fig. 15 muestra los difractogramas de rayos X (XRD) de las tres formulaciones de PLA/cafeína y de la muestra de PLA puro. El PLA es una mezcla racémica de los estereoisómeros PLLA y PDLA, por tanto, debido al impedimento estérico generado por la naturaleza química y el tamaño de los átomos que conforman los monómeros, se genera una competencia por el espacio a ocupar (organización espacial) lo que da como resultado que las cadenas poliméricas no se ordenen de manera alineada y por tanto no se generan zonas cristalinas, por tal motivo en ninguno de los espectrogramas aparecen picos cristalinos relacionados a este material, confirmando su estructura amorfa. Por otro lado, las tres formulaciones con cafeína presentan picos correspondientes a la fase cristalina de este fármaco, el más intenso en 12° y tres más de menor intensidad en 24° , 27.5° y 30° , reportados por Sóti y colaboradores (2015). Estos resultados confirman el proceso de formación de cristales de cafeína en su forma β (esta se obtiene a temperatura ambiente), que conduce principalmente a estructuras aciculares y aglomerados [103].

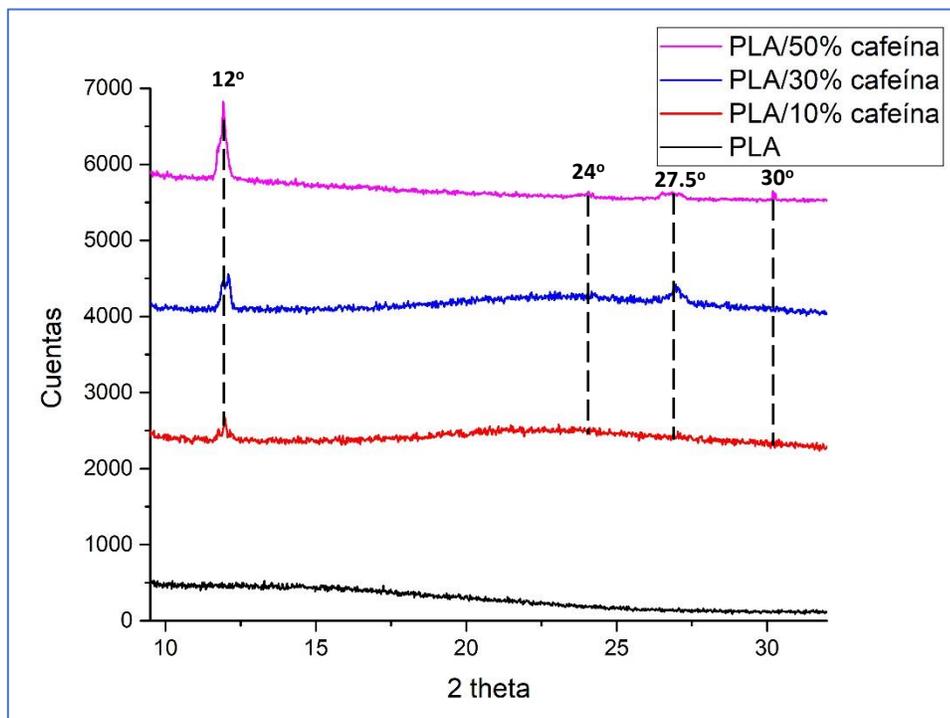


Figura 15. Diffractograma de rayos X de las fibras electrohiladas de las tres formulaciones PLA/cafeína y PLA puro.

Finalmente, para asegurar la integridad de la molécula de cafeína después de someterse al proceso de electrohilado, se realizó el análisis de resonancia magnética nuclear para descartar posibles transformaciones químicas ya que podrían afectar sus propiedades químicas y por consiguiente sus propiedades farmacológicas, resultando en una alteración de su función en el organismo. Los resultados se muestran en la Fig. 16, el espectro en la parte superior corresponde a la molécula de cafeína que presenta tres picos intensos en la parte central en 3.4 ppm, 3.6 ppm y 4 ppm y dos de menor intensidad en 7.4 y 7.5 ppm. La muestra compuesta, es decir, la matriz de PLA/cafeína, muestra los mismos picos anteriores correspondientes a cafeína, además de la aparición de dos picos en 1.6 ppm y 5.2 ppm que corresponden a la molécula de PLA. Los resultados anteriores demuestran que la molécula de cafeína cargada en las matrices de PLA no sufre transformaciones químicas por interacción con el polímero o por el proceso de electrohilado y, por tanto, su integridad farmacológica tampoco se ve afectada.

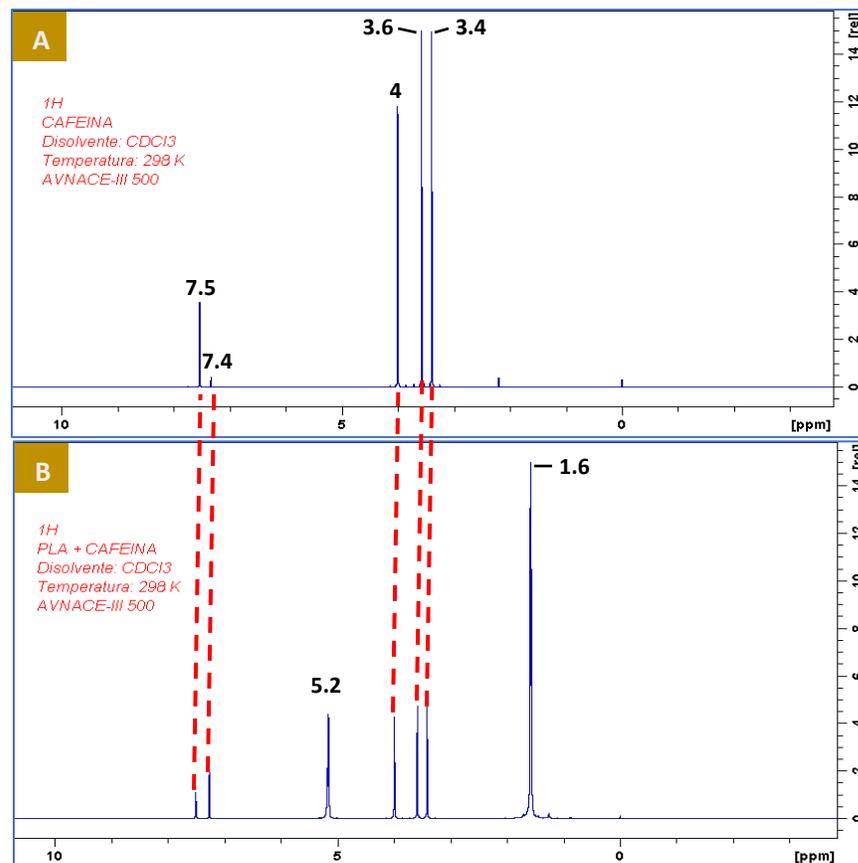


Figura 16. Espectro RMN de cafeína pura y de PLA+cafeína.

5.4 Distribución de cafeína sobre las fibras de PLA.

El análisis por microscopía Raman Confocal permitió conocer la distribución de cafeína a lo largo de las fibras de PLA. Para tal efecto, primero se obtuvieron los espectros de absorción Raman (Fig. 17). El espectro en color negro pertenece a la molécula de PLA que presenta picos en 1794 cm^{-1} y 2970 cm^{-1} que corresponden a la absorción del carbonilo (C=O) del grupo éster y al enlace C-H del metilo. En color rojo, se muestra el espectro Raman de la molécula de cafeína, que presenta picos en 1364 cm^{-1} y 2989 cm^{-1} que pertenecen a la absorción de los enlaces C-N de la amina y C-H del metilo, además en 1632 cm^{-1} y 1777 cm^{-1} se presenta la absorción del carbonilo cetónico. En la parte superior, a manera de ejemplo, se muestra el espectro de la matriz de PLA cargada con 30% de cafeína, en donde se indican las bandas de absorción correspondientes a la molécula de PLA en color dorado y la molécula de cafeína en color verde que permitió la identificación de ambos componentes en las muestras en estudio.

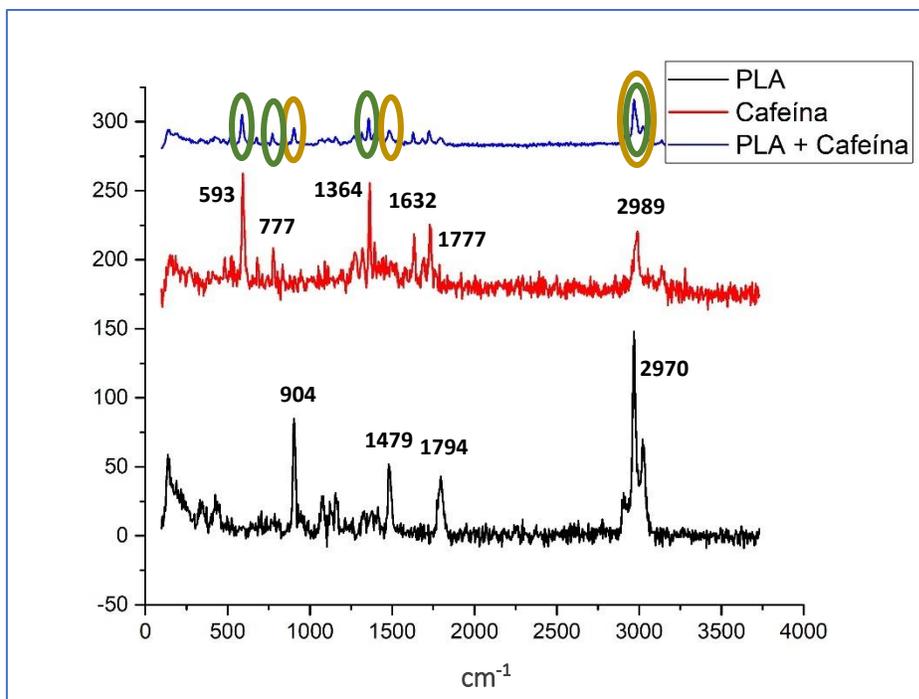


Figura 17. Espectro Raman de PLA, cafeína y PLA/cafeína. Las bandas de PLA están marcadas en dorado y las bandas de cafeína en verde.

En la Tabla 3 se resumen las principales bandas de absorción asignadas a los grupos funcionales presentes en las moléculas de PLA y cafeína, así como el tipo de vibración.

Tabla 3. Asignación de grupos funcionales a las bandas obtenidas en los espectros Raman pertenecientes a las moléculas de PLA y cafeína.

Molécula	Banda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Tipo de vibración
Cafeína	1364	C-N	Estiramiento
	593	O=C-N	Flexión
	777	C-H	Flexión f.p.
	1632 y 1777	C=O	Estiramiento
PLA	1794	C=O	Estiramiento
	904	C-COO	Estiramiento
	1479 y 2970	CH ₃	Estiramiento

La Fig. 18 muestra las imágenes obtenidas con el microscopio confocal acoplado al equipo Raman, mediante las cuales fue posible conocer la distribución de cafeína en las fibras de PLA. En las micrográficas se discrimina entre los componentes de la fibra asignando un color diferente a cada uno, así, el color verde corresponde a PLA y el azul a cafeína. La intensidad del color está intrínsecamente ligada a la concentración; una mayor intensidad indica una mayor concentración del componente y viceversa. En las matrices con 10% de cafeína se observa una distribución muy uniforme del fármaco en las fibras dado por la coloración azul-verdosa obtenida. Por otro lado, la matriz cargada con la concentración intermedia de cafeína muestra zonas de coloración azul intenso distribuidas de forma no uniforme sobre la fibra lo que indica la formación de agregados de cafeína.

Finalmente, la micrografía de las matrices cargadas con 50% de cafeína mostró también la formación de agregados heterogéneos de cafeína sobre la fibra, sin embargo, al ser obtenida con el objetivo de 50X permitió enfocar con mayor detalle a los rosarios formados y las agujas en la superficie de las fibras de PLA. Los rosarios

(beads) están compuestos de PLA/Cafeína, pero es evidente una acumulación importante de cafeína en ellos, pudiendo contener la mayor cantidad en su interior. Por otro lado, se observa claramente que las agujas en la superficie de la fibra que previamente se habían observado en las micrografías SEM están compuestas de cafeína únicamente, lo que su vez, corrobora los resultados de la difracción de Rayos X que mostró la presencia de cristales de cafeína.

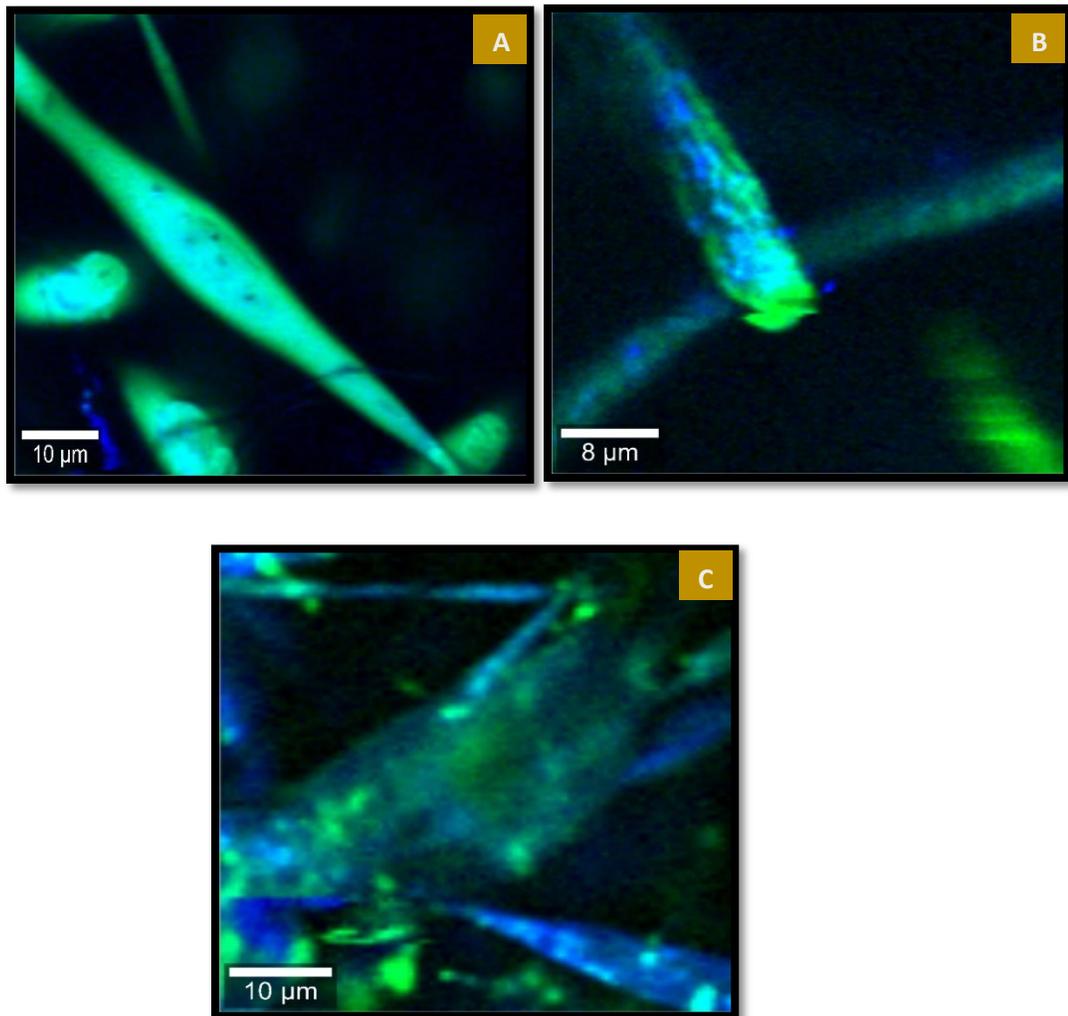


Figura 18. Microscopía Confocal Raman de las matrices de PLA cargadas con A) 10%, B) 30% y C) 50% de cafeína. El color verde representa al PLA y el azul a cafeína.

5.5 Curva de calibración

La Fig. 19 muestra la curva de calibración de cafeína obtenida para la cuantificación del fármaco en los ensayos de liberación y eficiencia de carga en un intervalo de concentraciones de 2 a 50 ppm. Los parámetros obtenidos para el método de cuantificación fueron linealidad, límite de detección y límite de cuantificación cuyos valores son 0.9996, 0.63 ppm y 2.11 ppm, respectivamente.

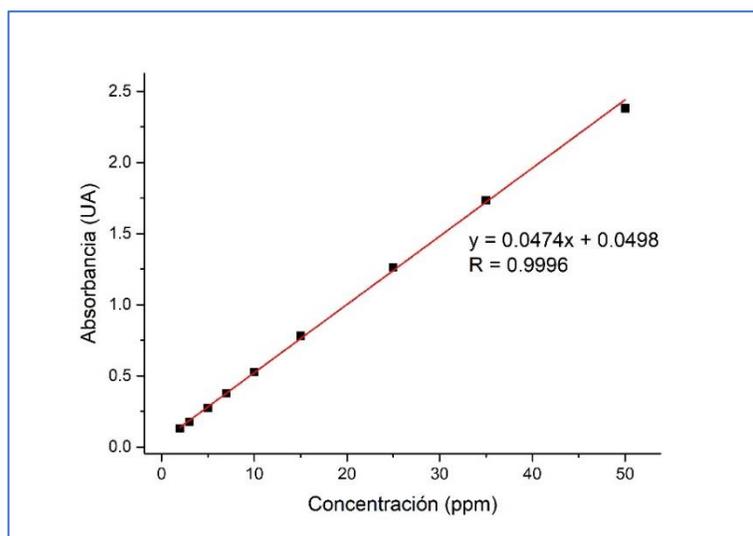


Figura 19. Curva de calibración para la cuantificación de cafeína.

5.6 Eficiencia de carga

Experimentalmente, las soluciones de electrohilado se prepararon disolviendo la cantidad de PLA necesaria en cloroformo para obtener una concentración de 12.5% (m/v), adicionando cafeína a una concentración de 10%, 30% y 50% (m/m) con respecto al peso de PLA. Los ensayos de eficiencia de carga se realizaron para conocer la concentración real de cafeína contenida en el polímero después del proceso de electrohilado. La Tabla 4 muestra que las concentraciones encontradas experimentalmente, expresadas en porcentaje, son 10 ± 0.4 , 23 ± 1 y 30 ± 1 , respectivamente para las matrices cargadas con 10%, 30% y 50% de cafeína. Los resultados anteriores representan una eficiencia de carga del 100% para las fibras con 10% de cafeína, del 77% para las fibras con 30% de cafeína y del 60% para las

fibras con 50% de cafeína. Un decremento en la eficiencia de carga es observado conforme la concentración de cafeína en la solución aumenta. La cafeína es totalmente soluble en cloroformo, pero en un sistema de tres componentes, es decir, con la adición de PLA, su solubilidad pudo verse afectada, este hecho se evidencia con la coloración de las soluciones, en el caso de la matriz con 10% de cafeína, la solución es totalmente transparente lo que es indicativo de una completa disolución, de manera opuesta, las soluciones con 30% y 50% de cafeína presentaron una apariencia translúcida lo que significa que no está completamente disuelta en la solución, por lo tanto a altas concentraciones la solubilidad de este fármaco se ve afectada por la presencia de PLA.

Tabla 4. Eficiencia de carga de cafeína en las matrices de PLA y comparación de la concentración experimental contra la concentración esperada.

Carga teórica (%)	Carga experimental (%)	Eficiencia (%)
10	10 ± 0.4	100
30	23 ± 1	77
50	30 ± 1	60

5.7 Perfil de liberación de cafeína

Los resultados de los ensayos de liberación en la Fig. 20 muestran que las fibras con 10% de cafeína tienen una liberación inicial rápida cercana al 25% pero después tiende a detenerse manteniéndose en un porcentaje de alrededor del 40% lo que indica que la cafeína se encuentra encapsulada dentro de las fibras. Este sistema bien pudiera emplearse como sistema de liberación retardada ya que una vez que comience la degradación del polímero, el fármaco comenzará a salir. Las fibras cargadas con 50% muestran una rápida liberación las primeras 8 horas llegando al 60% y alcanzan una liberación máxima del 80% a las 72 hr y luego se detiene a partir de ese tiempo. Las fibras de PLA cargadas con el 30% logran la misma liberación máxima del 80% hasta las 144 hr de manera sostenida lo que lo convierte en un buen candidato como sistema de liberación sostenida.

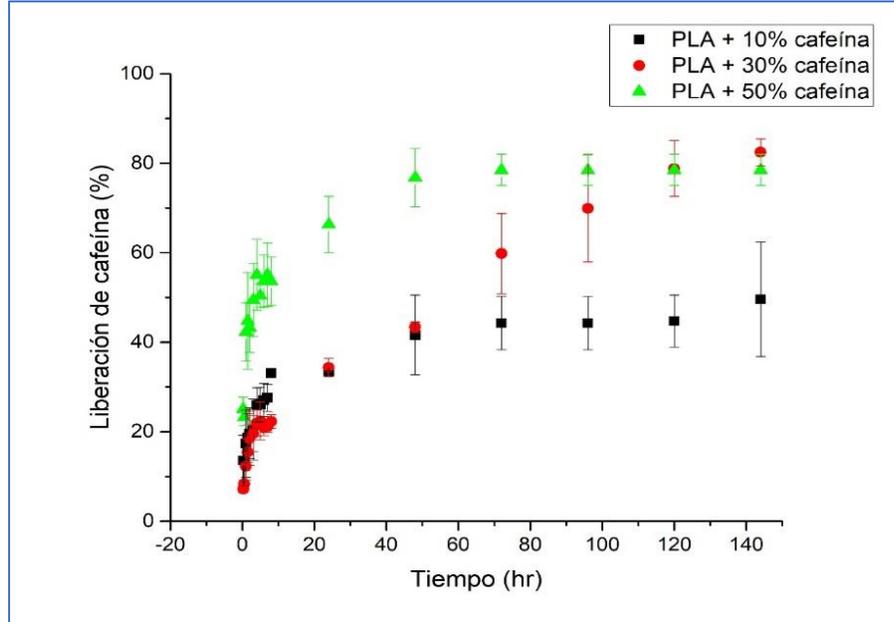


Figura 20. Perfil de liberación de cafeína soportada en fibras de PLA.

5.8 Comparación superficial de las matrices al término de los ensayos de liberación.

La Fig. 21 muestra las micrografías SEM de las matrices de PLA al término de los ensayos de liberación *in vitro*. Se presenta un cambio ligeramente notorio en la rugosidad de la superficie de las matrices con 10% de cafeína al finalizar el ensayo, pudiendo ser debida a la desorción superficial de la cafeína de las fibras de PLA. Por otro lado, en las matrices con 30% y 50% de cafeína, desaparecen las agujas formadas en la superficie de la fibra, lo que indica la disolución de los cristales de cafeína principalmente durante la etapa inicial de exposición al PBS. También se observa una mayor porosidad en la superficie, lo que indica un proceso de desorción superficial y difusión del fármaco al exterior.

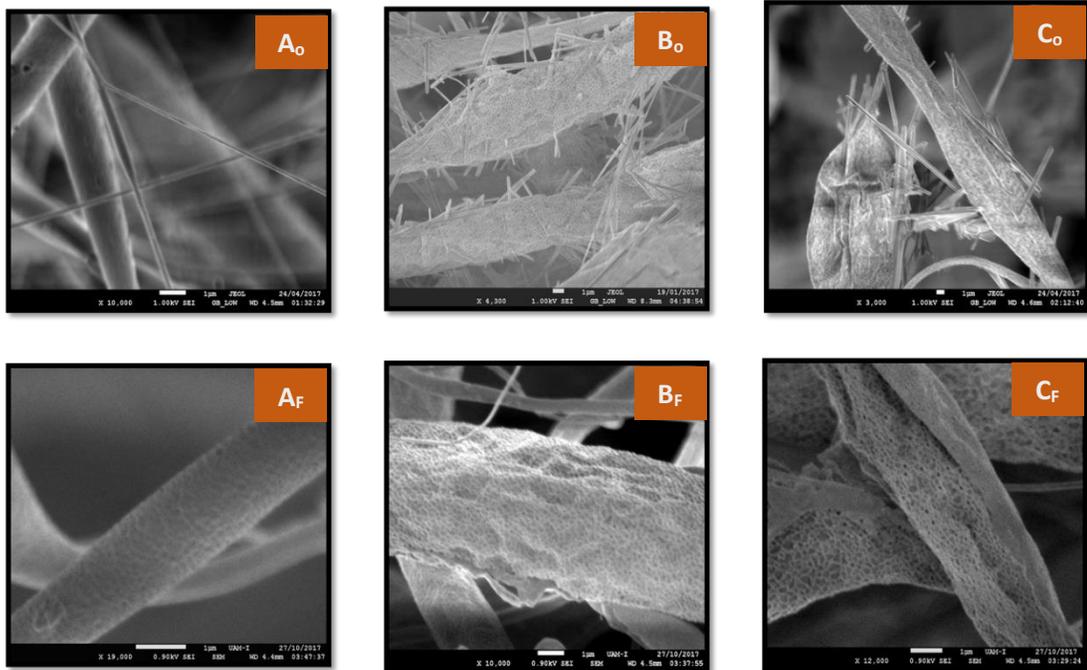


Figura 21. Micrografías MEB de las matrices de fibras de PLA al término de los ensayos de liberación de cafeína. A) PLA/10% cafeína, B) PLA/30% cafeína y C) PLA/50% cafeína. Los subíndices O y F indican la etapa inicial y final de la liberación respectivamente.

5.9 Modelado matemático de la liberación.

Los resultados discutidos en el apartado 4.6 mostraron que los perfiles de liberación de cafeína de las matrices con 10% y 50% de cafeína presenta un comportamiento similar entre ellos, pero diferente al perfil de liberación de la matriz con 30% de cafeína debido a que está última parece regirse después de las primeras 8 horas por una cinética que tiende a ser lineal. Con base en lo anterior, la liberación de cafeína de las matrices con 10% y 50% se ajustó matemáticamente mediante los modelos propuestos por Higuchi y Korsmeyer-Peppas; por otro lado, la liberación de la matriz con 30% de cafeína se modelo en dos etapas que más adelante se discutirán.

El modelo de Higuchi describe la liberación del fármaco de la matriz como una raíz cuadrada del tiempo basado en la difusión Fickiana. El mecanismo de difusión es integrado en el modelo de Korsmeyer-Peppas donde K es la constante cinética y n

es un exponente que caracteriza el mecanismo implicado en la liberación. El valor de $n = 0,45$ indica una liberación de tipo Fickiana (caso I); entre $0,45 < n < 0,89$ la liberación es anómala (difusión no Fickiana); y valores de $n=0,89$ indican que la liberación es tipo caso II (orden cero). El transporte del caso II generalmente se refiere a la disolución de la matriz polimérica debido a la relajación (hinchamiento) de las cadenas del polímero, y el transporte anómalo (difusión no Fickiana) se refiere a la suma de ambos mecanismos, difusión y disolución [84-89].

De acuerdo con el valor del coeficiente de correlación (R), el perfil de liberación de cafeína de las matrices con 10% y 50% del fármaco tuvo un mejor ajuste al modelo de Korsmeyer-Peppas, cuyos coeficientes de correlación lineal R fueron 0.98 y 0.97, respectivamente. Los coeficientes de correlación R obtenidos para el modelo propuesto por Higuchi fueron 0.94 y 0.39, respectivamente. La Tabla 5 resume los valores de los parámetros encontrados para las ecuaciones de cada modelo.

Tabla 5. Parámetros obtenidos para el ajuste matemático de la liberación de cafeína de las matrices con 10% y 50% de cafeína a los modelos de Higuchi y Kormeyer-Peppas

Matriz/Modelo	$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n$		$M_t = K_H \sqrt{t}$	
	Parámetro	Valor	Parámetro	Valor
PLA/10% cafeína	K	17.6770	K	16.3509
	n	0.2118	R	0.9404
	R	0.9845		
PLA/50% cafeína	K	36.5189	K	31.3758
	n	0.1903	R	0.3958
	R	0.977		

Los valores de n obtenidos, 0.21 y 0.19 para la liberación de cafeína en las matrices con 10% y 50% de este fármaco respectivamente, no se consideran dentro de los límites del modelo de Korsmeyer-Peppas debido a que se presentan fenómenos complejos incluso con valores de R altos, sin embargo, la difusión (restringida) y desorción superficial podrían ser los mecanismos implicados en la liberación de cafeína desde la matriz basada en PLA [104]. La Fig. 22 muestra el ajuste de la liberación de cafeína en las matrices con 10% y 50% mediante el modelo de Korsmeyer-Peppas.

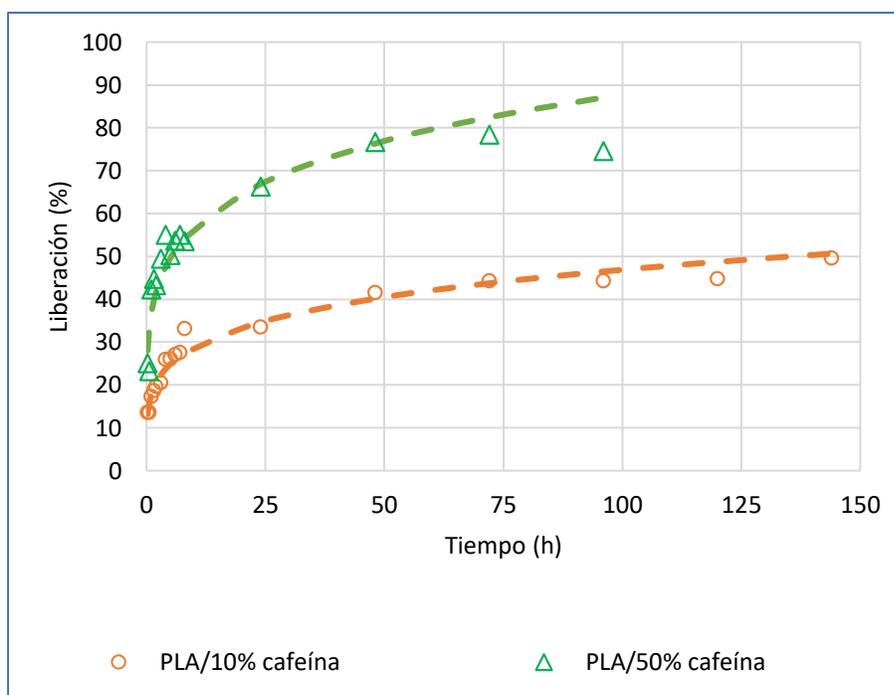


Figura 22. Comportamiento de la liberación de cafeína de las matrices con 10% (círculos naranjas) y 50% (triángulo verde). Las líneas punteadas representan el ajuste mediante el modelo de Korsmeyer-Peppas para la cinética de liberación.

El perfil de liberación de cafeína desde la matriz con 30% mostró una segunda etapa que tiende a comportarse como una línea recta; por esta razón, como se mencionó anteriormente, se ajustó matemáticamente en dos etapas, la primera de ellas mediante el modelo de Korsmeyer-Peppas y la segunda mediante el modelo de orden cero, obteniéndose valores de coeficiente de correlación lineal R de 0.96 y 0.99 respectivamente. Los valores de los parámetros de los modelos se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Parámetros obtenidos para el ajuste matemático de la liberación de cafeína de la matriz 50% de cafeína en dos etapas mediante los modelos de Higuchi y Kormeyer-Peppas

Matriz/Modelo	$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n$		$M_t = M_\infty + k_0t$	
	Parámetro	Valor	Parámetro	Valor
PLA/30% cafeína	K	12.2005	K	0.4543
	n	0.3475	M_∞	22.6258
	R	0.9638	R	0.9866

En la Fig. 23A se muestra el ajuste de la primera etapa de la liberación de cafeína (primeras 8 h) mediante el modelo de Korsmeyer-Peppas. El valor de n obtenido de 0.3475, queda fuera de los límites del modelo, y al igual que en el ajuste de la liberación de cafeína en las matrices con 10% y 50% la liberación se podría explicar mediante la combinación de mecanismos como difusión (restringida) y desorción superficial. Además en los tres casos se presenta el efecto "burst" o liberación ráfaga que es un proceso que se da al principio de los ensayos de liberación en donde una cantidad considerable de fármaco es liberado al medio principalmente por desorción superficial. Este efecto fue más evidente en la matriz con la concentración más alta de fármaco puesto que al haber mayor cantidad de cafeína, no toda logra encapsularse dentro de la fibra y gran parte queda en la superficie. En las matrices con 10% y 30% de cafeína este efecto fue menos pronunciado.

Continuando con el ajuste matemático de la liberación de la matriz con 30% de cafeína, la segunda etapa se modeló siguiendo una cinética de orden cero. Mediante este tratamiento se obtuvo un coeficiente de correlación lineal R de 0.99 (Fig. 23B). El valor obtenido indica un excelente ajuste a este modelo que sigue el comportamiento de la línea recta. Una cinética de orden cero indica que se libera la misma cantidad de cafeína por unidad de tiempo y es el método ideal de liberación para lograr una acción farmacológica de manera sostenida, es decir, para obtener sistemas de liberación sostenida.

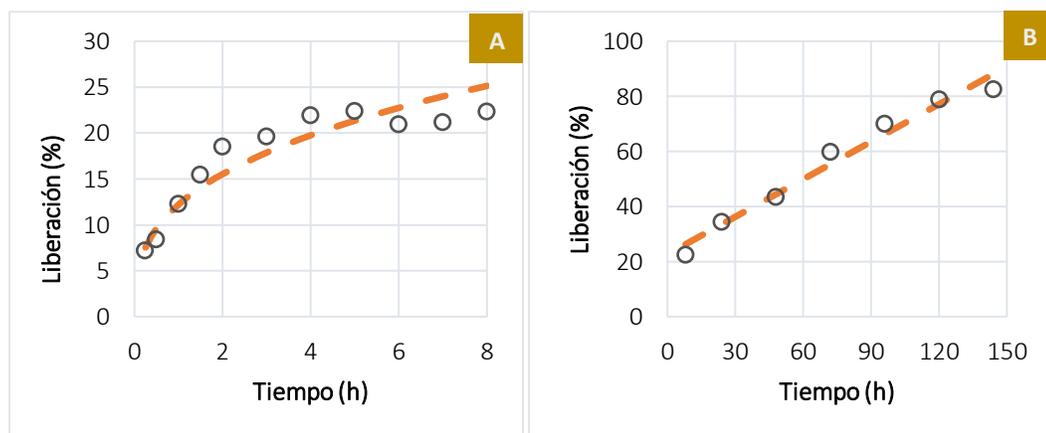


Figura 23. Comportamiento de la liberación de cafeína de la matriz con 30% (círculos grises) (A) Durante las primeras 8 h, (B) Hasta las 144 h. La línea punteada representa el ajuste mediante Korsmeyer-Peppas y orden cero respectivamente.

Finalmente, al haber obtenido un buen ajuste mediante la separación en dos etapas con modelos diferentes, se combinaron las ecuaciones de Korsmeyer-Peppas y orden cero para obtener un modelo que explicase de forma íntegra la liberación de cafeína desde la matriz con 30% obteniéndose un coeficiente de correlación lineal R de 0.99 (Fig. 24).

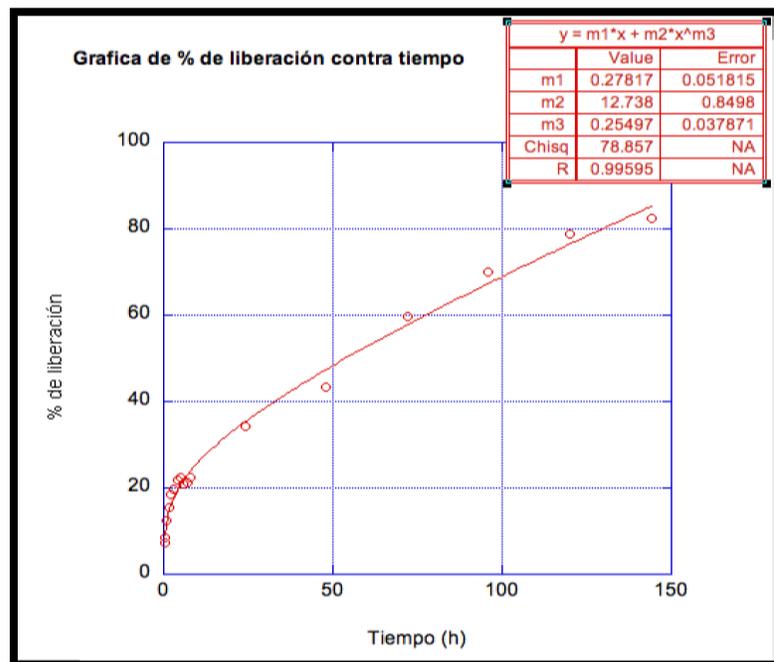


Figura 24. Modelo combinado de la liberación de cafeína desde la matriz con 30%.

El perfil de liberación contiene dos secciones inherentes que se caracterizan por una pendiente diferente. De acuerdo con el modelo propuesto, la etapa de liberación inicial está regida por los mecanismos de difusión (restringida) y desorción superficial mientras que la segunda etapa (indicada por el cambio de pendiente) está regida por el modelo de orden cero. Un ajuste del perfil de liberación al modelo de orden cero indica que el mecanismo involucrado en la liberación del fármaco es la disolución de la matriz que lo contiene; en el caso específico de la matriz de PLA, este proceso no es viable debido a que el PLA tiene una tasa de degradación muy lenta y en promedio comienza su degradación después de 45 días. Sin embargo, el mecanismo que probablemente ocurre involucra una degradación parcial, es decir,

esta etapa se podría adjudicar específicamente a la apertura de los rosarios (beads) causada por la erosión superficial de la capa de PLA, que llegado el momento se fractura y permite la liberación de la cafeína encapsulada en su interior. En el caso de la matriz con 50% que también tuvo la formación de beads, la pared de polímero es tan delgada que inmediatamente se abren y permiten la liberación de la cafeína en su interior y por consiguiente se da una liberación muy rápida durante las primeras ocho horas que llega hasta el 60% del total de cafeína contenida en la matriz.

En las tres formulaciones estudiadas, la cafeína que queda encapsulada en el interior de las fibras después de que ocurren los mecanismos de liberación descritos anteriormente en esa sección, sería liberada en una tercera etapa, cuando comience la degradación del polímero.

CAPÍTULO 6

CONCLUSIONES

-
- ❖ Se obtuvieron con éxito matrices de PLA cargadas con diferentes concentraciones de cafeína. La presencia de cafeína se corroboró mediante espectroscopia FTIR y Raman (identificando los grupos funcionales) y TGA (mediante los cambios en el perfil de descomposición de las matrices), y UV-Vis (mediante la absorción de luz a una longitud de onda de 273 nm).
 - ❖ Fue evidente que la concentración de fármaco modifica la morfología y el diámetro de las fibras. A mayor concentración de cafeína mayor el diámetro de la fibra y mayor formación de rosarios en ella debido a la disminución de la viscosidad extensional de la solución por la presencia del fármaco.
 - ❖ A altas concentraciones de cafeína, se presenta la formación de cristales de este fármaco en su forma β sobre la superficie de la fibra, cuya forma particular es acicular o aguja. Los resultados anteriores fueron corroborados mediante difracción de rayos X (XRD).
 - ❖ La microscopía Raman Confocal y los ensayos de eficiencia de carga mostraron una distribución homogénea de cafeína sobre las fibras con 10% de cafeína y presencia de agregados de tamaño y distribución heterogénea en las fibras con 30% y 50%.
 - ❖ En lo referente al perfil de liberación de cafeína, se observó que la concentración inicial del fármaco y la morfología de las fibras afectan fuertemente su comportamiento, siendo los principales factores implicados.

-
- ❖ En los tres casos, la desorción superficial está presente al inicio de la liberación ya que se presenta el efecto “burst” o liberación ráfaga, siendo más pronunciado en la matriz con 50% de cafeína, cuya liberación inicial alcanzó el 60% de la carga total inicial del fármaco.
 - ❖ De acuerdo con los resultados del ajuste matemático, el mecanismo principal de liberación en las matrices con 10% y 50% de cafeína es la difusión (restringida), sin embargo, también se ve implicada la desorción superficial.
 - ❖ La cinética de liberación de cafeína en la concentración de 30% sigue dos etapas, la primera se rige por el modelo de Korsmeyer-Peppas y la segunda es regida por una cinética de orden 0, esto último indica que una cantidad constante es liberada durante la liberación mediante erosión superficial del polímero.
 - ❖ En las tres formulaciones PLA/cafeína en estudio, el mecanismo que permitiría la liberación de la cafeína encapsulada restante sería la degradación de las cadenas poliméricas, lográndose hasta un 100% de liberación.
 - ❖ De acuerdo con el comportamiento del perfil de liberación en las matrices con 30% de cafeína se concluye que este material sería buen candidato para liberación sostenida. Sin embargo, las tres matrices se podrían combinar con el fin de modificar y obtener un perfil de liberación deseado.

PERSPECTIVAS

- Las matrices de PLA con cafeína obtenidas en este trabajo fueron estudiadas principalmente desde el enfoque de ciencia de materiales; sin embargo, es evidente que queda por evaluarlos desde la perspectiva biológica, mediante ensayos *in vitro* para evaluar su citotoxicidad y su posterior estudio de liberación mediante ensayos *in vivo* para establecer la factibilidad de su aplicación.
- En la actualidad, se han propuesto modelos matemáticos más complejos que involucran mecanismos como el efecto "burst" y mecanismos complejos de liberación que describen de manera más puntual los mecanismos que están implicados en la liberación de fármacos desde diversas matrices, por lo que un trabajo más completo se realizaría al aplicar estos modelos a la liberación de cafeína desde las matrices de PLA.
- La gran variedad de polímeros en el mercado permitiría estudiar y comparar la liberación de cafeína desde distintas matrices electrohiladas, utilizando electrohilado uniaxial o coaxial, permitiendo establecer distintas cinéticas de liberación y estudiar el efecto de la combinación de polímeros en el perfil de liberación.
- Encapsular analgésicos como ibuprofeno o paracetamol que son usados en combinación con cafeína para el tratamiento de cefaleas tensionales complementaría su aplicación.

REFERENCIAS

- [1] Park, K. (1997). *Controlled Drug Delivery: Challenges and Strategies*, Washington, DC, United States: American Chemical Society.
- [2] Sáes, Virginia et al. (2003). "Liberación controlada de fármacos. Aplicaciones", *Revista Iberoamericana de Polímeros*, vol. 4(2):111-122.
- [3] Bajpai, A.K. et al. (2008). "Responsive polymers in controlled drug delivery", *Progress in Polymer Science*, 33:1088-1118.
- [4] Popescu, M.A. (2012). *Drug Delivery*. New York, United States: Nova Science Publishers Inc.
- [5] Lee, T.W., Robinson, J.R. (2000). *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, Philadelphia, United States: Lippincott Williams & Wilkins.
- [6] Katzung, B.G., Trevor, A.J. (2002). *Farmacología básica y clínica*. China: McGraw-Hill Interamericana.
- [7] Florez, J., Armijo J., Mediavilla A. (1997) *Farmacología Humana*. Barcelona, España: Masson S.A.
- [8] Wang, B., Hu, L., Siahaan, T.J. (2005). *Drug Delivery: Principles and Applications*. United States: Wiley.
- [9] Bayer, C.L, Peppas, N.A. (2008). "Advances in recognitive, conductive and responsive delivery systems". *Journal of Control Release*, 18;132(3): 216-221.
- [10] George, M., I. V. Grass, Joseph R. (1990). *Sustained and controlled release drug delivery systems*. Modern Pharmaceutics. G. S. Banker and C. T. Rhodes. USA, Marcel Dekker: 655-657
- [11] Urquhart, J. (2000). "Controlled drug delivery: therapeutic and pharmacological aspects." *J. Intern. Med.* 248: 357-376.
- [12] Langer, R. (2003). "Biomaterials in drug delivery and tissue engineering: One laboratory's experience", *Accounts of Chemical Research*, vol. 3, pp 94-101.
- [13] Langer, R.S., Peppas, N.A. (1981). "Present and future applications of biomaterials in controlled drug delivery systems", *Biomaterials*, vol. 2(4), pp 201-214.
- [14] Laza, D., Gómez, M., Ramos, D., (2001). "Desarrollo de tecnologías de avanzada para la producción de fármacos. Análisis informétrico". *Revista Cubana de Farmacia*, 35:181-186.
- [15] Ramírez, M.V. (2006). *Preparación y estudio de sistemas portadores de fármacos*. Córdoba: Universidad Nacional de Córdoba.
- [16] Ministerio de Sanidad y Consumo (2003). *Real Farmacopea Española*. Madrid, España: Boletín Oficial del Estado.

-
- [17] Blakney, A.K., Ball, C., Krogstad, E.A., Woodrow, K.A. (2013). "Electrospun fibers for vaginal anti-HIV drug delivery", *Antiviral Research*, 100 S9–S16.
- [18] Misra, A., Shahiwala, A. (2014). *Applications of Polymers in Drug Delivery*. United Kingdom: Smithers Rapra.
- [19] Sill, T.J., von Recum, H.A. (2008). "Electrospinning: applications in drug delivery and tissue engineering". *Biomaterials*, 29(13): 1989–2006.
- [20] Ranade, V.V., Hollinger, M.A. (2004). *Drug Delivery Systems*. United States: CRC Press.
- [21] Bajpai, A., Shukla, S., Saini, R., Tiwari, A. (2010). *Stimuli-Responsive Drug Delivery Systems: From Introduction to Application*. United Kingdom: iSmithers Rapra Publishing.
- [22] Rossi, F., Perale G., Masi, M. (2016). *Controlled Drug Delivery Systems. Towards New Frontiers in Patient Care*. Italy: Springer.
- [23] Li, X., Jasti, B. R. (2006). *Design of Controlled Release Drug Delivery Systems*. United States: McGraw-Hill
- [24] Prabakaran, M., Jayakumar, R., Nair, S.V. (2012). "Electrospun Nanofibrous Scaffolds-Current Status and Prospects in Drug Delivery", *Advances in Polymer Science*, vol. 246, pp 241–262.
- [25] Qi, H., Hu, P., Xu, J., Wang, A. (2006). "Encapsulation of Drug Reservoirs in Fibers by Emulsion Electrospinning: Morphology Characterization and Preliminary Release Assessment", *Biomacromolecules*, vol. 7, pp 2327-2330.
- [26] Hu, Xiuli et al. (2014). "Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications", *Journal of Controlled Release*, vol 185, pp 12-21.
- [27] Wang, B., Y., Yin, T., Yu, Q. (2010). "Applications of Electrospinning Technique in Drug Delivery". *Chemical Engineering Communications*, 197:1315–1338
- [28] Doshi, J., Reneker, D.H.J. (1995) Electrospinning Process and Applications of Electrospun Fibers. *Journal of Electrostatics*, 35:151-160
- [29] Frenot A, Chronakis I.S. (2003). Polymer nanofibers assembled by electrospinning". *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 8:64-75.
- [30] Huang, Z.M., Zhang, Y.Z., Kotaki, M., Ramakrishna, S. (2003). "A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites". *Composites Science Technology*, 63:2223-2253.

-
- [31] Haider, S., Al-Zeghayer, Y., Ahmed Ali, F., A., Mahmood, A., Al-Masry, W., Imran, M., Aijaz, M. (2013). "Highly aligned narrow diameter chitosan electrospun nanofibers". *Journal of Polymer Research*. 20(4): 1–11
- [32] Bae, H.-S., Haider, A., Selim, K.M.K., Kang, D.-Y., Kim, E.-J., Kang, I.-K. (2013). "Fabrication of highly porous PMMA electrospun fibers and their application in the removal of phenol and iodine". *Journal of Polymer Research*. 20(7): 1–7.
- [33] Reneker, D.H, Chun I. (1996). "Nanometer diameter fibers of polymer produced by electrospinning". *Nanotechnology*. 7:216–23.
- [34] Haider, A. et al. (2015). "A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology". *Arabian Journal of Chemistry*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.11.015>
- [35] Pillay, V. et al. (2013). "A review of the effect of processing variables on the fabrications of electrospun nanofibers for drug delivery applications". *Journal of Nanomaterials*, Article ID 789289, 22 pages.
- [36] Ball, C., Woodrow, K.A. (2014). "Electrospun solid dispersions of maraviroc for rapid intravaginal preexposure prophylaxis of HIV", *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 58, pp 4855–4865.
- [37] Blakney, A.K., Krogstad, E.A., Jiang, Y.H., Woodrow, K.A. (2014) "Delivery of multipurpose prevention drug combinations from electrospun nanofibers using composite microarchitectures", *International Journal of Nanomedicine*, vol. 9, pp 2967–2978.
- [38] Krogstad, E.A., Woodrow, K.A. (2014). "Manufacturing scale-up of electrospun poly(vinyl alcohol) fibers containing tenofovir for vaginal drug delivery", *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 475, pp 282–291.
- [39] Sundararaj, S.C., Thomas, M.V., Peyyala, R., Dziubla, T.D., Puleo, D.A. (2013). "Design of a multiple drug delivery system directed at periodontitis", *Biomaterials*, vol. 34, pp 8835–8842.
- [40] S. Tungprapa, I. Jangchud, and P. Supaphol, "Release characteristics of four model drugs from drug-loaded electrospun cellulose acetate fiber mats," *Polymer*, vol. 48, no. 17, pp. 5030–5041, 2007.
- [41] S. H. Ranganath and C. H. Wang, "Biodegradable microfiber implants delivering paclitaxel for post-surgical chemotherapy against malignant glioma," *Biomaterials*, vol. 29, no. 20, pp. 2996–3003, 2008.

-
- [42] E. Luong-Van, L. Grøndahl, K. N. Chua, K. W. Leong, V. Nurcombe, and S. M. Cool, "Controlled release of heparin from poly(ϵ -caprolactone) electrospun fibers," *Biomaterials*, vol. 27, no. 9, pp. 2042–2050, 2006.
- [43] Z. M. Huang, C. L. He, A. Yang et al., "Encapsulating drugs in biodegradable ultrafine fibers through co-axial electrospinning," *Journal of Biomedical Materials Research A*, vol. 77, no. 1, pp. 169–179, 2006
- [44] C. L. He, Z. M. Huang, X. J. Han, L. Liu, H. S. Zhang, and L. S. Chen, "Coaxial electrospun poly(L-lactic acid) ultrafine fibers for sustained drug delivery," *Journal of Macromolecular Science B*, vol. 45, no. 4, pp. 515–524, 2006
- [45] A. Chunder, S. Sarkar, Y. Yu, and L. Zhai, "Fabrication of ultrathin polyelectrolyte fibers and their controlled release properties," *Colloids and Surfaces B*, vol. 58, no. 2, pp. 172–179, 2007
- [46] Shoichet, M. S. (2010). Polymer scaffolds for biomaterials applications. *Macromolecules*, 43, 581–591
- [47] Perale, G., Rossi, F., Sundstrom, E., Bacchiega, S., Masi, M., Forloni, G., et al. (2011a). Hydrogels in spinal cord injury repair strategies. *ACS Chemical Neuroscience*, 2, 336–345.
- [48] Ferrari, R., Yu, Y. C., Morbidelli, M., Hutchinson, R. A., & Moscatelli, D. (2011). Epsilon-Caprolactone-based macromonomers suitable for biodegradable nanoparticles synthesis through free radical polymerization. *Macromolecules*, 44, 9205–9212.
- [49] P.F. McDonald, J.G. Lyons, L.M. Geever, C.L. Higginbotham, In vitro degradation and drug release from polymer blends based on poly(DL-lactide), poly(L-lactide-glycolide) and poly(ϵ -caprolactone), *J. Mater. Sci.* 45 (2010) 1284–1292.
- [50] R. Auras, B. Harte, and S. Selke (2004). "An overview of polylactides as packing materials". *Macromolecular Bioscience*, 4(9):835-864
- [51] H. Tsuji and Y. Ikada (1995). "Properties and morphologies of poly(L-lactide): 1. Annealing condition effects on properties and morphologies of poly(L-lactide)". *Polymer*, 36(14): 2709-2716.
- [52] Chen, X., Wang, J., Qingzhu, A. (2015). "Electrospun poly (L-lactic acid-co- ϵ -caprolactone) fibers loaded with heparin and vascular endothelial growth factor to improve blood compatibility and endothelial progenitor cell proliferation". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 128:106-114.

-
- [53] Julien JM, Benezet JC, Lafranche E, Quantin JC, Bergeret A, Lacrampe MF, Krawczak P (2012). "Development of poly (lactic acid) cellular materials: Physical and morphological characterizations". *Polymer*, 53(25):5885-5895.
- [54] Kowalski A, Duda A, Penczek S (2000). "Kinetics and Mechanism of Cyclic Esters Polymerization Initiated with Tin(II) Octoate. 3. Polymerization of l,l-Dilactide". *Macromolecules*, 33:7359–7370
- [55] Ajioka M, Enomoto K, Suzuki K, Yamaguchi A (1995). "The basic properties of poly(lactic acid) produced by the direct condensation polymerization of lactic acid". *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 3:225–234
- [56] Gothoskar, A.V., Manisha, B., & Pooja, B. (2012). Drug Delivery Systems: A Review.
- [57] Maurus, P.B., Kaeding, C.C. (2004). "Bioabsorbable implant material review". *Operative Techniques in Sports Medicine*, 12:158–160.
- [58] Saiful, I., Wan, A. (2012). "Biodegradable polymers and their bone applications: A review". *Journal of Basic & Applied Sciences*, 12(1):31.
- [59] Gunatillake, P.A., Adhikari, R. (2003). "Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering". *European Cells & Materials*, 20(5):1-16.
- [60] Gu, Z.J., Shen, Q. (2016). "Synthesis, characterization, and comparison of polyaniline 1D-structure controlled by poly(L-lactide) and poly(D-lactide)". *Superlattices and Microstructures*, 89:53-58.
- [61] Knight CA, Knight I, Mitchell DC, Zepp JE. Beverage caffeine intake in US consumers and subpopulations of interest: estimates from the Share of Intake Panel survey. *Food Chem Toxicol.* 2004;42:1923—30.
- [62] Chambers, K.P. (2009). Caffeine and search research. Kenneth P. Chambers. New York, United States: Nova Science Publishers.
- [63] Sawynok J – Methylxanthines and pain. *Handb Exp Pharmacol*, 2011;200:311-329.
- [64] Schmidt B, Roberts RS, Davis P et al. – Caffeine therapy for apnea of prematurity. *N Engl J Med*, 2006;354:2112-2121.
- [65] Goldstein J, Silberstein SD, Saper JR et al. – Acetaminophen, aspirin and caffeine in combination versus ibuprofen for acute migraine: results from a multicenter, double- blind, randomized, parallel-group, single-dose, placebo-controlled study. *Headache*, 2006;46:444-453.

-
- [66] Spiller, G. A. (1998). Caffeine. United States: CRC Press.
- [67] Preedy, V.R. (2012). Caffeine: chemistry, analysis, function, and effects. Great Britain: RSC Publishing.
- [68] Daly JW – Caffeine analogs: biomedical impact. *Cell Mol Life Sci*, 2007;64:2153-2169
- [69] Sawynok J, Yaksh TL – Caffeine as an analgesic adjuvant: a review of pharmacology and mechanisms of action. *Pharmacol Rev*, 1993;45:43-85
- [70] Committee on Military Nutrition Research Food and Nutrition Board (2001). Caffeine for the Sustainment of Mental Task Performance. United States: National Academy Press.
- [71] Juliano LM, Griffiths RR – A critical review of caffeine withdrawal: empirical validation of symptoms and signs, incidence, severity, and associated features. *Psychopharmacology*, 2004;176:1-29.
- [72] Davis JK, Green JM – Caffeine and anaerobic performance: ergogenic value and mechanisms of action. *Sports Med*, 2009;39(10):813-832
- [73] Dews, P.B. (1984). Caffeine: perspectives from recent research. Berlin, Germany: Springer.
- [74] Cauli O, Morelli M – Caffeine and the dopaminergic system. *Behav Pharmacol*, 2005;16:63-77.
- [75] Yang H, Rouse J, Lukes L et al. – Caffeine suppresses metastasis in a transgenic mouse model: a prototype molecule for prophylaxis of metastasis. *Clin Exp Metastasis*, 2004;21:719-735.
- [76] Faiyaz Shakeel *, Wafa Ramadan “Transdermal delivery of anticancer drug caffeine from water-in-oil nanoemulsions” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 75 (2010) 356–362.
- [77] Xu K, Bastia E, Schwarschild M – Therapeutic potential of adenosine A2a receptor antagonists in Parkinson’s disease. *Drugs Aging*, 2005;22:471-482
- [78] Chen, J.F., Xu, K., Petzer, J.P., Staal, R., Xu, Y.H., Beistein, M., Sonsalla, P.K., Castagnoli, K., Castagnoli, N., Schwarschild, M.A., 2001. Neuroprotection by caffeine and A2A adenosine receptors inactivation in a model of Parkinson’s disease. *J. Neurosci.* 21, 1–6 RC143.
- [79] Sawynok J – Caffeine and pain. *Pain*, 2010; doi:10.1016 (in press).

-
- [80] Zhang W Y – A benefit-risk assessment of caffeine as an analgesic adjuvant. *Drug Safety*, 2001;24:1127-1142.
- [81] Siepmann J., Siepmann F., (2008). Mathematical modeling of drug delivery. *Int. J. Pharm.* 364: 328-343.
- [82] Vargas, C.I. & E.S. Ghaly (1999) *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 25: 1045-50
- [83] Dash S, Murthy PD, Nath L y Chowdhury P. 2010. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Drug Research* 67:217-223.
- [84] Varelak, C. G., Dixon, D. G., Carol, S. Zero-order release from biphasic polymer hydrogels. *J. Control. Release, Amsterdam*, v.34, p.185-192, 1995.
- [85] Higuchi T. 1961b. Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspensions. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 50:874-875.
- [86] Higuchi, T. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *J. Pharm. Sci., New York*, v.52, p.1145-1149, 1963.
- [87] Korsmeyer, R. W., Peppas, N. A. Macromolecular and modeling aspects of swelling-controlled systems. In: Roseman, T.J., Mansdorf, S.Z., eds. *Controlled release delivery systems*. New York: Marcel Dekker, 1981. p.77-90.
- [88] Korsmeyer, R. W., Gurny, R., Doelker, E. M., Buri, P., Peppas, N. A. Mechanism of solute release from porous hydrophilic polymers. *Int. J. Pharm., Amsterdam*, v.15, p.25-35, 1983.
- [89] Peppas, N. A. Analysis of fickian and non-fickian drug release from polymers. *Pharm. Acta Helv., Zurich*, v.60, p.110-111, 1985.
- [90] Kuznetsova et al. (2008). "Matrix transdermal systems for caffeine delivery based on polymer and emulsion compounds". *Biomedical Engineering*, 42(3):141-144.
- [91] Amiryousefi et al. (2016). "Encapsulation of caffeine in hydrogel colloidosome: optimization of fabrication, characterization, and release kinetics evaluation". *Flavour and Fragrance Journal*, 31:163-172.
- [92] Reena et al. (2017). "Caffeine-loaded gold nanoparticles conjugated with PLA-PEG-PLA copolymer for in vitro cytotoxicity and anti-inflammatory activity". *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 3202:1-9.

-
- [93] Sacchetti et al. (2002). "Caffeine microparticles for nasal administration obtained by spray drying". *International Journal of Pharmaceutics*, 242:335-339.
- [94] Tan et al. (2006). "Sustained-release of caffeine from a polymeric tablet matrix: An in vitro and pharmacokinetic study". *Materials Science and Engineering*, 132:143-146.
- [95] Li et al. (2013). "Electrospun polyvinyl-alcohol nanofibers as oral fast-dissolving delivery system of caffeine and riboflavin". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 103:182-188.
- [96] Li et al. (2013). "Preparation of poly(L-lactide-co-caprolactone)/polyvinyl-alcohol composite for dual-drug encapsulating via electrospinning". *Journal of Polymer Materials*, 30(3):261-272.
- [97] Illangakoon et al. (2014). "Fast dissolving paracetamol/caffeine nanofibers prepared by electrospinning", *International Journal of Pharmaceutics*, 477:369-379.
- [98] Sóti et al. (2015). "Preparation and comparison of spray dried and electrospun bioresorbable drug delivery systems", *European Polymer Journal*, 68:671-679.
- [99] Latosinka, J.N., Latosinka, M. (2011). Towards understanding drugs on the molecular level to design drugs with desirable profiles. In: Kapetanovic. I.M. (Ed.) *Drug Discovery and Development – Present and Future*. Intech, Croatia 231-274.
- [100] Burger, A., Ramberger, R. (1979). On the polymorphism of pharmaceuticals and other molecular crystals. I. *Mikrochim. Acta* 72(3-4), 259-271.
- [101] Hédoux, A., Paccou, L., Derollez, P., Guinet, Y. (2015). Dehydration mechanism of caffeine hydrate and structural description of driven metastable anhydrides analyzed by micro Raman spectroscopy. *International Journal of Pharmaceutics*, 486:331-338.
- [102] Seliger, J. et al (2016). Polymorphism and disorder in natural active ingredients. Low and high-temperature phases of anhydrous caffeine: Spectroscopic (1H-14N NMR-NQR/14N NQR) and solid-state computational modelling (DFT/QTAIM/RDS) study. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 85:18-30.
- [103] Sarfraz et al. (2012). "Morphological Diversity of caffeine on surfaces: needles and hexagons", *Crystal Growth & Design*, 12:538-588.

-
- [104] Shoib MH, Tazeen J, Merchant HA, Yousuf RI (2006) Evaluation of drug release kinetics from ibuprofen matrix tablets using HPMC. Pak J Pharm Sci 19: 119-124.
- [105] Fong et al. (1999). "Beaded nanofibers formed during electrospinning". Polymer 40: 4585-4592.

Este trabajo se presentó en:

- **XXVI International Materials Research Congress.**
“Release profile of caffeine contained in polylactic acid (PLA) scaffolds obtained by electrospinning”. Cancún, México, 2017



-
- **4th US-Mexico Symposium on Advances in Polymer Science - MACROMEX 2017.**
“Release profile of caffeine incorporated in electrospun polylactic acid and polylactic-co-glycolic acid fibers”. Los Cabos, México, 2017

4th US-Mexico Symposium on Advances in Polymer Science
XXX Congreso Nacional de la Sociedad Polimérica de México A.C.

The Organizing Committee of MACROMEX 2017

Acknowledges the Presentation

Release Profile of Caffeine Incorporated in Electrospun
Poly Lactic-co-Glycolic Acid Fibers

presented by

Roberto-Carlos Martínez-Hernández, Mayeli Estrada-Villegas,
Juan Morales-Corona, Roberto Olayo

December, 3rd - 7th, 2017, Los Cabos, B.C. Mexico


Angel Licea Claverie
MEX Chairman


Rigoberto Adoncala
USA Chairman


Michael F. Cunniff
CAN Chairman

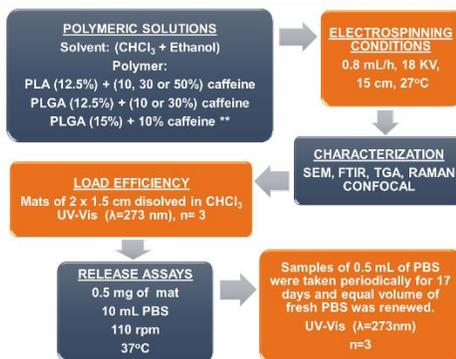
INTRODUCTION

Controlled release systems can be defined as chemical, mechanical or electromechanical devices which deliver drugs to the systemic circulation or to specific target sites in the body at pre-determined and controlled rates [1]. A wide variety of polymeric materials can be used as delivery matrices. Recently, nanofibrous scaffolds, such as the systems fabricated by electrospinning, have been used as drug delivery systems. Electrospinning is a simple and versatile method for fabrication of polymer nanofibers, this ultrafine fibers are generated by application of a strong electric field on polymer solution [2]. The most prevalent polymers used in electrospun fibers for sustained release are polyesters such as polylactic acid (PLA) and poly lactic-co-glycolic acid (PLGA), which are a biodegradable materials, biocompatible, biologically inert and approved by Food and Drug Administration (FDA) [3]. In this study, caffeine was used as a model drug. Principal function of caffeine is the stimulation of the central nervous system, creating a condition of wakefulness and increased mental activity. Recently, there has been evidence of the role of caffeine as antagonist of adenosine A2A receptors in preventing neurodegenerative disorders, such as Parkinson's disease [4].

OBJECTIVE

Evaluate the caffeine release profile of different polymer + drug formulations in addition to their physicochemical and morphological characterization.

EXPERIMENTAL



FTIR spectrum of PLA (pink) (Fig. 2) shows characteristic bands at 1087-1182 (C-O), 1457-1360-2990 (Csp³-H) and 1750 (C=O). PLA spectrum loaded with caffeine (blue) shows in addition, bands in 1555-1664 (Csp²) and 1706 (C=O) that correspond to typical functional groups of caffeine. FTIR spectrums of PLGA (red) and PLGA + caffeine (black) have similar bands as spectrums of PLA mats. These results don't show chemical interaction between molecules of PLA or PLGA and caffeine, apparently.

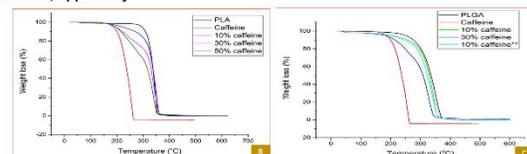


Figure 3. A) Thermogravimetric analysis of PLA mats and B) Thermogravimetric analysis of PLGA mats. **PLGA solution at 15% in chloroform.

Thermogravimetric analysis of PLA (Fig. 3A) and PLGA (Fig. 3B) formulations shows a modification in the degradation profile of mats loaded with caffeine with respect to the pure polymers mats. In addition, the degradation temperature decreases as the caffeine concentration increases.

Confocal Raman Spectroscopy

The micrographs obtained (Fig. 4) reveals a uniformly caffeine distribution (blue) along the fibers of PLA (green) and the fibers of PLGA (green). Caffeine presence and their accumulation is more evident as the caffeine concentration increase.

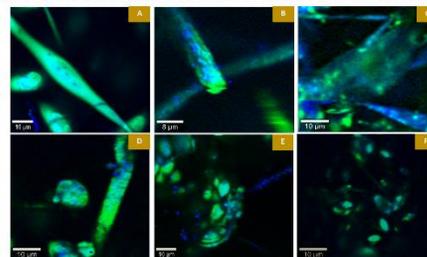


Figure 4. Confocal Raman images of PLA mats loaded with A) 10%, B) 30% and C) 50% of caffeine and PLGA mats loaded with D) 10%, E) 30% y F) 10% ** of caffeine. **PLGA solution at 15% in chloroform.

Load Efficiency and Caffeine Release

PLA mats loaded with 10, 30 and 50% of caffeine had a load efficiency of 100, 77 and 60%, respectively. PLGA formulations had a load efficiency of 80, 67 and 50%. A decrease in load efficiency as caffeine concentration increase is observed. This occurs because caffeine has partial solubility in chloroform, therefore, there is some precipitation at high caffeine concentrations. Fig. 5 shows the caffeine release curves of the tested mats, it is evident a burst release during the first 8 hours and then, the release tend to stabilize with the exception of PLA which maintains a sustained release. A rapid initial release, close to 100% is notorious in PLGA + 30%. The presence of PGA in the copolymer employed, facilitates the chain degradation and this result in greater release of caffeine.

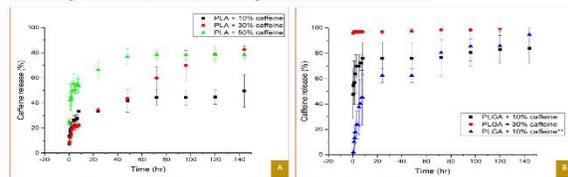


Figure 5. Release profile of caffeine of different A) PLA and B) PLGA formulations. **PLGA solution at 15% in chloroform.

CONCLUSIONS

According to the results, the initial drug and polymer concentrations and the type of polymer employed affects the release profile of caffeine. Superficial desorption and diffusion are the main mechanisms evaluated of caffeine release, polymer degradation will release the entire drug loaded. These results are promising because the mats obtained can be used in a variety of applications, in a separate way or in an optimum combination to modulate release.

RESULTS AND DISCUSSIONS

Scanning Electron Microscopy

SEM micrographs (Fig. 1) show an heterogeneous morphology along the PLA and PLGA fibers with beads presence. Mean diameter of PLA fibers loaded with 10, 30 y 50% of caffeine is 1.2 ± 0.8 , 1.3 ± 0.8 and $1.7 \pm 1.2 \mu\text{m}$ respectively; in the other hand, mean diameter of PLGA fibers is 0.3 ± 0.1 , $0.4 \pm 0.2 \mu\text{m}$, and $5.9 \pm 3.6 \mu\text{m}$ respectively. These results show an increase in fiber diameter as caffeine concentration increase.

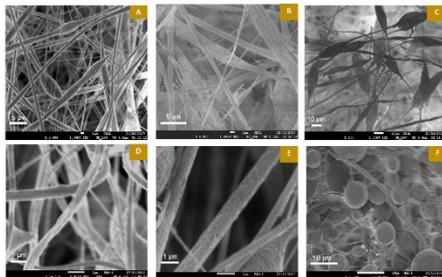


Figure 1. SEM images of PLA mats loaded with A) 10%, B) 30% y C) 50% of caffeine and PLGA mats loaded with D) 10%, E) 30% y F) 10% ** of caffeine. **PLGA solution at 15% in chloroform.

FTIR Spectroscopy and Thermogravimetric Analysis

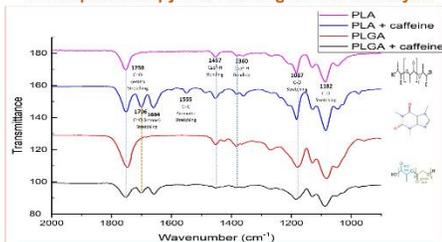


Figure 2. FTIR spectrum of PLA (pink), PLA loaded with caffeine (blue), PLGA (red) and PLGA loaded with caffeine (black).





Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00118

Matricula: 2161801316

"MATRICES DE FIBRAS ELECTROHILADAS DE ÁCIDO POLILÁCTICO (PLA) COMO SISTEMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA: OBTENCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y ESTUDIOS DE LIBERACIÓN CON CAFEÍNA"

En la Ciudad de México, se presentaron a las 14:00 horas del día 30 del mes de julio del año 2018 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DR. ROBERTO ALEXANDER KATZ KAUFFMANN
DRA. GETHZEMANI MAYELI ESTRADA VILLEGAS
DR. JUAN MORALES CORONA

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretario el último, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS (INGENIERIA BIOMEDICA)

DE: ROBERTO CARLOS MARTINEZ HERNANDEZ

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



ROBERTO CARLOS MARTINEZ HERNANDEZ
ALUMNO

REVISÓ



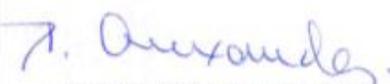
LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBI



DR. JESUS ALBERTO OCHOA TAPIA

PRESIDENTE



DR. ROBERTO ALEXANDER KATZ KAUFFMANN

VOCAL



DRA. GETHZEMANI MAYELI ESTRADA VILLEGAS

SECRETARIO



DR. JUAN MORALES CORONA