

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE INGENIERÍA MECÁNICA Y ELÉCTRICA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO



NANOFIBRAS ELECTROHILADAS DE POLICAPROLACTONA (PCL)-QUITOSANO (CTS)- GELATINA (GEL) COMBINADAS CON NANOESTRUCTURAS METALICO-BIOMOLECULARES AUTOENSAMBLADAS (MBOFS) FENILALANINA (PHE) – COBRE (CU) PARA LIBERACIÓN CONTROLADA DE METOTREXATO (MTC) CON POTENCIAL APLICACIÓN EN TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES DERMATOLÓGICAS.

POR

DENISSE LEYVA CASTAÑEDA

TESIS

EN OPCIÓN AL GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA CON ORIENTACIÓN EN NANOTECNOLOGÍA

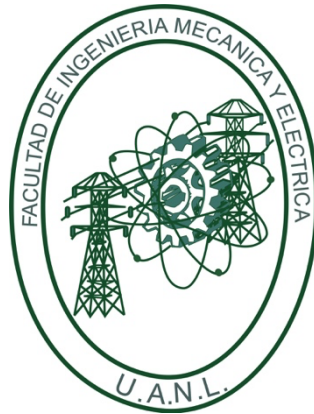
CIUDAD UNIVERSITARIA

SEPTIEMBRE DE 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE INGENIERÍA MECÁNICA Y ELÉCTRICA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO



NANOFIBRAS ELECTROHILADAS DE POLICAPROLACTONA (PCL)-QUITOSANO (CTS)- GELATINA (GEL) COMBINADAS CON NANOESTRUCTURAS METALICO-BIOMOLECULARES AUTOENSAMBLADAS (MBIOFS) FENILALANINA (PHE) – COBRE (CU) PARA LIBERACIÓN CONTROLADA DE METOTREXATO (MTC) CON POTENCIAL APLICACIÓN EN TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES DERMATOLÓGICAS.

POR

DENISSE LEYVA CASTAÑEDA

T E S I S

EN OPCIÓN AL GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA CON ORIENTACIÓN EN NANOTECNOLOGÍA

CIUDAD UNIVERSITARIA

SEPTIEMBRE DE 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica
Posgrado

Los miembros del Comité de Evaluación de Tesis recomendamos que la Tesis “**NANOFIBRAS ELECTROHILADAS GELATINA (GEL) BIOMOLECULARES DE POLICAPROLACTONA (PCL)-QUITOSANO (CTS)- COMBINADAS CON NANOESTRUCTURAS METALICO- AUTOENSAMBLADAS (MBIOFS) FENILALANINA (PHE) – COBRE (CU) PARA LIBERACIÓN CONTROLADA DE METOTREXATO (MTC) CON POTENCIAL APLICACIÓN EN TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES DERMATOLÓGICAS.**”, realizada por el estudiante Denisse Leyva Castañeda, con número de matrícula 1757983, sea aceptada para su defensa como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias de la Ingeniería con Orientación en Nanotecnología.

El Comité de Evaluación de Tesis

Dr. Iván Eleazar Cortéz Moreno
Director

Dr. Raúl Lucio Porto
Co-director

Dr. Luis Alberto López Pavón
Revisor

Dr. Francisco Aurelio Pérez González
Revisor

Dr. Daniel Sánchez Martínez
Revisor

Vo.Bo.



Dr. Simón Martínez Martínez
Subdirector de Estudios de Posgrado

Institución 190001

Programa 557511

Acta Núm. 4252

AGRADECIMIENTOS.

Agradezco en primer lugar a mi madre Sandra I. Castañeda García, quien siempre me ha impulsado a seguir adelante y no rendirme con sus infinitas muestras de cariño y fuerza que han sido indispensables para cumplir y lograr cada una de mis metas. A Manuel González quien me recuerda cada día lo maravilloso que es por estar conmigo en cada paso sin importar lo difícil que parezca.

Agradezco a CONACYT quien apoya y cree en cada uno de nosotros los estudiantes, financiando en particular esta maestría, y a la universidad autónoma de nuevo león que en conjunto con el CIIDIT me permitieron formarme y culminar esta investigación.

Personalmente y de todo corazón agradezco a mi asesor de tesis el Dr. Iván Moreno Cortez, el gran apoyo la paciencia y sobre todo el siempre tener una sonrisa en los momentos más difíciles durante la maestría, por estar al pendiente de todo el desarrollo del proyecto y ayudarme a resolver cada incógnita presentada.

RESUMEN

Denisse Leyva Castañeda

Candidato para obtener el grado de Maestría en Ciencias de la Ingeniería con Orientación en Nanotecnología.

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de ingeniería Mecánica y Eléctrica

Título del estudio: NANOFIBRAS ELECTROHILADAS DE POLICAPROLACTONA (PCL)-QUITOSANO (CTS)- GELATINA (GEL) COMBINADAS CON NANOESTRUCTURAS METALICO-BIOMOLECULARES AUTOENSAMBLADAS (MBIOFS) FENILALANINA (PHE) – COBRE (CU) PARA LIBERACIÓN CONTROLADA DE METOTREXATO (MTC) CON POTENCIAL APLICACIÓN EN TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES DERMATOLÓGICAS

Número de páginas: 66

Objetivos y método de estudio: El objetivo de este trabajo es el desarrollo de un novedoso sistema de liberación de medicamento utilizando la combinación de nanofibras electrohiladas poliméricas PCL-CTS-GEL con nanofibras auto ensambladas Phe-Cu (MBioFs) generando una unión nanofibrosa biocompatible que será utilizada en la encapsulación y posterior liberación controlada de Metotrexato con potencial aplicación para problemas de la piel, específicamente el vitíligo.

Para el desarrollo del trabajo se pretende combinar dos tipos de nanofibras auto ensambladas y electrohiladas, la parte más importante es

la síntesis y caracterización de nanofibras auto ensambladas ya que en la literatura no se tiene este tipo de morfología reportada.

Se plantea y desarrolla un sistema de unión de diferentes síntesis con la intención de mejorar la liberación reduciendo las liberaciones de ráfaga, mejorando el tiempo de vida del encapsulado macro para que dure mucho más sobre la piel, además de permitir, gracias a sus compuestos, una mayor biodegradabilidad y bioadhesión.

Resultados:

Firma del asesor:

Dr. Iván Eleazar Moreno Cortez

CONTENIDO

Agradecimientos.....	4
RESUMEN	6
Índice de tablas y figuras.....	10
1 Marco teórico y Antecedentes	12
1.1 Padecimiento Vitiligo	12
1.2 Nanotecnología.....	16
1.3 Nanomedicina	18
1.4 Materiales nanoestructurados en el tratamiento de las enfermedades actuales.....	20
1.4.1 Materiales nanoestructurados en el tratamiento del vitiligo	20
1.5 MOF	23
1.5.1 Biocompatibilidad de los MOF	24
1.5.2 Bio-MOF y su utilidad.....	25
1.6 Nanofibras poliméricas.....	26
1.6.1 Técnica de electrohilado y parámetros relacionados.....	28
1.6.2 Uso de las nanofibras poliméricas en el área biomédica.....	28
1.7 Sistema propuesto en este trabajo.....	30
1.7.1 Polímeros utilizados en la síntesis de nanofibras poliméricas	30
1.7.1.1 Importancia funcional de los componentes del MBioF	32
1.7.1.2 Rol estructural de los componentes del MBioF.....	32
1.7.1.3 Papel de las nanofibras	34
1.7.2 Metotrexato	34
Capítulo 2 Enfoque de la Tesis	36
2.1 Justificación	36
2.2 Hipótesis.....	36
2.3 Objetivo.....	36
2.3.1 Objetivo general	36
2.3.2 Objetivos específicos	36

Capítulo 3 Metodología y Experimentación	38
3.1 Materiales.....	38
3.2 Metodología	38
3.2.1 Síntesis de Bio-MOF.....	39
3.2.2 Síntesis de nanofibras poliméricas.....	41
3.2.3 Método de carga para el fármaco Metotrexato.....	41
3.2.4 Síntesis de Nanofibras poliméricas y MBioF	42
3.2.5 Preparación de buffer de fosfato PBS	43
3.2.6 Liberación del sistema propuesto.....	44
3.3 Caracterización	44
3.3.1 Espectrofotómetro de ultravioleta-visible (UV-VIS)	44
3.2.2 Microscopio electrónico de barrido (SEM)	45
3.2.3 Calorimetría Diferencial de barrido (DSC)	45
3.2.4 Equipo para propiedades Mecánicas	46
3.2.5 Difracción de Rayos X (XRD).....	47
3.2.6 Análisis Mecánico Dinámico (DMA)	47
4 Resultados y Discusión.....	48
4.1.3 Cu(L-Phe) ₂ MBioF diferentes morfologías.....	48
4.1.1 Cu(L-Phe) ₂ MBioF nanofibras.....	49
4.1.2 Nanofibras poliméricas (PCL-CTS-GEL) y Cu(L-Phe) ₂ MBioF.....	51
4.2 Análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC)	52
4.3 Análisis de Pruebas Mecánicas.....	54
4.4 Análisis de difracción de rayos X (XRD).....	57
4.5 Análisis de FTIR	58
4.6 Análisis Mecánico Dinámico (DMA)	59
4.7 Estudio de liberación "in vitro" del fármaco Metotrexato.....	62
4.8 Hinchamiento	63
4.9 Biodegradación	64
5 conclusiones.....	66
REFERENCIAS.....	68

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Tratamientos actuales para el vitíligo (Fernández Hernández et al., 2008).....	14
Tabla 2. cronología de la evolución de la nanotecnología en la medicina. (Sahu et al., 2021)	19
Tabla 3. Sistema de administración de nano fármacos para la terapia del vitíligo. (Sun et al., 2020)	21
Tabla 4. Propiedades mecánicas de las muestras.	55
Figura 1. Manifestación clínica y patológica del vitíligo (Chen et al., 2021).	12
Figura 2. Tipos de moléculas de nano drogas (Sahu et al., 2021)	17
Figura 3. Aplicación de las nanopartículas en medicina. (Sahu et al., 2021)	18
Figura 4. Familia de MOFs empleadas en la liberación controlada de fármacos. (Personalizados, 2021)	24
Figura 5. Diferentes aplicaciones biomédicas de nanofibras electrohiladas.	27
Figura 6. a) Estructura del complejo Cu(L-Phe) ₂ MBioF. b) Enlace de coordinación Cobre (Van der Helm et al., 1971).....	33
Figura 7. Imagen de la metodología para la fabricación de las nanofibras poliméricas electrohiladas con Cu(L-Phe) ₂ MBioF y MTX.	38
Figura 8. Metodología para el procedimiento de laboratorio para la sinterización y caracterización del sistema propuesto.	39
Figura 9. Proceso de síntesis del Cu(L-Phe) ₂ MBioF.	40
Figura 10. Imagen macro de la síntesis del Cu(L-Phe) ₂ MBioF.	40
Figura 11. Proceso de síntesis de la matriz polimérica.	41
Figura 12. Proceso de la síntesis del Cu(L-Phe) ₂ MBioF con MTX.	42
Figura 13. Imagen macro del Cu(L-Phe) ₂ MBioF con MTX	42
Figura 14. Proceso de la síntesis de la matriz polimérica con Cu(L-Phe) ₂ MBioF y MTX.	43
Figura 15. Imagen del equipo utilizado para electro hilar.....	43
Figura 16. Equipo de espectrofotometría de absorción UV-VIS.	44
Figura 17. Equipo de	45
Figura 18. Equipo calorímetro diferencial de barrido modelo TA Instruments Q2000.	46
Figura 19. Equipo Stable Micro Systems modelo TA.XT plus (textura analyser)	46
Figura 20. XRD.....	47

Figura 21. Equipo Dynamic Mechanical Analyzer modelo PerkinElmer DMA 8000.....	48
Figura 22. Imágenes SEM de diferentes morfologías obtenidas del sobrenadante Cu(L-Phe) ₂ MBioF, con variabilidad en relación con solventes, temperatura y tiempo de reposo.	49
Figura 23. Imagen de Cu(L-Phe) ₂ MBioF en diferentes tipos de nanofibras.	50
Figura 24. Gráficas de diámetros de nanofibras de Cu(L-Phe) ₂ MBioF	51
Figura 25. Imágenes SEM y distribución del diámetro de fibra en nanofibras poliméricas, estructura nanofibrosa de Cu(L-fenilalanina) ₂ Marcos biológicos organometálicos, unión de nanofibras poliméricas y Cu(L-fenilalanina) ₂ Marcos biológicos organometálicos, más el fármaco Metotrexato.	52
Figura 26. Termogramas DSC (a) fenilalanina, (b) Cu(L-Phe) ₂ MBioF, (c) Metotrexato, (d) Cu(L-Phe) ₂ MBioF-MTX, (e) policaprolactona pura, (f) nanofibras poliméricas (PCL CTS GEL), (g) nanofibras poliméricas con Cu(L-Phe) ₂ MBioF, (h) nanofibras poliméricas con Cu(L-Phe) ₂ MBioF, (h) nanofibras poliméricas con Cu(L-Phe) ₂ MBioF y metotrexato.....	54
Figura 27. Gráfico tensión-deformación de nanofibras poliméricas a 20 mm/min.	56
Figura 28. Gráfico de compresión de nanofibras poliméricas a 20 mm/min.....	56
Figura 29 Patrón de difracción de rayos X del complejo MBioF Cu(L-Phe) ₂ , la matriz polimérica PCL-CTS-GEL y la matriz polimérica con el complejo añadido.....	57
Figura 30. FTIR de a) Phe, b) Cu(L-Phe) ₂ MBioF, c) Cu(L-Phe) ₂ MBioF-MTX, d) PCL-CTS-GEL, e) PCL-CTS-GEL/MOF, f) PCL-CTS-GEL/MOF-MTX.	59
Figura 31. DMA PCL CTS GEL	60
Figura 32. DMA PCL CTS GEL / MOF.....	61
Figura 33. DMA PCL CTS GEL/ MOF MTX.....	61
Figura 34. Liberación acumulativa del fármaco MTX de la estructura nanofibrosa.	63
Figura 35. Comportamiento de degradación de las muestras.	65

Introducción

1 MARCO TEÓRICO Y ANTECEDENTES

1.1 Padecimiento Vitíligo

El vitíligo es una afección crónica adquirida que se caracteriza por la aparición de máculas blancas que aumentan de tamaño con el tiempo y que resultan de la pérdida de la función de los melanocitos epidérmicos y en ocasiones de los melanocitos del folículo piloso. Esta afección es el resultado de una interacción compleja entre factores ambientales, genéticos e inmunológicos que en última instancia llevan a la destrucción del melanocito. Afecta a entre el 0,1% y el 2% de la población mundial sin preferencia sexual o racial y puede aparecer a cualquier edad, aunque se ha observado con mayor frecuencia en las dos primeras décadas de vida. El vitíligo no es contagioso y puede tener un impacto significativo en la calidad de vida de los afectados. (Cristina et al., 2009) (Figura 1). Se requiere continuar investigando en esta área para comprender mejor los mecanismos subyacentes del vitíligo y desarrollar tratamientos más efectivos. (Fernández Hernández et al., 2008) (Shoeib et al., 2020).

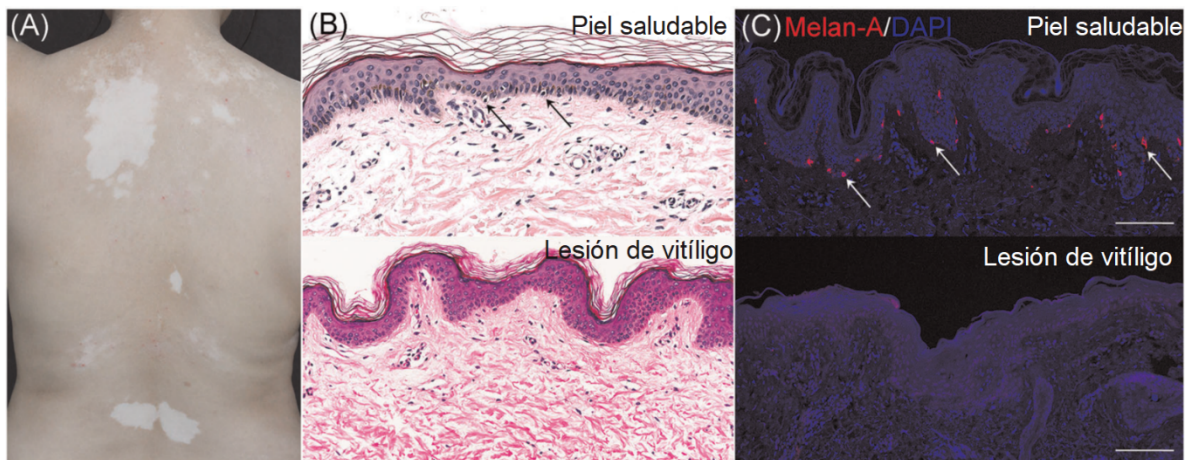


Figura 1. Manifestación clínica y patológica del vitíligo (Chen et al., 2021).

Esta afección es un trastorno de la piel común que se remonta al 2200 a. C., según se describe en el papiro de Ebers, el primer tratado médico egipcio. Esta se caracteriza por la pérdida de la función de los melanocitos epidérmicos, de membranas mucosas y de otros tejidos, lo que se traduce en la aparición de máculas acrómicas que afectan áreas específicas del cuerpo y pueden tener un gran impacto psicológico en

los pacientes afectados. La prevalencia mundial del vitíligo varía del 0,5% al 2%, aunque estos datos cambian según los países. La mayor incidencia se ha reportado en India, seguida de México y Japón, y la prevalencia en los Estados Unidos se estima en el 1%. Hasta el 20% de los pacientes con vitíligo tienen un familiar en primer grado con la enfermedad, y los familiares de estos pacientes que no han desarrollado lesiones sugestivas de vitíligo tienen de 7 a 10 veces más riesgo de presentarlas que el resto de la población general. Es importante destacar que el vitíligo no es una "enfermedad cosmética", sino una afección médica que puede afectar significativamente la calidad de vida de los pacientes. (Cristina et al., 2009)

Existe una falta de acuerdo sobre los mecanismos subyacentes a la pérdida de melanocitos que resulta en la formación de lesiones acrómicas en el vitíligo. Varios enfoques teóricos han sido propuestos, incluyendo la hipótesis bioquímica, neuronal y autoinmune, esta última siendo la más ampliamente aceptada. Además, otros posibles factores etiológicos han sido postulados, como deficiencias en los factores de crecimiento de los melanocitos, defectos en su adhesión intrínseca, factores genéticos y virales, entre otros.

Sin embargo, ninguna de estas teorías ha sido capaz de explicar completamente la enfermedad. Parece ser que cada uno de estos factores contribuyen a la destrucción de los melanocitos, apoyando así la teoría actual de que la etiología del vitíligo es multifactorial y se conoce como la "teoría de convergencia".

La evolución del vitíligo puede ser impredecible, ya que es una enfermedad cuyo desarrollo no se puede anticipar con certeza. Por lo general, después de un inicio abrupto, la enfermedad puede avanzar lentamente durante un tiempo y luego entrar en un período de estabilidad que puede durar varios meses o incluso décadas. El vitíligo segmentario tiende a ser más estable y tiene un pronóstico generalmente mejor que otras formas de la enfermedad. En algunos casos, puede ocurrir una repigmentación espontánea, que generalmente comienza como una pigmentación macular marginal o perifolicular, especialmente en áreas expuestas a la luz. Es importante tener en cuenta que esta enfermedad puede causar un gran impacto psicológico en los pacientes, que a menudo experimentan depresión, pensamientos suicidas e incluso intentos de suicidio.

El diagnóstico de la enfermedad se puede realizar con luz de Wood, que acentúa la diferencia con la piel sana, y muestra una apariencia nacarada como "gota de leche". También es posible realizar una biopsia, cuyo estudio histológico muestra una epidermis de apariencia normal, pero en ausencia de melanocitos y de melanina en la capa basal de la epidermis.

Aunque no existe una cura para el vitíligo, existen modalidades de tratamiento que pueden detener la progresión de las lesiones e inducir diversos grados de repigmentación.

Independientemente de los resultados actuales de la investigación, las estrategias de tratamiento (que se detallan en la Tabla 1) buscan restablecer la función de los melanocitos y, por ende, de la epidermis en pacientes con vitíligo. La repigmentación ocurre mediante la migración de los melanocitos de los folículos pilosos. No existe un fármaco efectivo, por lo tanto, la terapia es combinada y depende del curso y la localización de las lesiones (Fernández Hernández et al., 2008).

Se han establecido tres grupos de tratamientos, que en su mayoría requieren periodos prolongados y dependen del tipo y la localización de las lesiones despigmentadas. Existen tratamientos restauradores del pigmento o de repigmentación, y tratamientos destructores del pigmento o de despigmentación. En el caso de los corticosteroides, se pueden usar de manera tópica o sistémica.

Tabla 1. Tratamientos actuales para el vitíligo (Fernández Hernández et al., 2008).

Tratamiento	Medicamentos o técnicas, más empleadas
Corticosteroides tópicos	Clobetasol, triamcinolona, hidrocortisona
Foto quimioterapia	Luz UVA-> psoralenos, khellin, fenilalanina oral
Fototerapia con luz UVB de banda ancha y de banda estrecha tópico con antioxidantes	Catalasa, pseudocatalasa, superóxido dismutasa, vitaminas E y C, ácidos grasos poliinsaturados y ácido lipoico.
Excimer laser	Se recomienda combinarlo con inmunomoduladores tópicos fundamentalmente el tacrolimus.
Tratamientos sistémicos	metotrexato
Inmunomoduladores tópicos	Tacrolimus, pimecrolimus
Procedimientos quirúrgicos	Injertos celulares de queratinocitos y melanocitos no cultivados, injertos de piel.
Despigmentación permanente o irreversible	Monobencileter de hidroquinona al 20 %
Cosmético	Micro tatuajes o cosméticos.

Diversas investigaciones han demostrado que los corticosteroides tópicos tienen la capacidad de promover la repigmentación al suprimir los linfocitos T y estimular la mitosis y migración de los melanocitos. Sin embargo, la aplicación de corticosteroides tópicos de clase I y la terapia PUVA con psoralenos tópicos o sistémicos son las estrategias terapéuticas más comunes en la actualidad, aunque los resultados no son

satisfactorios en general. Es importante que los pacientes sean controlados regularmente y reciban instrucciones claras sobre la aplicación de los productos para prevenir efectos secundarios como la atrofia cutánea debido al uso prolongado de corticosteroides. Se recomienda una consulta con el especialista cada uno o dos meses y suspender el tratamiento si no se observa mejoría después de tres meses. (Pimentel et al., 2002)

Se ha evidenciado que la terapia NB-UVB reduce los marcadores oxidativos y aumenta los antioxidantes en pacientes con vitíligo, aunque no se sabe si se trata de un efecto primario o secundario a sus propiedades antiinflamatorias tópicas. En cuanto a los tratamientos con inmunomoduladores, se ha observado que el tacrolimus tópico reduce los niveles de estrés oxidativo sistémico en pacientes con vitíligo, mientras que el pimecrolimus no tiene el mismo efecto.

En estudios recientes, se ha propuesto el uso de antioxidantes como adyuvantes en la terapia NB-UVB, ya que se ha demostrado que su combinación induce una mayor repigmentación y reducción en los niveles de MDA. Incluso, algunos estudios indican que los antioxidantes orales pueden ser beneficiosos como monoterapia en el vitíligo de propagación lenta (Fernández Hernández et al., 2008).

Además, se ha encontrado que ciertos tratamientos como los corticosteroides, inmunomoduladores como el tacrolimus y el pimecrolimus, y fármacos como el metotrexato y la ciclosporina, disminuyen la producción de IL1 β y han sido probados con éxito variable en el tratamiento del vitíligo. (Speeckaert et al., 2015).

La literatura ha demostrado una gran variedad de tratamientos para el vitíligo, tanto tópicos como orales o sistémicos (Trémul & Salas, 2006). Sin embargo, ninguno ha demostrado resultados contundentes o definitivos, y en general presentan más efectos secundarios que beneficios para el paciente. Para abordar este problema, se ha utilizado la nanotecnología para liberar de manera sostenida y dirigida diferentes fármacos, incluyendo el metotrexato, con el objetivo de reducir los efectos secundarios asociados a su uso en el tratamiento del vitíligo. Este enfoque puede representar una alternativa prometedora para mejorar la eficacia y la seguridad de los tratamientos existentes para el vitíligo.

1.2 Nanotecnología

La nanociencia y la nanotecnología son campos de estudio interrelacionados, en los que la nanociencia se enfoca en los métodos y técnicas para la fabricación y caracterización de materiales, construcciones y dispositivos a nano escala, mientras que la nanotecnología se ocupa de la aplicación de la nanociencia para fabricar productos útiles. En las últimas décadas, los químicos han centrado sus esfuerzos en la producción de diversas nanoestructuras, tales como nanopartículas, nanotubos, nano placas, nanoestructuras de núcleo y cubierta, y nanofibras, mediante estrategias de arriba hacia abajo y de abajo hacia arriba (Yazdi et al., 2020).

En otro aspecto, los ingenieros han empleado métodos de reducción de tamaño, siguiendo un enfoque descendente, en la creación de objetos en dimensiones microscópicas. Esto se ha logrado mediante el uso de procesos de manufactura a escala micro y nano, para desarrollar componentes como circuitos integrados, sistemas electromecánicos micro/nano, dispositivos para controlar fluidos en escala micro, pantallas de tipo plano y diversos tipos de sensores.

Los progresos en el campo de la nanotecnología han brindado a científicos e ingenieros la oportunidad de abordar el desafío de la reducción de tamaño desde diversas perspectivas. Los expertos en biología y aquellos especializados en ingeniería han empleado métodos de ingeniería para modificar componentes biológicos, con el fin de crear dispositivos innovadores en el campo de la biología sintética. Esto ha dado lugar a la creación de dispositivos novedosos utilizando microorganismos y células. La combinación de entidades biológicas con sistemas micro/nano electromecánicos (MEMS/NEMS) ha generado una serie de nuevos dispositivos prometedores, que tienen aplicaciones potenciales en el diagnóstico y tratamiento de diversas enfermedades, así como en la gestión de la contaminación ambiental (Yazdi et al., 2020).

Gracias al rápido avance de la nanotecnología, estos variados enfoques han posibilitado que científicos e ingenieros creen dispositivos de dimensiones significativamente más reducidas, que pueden ser insertados en el cuerpo humano o administrados de manera análoga a los fármacos. La medición de diversas señales físicas y químicas resulta fundamental para evaluar las condiciones corporales y el estado de enfermedades, lo que convierte a las plataformas de detección en una parte esencial de estos dispositivos. Además, es posible incorporar sistemas de administración en estas plataformas para lograr una liberación controlada de diferentes agentes terapéuticos. Estas características convierten a la nanotecnología

en una herramienta sumamente valiosa en el desarrollo de dispositivos médicos y terapéuticos más avanzados.

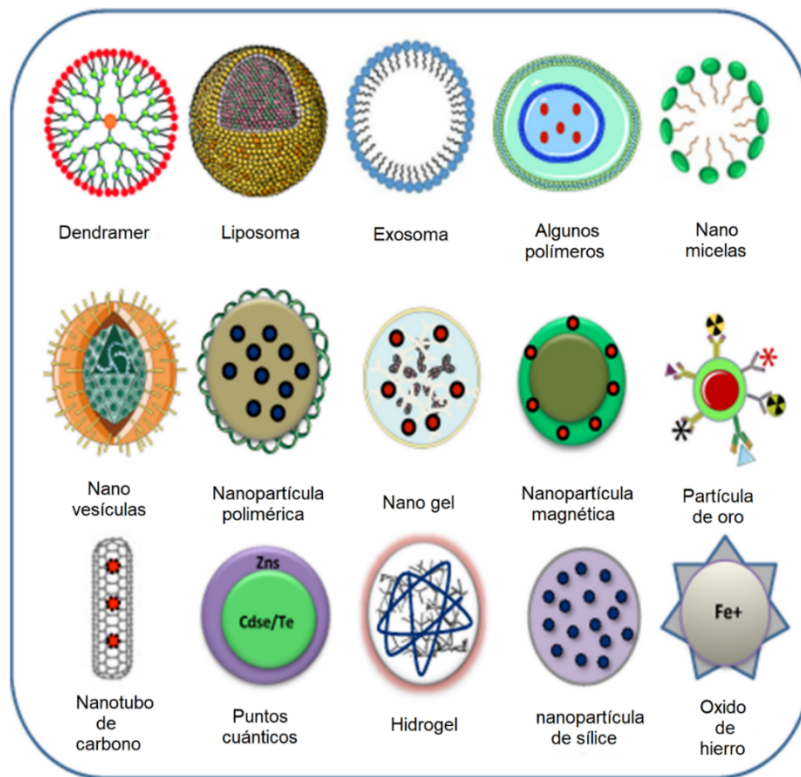


Figura 2. Tipos de moléculas de nano drogas (Sahu et al., 2021)

En el ámbito de la nanociencia, se han establecido colaboraciones interdisciplinarias con campos tradicionales como la aplicación en la salud, la química molecular, la ciencia de las moléculas, la ciencia farmacéutica, la óptica y la ingeniería. Esto se ha hecho con el propósito de explorar nuevas características de la materia. Durante las últimas décadas, se ha promovido la unión entre ciencia y tecnología para abordar los desafíos presentes en las ciencias médicas y de la salud. Este enfoque ha llevado a la creación de un sistema de atención médica más efectivo, así como al desarrollo de herramientas de nanomedicina y enfoques terapéuticos avanzados (Sahu et al., 2021).

El término "nanotecnología" fue inicialmente introducido en 1974 por el profesor N. Taniguchi, y poco tiempo después, Drexler publicó el primer concepto de nanotecnología en su libro titulado "Vehículo de creación: la llegada de la era de la nanotecnología" en 1986, lo que marca su origen histórico. Actualmente, la nanotecnología está emergiendo como una nueva vía de investigación y transformación de las ciencias de la salud, convirtiéndose en una herramienta terapéutica imperativa (Sahu et al., 2021).

En este contexto, la nanotecnología se presenta como una opción crucial que puede proporcionar innovadoras tecnologías para abordar cuestiones relacionadas con la biología y la medicina en el ámbito terapéutico. Se han creado diversos materiales a escala nanométrica con ventajas en el ámbito clínico, y la nanomedicina está surgiendo como el referente principal en el campo de las ciencias de la salud.

1.3 Nanomedicina

Hoy en día, la nanomedicina representa una de las aplicaciones más destacadas de la nanotecnología, con el propósito fundamental de crear instrumentos médicos a una escala nanométrica para mejorar la eficacia del sistema de atención médica (Figura 3). Este enfoque facilita una comprensión más profunda de la fisiología humana y la lucha contra enfermedades mortales, como el cáncer y las afecciones cardiovasculares. La nanomedicina se destaca principalmente en áreas como la imagenología, el diagnóstico de enfermedades, la ingeniería de tejidos y el diseño de sistemas de administración de medicamentos más precisos, seguros y rentables. Esto se traduce en una administración más exacta de los tratamientos en los lugares necesarios, lo que a su vez agiliza los resultados al reducir los efectos secundarios no deseados y la toxicidad (Sahu et al., 2021).

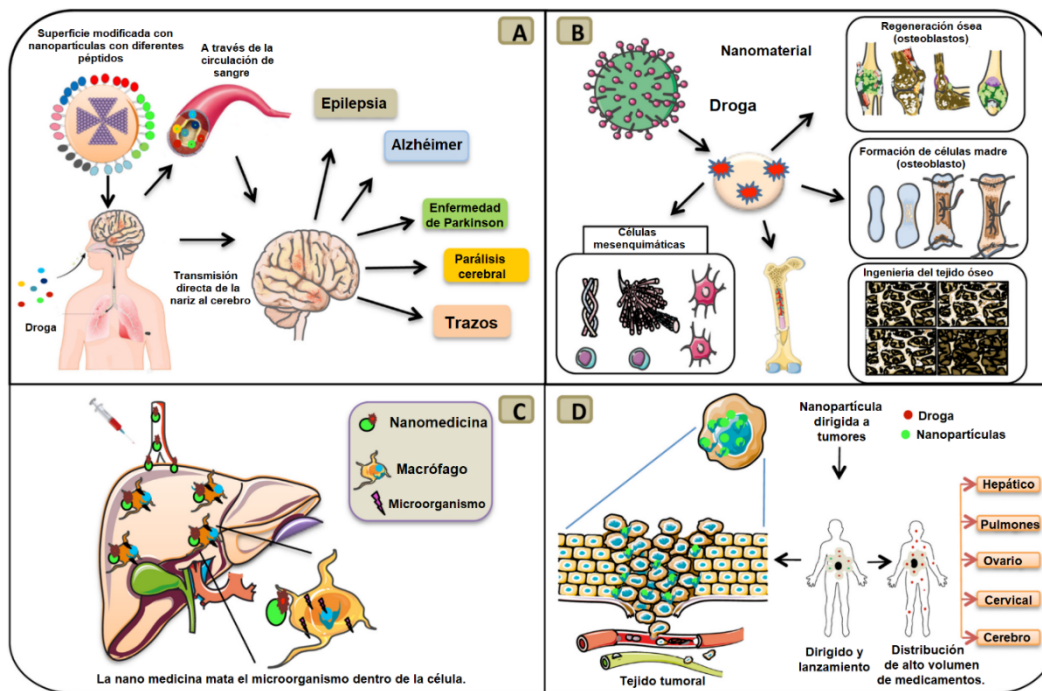


Figura 3. Aplicación de las nanopartículas en medicina. (Sahu et al., 2021)

La nanotecnología tiene el potencial de promover avances revolucionarios en medicina, comunicaciones, genómica y robótica en la salud humana, lo que puede resultar en inmensos beneficios clínicos. Discutir y explorar todas las aplicaciones de la nanotecnología es vasto y diverso. A pesar de esto, la ventaja más significativa de las herramientas y productos de nanotecnología puede tener un gran valor en la salud humana a nivel global. La cronología de la evolución de la nanotecnología en la ciencia médica se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Cronología de la evolución de la nanotecnología en la medicina. (Sahu et al., 2021)

Cronología de la evolución de la nanotecnología en la ciencia médica.	
Año	Desarrollo de la nanotecnología
1857	Michael Faraday (Síntesis de nanopartículas de oro rubí coloidal).
1905	Einstein estima el tamaño de la molécula/ compuesto de azúcar a 1 nm
1928	El microscopio de campo cercano es muy utilizado en el diagnóstico (invención del microscopio de iones de campo).
1931	Max Knoll y Ernest Ruska (Microscopio electrónico de transmisión)
1953	James Watson y Francis Crick (Descubrimiento del ADN)
1959	Primera conferencia de Richard Feynmann sobre nanotecnología "Hay mucho espacio en el fondo"
1963	Stephen Papell Invención de los ferrofluidos
1974	Mark A. Ratner y Arieh Aviram (Invención de la electrónica molecular). El término de nanotecnología utilizado por primera vez por Norio Tanguchi
1977	Richard P. Van Duyne (Descubrimiento de la espectroscopia Raman mejorada de superficie).
1981	Eric Drexler ingeniería molecular Invención del microscopio giratorio IBM Scanning
1982	Nadrian Seeman (Desarrollo del concepto de nanotecnología de ADN) .
1991	Iijima (Invención de nanopartículas de carbono).
1993	Sumio Iijima y Donald Bethune (Descubrimiento de nanotubos de carbono de pared simple).
1996	Chad Mirkin y Robert Letsinger (SAM de AND * coloides de oro) Zyvex.
1997	(Primera empresa de nanotecnología fundada)
1999	Chad Mirkin (Desarrollo de nano litografía de pluma de inmersión (DPN)).
2000	La iniciativa nacional de nanotecnología se hizo en los EE. UU.
2001	Carlos Montemagno (Nano químicas moleculares: motor molecular (rotor) con dispositivos de silicio a nano escala).
2002	Cees Dekker (Nanotubos de carbono funcionalizados con ADN)
2004	Xu et al. Descubrimiento de puntos de carbono fluorescente.
2004	Primer informe de la Royal Society sobre la implicación de la Nanotecnología
2006	Paul Rothemund (DNA origami).
2007	J. Fraser Stoddart (maquinas moleculares artificiales: similares a músculos activados por pH).
2008	Osamu Shimomura, Martin Chalfie y Roger Tsien (Premio Nobel de Química por el descubrimiento y desarrollo de la proteína verde fluorescente).
2009	Nadrian Seeman (las estructuras de ADN se pliegan en cristales)

	romboédricos 3D).
2009	Primera vez que se utilizó nanopartícula para el objetivo de la administración de fármacos al tejido canceroso In vivo.
2016	Estudiar el efecto de las nanopartículas en el organismo.

Esta revisión destaca la importancia de la nanotecnología en la salud humana, con especial énfasis en su aplicación nano medicinal en imágenes, detección, diagnóstico, sistemas de administración de fármacos dirigidos y estrategias de tratamiento eficaces para enfermedades humanas.

1.4 Materiales nanoestructurados en el tratamiento de las enfermedades actuales

Las nanofibras poliméricas han demostrado ser efectivas en diversas aplicaciones médicas, y en particular, en enfermedades de la piel. Por ejemplo, las nanofibras electrohiladas se han utilizado como apósitos para heridas, reduciendo las cicatrices en la piel debido a su similitud con la matriz extracelular (Khoshbakht et al., 2020). Además, las nanofibras poliméricas han mostrado una excelente acción en el tratamiento de úlceras en pacientes diabéticos, actuando como una venda que administra constantemente el medicamento necesario (Davani et al., 2021). La alta relación área superficial/volumen, porosidad y capacidad de carga de las nanofibras, junto con su estructura similar a la de la piel y la matriz extracelular, las convierten en una opción especial para la administración transdérmica de fármacos.

1.4.1 MATERIALES NANOESTRUCTURADOS EN EL TRATAMIENTO DEL VITÍLIGO

En la actualidad, existen varios tratamientos disponibles para el vitíligo, aunque no son los más adecuados debido a sus efectos secundarios. Algunos de estos tratamientos incluyen corticosteroides como el propionato de betametasona, dipropionato de clobetasol, metotrexato y furoato de mometasona, que se usan comúnmente en casos de vitíligo localizado en adultos y niños, pero pueden provocar efectos secundarios como atrofia cutánea, foliculitis, lesiones acnéicas y estrías distensas. Los inmunomoduladores, como el tacrolimus y el pimecrolimus, son otra opción que se puede usar en adultos en reemplazo de los corticosteroides, pero pueden causar

sensación de ardor, prurito y un mayor riesgo de linfomas cutáneos y no cutáneos. Los antioxidantes, como la vitamina C, la vitamina E, el superóxido dismutasa y el polipodio leucotomos, se pueden usar en combinación con otros tratamientos, aunque sus efectos secundarios son desconocidos y su efecto no es específico. Por último, la fototerapia, que incluye UVB-NB y PUVA (fenilalanina), se usa en casos de vitíligo generalizado en adultos y niños y se combina con otros medicamentos, pero puede provocar hiperpigmentación, eritema y ampollas. (Sun et al., 2020).

Los medicamentos actuales, que pueden ocasionar efectos secundarios significativos, podrían encontrar una solución prometedora en los materiales nanoestructurados. Los sistemas de administración de fármacos nanoestructurados posibilitan una liberación específica del medicamento, evitando la exposición a otras áreas del cuerpo y concentrándose en el área afectada. En la Tabla 3 se describen algunos de estos sistemas nanoestructurados para la administración de fármacos en el tratamiento del vitíligo.

Tabla 3. Sistema de administración de nano fármacos para la terapia del vitíligo. (Sun et al., 2020)

Formulación	Fármaco/Agente terapéutico	Resultado
Liposomas	8-metoxipsoraleno	La liberación y permeación- acumulación de 8-MOP aumenta in vitro.
Liposomas deformables	Baicalina y berberina Resveratrol	Estimula la producción de melanina y la actividad tirosinasa. Mostró notables capacidades antioxidantes y fotoprotectoras
Liposomas deformables	Resveratrol y psoraleno	Mayor tasa de penetración, actividad significativamente estimulada de melanina y tirosinasa, actividad antioxidante potencial, pigmentación promovida y restauración del equilibrio redox por la actividad de eliminación de radicales libres.
niosomas catiónicos	Plásmido de tirosinasa humana en células de melanoma de ratón por péptido Tat.	Mejóro la expresión del gen de la tirosinasa humana y la producción de melanina con una

		citotoxicidad relativamente baja; mejoró la estabilidad del plásmido cargado en los niosomas.
niosomas catiónicos	Plásmido de tirosinasa pMEL34	Las actividades de tirosinasa expresadas fueron cuatro veces mayores que el plásmido libre y el plásmido cargado en niosomas no elásticos. Exhibir potencial como un sistema de administración tópica de genes para el vitíligo.
Gel a base de micro emulsión	propionato de clobetasol	Mostró una mejor retención en la piel y menos potencial de irritación, permeado y retenido en las capas de la piel; Permeación y acumulación significativamente mejoradas de la piel; los pacientes tratados con MBC mostraron una repigmentación más rápida.
Hidrogel a base de etosomas de tamaño nanométrico	8-metoxipsoraleno	Aumento significativo de la penetración de la piel y la acumulación en las capas epidérmica y dérmica. Mostró fototoxicidad y eritema insignificantes en comparación con la crema convencional.
Nanopartículas	Paladio y platino	Es capaz de activar AHR y NRF2 en queratinocitos humanos
Nanopartículas	Polydopamine	Las nanopartículas similares a la melanina fueron endocitadas por queratinocitos epidérmicos humanos e imitaron el comportamiento de los melanomas naturales.

1.5 MOF

Las estructuras metal-orgánicas (MOF) son materiales cristalinos porosos que se forman a través de la coordinación de iones metálicos y enlazadores orgánicos (Noorian et al., 2020). Estos materiales se unen mediante enlaces de coordinación, formando estructuras porosas bidimensionales o tridimensionales (Anderson & Stylianou, 2017). La elección adecuada del ion metálico y del ligando ha permitido a los investigadores descubrir una amplia variedad de MOFs altamente porosos, con diferentes topologías, composiciones y propiedades, como áreas de superficie interna de hasta 7000 m² / g (Zirak Hassan Kiadeh et al., 2021), altos volúmenes de vacíos (hasta 90%) y bajas densidades (tan bajas como 0.126g/cm³).

Además, la capacidad de modificar químicamente la superficie de los poros del MOF mediante la introducción de grupos funcionales antes y después de la síntesis, junto con la capacidad de formar sitios abiertos de coordinación de metales, permite adaptar las superficies internas para aplicaciones relacionadas con la separación de gases, almacenamiento, catálisis y detección (Anderson & Stylianou, 2017).

Los MOF se pueden clasificar según su estructura en tres generaciones diferentes: 1) MOFs de primera generación, que son MOFs convencionales con la estructura básica del polímero de coordinación; 2) MOFs de segunda generación, que son MOFs funcionalizados o recubiertos; y 3) MOFs de tercera generación, también conocidos como MOFs inteligentes, que están compuestos de cationes biocompatibles capaces de incorporar fármacos y moléculas bioactivas en su estructura o superficie. Los MOFs de segunda y tercera generación son particularmente interesantes para aplicaciones biomédicas, ya que pueden ser utilizados para la encapsulación, protección y liberación de fármacos, la imagen biomédica en tiempo real del fármaco y como agentes terapéuticos en el tratamiento del cáncer. (Personalizados, 2021)

En lo que respecta a los MOFs nanoestructurados utilizados para liberar medicamentos, se crean al combinar clústeres metálicos con ligandos orgánicos que contienen grupos carboxilos y fosfatos de imidazolatos, lo que da lugar a la creación de nuevas funcionalidades. La estructura química de estos nano MOFs incluye zonas que son hidrofílicas y otras que son hidrofóbicas, lo que influye en su capacidad de ser compatible con la sangre. Además, debido a su amplia área superficial, tienen la capacidad de adsorber una mayor cantidad de moléculas terapéuticas. Cabe destacar que la estructura química del ligando orgánico puede tener un impacto en el proceso de liberación de los medicamentos (Personalizados, 2021).

1.5.1 BIOCOMPATIBILIDAD DE LOS MOF

La biocompatibilidad de los MOF está determinada por su composición química, la cual incluye el ion metálico, el ligando orgánico y el solvente utilizado en su síntesis. Para asegurar la biocompatibilidad, se recomienda el uso de iones metálicos biocompatibles, como Mg^{+2} , Ca^{+2} , Fe^{+3} y Zn^{+2} , en la síntesis de los MOF. Además, existen metales que se encuentran naturalmente en el cuerpo humano y pueden ser utilizados, como Cu, Mn, Se, Mo, Cr y V, los cuales actúan como cofactores de enzimas o como sitios activos para ellas, así como metales inertes, como Au, Ag y Zr.

En cuanto a los ligandos, se utilizan aquellos que contienen grupos carboxilos e imidazolatos debido a su alta polaridad y su capacidad de ser fácilmente eliminados del cuerpo a través de la orina y las heces. El ligando orgánico también puede ser una molécula endógena del organismo, como aminoácidos, péptidos, proteínas, bases nucleicas y carbohidratos, o una molécula exógena, como ácido nicotínico, curcumina y olsalazina.

En relación con el solvente, la preparación del MOF implica el uso de solventes como etanol, cloroformo, dimetilsulfóxido (DMSO) y dimetilformamida (DMF), pero es recomendable utilizar solo agua y etanol para evitar residuos que puedan causar toxicidad renal y hepática. Los MOF utilizados en la liberación de fármacos incluyen aquellos de las familias ZIF-8, UiO-66 y MIL (MIL-53, MIL-88, MIL-89, MIL-100 y MIL-101), los cuales son de particular interés para aplicaciones biomédicas. (Figura 4).

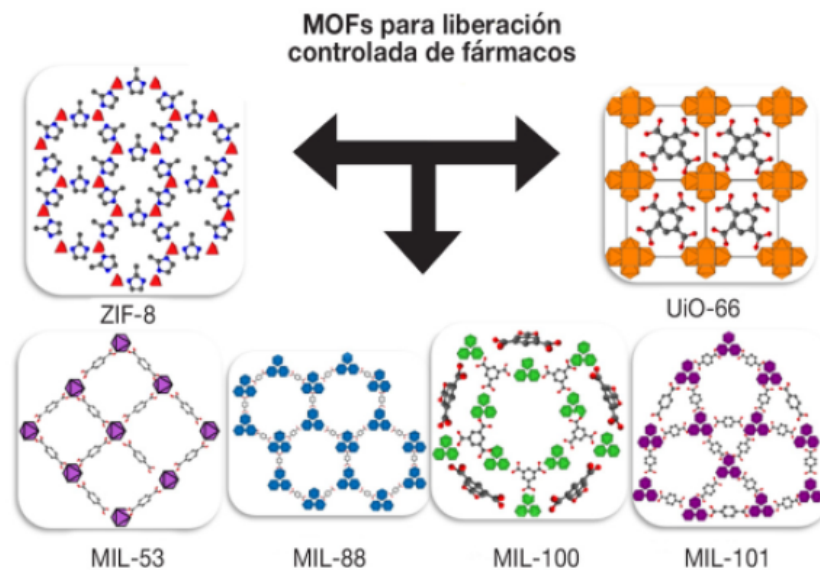


Figura 4. Familia de MOFs empleadas en la liberación controlada de fármacos. (Personalizados, 2021)

1.5.2 BIO-MOF Y SU UTILIDAD.

Con el fin de superar el problema de toxicidad del ligando orgánico en la síntesis de MOF, se han desarrollado bioMOFs que se construyen a partir de ligandos de base biológica, también conocidos como bio-ligandos. En comparación con otros ligandos convencionales para la síntesis de MOF, los ligandos biológicos (como aminoácidos, péptidos, nucleobases y sacáridos) presentan múltiples sitios de coordinación y una gran variedad de grupos funcionales que pueden ser beneficiosos en biocatálisis, biosensores, celdas de biocombustibles y dispositivos bioelectrónicos. Aunque originalmente se diseñaron para la liberación de fármacos, los bioMOFs tienen un amplio potencial en diversas aplicaciones.

Los bio-MOF son estructuras organometálicas ensambladas con iones metálicos y enlazadores biológicos, que han ganado gran atención como plataformas para la administración de fármacos debido a sus propiedades, como alta capacidad de carga de fármacos, fácil preparación, biodegradabilidad y sintonizabilidad. Los MOF se han utilizado para administrar varios medicamentos y fármacos, que se pueden cargar mediante diferentes medios, como la incorporación directa como ligandos puente, la encapsulación física dentro de los MOF y la unión covalente a los enlazadores orgánicos. Sin embargo, independientemente de la estrategia utilizada, es importante que el fármaco mantenga su estabilidad estructural y carga durante la circulación in vivo (Guo et al., 2021).

Se han dedicado grandes esfuerzos al desarrollo de sistemas de administración de fármacos para superar las limitaciones que muchos fármacos bioactivos presentan, como su baja estabilidad y dispensabilidad en solución acuosa, su baja permeabilidad en la membrana celular, su acumulación fuera del objetivo, su liberación incontrolable y sus efectos secundarios no deseados. Los marcos organometálicos (MOF) son un área de investigación muy activa en la que los materiales cristalinos porosos se construyen a partir de iones/metálicos y ligandos orgánicos/biológicos. Se ha estudiado el uso de los marcos organometálicos de origen biológico (bio-MOF) como una plataforma adecuada para la liberación controlada de moléculas bioactivas.

Con este fin, se utilizó una técnica de molienda de bolas para encapsular eficientemente varios fármacos modelo, como el 5-fluorouracilo, la cafeína, el ácido paraminobenzoico y la benzocaína. Se estudió la liberación controlada de estas moléculas en condiciones simuladas de piel para demostrar su idoneidad como sistemas de administración tópica de fármacos. Los fármacos encapsulados en el bio-MOF se incorporaron en tejido celulósico preoxidado para demostrar su posible

aplicación en el tratamiento antibacteriano y la terapia del cáncer de piel. Los resultados indican que los tejidos celulósicos cargados exhiben actividades significativas en la lucha contra el cáncer de piel y las bacterias. (Noorian et al., 2020)(Noorian et al., 2020)

Han sido exploradas diversas estrategias para la construcción de bio-MOF con carga de metotrexato (MTX), con el objetivo principal de evaluar su aplicabilidad biológica en la terapia de la artritis reumatoide. La evaluación in vivo ha confirmado la eficacia antiinflamatoria mejorada y la bioseguridad del nanosistema en comparación con el MTX libre. De esta manera, se ha desarrollado una plataforma nano-bio-MOF para la administración de MTX en la terapia de la artritis reumatoide, lo que destaca la brecha existente entre el diseño de bio-MOF y su rendimiento biológico, lo que puede impulsar las aplicaciones prácticas en el campo de bio-MOF (Guo et al., 2021). En esta investigación, se ha optado por utilizar un bio-MOF debido a sus características principales que lo hacen apto para enfermedades dermatológicas y su capacidad para mejorar la liberación controlada del fármaco, añadiendo las propiedades antibacterianas del ion metálico a utilizar.

1.6 Nanofibras poliméricas

Durante varias décadas, las nanofibras han sido objeto de numerosos estudios como andamios para la ingeniería de tejidos debido a su alta relación de área de superficie específica y alta porosidad, lo que las convierte en un material bioamigable y apto para la carga de múltiples fármacos y moléculas bioactivas. Debido a estos beneficios, las nanofibras se han convertido en una opción popular para el desarrollo de sistemas de administración de fármacos, (Z. Li et al., 2014), lo que ha generado un gran interés en la nanotecnología en términos de sus aplicaciones en diversas áreas, incluyendo la biomedicina, la farmacéutica, la eliminación de colorantes, el tratamiento de aguas y la energía. (Alturki, 2021). En particular, los avances recientes en la nanotecnología han permitido la fácil fabricación de nanofibras a partir de acetato de celulosa, quitosano, policaprolactona y otros polímeros, lo que ha impulsado su posible uso en aplicaciones biomédicas, como vectores potenciales para la administración controlada y dirigida de fármacos, apósitos para heridas y medicina regenerativa, entre otros.

El proceso de electrohilado es ampliamente utilizado para la producción de nanofibras, debido a su facilidad de procesamiento. Este método permite la fabricación de nanofibras a partir de polímeros naturales como el acetato de celulosa, así como de polímeros sintéticos como la policaprolactona. Además,

muchos polímeros naturales como el quitosano, el colágeno, el almidón y la fibra de seda son biocompatibles y biodegradables, lo que los hace adecuados para su uso en aplicaciones médicas.

Recientemente, se ha prestado atención a la fabricación de nanofibras electrohiladas con compuestos inorgánicos o agentes fototérmicos, debido a su potencial como candidatos exitosos para el tratamiento local a largo plazo del cáncer de piel. Varios estudios han destacado la eficacia de las nanofibras electrohiladas en este campo (Figura 5) (Alturki, 2021).

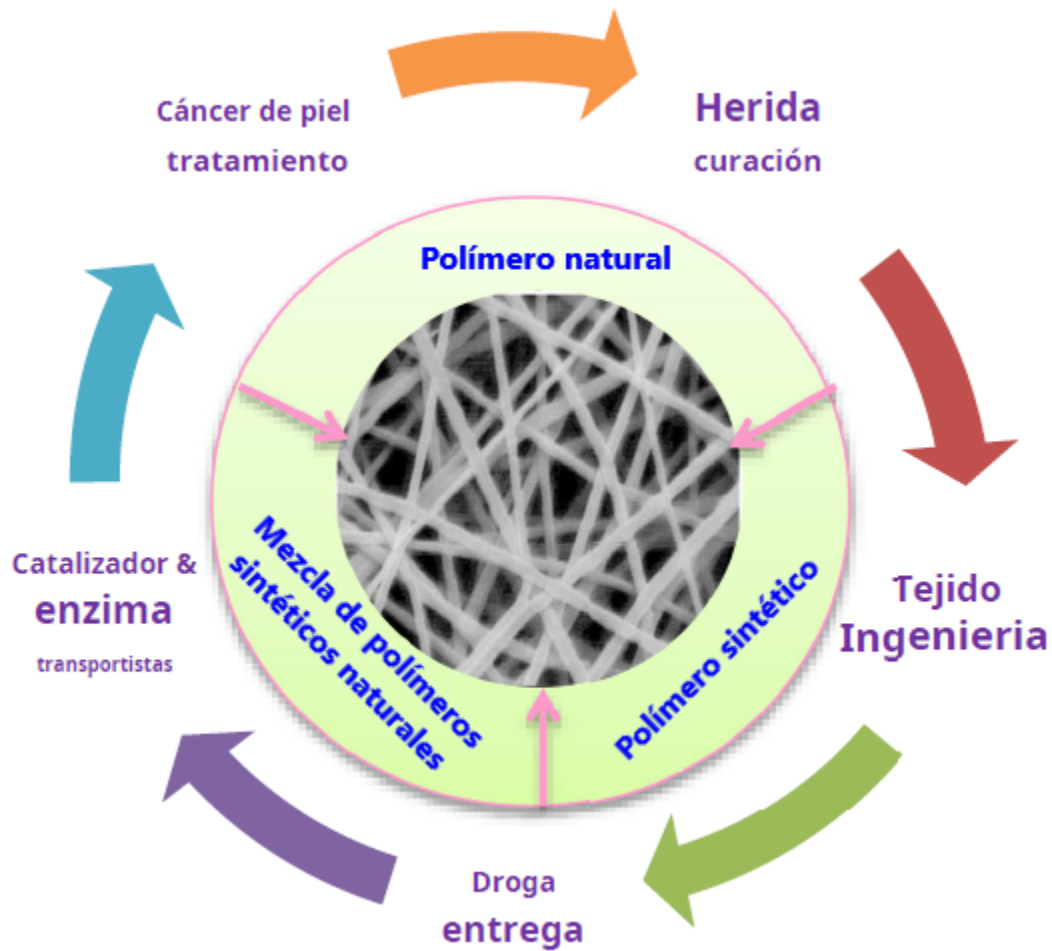


Figura 5. Diferentes aplicaciones biomédicas de nanofibras electrohiladas.

1.6.1 TÉCNICA DE ELECTROHILADO Y PARÁMETROS RELACIONADOS

Durante el proceso de electrohilado simple, la boquilla recibe el fluido de trabajo y se aplica un voltaje elevado para inducir una carga electrostática en el fluido. Esto provoca que las fibras se doblen y se compriman, y en poco tiempo se convierten en nanofibras sólidas. Los parámetros del proceso relacionados con el fluido pueden verse afectados por varios factores, como la viscosidad del polímero, la concentración, el peso molecular, la tensión superficial, el caudal, el voltaje aplicado y la conductividad del fluido. Además, hay factores ambientales, como la distancia entre la boquilla y la placa colectora (cono de Taylor), la temperatura, el vacío y la humedad, que son cruciales y afectan principalmente el proceso de electrohilado.

1.6.2 USO DE LAS NANOFIBRAS POLIMÉRICAS EN EL ÁREA BIOMÉDICA

Los andamios de nanofibras son matrices poliméricas ampliamente utilizadas en aplicaciones biomédicas. Estas matrices son producidas a partir de una variedad de biopolímeros, aunque se prefiere una combinación de biopolímeros naturales y sintéticos debido a su estabilidad físico-mecánica y su entorno beneficioso para el crecimiento celular (Hivechi et al., 2020).

En la industria dermatológica y cosmética, se han utilizado nanofibras poliméricas para crear una innovadora mascarilla facial antiarrugas que contiene ácido ascórbico, ácido retinoico, nanopartículas de oro y colágeno. A diferencia de las mascarillas pre-humedecidas en el mercado, esta mascarilla se humedece solo al aplicarla en la piel, mejorando la estabilidad del producto y evitando la oxidación de los principios activos como el ácido ascórbico (Fathi-azarbayjani et al., 2010).

El ácido retinoico tiene propiedades beneficiosas para la piel, ya que puede mejorar la reparación de la piel dañada por los rayos ultravioleta y reducir las arrugas causadas por el fotoenvejecimiento. Además, puede ser utilizado para tratar el acné.

Las investigaciones se han centrado en el empleo de nanopartículas de oro como vehículos para vacunas y para la administración de sustancias a través de la piel. Actualmente, se utilizan mascarillas faciales de oro en establecimientos de belleza, y estas pueden beneficiar la circulación sanguínea, aumentar la elasticidad de la piel y disminuir la aparición de arrugas (Fathi-azarbayjani et al., 2010).

El alcohol polivinílico (PVA) es un polímero hidrófilo biodegradable que posee propiedades únicas, como un alto grado de hinchamiento, no toxicidad y buena biocompatibilidad.

En esta investigación se utilizó el método de electrohilado, el cual es conocido por su simplicidad y eficacia en la fabricación de fibras poliméricas, para crear una novedosa mascarilla facial de nanofibras poliméricas de PVA que contienen ácido ascórbico, retinoico, oro y colágeno, que aportan nutrientes a la piel (Fathi-azarbayjani et al., 2010).

Además, en el campo médico, el electrohilado ha sido ampliamente utilizado, y en este caso se emplearon nanofibras poliméricas de PCL y gelatina como andamios para la cicatrización de heridas cutáneas. Para mejorar las propiedades del PCL y del gel, se utilizaron nanocristales de celulosa (CNC) que se incorporaron mediante el proceso de electrohilado de dos boquillas para producir nanofibras híbridas de PCL-Gel.

En la fabricación de andamios se han utilizado tanto biopolímeros sintéticos como naturales, y se sabe que los biopolímeros naturales tienen propiedades biológicas excelentes como la hidrofilia y la capacidad de imitar la matriz extracelular (MEC). La implantación de los andamios in vivo demostró tasas de curación similares con y sin partículas de CNC, pero se observó que la incorporación de CNC produjo un tejido más desarrollado (Hivechi et al., 2020).

Otro uso de las nanofibras poliméricas mediante el método de electrohilado con biopolímeros es para la administración cutánea tópica en el tratamiento del acné. En un estudio, se fabricaron fibras uniformes cargadas con tretinoína, un fármaco utilizado para tratar el acné vulgar. Las nanofibras cargadas con el fármaco demostraron una estabilidad inherente en diversas condiciones de almacenamiento y una liberación prolongada de tretinoína (Khoshbakht et al., 2020).

Como se ha demostrado, las nanofibras poliméricas electrohiladas han sido ampliamente utilizadas en el campo biomédico para tratar diversas enfermedades, incluyendo las dermatológicas, lo que ha sido el foco de la presente investigación. Sin embargo, los MOF también se han convertido en una herramienta muy utilizada en la medicina para tratar diferentes enfermedades. Por lo tanto, en este estudio, se decidió combinar las propiedades y características que hacen que estas dos síntesis sean adecuadas para el campo médico.

Se ha comenzado a utilizar MOF en combinación con fibras poliméricas, y en este estudio se utilizó un MOF de morfología cúbica a base de cobre modificado con ácido fólico como fármaco, que se sintetizó e incorporó en nanofibras electrohiladas

de pectina. Esta combinación no solo mejoró el comportamiento de liberación de iones de cobre, sino que también fortaleció la estructura de las fibras, las hizo antimicrobianas e indujo la angiogénesis, la migración de fibroblastos y la proliferación debida a los iones de cobre cargados y al ácido fólico.

En este estudio, se evaluó el efecto de la adición de MOF en las propiedades de las muestras de nanocompuestos, tanto en términos de morfología como de propiedades físicas, químicas y biológicas. Las propiedades de las esteras nanofibrosas se analizaron mediante pruebas de tracción, antimicrobianas y de citotoxicidad in vitro. Se encontró que la incorporación del MOF a base de cobre mejoró el módulo de Young de las nanofibras de pectina, y que las nanofibras compuestas de pectina eran biocompatibles y antimicrobianas. En conjunto, estos hallazgos indican que las nanofibras de pectina contenidas en MOF tienen un gran potencial para su uso en aplicaciones biomédicas. (Zirak Hassan Kiadeh et al., 2021)

1.7 Sistema propuesto en este trabajo

En la presente investigación se está proponiendo la síntesis de nanofibras electrohiladas de Policaprolactona (PCL) quitosano (CTS) gelatina (Gel) combinadas con nanoestructuras metálico-biomoleculares auto ensambladas (MBioFs) fenilalanina (Phe) Cobre (Cu) para liberación controlada de metotrexato (MTX) con potencial aplicación en tratamiento de enfermedades dermatológicas, específicamente el vitíligo.

1.7.1 POLÍMEROS UTILIZADOS EN LA SÍNTESIS DE NANOFIBRAS POLIMÉRICAS

En la industria biomédica, los polímeros biológicos son altamente valorados debido a sus propiedades biocompatibles, biodegradables y poco antigénicas. Entre los ejemplos de polímeros biológicos se encuentran la gelatina, el colágeno, el quitosano, el ácido hialurónico, la celulosa y el alginato, que también son conocidos por su capacidad antimicrobiana, antiinflamatoria y su potencial para ayudar en la cicatrización de tejidos. REFERENCIA

Estos polímeros se han utilizado para la liberación controlada de fármacos en áreas específicas del cuerpo. El quitosano es un ejemplo de polímero natural que se obtiene

a partir de la desacetilación parcial de la quitina, el segundo polímero natural más común en la Tierra.

El quitosano es un polisacárido hidrofílico que posee propiedades interesantes como biodegradabilidad, biocompatibilidad, no toxicidad, capacidad de formar películas y alta elasticidad, lo que lo hace muy útil en la medicina y otras aplicaciones biomédicas (Poursharifi et al., 2020).

Con un amplio rango de aplicaciones en el campo médico, la policaprolactona (PCL) es un polímero sintético hidrofóbico que se destaca por su biodegradabilidad, compatibilidad con organismos vivos, estabilidad química y térmica, no toxicidad, propiedades mecánicas sobresalientes y bajo costo. Estas características hacen que sea una opción altamente atractiva para diversas aplicaciones biomédicas. (Poursharifi et al., 2020).

Por otro lado, la gelatina es un biopolímero obtenido a partir de la hidrólisis del colágeno. En la industria farmacéutica, la gelatina se utiliza comúnmente como vehículo de administración de fármacos, ya que permite controlar la tasa de degradación y liberación de los excipientes encapsulados. Además, se ha demostrado que los polímeros como la gelatina son capaces de controlar la liberación de medicamentos y facilitar su penetración en la piel hasta nueve veces más profunda. (Alturki, 2021).

Estos polímeros fueron seleccionados debido a que la combinación de polímeros hidrofóbicos e hidrofílicos permite la carga de múltiples tipos de fármacos en las fibras, lo que resulta en un perfil de liberación más sofisticado. El uso de sistemas de polímeros en el proceso de electrohilado permite la adaptación a una función específica, en este caso, mejorar la adhesión y el soporte en la epidermis de la piel. Además, la combinación de polímeros en el electrohilado es un método sencillo para encapsular el fármaco al disolverse directamente en la mezcla de polímeros. Por lo tanto, esta mezcla de polímeros se utiliza para reducir la liberación de medicamentos de manera rápida y controlar el tiempo y la velocidad de liberación. Aunque hay ejemplos de polímeros similares para crear nanofibras electrohiladas con propiedades mecánicas mejoradas y alta biodegradabilidad, como la policaprolactona y el quitosano, respectivamente, el uso de polímeros naturales conlleva limitaciones, como la debilidad de las propiedades mecánicas, la alta tensión superficial y los solventes orgánicos insolubles. Para superar estas limitaciones, se combinan polímeros sintéticos biocompatibles con polímeros naturales para producir nanofibras electrohiladas con un mejor comportamiento mecánico. (Alturki, 2021).

1.7.1.1 Importancia funcional de los componentes del MBioF

Durante los últimos años, los complejos de aminoácidos de Cu(II) han sido ampliamente estudiados debido a su capacidad para actuar como agentes antibacterianos contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, y otras especies bacterianas, así como su potencial como fuente nutricional para humanos y animales. Los aminoácidos son componentes esenciales de las proteínas, que desempeñan una gran variedad de funciones biológicas. De los 20 aminoácidos que componen las proteínas, ocho son esenciales y no pueden ser producidos por el cuerpo humano. Entre ellos se encuentran la metionina, la fenilalanina y el triptófano. Los complejos de metales de transición con aminoácidos se encuentran involucrados en muchos procesos biológicos, como el transporte de oxígeno, la transferencia de electrones y la oxidación, entre otros (Stanila et al., 2007).

En sistemas biológicos, los iones metálicos tienen una función importante tanto estructural como reguladora. En particular, en la amiloidosis proteica, los iones de Cu^{2+} , Zn^{2+} y Fe^{3+} son esenciales para la agregación y autoensamblaje de proteínas implicadas en enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer, (Wang & Feng, 2018). Además, el Cu es un agente antimicrobiano que juega un papel en la cicatrización de heridas al inducir el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos y la producción de proteínas importantes en la piel, como la queratina y el colágeno, (Zirak Hassan Kiadeh et al., 2021).

En relación con el vitíligo generalizado, la fenilalanina ha sido investigada desde 1985 como un tratamiento oral y tópico. La fenilalanina no parece ser fototóxica y no tiene efectos secundarios significativos. Se cree que funciona inhibiendo los anticuerpos citolíticos y estimulando la producción de melanina en los melanocitos dañados en la epidermis y folículos pilosos, lo que la hace adecuada para su uso en pacientes pediátricos y en áreas propensas a quemaduras solares. (Trémul & Salas, 2006).

1.7.1.2 Rol estructural de los componentes del MBioF

En este caso, la fenilalanina tiene propiedades que favorecen la melanina y, por lo tanto, pueden inducir la repigmentación en el vitíligo. Además, su función principal es estructural ya que actúa como bioligando necesario para la formación del MbioF, el cual se compone de un bioligando y un ion metálico.

Por otro lado, el cobre también es esencial en la formación del MbioF debido a su papel estructural como ion metálico. El enlace de coordinación del cobre se muestra en la Figura 6 (b), el cual es de tipo octaédrico con distorsión tetragonal. Las cuatro distancias cortas son a los átomos de oxígeno y nitrógeno de las moléculas de fenilalanina, que forman dos anillos de quelato de cinco miembros con el cobre (Van der Helm et al., 1971). Además de su papel estructural en el MbioF, el cobre también tiene propiedades antimicrobianas que ya se mencionaron anteriormente.

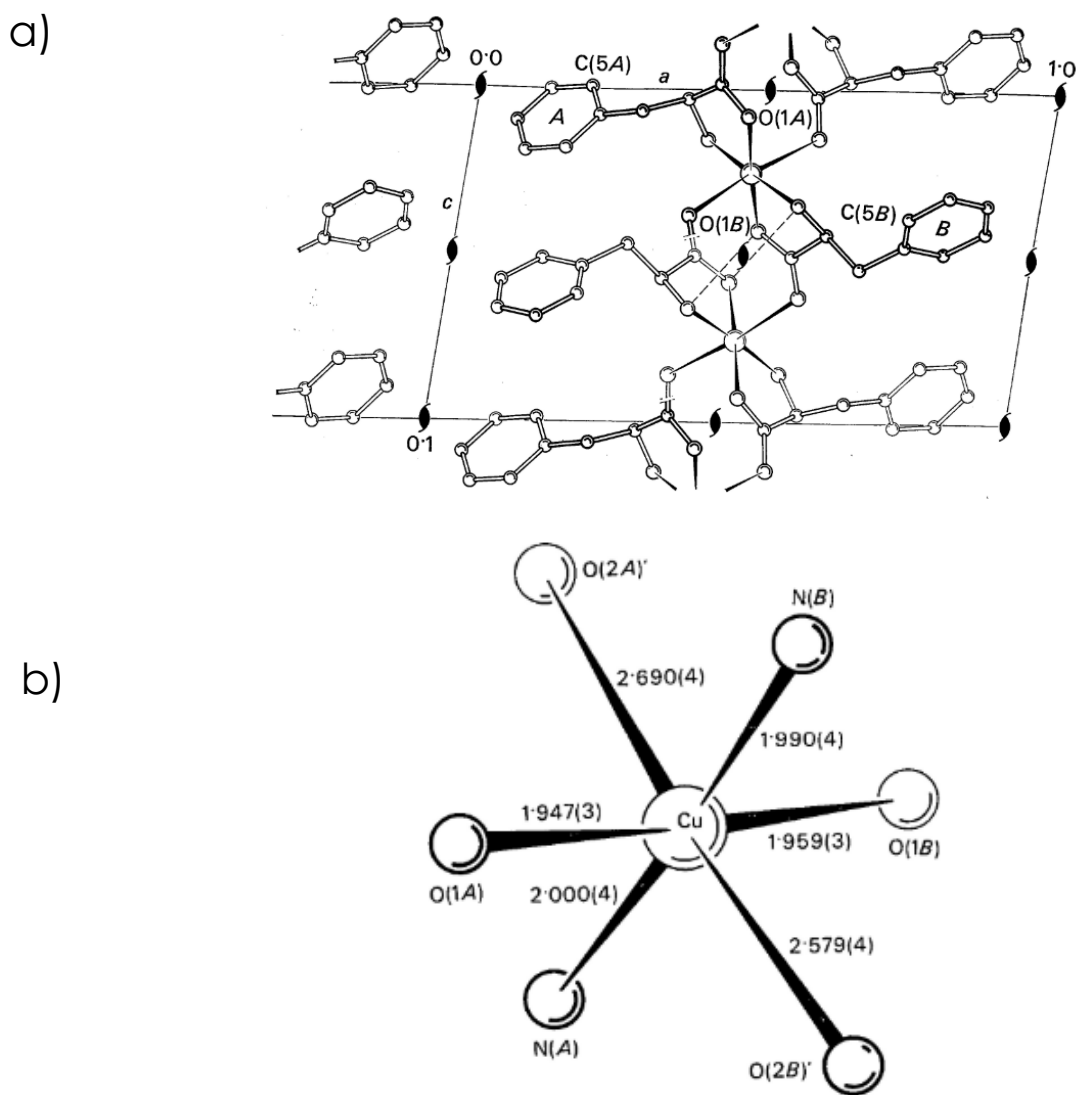


Figura 6. a) Estructura del complejo $\text{Cu}(\text{L-Phe})_2 \text{MbioF}$. b) Enlace de coordinación Cobre (Van der Helm et al., 1971)

1.7.1.3 Papel de las nanofibras

En este caso, el recubrimiento de biopolímeros actúa como una matriz polimérica que funciona como sistema de liberación de fármacos. Su principal función es proteger y preservar la estructura sensible del MOF durante el proceso de liberación del bio-MOF/medicamento, evitando su rápida degradación y protegiéndolo del pH ácido en medios fisiológicos. De esta manera, se logra una liberación controlada del fármaco sobre la piel del paciente, mejorando su estabilidad coloidal, permeabilidad y estabilidad mecánica, (Personalizados, 2021).

Además, la matriz polimérica actúa como un vehículo de aplicación macro del sistema sobre la piel del paciente, funcionando como un parche que permite una aplicación tópica sencilla y fácil para el usuario, con una duración de hasta quince días por parche.

1.7.2 METOTREXATO

El MTX es ampliamente utilizado como tratamiento de primera línea en pacientes con artritis crónica, y en las últimas décadas se ha investigado intensamente para identificar marcadores biológicos que puedan predecir su eficacia y toxicidad con mayor precisión. El mecanismo de acción del MTX aún no está completamente comprendido, aunque se han propuesto cuatro posibles mecanismos: inhibición de la síntesis de purinas y pirimidinas, reducción de la acumulación de agentes tóxicos como las poliaminas, disminución de la proliferación de células del sistema inmunológico y aumento de los niveles extracelulares de adenosina. (Moya et al., 2016).

Además, el metotrexato es un fármaco utilizado para tratar diversos tipos de cáncer, leucemia, enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias. Sin embargo, su baja solubilidad en medios ácidos, las dosis altas y la administración a largo plazo pueden provocar efectos tóxicos y limitar su eficacia terapéutica. Con el fin de reducir estos efectos adversos y mejorar su potencial terapéutico, se han desarrollado sistemas de administración innovadores. Por ejemplo, se han propuesto conjugados de poloxámero para administrar el MTX de manera segura, estable y potencialmente controlada a las células cancerosas. También se han sintetizado, caracterizado y probado nanopartículas híbridas de lípidos y polímeros como matrices para la liberación controlada del MTX. Además, se ha demostrado que la carga de MTX en MOF aumenta su solubilidad y reduce su citotoxicidad. (Kritskiy et al., 2020).

El metotrexato se utiliza como una opción de tratamiento para detener la progresión del vitíligo cuando los corticoides orales no son viables o pueden representar un riesgo a largo plazo. Los estudios han demostrado que puede ser efectivo para detener la progresión de la enfermedad, aunque aún no se conoce exactamente cómo funciona.

En un estudio aleatorizado y comparativo, se evaluó la eficacia de una dosis semanal de metotrexato de 10 mg en comparación con 2.5 mg de dexametasona al día durante dos días consecutivos por semana en pacientes con vitíligo progresivo durante 24 semanas. Los resultados mostraron que ambos tratamientos lograron la misma reducción porcentual de la actividad de la enfermedad. (Dellatorre et al., 2020).

Se sugiere que el uso del metotrexato tiene una base científica y puede reducir la necesidad de corticosteroides orales. Los resultados de estudios indican que el uso de MTX en combinación con otros tratamientos como corticosteroides sistémicos y fototerapia podría no solo detener la progresión del vitíligo, sino también inducir la repigmentación (Dellatorre et al., 2020).

De hecho, un estudio reciente mostró que el MTX puede ser tan efectivo como la terapia general con corticosteroides para detener la progresión de la enfermedad. (Merhi et al., 2020). (Merhi et al., 2020)

En este trabajo se propone el uso de un sistema de nanofibras poliméricas electrohiladas en combinación con nanofibras auto ensambladas de un complejo MOF de fenilalanina y cobre, en el que el MTX está encapsulado. El objetivo de este sistema es ofrecer una combinación de tratamiento en la que el MTX detiene la progresión del vitíligo, mientras que la fenilalanina forma parte de la fototerapia necesaria para revertir el proceso de despigmentación y lograr que la piel recupere su pigmentación. En otras palabras, este sistema está diseñado para detener y revertir la progresión del vitíligo.

CAPÍTULO 2 ENFOQUE DE LA TESIS

2.1 Justificación

El vitíligo es un trastorno de la pigmentación presente en el 2% de la población a nivel mundial. El cual genera una serie de complicaciones sociales y económicas, aunque no es una enfermedad mortal es muy difícil lidiar con la estigmación de la sociedad.

2.2 Hipótesis

Nanofibras electrohiladas de PCL-CTS-GEL combinadas con nanoestructuras metálico-biomoleculares auto ensambladas (MBioFs) fenilalanina-cobre son un sistema efectivo de liberación controlada de metotrexato (MTX), con un uso potencial en el tratamiento contra el vitíligo.

2.3 Objetivo

2.3.1 OBJETIVO GENERAL

Desarrollo de la síntesis de un novedoso sistema de liberación de medicamento utilizando la combinación de nanofibras electrohiladas poliméricas PCL-CTS-GEL con nanofibras auto ensambladas Phe-Cu (MBioFs) generando una unión nanofibrosa biocompatible que será utilizada en la encapsulación y posterior liberación controlada de Metotrexato con potencial aplicación para problemas de la piel, específicamente el vitíligo

2.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar y optimizar la morfología de las nanofibras Electrohiladas

- Sintetizar y optimizar las nanoestructuras MBioFs.
- Caracterización Físicoquímica de ambos sistemas por separado.
 - Inchabilidad
 - Biodegradación
- Diseñar el método óptimo de combinación de las 2 nanofibras
- Encapsular el medicamento en el sistema de liberación MbioFs en combinación con nanofibras electrohiladas.
- Realizar pruebas de liberación controlada in vitro.

3.1 Materiales

Policaprolactona Mw 80,000 adquirido a través de Sigma Aldrich con numero de catalogo 440744, quitosano, Gel de Bovino, Ácido Acético Glacial 99.5 % adquirido a través de Sigma Aldrich, Acido Fórmico 90.5% adquirido a través de Fermont con numero de catalogo PQ01195, Fenilalanina Cloruro de Cobre, Agua desionizada, Etanol, NaOH, Metotrexato.

3.2 Metodología

En la Figura 7 se presenta la metodología de manera representativa, para la síntesis de las nanofibras tanto auto ensambladas denominadas MBioF y las electrohiladas en base de polímeros PCL, CTS, GEL, así como la encapsulación del medicamento en el MBioF, así como su aplicación en forma de parche sobre la piel con la afectación a tratar el vitíligo.

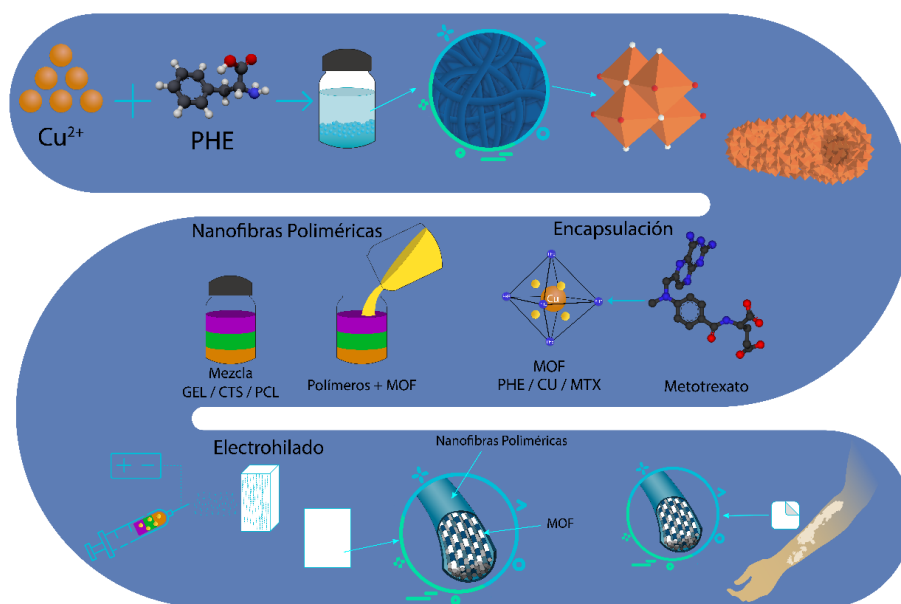


Figura 7. Metodología para la fabricación de las nanofibras poliméricas electrohiladas con Cu(L-Phe)_2 MBioF y MTX.

A continuación, podemos observar en la Figura 8, la metodología para el procedimiento llevado en laboratorio tanto para la sinterización y caracterización de las dos diferentes nanofibras, auto ensambladas y electrohiladas el método de unión y el sistema de liberación a realizar en el buffer adecuado con un pH similar al de la piel para corroborar su liberación prolongada y eficaz en la piel.

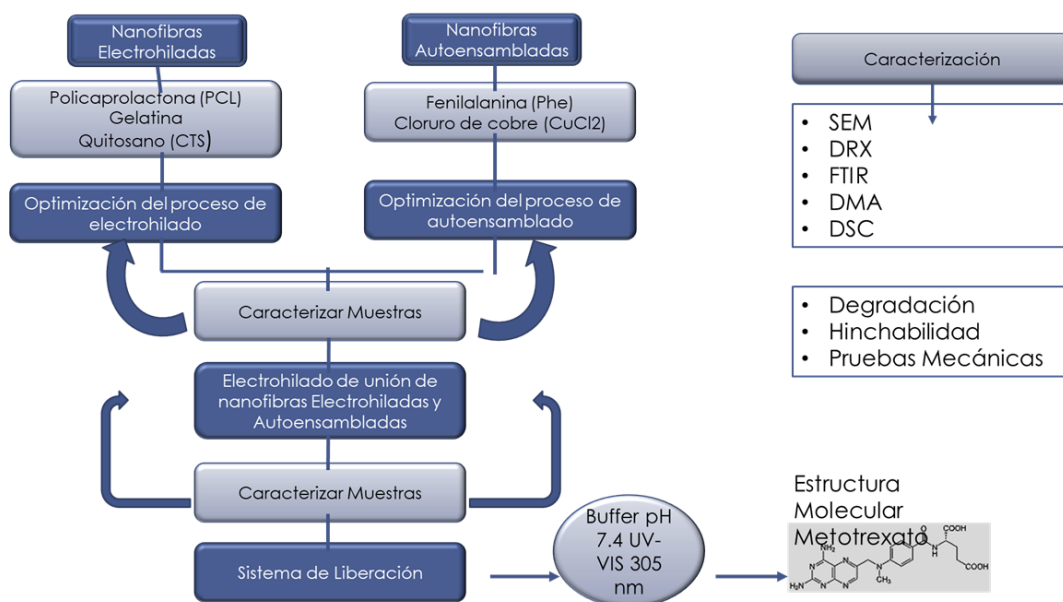


Figura 8. Metodología para el procedimiento de laboratorio para la sinterización y caracterización del sistema propuesto.

3.2.1 SÍNTESIS DE BIO-MOF

$\text{Cu(L-Phe)}_2 \text{ MBioF}$ se sintetizó con 41,5 mg de fenilalanina (Phe) y 17,8 mg de CuCl . A la fenilalanina se le añadieron 3,3 ml de agua desionizada y 6,6 ml de etanol, la mezcla se agitó durante 30 min a temperatura ambiente hasta que la fenilalanina se disolvió por completo. Mientras CuCl se añadían 5 mL de agua desionizada. Una vez disuelta por completo la fenilalanina, se ajustó a pH 10 con NaOH (M). Después de esto se añadió el CuCl a la fenilalanina (Figura 9). Una vez fusionados los componentes, se dejó reposar el compuesto a temperatura ambiente durante 3 días, lo que permitió que se formara un precipitado y un sobrenadante (Figura 10). Se separó el sobrenadante y se colocó en otro recipiente listo para su uso.

Se realizó la síntesis con diferentes variables de tiempo, temperatura y relación de solventes con la intención de encontrar el candidato ideal que formara la mejor estructura nanofibrosa dichas condiciones se explican en la Tabla 4.

Tabla 4.- Condiciones de síntesis para 8 muestras de $\text{Cu}(\text{L-Phe})_2$ MBioF.

Cu(L-Phe) ₂	Relación etanol/agua	Temperatura	Tiempo de reposo	de	Nomenclatura
1	2:1	Ambiente	11 días		MBF
2	1:2	Ambiente	11 días		MBH
3	1:2	50°C	2 días		MBE
4	5:1	Ambiente	10 días		MBC
5	5:1	Ambiente	5 días		MBR
6	2:1	Ambiente	4 días		MBN
7	1:2	Ambiente	3 días		MBM
8	2:1	Ambiente	3 días		MBT

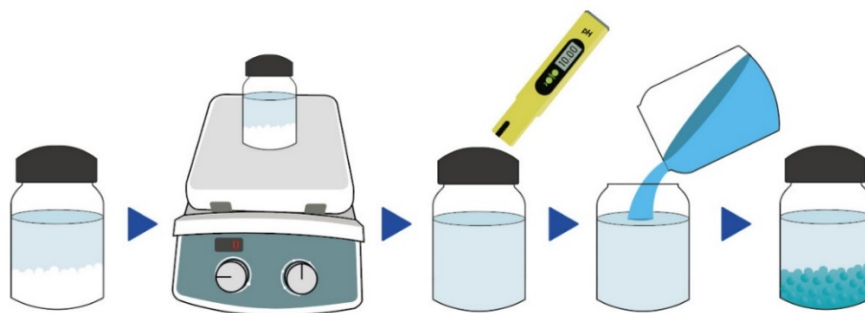


Figura 9. Proceso de síntesis del $\text{Cu}(\text{L-Phe})_2$ MBioF.



Figura 10. Imagen macro de la síntesis del $\text{Cu}(\text{L-Phe})_2$ MBioF.

3.2.2 SÍNTESIS DE NANOFIBRAS POLIMÉRICAS

Se preparó por separado las tres sustancias para las nanofibras poliméricas, se utilizó 1.17g de policaprolactona (PCL) con una relación de solventes, ácido acético 1.65 (3.20 ml) y ácido fórmico 1 (1.94 ml). Para la gelatina (Gel) se utilizó .2055 g con una relación 3.25 (1.26 ml): 1 (.38 ml), y para el quitosano (CTS) se utilizó .0922 g, pero solo se utilizó ácido acético 3.20 ml. El PCL se colocó en una plancha con agitación magnética a 75 °C a 500 rpm, durante media hora. En el caso del CTS Y Gel se colocaron a temperatura ambiente en la plancha a 500 rpm por la misma cantidad de tiempo (Figura 11). Una vez diluido y bien mezclado los componentes con los solventes se retiraron de la plancha y se colocaron todos en el mismo contenedor, colocando de nuevo en la plancha durante 20 minutos más hasta que se mezclaran bien las 3 sustancias.

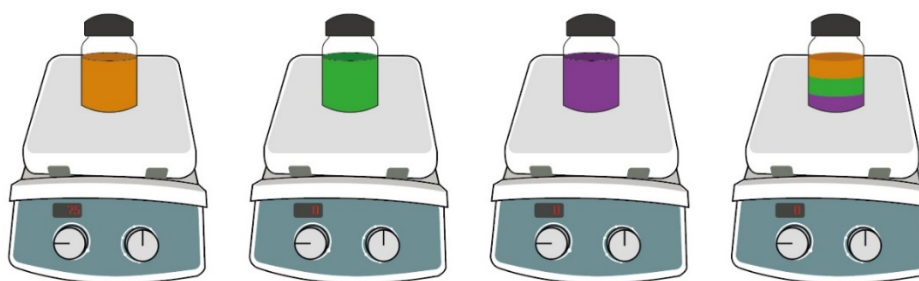


Figura 11. Proceso de síntesis de la matriz polimérica.

3.2.3 MÉTODO DE CARGA PARA EL FÁRMACO METOTREXATO

El medicamento metotrexato (MTX) se colocó en el $\text{Cu}(\text{L-Phe})_2\text{MBioF}$, se ajustó el PH a 10 y ahí se agregó el MTX, posterior a esto se agregó el CuCl y se dejó en reposo como ya se mencionó anteriormente (Figura 12), dejando que el medicamento se encapsule dentro de la formación de nanofibras en el MBioF (Figura 13).

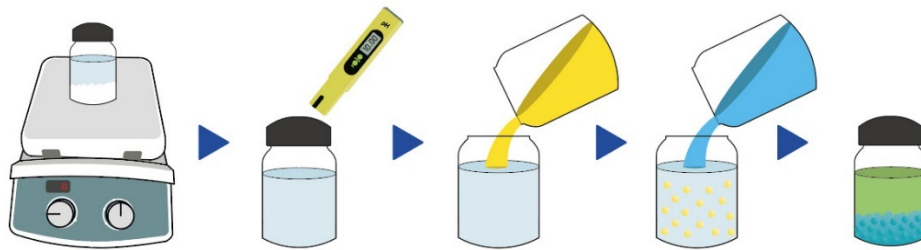


Figura 12. Proceso de la síntesis del Cu(L-Phe)_2 MBioF con MTX.



Figura 13. Imagen macro del Cu(L-Phe)_2 MBioF con MTX

3.2.4 SÍNTESIS DE NANOFIBRAS POLIMÉRICAS Y MBIOF

Una vez que la solución de las tres sustancias PCL, CTS, Gel, se mezclaron exitosamente se añadió .5 ml de Cu(L-Phe)_2 MBioF, se colocó en una plancha a 500 rpm durante 40 minutos, esperando a que se disuelva y mezcle por completo el MBioF con la solución polimérica, para posteriormente llevar a electro hilar (Figura 14). Se agregó 5 ml de esta solución compuesta a una jeringa con aguja y se colocó en la máquina de electrohilado que se ajusta a un voltaje de 25 kV, y el flujo de inyección a 0.50 ml/h, dejando una distancia de 15 cm entre la punta de la aguja y el colector (Figura 15).

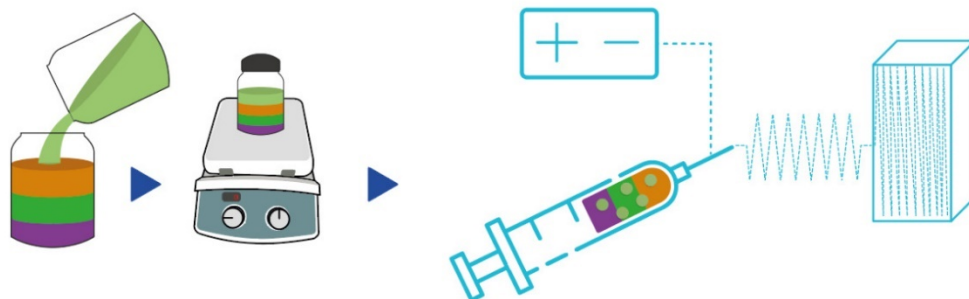


Figura 14. Proceso de la síntesis de la matriz polimérica con $\text{Cu}(\text{L-Phe})_2$ MBioF y MTX.

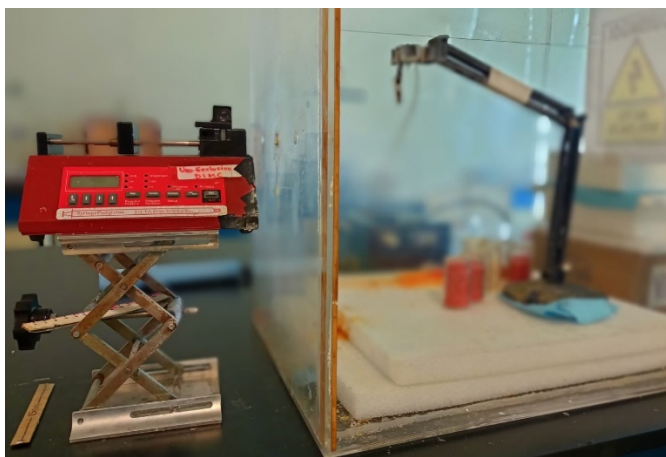


Figura 15. Imagen del equipo utilizado para electro hilar.

3.2.5 PREPARACIÓN DE BUFFER DE FOSFATO PBS

Se utilizaron cuatro componentes NaCl 8 g, KCl 200 mg, Na_2HPO_4 1.44 g, y KH_2PO_4 245 mg, una vez que se tienen las cantidades necesarias de cada componente se coloca 800 ml de agua desionizada en un recipiente y se empiezan a añadir cada uno de los componentes mencionados anteriormente, después se coloca en el frasco en un agitador magnético durante 20 minutos, o hasta que todos los componentes de disuelvan por completo. Una vez lista la solución se ajusta su PH a 7.4 con ayuda de HCL.

3.2.6 LIBERACIÓN DEL SISTEMA PROPUESTO.

Para realizar el análisis de liberación de medicamento in vitro se necesitó un pedazo de 5 x 6 cm de nanofibras electrohiladas (poliméricas con $\text{Cu(L-Phe)}_2\text{MBioF}$), que se colocó en 20 ml de PBS, se realizaron 3 muestras iguales para valorar la liberación, el primer día se estuvo analizando cada hora con la ayuda del UV-VIS, por durante 8 horas consecutivas y a partir del segundo día se analizó cada 24 horas durante 15 días para ver el porcentaje de liberación.

3.3 Caracterización

Para la realización de las nanofibras poliméricas con $\text{Cu(L-Phe)}_2\text{MBioF}$ se utilizaron distintas técnicas de caracterización, y a continuación describiremos el equipo y método de preparación en cada uno.

En cada una de las secciones de los equipos incluir la preparación de las muestras para ser analizadas en cada equipo.

3.3.1 ESPECTROFOTÓMETRO DE ULTRAVIOLETA-VISIBLE (UV-VIS)

La espectrofotometría de absorción UV-VIS se utiliza con el fin de conocer la eficiencia de liberación del metotrexato a emplear. Las medidas se realizaron con un espectrofotómetro mostrado en la figura modelo Perkin Elmer Lambda UV 35 (Figura 16), se añade 3.5 ml de solución a un vaso de cuarzo de 4 x 1 cm y se analiza a una longitud de onda de 219 nm.



Figura 16. Equipo de espectrofotometría de absorción UV-VIS.

3.2.2 MICROSCÓPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO (SEM)

El estudio y análisis de la forma y el diámetro de las nanofibras electrohiladas, se realiza mediante microscopía electrónica de barrido. Para el análisis de las muestras, se depositaron pequeñas cantidades de nanofibras sobre porta muestras, donde se empleaba una cinta de carbón para cerrar circuito y poder promover la conducción de electrones para su observación. Los detectores empleados para la observación fueron: electrones secundarios, bajo vacío, entre otros. (Figura 17).



Figura 17. Equipo SEM HITACHI SU-8020

3.2.3 CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC)

Esta técnica se utilizó para la caracterización de nanofibras electrohiladas, así como para el análisis de la temperatura de fusión y transición vítrea. Para la realización del análisis se utilizó un calorímetro diferencial de barrido modelo TA Instruments Q2000 (Figura 18), el cual se encuentra conectado a un sistema de enfriamiento de nitrógeno líquido, este sistema permite trabajar en un intervalo de temperatura comprendido entre 0 a $350^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$. Para el análisis las muestras se depositan en capsulas de aluminio cuyo peso aproximado se mantuvo en el rango de 5.0 a 10 mg, el análisis se realizó con una velocidad de calentamiento de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

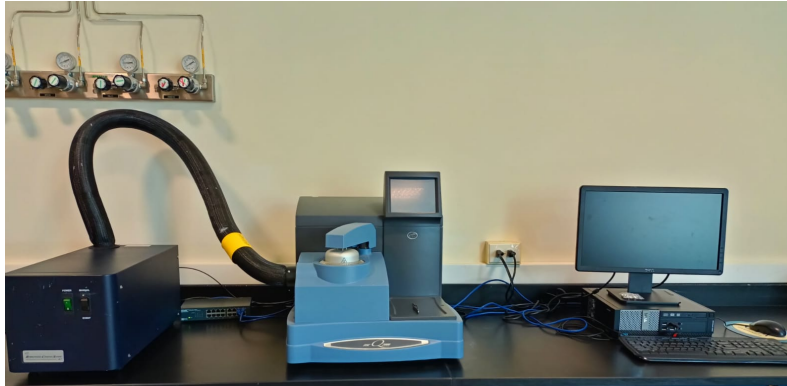


Figura 18. Equipo calorímetro diferencial de barrido modelo TA Instruments Q2000.

3.2.4 EQUIPO PARA PROPIEDADES MECÁNICAS

Se realizaron pruebas mecánicas de tensión y compresión con el equipo Stable Micro Systems modelo TA.XT plus (textura analyser) que utiliza una celda de carga de 30 kg, con la finalidad de observar y conocer el comportamiento del material (Figura 19). Se utilizaron tres diferentes muestras de (4 x 1) cm para tensión y de (3 x 3) cm para compresión.

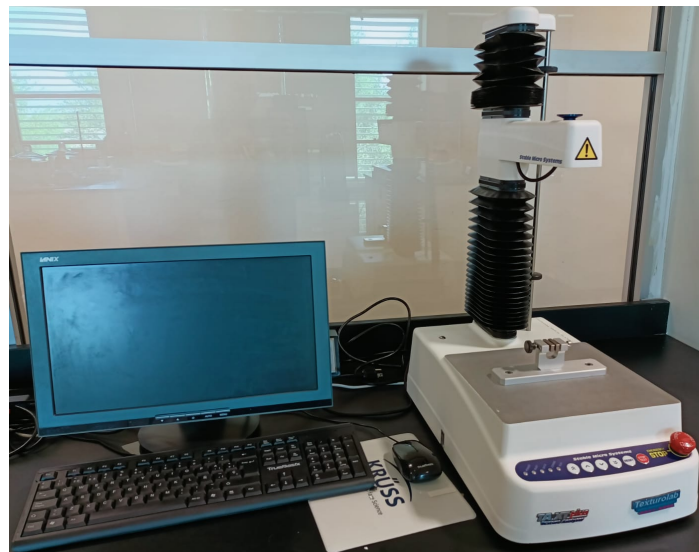


Figura 19. Equipo Stable Micro Systems modelo TA.XT plus (textura analyser)

3.2.5 DIFRACCIÓN DE RAYOS X (XRD)

Las medidas de difracción de las nanofibras electrohiladas y el $\text{Cu}(\text{L-Phe})_2 \text{MBioF}$ se realizaron en un difractor modelo PANalytical Empyrean: (Figura 20). Los difractogramas se registran cubriendo un intervalo angular comprendido entre $20 < 2\theta < 90^\circ$, registrando cada segundo $0,01^\circ$, a una temperatura de 25°C . El método utilizado para la adquisición de los difractogramas se realiza por reflexión del haz incidente sobre la muestra, produciéndose un error estimado en la posición de las reflexiones de $\pm 0,02^\circ$.



Figura 20. Difractor marca Bruker D8 Advance, equipado con una lámpara de cobalto que emite un rayo con una longitud de onda de 1.79026 amstrongs.

3.2.6 ANÁLISIS MECÁNICO DINÁMICO (DMA)

Para su caracterización se utilizó el equipo Dynamic Mechanical Analyzer modelo PerkinElmer DMA 8000 (Figura 21). Se utilizaron 2 muestras de nanofibras electrohiladas de $3 \text{ mm} \times 2.3 \text{ cm}$. El análisis dinámico mecánico es una técnica utilizada para determinar las propiedades mecánicas de diversos materiales con comportamiento complejo con tiempo de respuesta, entre ellos los polímeros. Estos se comportan como sólidos elásticos y como fluidos viscosos, es decir, tienen un comportamiento viscoelástico. El DMA es capaz de evaluar no solo la componente elástica si no también el comportamiento viscoso o inelástico del material.



Figura 21. Equipo Dynamic Mechanical Analyzer modelo PerkinElmer DMA 8000.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.3 $\text{Cu}(\text{L-PHE})_2\text{MBIOF}$ DIFERENTES MORFOLOGÍAS.

En una primera instancia como podemos observar en la Figura.22(a-h) se obtuvieron diferentes morfologías como consecuencia de una variabilidad de parámetros tales como la relación de solventes, temperatura y tiempo. En el subapartado Figura.22 (a) podemos observar una morfología en forma de espina, y en el subapartado Figura.22 (b) nano agujas. En el subapartado Figura.22(c) se puede observar una morfología en forma de hoja. Por otro lado, los subapartados Figura.22 (d) y Figura.22 (e) tienen dos tipos de nano flores y en el subapartado Figura.22 (h) se puede ver una descripción completa de este tipo de morfología, en la Figura.22 (f) tenemos una morfología de helecho y en la Figura.22 (g) son nano placas. Es importante recalcar que la variabilidad de morfologías abre un panorama completo para diferentes aplicaciones tales como, andamios para la medicina regenerativa, cicatrización de heridas, plataformas de bajo costo para la detección de inhibidores de enzimas o detección de enzimas,(Bhagat & Srivastava, 2016), además de la capacidad de atrapar grandes moléculas huésped, otra capacidad que generan los aminoácidos como la fenilalanina en estas diferentes morfologías es su capacidad de reconocimiento molecular heterogéneo que puede utilizarse para abordar la

agregación amiloide metabólica utilizando técnicas controladas de ensamblaje conjunto. Por último, la comprensión profunda de la fabricación bien ordenada que muestran los aminoácidos puede ser vital para la generación de nanomateriales no amiloides para aplicaciones biomédicas. Los datos de autoensamblaje de aminoácidos también pueden servir como una herramienta de guía para el diseño y síntesis de moléculas orgánicas con propiedades de autoensamblaje heredadas. (Singh et al., 2021) Todas estas aplicaciones son muy útiles en la diversidad de áreas existentes para la aplicación de nanomateriales en la encapsulación y liberación de medicamento.

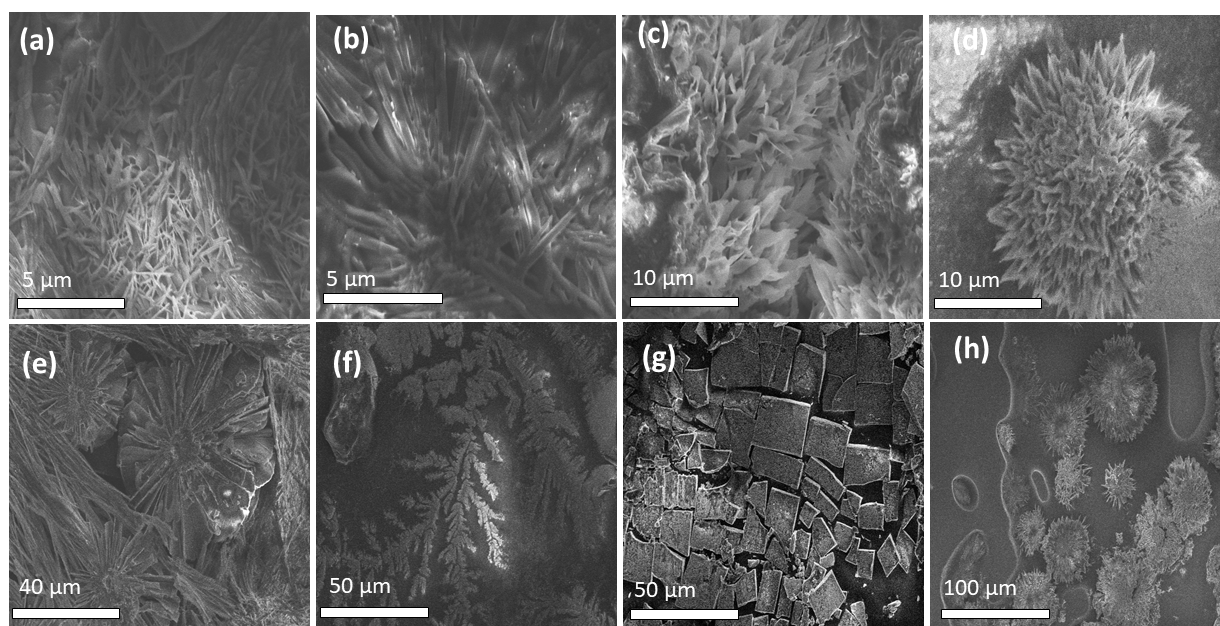


Figura 22. Imágenes SEM de diferentes morfologías obtenidas del sobrenadante Cu(L-Phe)_2 MBioF, con variabilidad en relación con solventes, temperatura y tiempo de reposo.

4.1.1 Cu(L-PHE)_2 MBIOF NANOFIBRAS

Las imágenes SEM observadas en la Figura.23 (a-h) son estructuras nanofibras del MBioF obtenidas bajo diferentes parámetros. Es importante resaltar que todas se obtienen del sobrenadante de la muestra sintetizada, si bien su morfología a simple vista es variada, todas cumplen con el rango nanométrico al no superar los 500 nm de diámetro, por lo cual se consideran nanofibras. Recordemos que la importancia de buscar una morfología nanofibrosa es porque se espera que el vehículo de liberación tenga una mejor interacción con la piel no solo en cuestión de liberación si no también en cuestión de biocompatibilidad por el solo hecho de tener una morfología

parecida a la matriz extracelular y además por la porosidad de las nanofibras. Para explicar cada una de las síntesis realizadas nos apoyaremos de la nomenclatura antes explicada en el área de la metodología en la sección 3.2.1 en la tabla 4. En la figura 24 se muestran el análisis de diámetros de las micrográficas contenidas en la figura 23. Para la figura 23 (a) MBF se obtuvo un diámetro de 396.54 nm (Figura 24a), en la figura 24 (b) MBH el diámetro obtenido es de 334.58nm. En la figura 23(c) MBE el diámetro es de 325.33nm (Figura 24c), para la figura 23(d) MBC se redujo un poco el diámetro hasta llegar a los 293.34nm (Figura 24d). Para las siguientes micrográficas (figura 23 (e)-(h)) el diámetro se mantuvo alrededor de los 300nm oscilando entre los 320nm y los 390nm (Figura 24 (h)). Estas diferentes condiciones nos mostraron la morfología buscada en este trabajo de investigación, la cual es una estructura nanofibrosa cumpliendo con el rango nanométrico requerido según la literatura no excediéndose de los 500 nm.

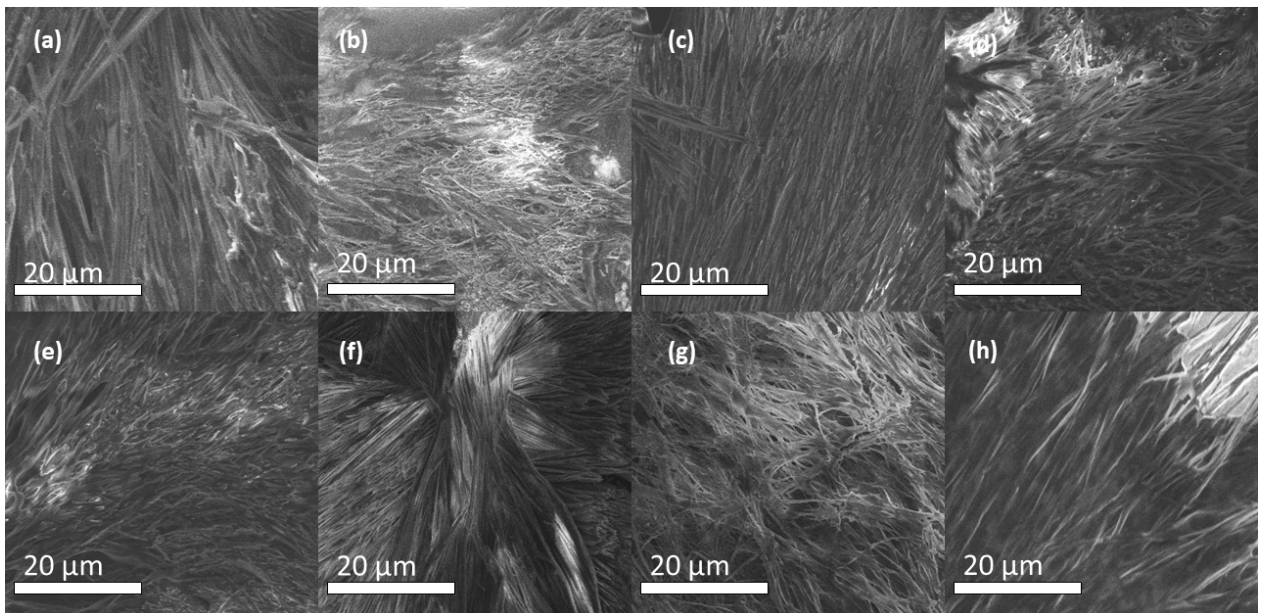


Figura 23. Imagen de Cu(L-Phe)_2 MBioF en diferentes tipos de nanofibras.

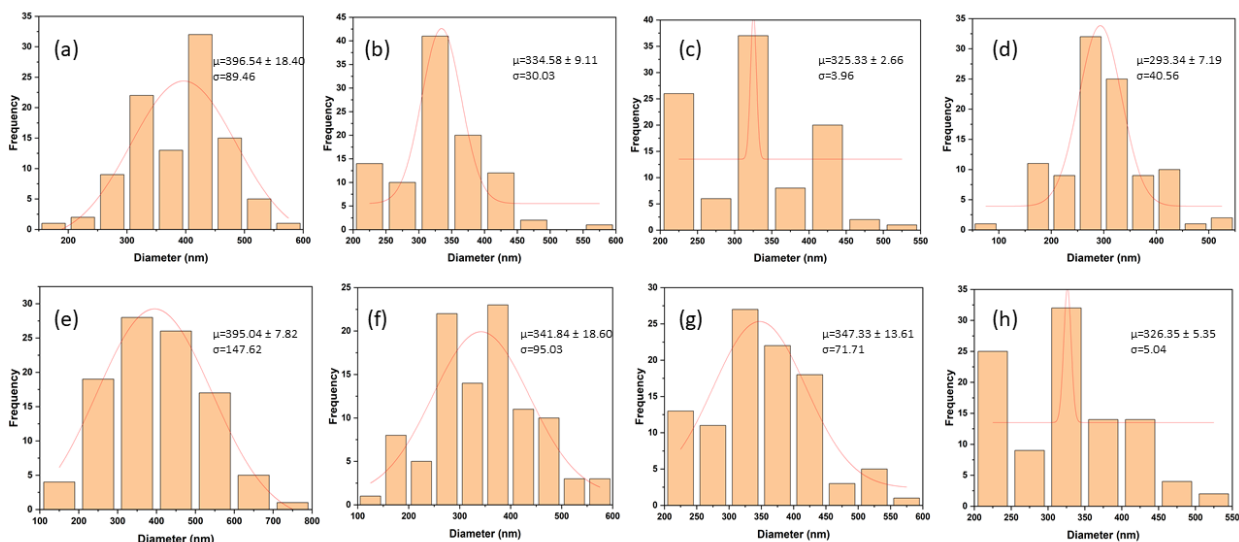


Figura 24. Gráficas de diámetros de nanofibras de Cu(L-Phe)₂ MBioF

4.1.2 NANOFIBRAS POLIMÉRICAS (PCL-CTS-GEL) Y CU(L-PHE)₂ MBIOf.

En la Figura.25(a) podemos ver que tenemos las nanofibras poliméricas PCL-CTS-GEL sin ningún agregado con un diámetro de $292,79 \text{ nm} \pm 1,05 \text{ nm}$ (Figura.25 (e)). En la figura 25 (b) se puede observar la morfología nanofibrosa del MBioF Cu(L-Phe)₂, con un diámetro máximo de 339.11 nm (Figura.25 (f)), En la Figura.25 (c) observamos el efecto de la morfología de las nanofibras al añadir el MBioF, se puede distinguir que las nanofibras poliméricas PCL-CTS-GEL adelgazaron hasta un diámetro de $203,83 \pm 3,70 \text{ nm}$ (Figura.25 (g)); en esta figura también se puede observar que la morfología nanofibrosa se mantiene pero incide de tal manera que surge un cambio en el diámetro. Por último, en la Figura.25 (d) vemos como el diámetro cambia nuevamente, incrementándose un poco debido a la agregación del medicamento metotrexato, alcanzando un diámetro de $275,74 \text{ nm}$ (Figura.25 (h)).

Como se mencionó anteriormente, el diámetro de las nanofibras de la matriz polimérica es de $292,79 \pm 1,05 \text{ nm}$ (Figura.25 (e)), pero al agregar Cu(L-Phe)₂ MBioF, tiene un diámetro menor, quedando en $203,83 \pm 3,70 \text{ nm}$ (Figura.25 (g)). Esta reducción puede deberse a la conductividad de la solución, la cual aumentó con la concentración de iones libres en la solución, lo que de acuerdo con la literatura da como consecuencia diámetros de fibra más delgados (Zirak Hassan Kiadeh et al.,

2021). Por otro lado, cuando añadimos el fármaco a la fibra se vuelve a observar un aumento del diámetro, el cual, aunque no supera al diámetro de la matriz polimérica sin ningún agregado, si vuelve a aumentar hasta un diámetro de $275,74 \pm 2,20$ nm (Figura.25 (h)), lo cual podría ser debido a la formación de una mayor densidad de carga en el chorro de polímero, provocando un aumento en el diámetro de la fibra (Faraji Dizaji et al., 2020).

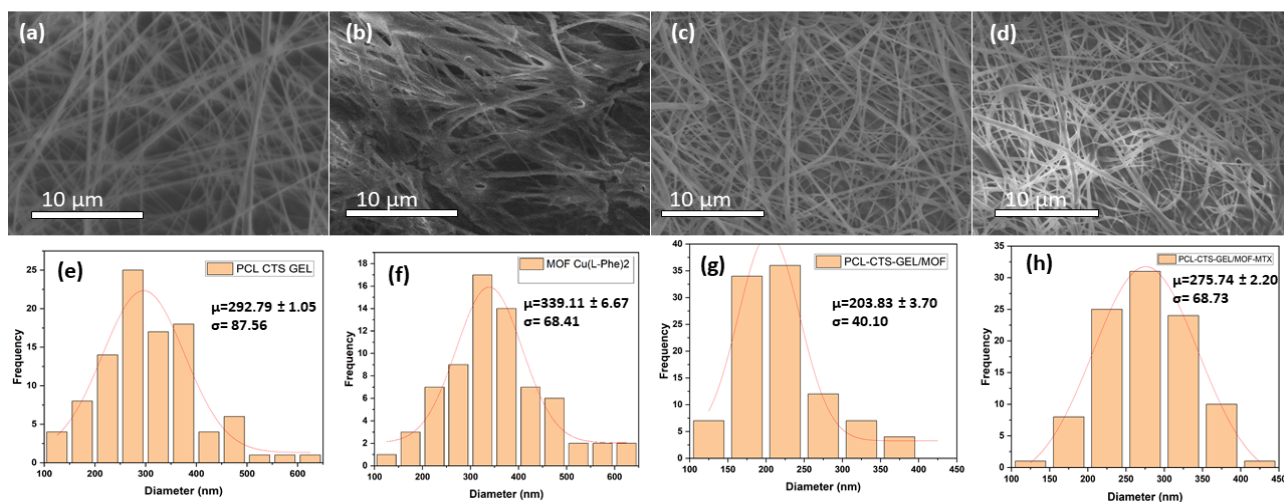


Figura 25. Imágenes SEM y distribución del diámetro de fibra en nanofibras poliméricas (figura (a)), estructura nanofibrosa de $\text{Cu}(\text{L-fenilalanina})_2$ Marcos biológicos organometálicos (figura(b)), unión de nanofibras poliméricas y $\text{Cu}(\text{L-fenilalanina})_2$ Marcos biológicos organometálicos (figura (c)), más el fármaco Metotrexato (figura (d)).

4.2 Análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC)

En la Figura 26 se observa el análisis diferencial de barrido de la fenilalanina en estado puro inciso (a), la cual nos muestra un punto de fusión de 270.76°C , que va de acuerdo con lo reportado en la literatura. (Lu, 2012). Pero una vez creado el $\text{Cu}(\text{L-Phe})_2$ MBioF que tenemos en la Figura. 26 (b) el pico de fenilalanina desaparece mostrando solo dos cambios exotérmicos a 136.86°C y 190.08°C , estos picos se atribuyen al metotrexato, en este sentido, la desaparición del punto de fusión de la fenilalanina se puede relacionar con el enlace entre el bioligando y el ion metálico, dando lugar a la estructura de MBioF. En la subsección Figura. 26 (c) tenemos el metotrexato con un punto de fusión de $136,69^\circ\text{C}$ lo cual concuerda con lo reportado en la literatura.(Rostamizadeh et al., 2018). En la subsección Figura. 26 (d)

tenemos el Cu(L-Phe)₂ MBioF con metotrexato y podemos ver claramente que los picos vistos observados antes en el MBioF desaparecen, esto puede indicar que hubo una buena integración de MTX con Cu(L-Phe)₂ MBioF, lo cual generó un cambio térmico relacionado con una correcta encapsulación.

El termograma DSC de PCL en su estado puro contenido en la Figura. 26 (e), nos muestra un punto de fusión de 60.26°C, lo cual está dentro de lo reportado para este material. (Jana et al., 2014). Mientras que mezclando los 3 materiales PCL, quitosano y gel como se muestra en la subsección Figura. 26 (f), se observa una reducción en la temperatura de fusión obteniendo un pico en 56.29 °C, esto podría atribuirse a la menor viscosidad de fusión del quitosano, lo que también implicaría que el tamaño del cristal del PCL disminuyó por la presencia del quitosano; posiblemente, el quitosano impidió el movimiento de los segmentos del polímero.

Al agregar Cu(L-Phe)₂ MBioF a la mezcla de polímeros en la Figura. 26 (g), el punto de fusión sufrió un cambio a 56.44°C. Y una vez añadido el fármaco MTX al sistema de polímeros y MBioF como podemos ver en el subapartado Figura. 26 (h), el punto de fusión volvió a bajar, inclusive más que en el caso de las nanofibras poliméricas solas, presentando un punto de fusión de 56,23 °C. En este caso podemos observar que hubo una buena integración de metotrexato y fenilalanina ya que los picos correspondientes desaparecieron, esto probablemente debido a que hubo un reordenamiento en su estructura cristalina, y también indica que la encapsulación ocurre mayormente en la fase cristalina de PCL.

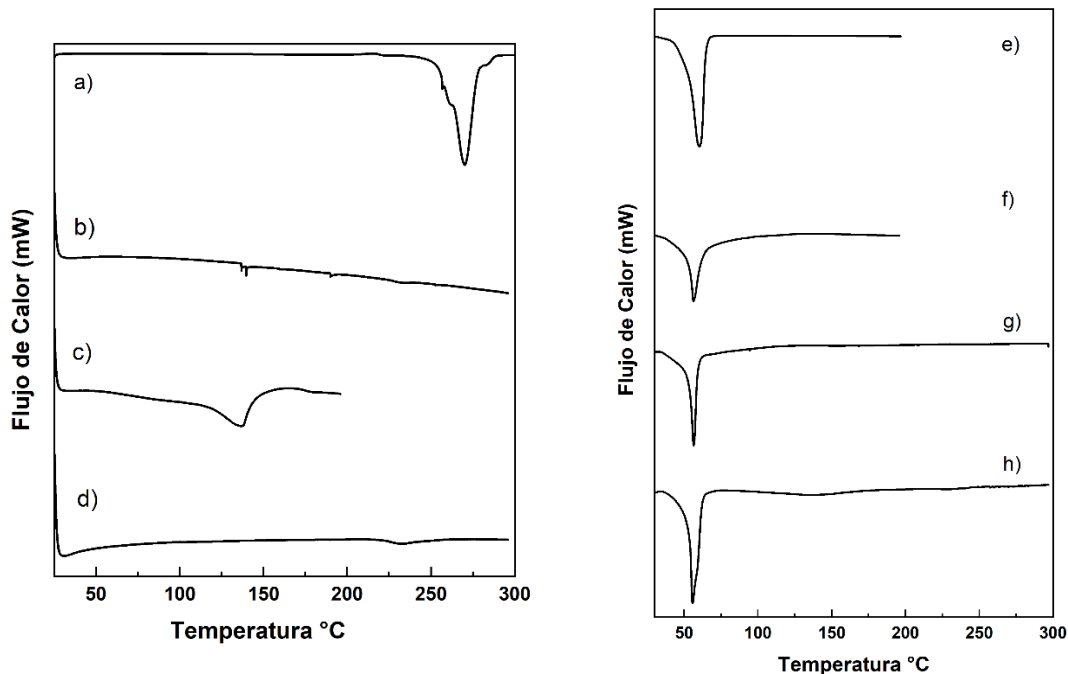


Figura 26. Termogramas DSC (a) fenilalanina, (b) Cu(L-Phe)₂ MBioF, (c) Metotrexato, (d) Cu(L-Phe)₂ MBioF-MTX, (e) policaprolactona pura, (f) nanofibras poliméricas (PCL CTS GEL), (g) nanofibras poliméricas con Cu(L-Phe)₂ MBioF, (h) nanofibras poliméricas con Cu(L-Phe)₂ MBioF y metotrexato.

4.3 Análisis de Pruebas Mecánicas

Las nanoestructuras de MBioF tienen varios grupos funcionales de ácido carboxílico para interactuar con la matriz polimérica (inducidos los grupos carboxilo e hidroxilo), en adición los MBioF tienen una gran superficie que pueden proporcionar una alta transferencia de tensión, logrando de esta manera absorber, dispersar y disipar de manera efectiva la carga aplicada de la matriz polimérica. (Zirak Hassan Kiadeh et al., 2021).

La resistencia a la tracción de la matriz polimérica nanofibrosa aumentó de 4.56 a 6.75 MPa al añadir el MOF/MTX (Tabla 4). El módulo de Young es más alto, lo que significa que al añadir MOF/MTX en la estructura provoca materiales nanofibrosos más resistentes. De igual manera la deformación a la ruptura muestra que la flexibilidad del material aumento de 72.94 a 112.51 %. (Zirak Hassan Kiadeh et al., 2021)

Por lo tanto, es importante señalar que la matriz polimérica tuvo una mejora en sus propiedades mecánicas al añadir el complejo de fenilalanina y cobre con el medicamento encapsulado, lo cual va en contra de lo reportado en la literatura ya

que al añadir el MOF las propiedades mecánicas del material se debilitaban y se lo adjudicaban al MOF (Li et al., 2020). Por otra parte, al añadir el MOF solo sin el medicamento, las propiedades mecánicas de la matriz polimérica se debilitaron, mostrando un decremento de la resistencia a la tracción de 4.56 a 3.83 MPa. Es importante concluir que el MOF por sí solo no mejoró las propiedades mecánicas de la matriz polimérica si no que lo hace al tener el medicamento encapsulado. Esto se puede observar en las FIGURAS 27 y 28.

Tabla 4. Propiedades mecánicas de las muestras.

(a) Tensión			
Web	Resistencia a la tracción (MPa)	Tensión a la ruptura (%)	Módulo (MPa)
PCL-CTS-GEL	4.56	72.94	8.68
PCL-CTS-GEL/MOF	3.83	96.44	5.19
PCL-CTS-GEL/MOF-MTX	6.75	112.51	10.36
(b) Compresión		Fuerza (N)	Deformación (mm)
PCL-CTS-GEL		7.95 N	6.62 mm
PCL-CTS-GEL/MOF		20 N	6.90 mm
PCL-CTS-GEL/MOF-MTX		40 N	7.72 mm

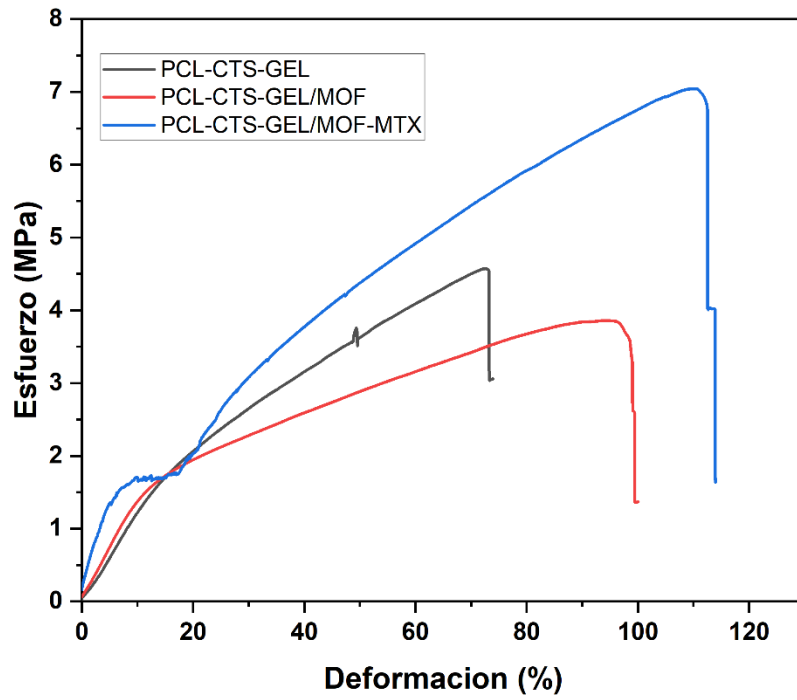


Figura 27. Gráfico tensión-deformación de nanofibras poliméricas a 20 mm/min.

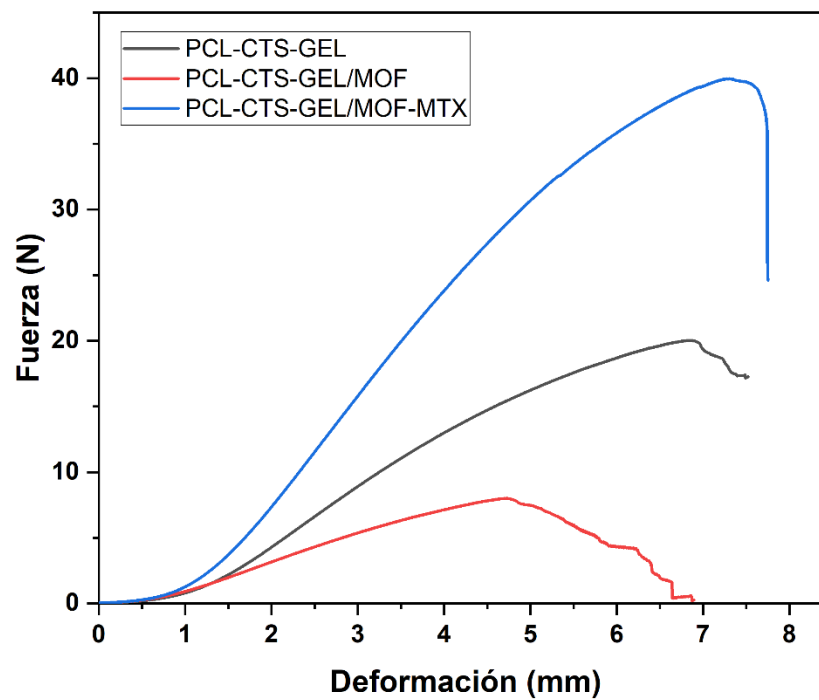


Figura 28. Gráfico de compresión de nanofibras poliméricas a 20 mm/min.

4.4 Análisis de difracción de rayos X (XRD)

Se busco determinar mediante el patrón de XRD la estructura cristalina de las nanofibras del complejo denominado MBioF Cu(L-Phe)₂, como se muestra en la figura 29 se obtuvo un patrón con mucho ruido pero se alcanza a apreciar en $2\theta = 5,3$ un pico de difracción que se puede asignar al plano cristalino (100) del complejo MBioF Cu(L-Phe)₂ (Yao et al., 2020). Por otro lado, en la gráfica de la derecha podemos apreciar la gráfica del MOF en donde en su mayoría observamos el cobre.

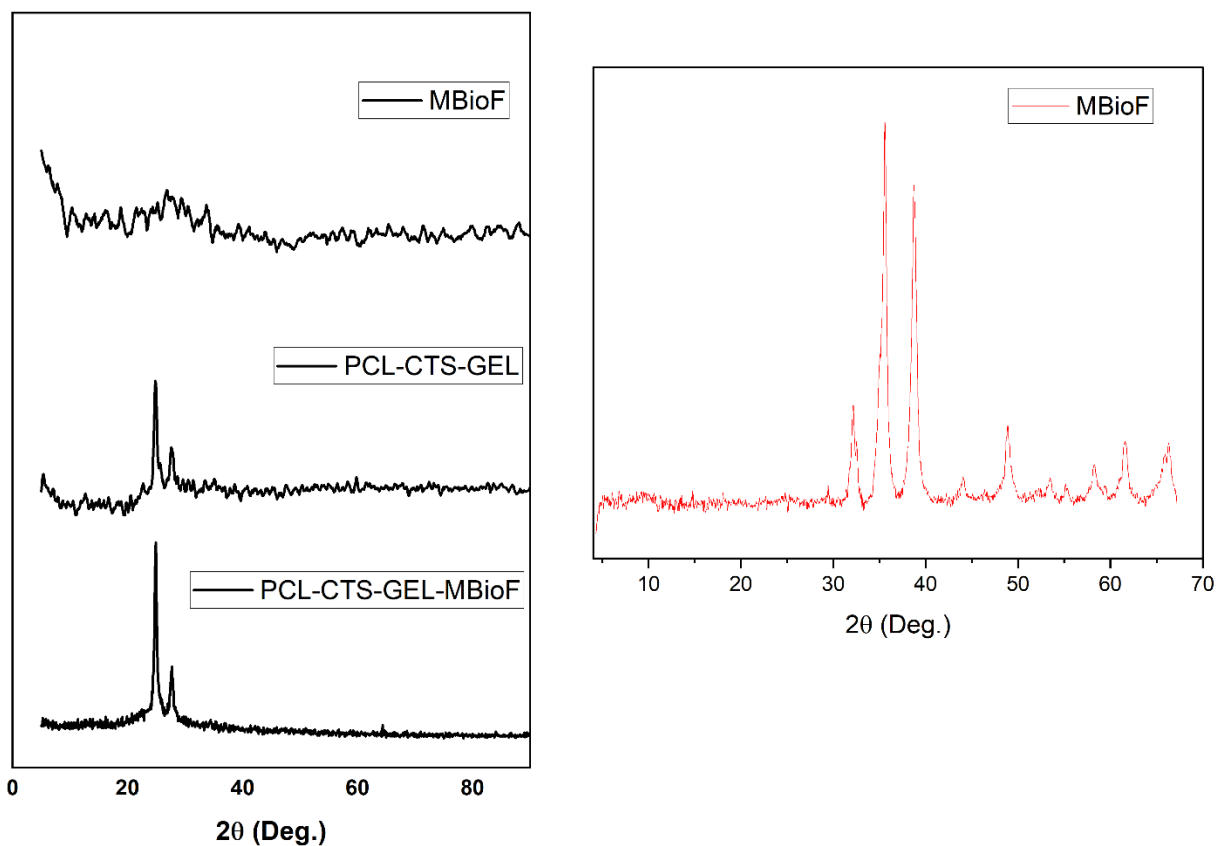


Figura 29 Patrón de difracción de rayos X del complejo MBioF Cu(L-Phe)₂, la matriz polimérica PCL-CTS-GEL y la matriz polimérica con el complejo añadido.

4.5 Análisis de FTIR

Para el MOF es importante contar con los grupos carboxílicos, fosfatos e imidazolatos, ya que los MOF son el resultado del ensamble de clústeres metálicos y ligandos orgánicos con los grupos antes mencionados. (Personalizados, 2021). Para investigar el efecto sobre el modo de coordinación del grupo carboxilato del metal se realizaron los siguientes estudios de FTIR.

En muestras complejas como las biológicas el conocimiento de los distintos constituyentes permiten identificar el origen de un enlace en particular en el espectro infrarrojo. Por ejemplo, los enlaces C=O absorben el infrarrojo en 1650 cm^{-1} , por lo tanto, las moléculas que tienen un número significativo de enlaces C=O como los presentes en los grupos amida de una proteína presentaran una banda de absorción en este número de onda. Los espectros de absorción obtenidos de una muestra biológica normalmente son tomados en los números de onda comprendidos entre 4000 y 650 cm^{-1} en donde se tienen dos principales zonas de interés, la primera abarca entre los 3400 y 2800 cm^{-1} y la segunda entre 1800 y 900 cm^{-1} . En estos dos intervalos es donde se puede observar la mayoría de los enlaces de interés biológico. (Barraza-Garza et al., 2013)

Los grupos carboxílicos los encontramos en Tensión O-H, caracterizada por una banda muy ancha entre los 3400-2400 cm^{-1} . También se presenta en C=O que está presente entre 1830-1650 cm^{-1} . (Cookson & Stirk, 2019). Podemos observar en la figura 30 (b) un pico ancho 3344 y 2978.28 cm^{-1} comprobando el grupo carbonilo, de hecho, estos picos se definen como el estiramiento alifático y aromático del enlace C-H, además de un enlace covalente muy pronunciado a 1643 cm^{-1} , que se alinea con la banda amida correspondiente al estiramiento C=O Y N-H. (Adnan et al., 2018). La banda complementaria a 877 cm^{-1} aprueba la presencia de la vibración de flexión del plano del anillo aromático. Por otra parte, en la región comprendida entre 1000 y 1500 cm^{-1} se tienen a los grupos fosfatos asimétricos y simétricos nosotros podemos observar esos picos en 1272 cm^{-1} para fosfatos asimétricos y 1081 cm^{-1} para simétricos. (Mehlana et al., 2016). La demostración de todos los picos propuestos es una fuerte evidencia de la formación del complejo Cu(L-Phe)₂ MBioF. (Nezhad-Mokhtari et al., 2019).

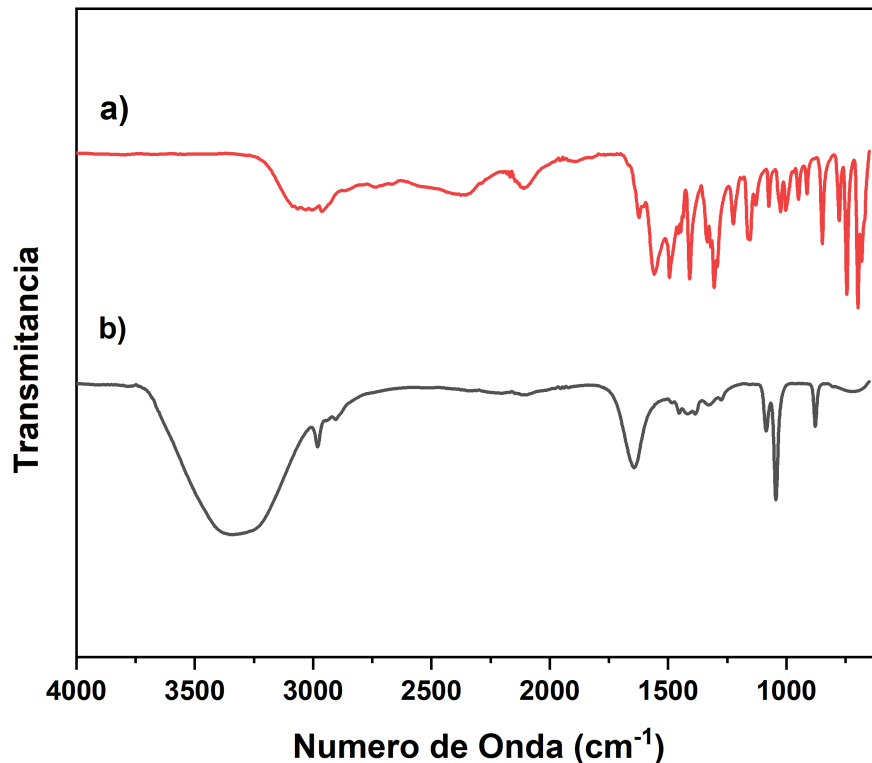


Figura 30. FTIR de a) Phe, b) Cu(L-Phe)₂ MBioF,

4.6 Análisis Mecánico Dinámico (DMA)

DMA se llevó a cabo para explorar la estructura de fase de las fibras de mezcla y sus efectos sobre las propiedades mecánicas y mostrar las curvas del módulo de tracción de almacenamiento y ángulo de pérdida de tangente δ en función de la temperatura para la matriz polimérica, la matriz polimérica con el MBioF añadido y encapsulando el MTX en el MBioF. (Zhu et al., 2017)

Durante la primera transición vítrea los segmentos de la cadena de PCL comenzaron a moverse y entraron en un estado gomoso cerca de los 60°C (Figura 31), se puede notar como en la matriz polimérica que tiene agregado el complejo Cu(L-Phe)₂ MBioF (Figura 31), tiene este movimiento mucho antes de llegar al punto de fusión del PCL, a diferencia de la matriz polimérica que se mantiene estable se puede observar que la cadena de PCL todavía está en estado vítreo (Figura 31). Evidentemente, la presencia del medicamento atrapado en el complejo Cu(L-Phe)₂ MBioF aumento la

rigidez de las nanofibras en comparación con la matriz polimérica sola o con el agregado del complejo sin el fármaco (Figura 32). Esto debido a que el fármaco metotrexato está teniendo alguna interacción con la matriz polimérica y por esta razón podemos ver un aumento en el módulo (Figura 33).

También se puede observar que después de los 80°C podemos ver que la $\tan \delta$ es estable tanto para la matriz polimérica como al agregar el complejo y el complejo con el fármaco encapsulado, esto nos habla de un entrecruzamiento físico. Cuando la tangente delta está cerca de cero y el módulo esta constante hablamos de un material ideal.

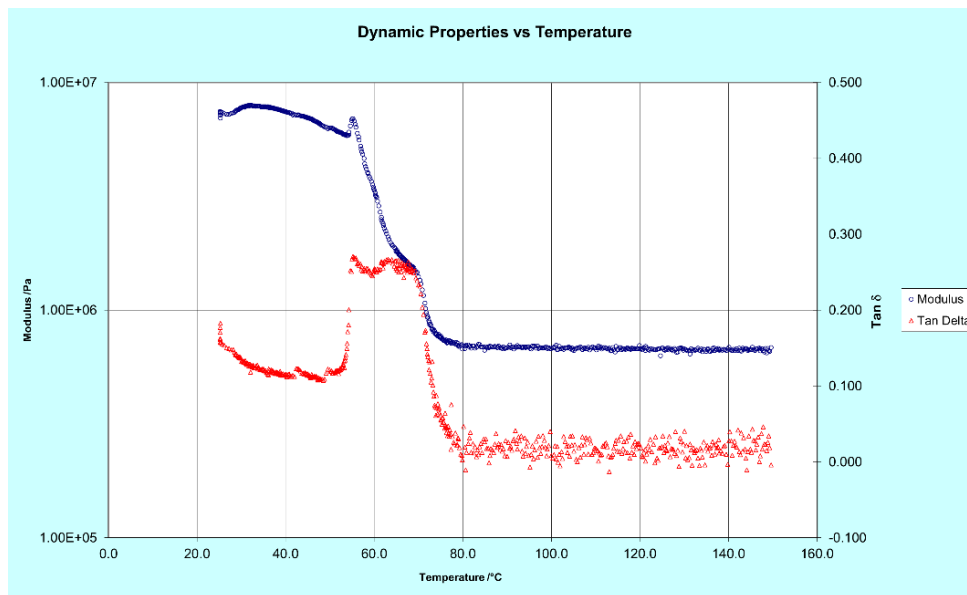


Figura 31. DMA PCL CTS GEL

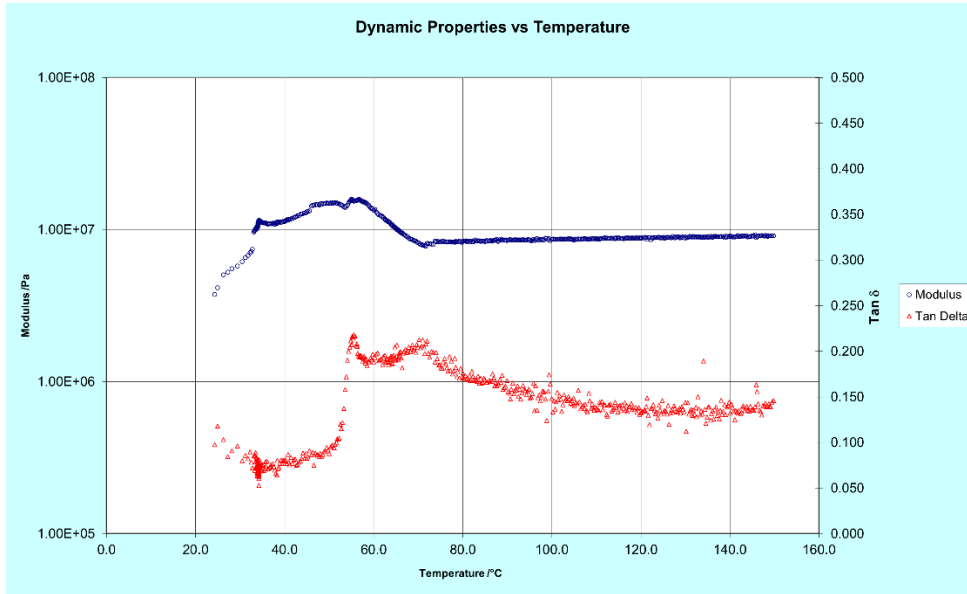


Figura 32. DMA PCL CTS GEL / MOF

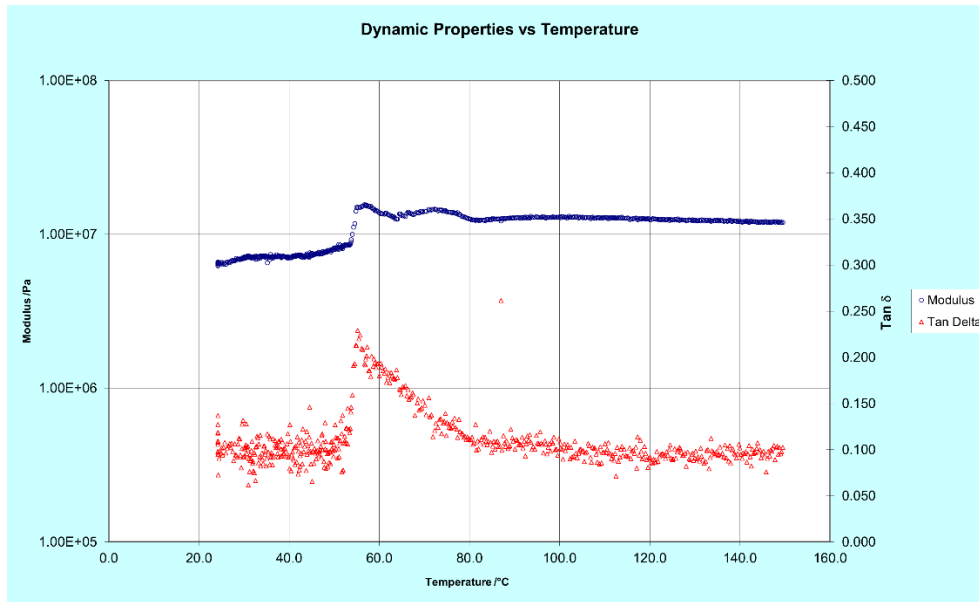


Figura 33. DMA PCL CTS GEL/ MOF MTX

4.7 Estudio de liberación “in vitro” del fármaco Metotrexato

El perfil de liberación de MTX en el complejo $\text{Cu}(\text{L-Phe})_2$ MBioF, transportado por la matriz polimérica se estudiaron durante un periodo de 400 h a 37°C tal y como se muestra en la Figura 34. La liberación de MTX del MBioF fue relativamente rápida durante las primeras 8 horas de exposición a PBS y luego se ralentizó y finalmente alcanzó su máximo a las 400 h (15 días). Una liberación inicial de MTX del complejo dentro de las primeras 8 horas probablemente se deba al atrapamiento del fármaco que penetran cerca de la superficie de las nanofibras y en consecuencia del medio. Después de la fase primaria, la tasa de liberación de MTX se hizo más lenta hasta que el perfil de liberación tomó forma de una curva logarítmica. En general la liberación del fármaco del complejo $\text{Cu}(\text{L-Phe})_2$ MBioF se logró debido a las ventajas que proporciona la estructura nanofibrosa de la matriz polimérica. Este tipo de liberación es la buscada ya que para este tipo de padecimientos es importante atacar de manera ráfaga para una medicación directa y luego mantener la liberación del medicamento de manera lenta para que siga haciendo su efecto y controle la enfermedad, de esta manera al colocar el parche hecho de nanofibras poliméricas PCL-CTS-GEL en combinación con el $\text{Cu}(\text{L-Phe})_2$ MBioF que tiene el medicamento MTX encapsulado podemos asegurarnos de que seguirá suministrando medicamento por lo menos 15 días evitando la re-aplicación y asegurando una medicación constante que de manera directa que ataca al vitíligo.

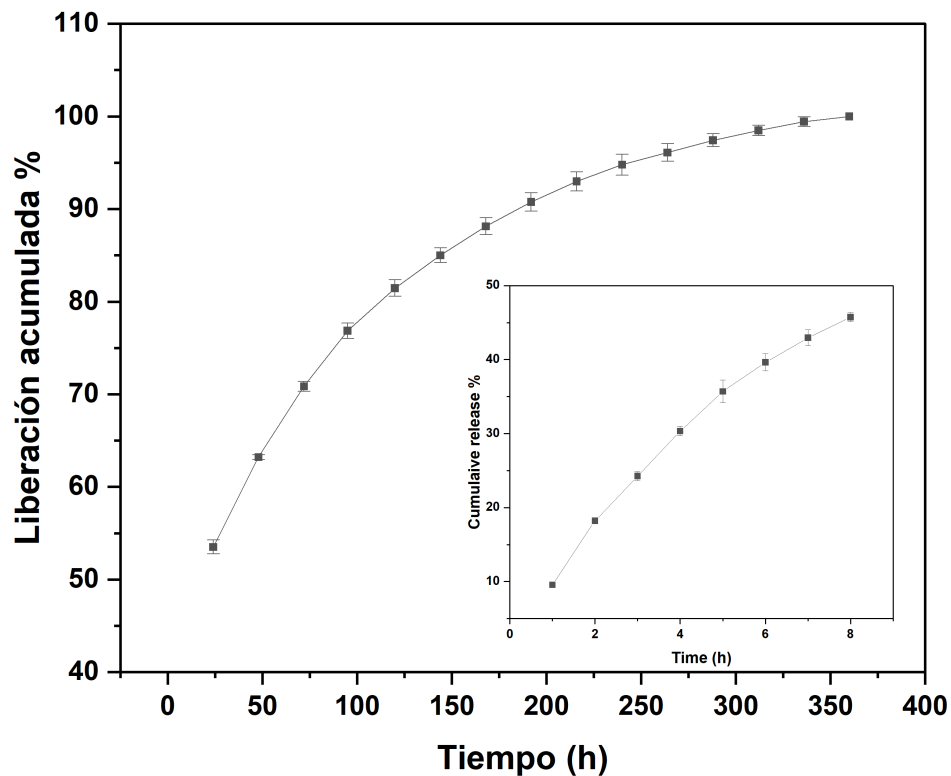


Figura 34. Liberación acumulativa del fármaco MTX de la estructura nanofibrosa.

4.8 Hinchamiento

Las pruebas de hinchamiento de la matriz polimérica se llevaron a cabo en PBS de pH de 7.4 a una temperatura de 37°C, se utilizó este buffer con estas condiciones ya que es la temperatura y el pH similar al de la piel (Gao et al., 2019), recordemos que estamos buscando un escenario lo más similar posible a la piel que será donde se utilizará nuestro sistema. Se obtuvo que la matriz polimérica tuvo una absorbancia con respecto a su peso inicial del 497 %, la matriz polimérica con el complejo Cu(L-Phe)₂ MBioF obtuvo una absorbancia del 458% y la matriz polimérica con el MOF y el fármaco encapsulado, tuvo un porcentaje de hinchamiento del 386%. Por lo tanto se puede concluir con respecto a la matriz polimérica con el agregado MBioF y el MBioF con el fármaco encapsulado, se tuvo una diferencia de porcentaje de hinchamiento, y además se notó que con una variante de 1, 3 y 5 días, la absorbancia de las nanofibras poliméricas de PBS no cambiaba ni aumentaba, esto nos confirma que la

absorción de las nanofibras se da en las primeras 24 horas tiempo en el que alcanza su límite de hinchamiento. Esta disminución de porcentaje de hinchamiento con respecto a la matriz nanofibrosa sola, parece indicar un entrecruzamiento de las cadenas poliméricas al entrar en contacto tanto con el MBioF como con el medicamento atrapado en el MbioF, algo que corresponde con las diferencias mostradas en el estudio de propiedades mecánicas.

4.9 Biodegradación

La tasa de degradación de la matriz polimérica sola es más rápida que las nanofibras poliméricas con el complejo $\text{Cu}(\text{L-Phe})_2$ MBioF con el fármaco añadido como se puede observar en la Figura 34. Después de 20 días de degradación in vitro, las nanofibras poliméricas con el complejo y el fármaco encapsulado se degradó un 15%, mientras que la matriz polimérica se degradó un 32% y como se puede observar la matriz polimérica con el MBioF tuvo una tasa de degradación del 27 %.

Se puede determinar que si hay correlación entre la tasa de degradación y las propiedades mecánicas obtenidas, como podemos recordar el módulo de Young en las nanofibras poliméricas con el complejo y medicamento añadido obtuvo un incremento considerable con respecto a la matriz polimérica sola, esta resistencia mecánica se pudo observar también en la tasa de degradación. En este caso la degradación de estas nanofibras con el complejo y el medicamento fue muy poca después de 20 días apenas se obtuvo una degradación del 15% mientras que en la matriz polimérica sola el módulo de Young fue muy bajo denotando una tasa de degradación más alta ya que no tenía la misma resistencia mecánica y en solo 20 días se obtuvo una degradación de 32%, mismo caso con la matriz polimérica y el agregado del complejo sin medicamento, el módulo de Young es igual más bajo que al agregar el medicamento y en la tasa de degradación obtenemos un 27%.

Recordemos que la matriz polimérica está compuesta por quitosano que por su propiedad hidrófila lo convierte en un compuesto más fácil de disolver, pero al tener policaprolactona en mayor cantidad su propiedad hidrofóbica vuelve al material más resistente, es por esta composición de compuestos que se tiene a la matriz polimérica en segundo lugar de tasa de degradación, y que gracias a las pruebas mecánicas antes mencionadas pudimos concluir que el medicamento es el responsable de añadir más resistencia a la degradación en la matriz polimérica. (Poursharifi et al., 2020).

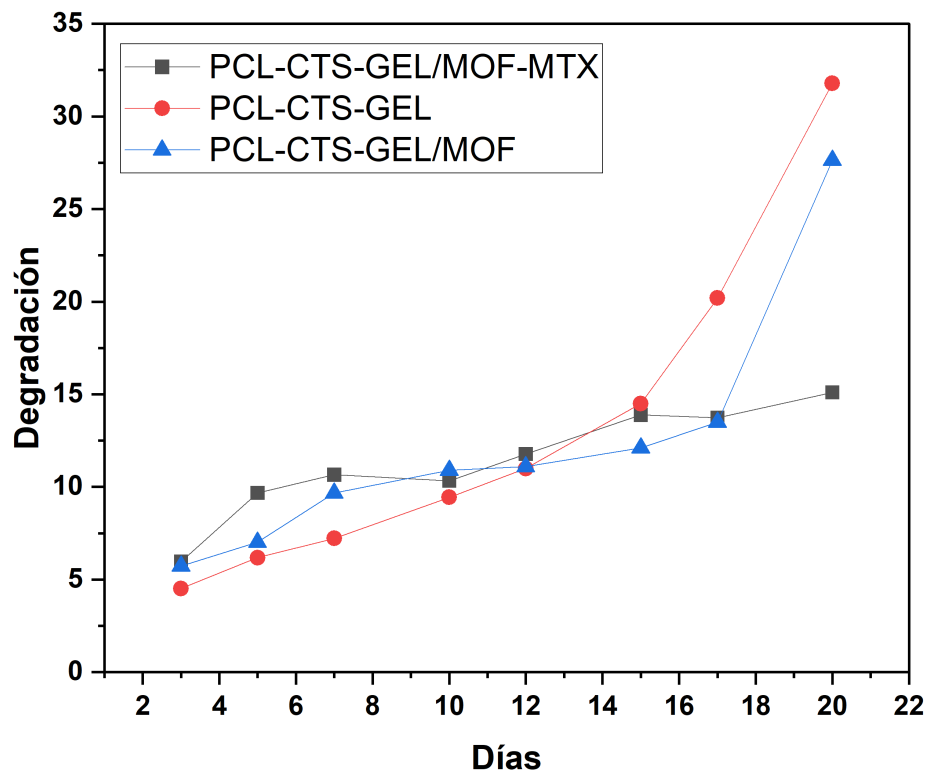


Figura 35. Comportamiento de degradación de las muestras.

5 CONCLUSIONES

Habiendo analizado y mostrado los resultados obtenidos de la presente investigación se puede concluir lo siguiente:

- Se confirma la hipótesis, ya que la liberación del medicamento metotrexato encapsulado dentro de las nanofibras auto ensambladas y poliméricas es efectivamente un sistema de liberación eficaz y controlado para el medicamento MTX, teniendo una liberación controlada de hasta 15 días, sin una liberación ráfaga en línea recta si no que la pendiente tiende a una curvatura como se esperaba con una tendencia a estabilizarse y mostrar una liberación prolongada y controlada.
- El nanomaterial sintetizado a partir de policaprolactona, gelatina y quitosano presenta una morfología ideal y esperada, una morfología nanofibrosa que puede recrear a una matriz extracelular, con un diámetro que se queda dentro del rango nanométrico adecuado.
- El MBioF sintetizado a partir de fenilalanina y cobre presenta una morfología ideal y buscada que pueda tener parecido con la matriz extracelular es decir una estructura nanofibrosa de igual manera con diámetros en el rango nanométrico deseado lo cual cumple con el objetivo de unir dos estructuras nanofibrosas, dando como resultado nanofibras poliméricas electrohiladas y nanofibras auto ensambladas.
- Las propiedades mecánicas de las nanofibras electrohiladas de PCL-CTS-GEL con el complejo $\text{Cu}(\text{L-Phe})_2$ MBioF y el MTX encapsulado demostró una mayor resistencia mecánica al incluir el medicamento, en comparación con la matriz polimérica sola o incluso que cuando se agregaron las nanofibras auto ensambladas a la matriz polimérica.
- Los parámetros de degradación concuerdan con lo mencionado en la literatura la matriz polimérica PCL-CTS-GEL tiene un porcentaje de degradación bajo adecuado a los materiales que la componen en particular la policaprolactona que por su hidrofobicidad la vuelve un material más resistente a la degradación, pero gracias a las pruebas mecánicas antes mencionadas pudimos relacionar por qué nuestro sistema final es decir la combinación de nuestra matriz polimérica con el MBioF y el MTX se volvió más resistente aun, nos dimos cuenta que el medicamento generaba un efecto de entrecruzamiento físico en la matriz obteniendo una resistencia mayor por eso el porcentaje de degradación fue mucho menor y obteniendo el material ideal en resistencia para su propósito. Por otra parte, los resultados de

hinchamiento también fueron semejantes a la literatura, pero más importante aún su comportamiento de hinchamiento no es gradual, es de manera inmediata lo que quiere decir que la máxima absorción en el material se dará en las primeras 24 horas después de ese tiempo ya no se podrá expandir más.

Por lo tanto, se concluye que el material sintetizado final tiene el potencial para funcionar como un parche para el tratamiento del padecimiento vitílico dado que demostró contar con una adecuada resistencia mecánica para su aplicación en la piel.

REFERENCIAS

- 1) Shoeib, M. A., Farag, A. G. A., Al, D. R., Reem, A., El, E. N., & Shehata, H. N. N. (2020). *Role of β - catenin in vitiligo : a clinical and immunohistochemical study*. 1021–1025. <https://doi.org/10.4103/mmj.mmj>
- 2) Fernández Hernández, N., Pérez Davison, G., & Martínez Sánchez, G. (2008). Vitiligo: Actualización bibliográfica. *Latin American Journal of Pharmacy*, 27(6), 938–945.
- 3) Cristina, M., Correa, T., Marina, L., & Vargas, G. (2009). *Vitiligo*. 76–86.
- 4) Guo, L., Chen, Y., Wang, T., Yuan, Y., Yang, Y., Luo, X., Hu, S., Ding, J., & Zhou, W. (2021). Rational design of metal-organic frameworks to deliver methotrexate for targeted rheumatoid arthritis therapy. *Journal of Controlled Release*, 330(October 2020), 119–131. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.10.069>
- 5) Noorian, S. A., Hemmatinejad, N., & Navarro, J. A. R. (2020). Bioactive molecule encapsulation on metal-organic framework via simple mechanochemical method for controlled topical drug delivery systems. *Microporous and Mesoporous Materials*, 302(April), 110199. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2020.110199>
- 6) Alturki, A. M. (2021). Rationally design of electrospun polysaccharides polymeric nanofiber webs by various tools for biomedical applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 184(May), 648–665. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.021>
- 7) Poursharifi, N., Semnani, D., Soltani, P., & Amanpour, S. (2020). Designing a novel and versatile multi-layered nanofibrous structure loaded with MTX and 5-FU for the targeted delivery of anticancer drugs. *Polymer Degradation and Stability*, 179. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2020.109275>
- 8) Wang, F., & Feng, C.-L. (2018). Metal-Ion-Mediated Supramolecular Chirality of L-Phenylalanine Based Hydrogels. *Angewandte Chemie*, 130(20), 5757–5761. <https://doi.org/10.1002/ange.201800251>
- 9) Stanila, A., Marcu, A., Rusu, D., Rusu, M., & David, L. (2007). Spectroscopic studies of some copper (II) complexes with amino acids. *Journal of Molecular Structure*, 834–836(SPEC. ISS.), 364–368. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2006.11.048>
- 10) Trémul, A. C. L., & Salas, M. P. S. (2006). Vitiligo: Principales opciones terapéuticas. *Medicina Cutanea Ibero-Latino-Americana*, 34(2), 81–88.
- 11) Personalizados, S. (2021). *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología liberación controlada de fármacos*. 1–21.
- 12) Zirak Hassan Kiadeh, S., Ghaee, A., Farokhi, M., Nourmohammadi, J., Bahi, A., & Ko, F. K. (2021). Electrospun pectin/modified copper-based metal-organic framework (MOF) nanofibers as a drug delivery system. *International Journal of Biological Macromolecules*, 173, 351–365. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.058>
- 13) Hivechi, A., Bahrami, S. H., Siegel, R. A., B.Milan, P., & Amoupour, M. (2020). In vitro and in vivo studies of biaxially electrospun poly(caprolactone)/gelatin

- nanofibers, reinforced with cellulose nanocrystals, for wound healing applications. *Cellulose*, 27(9), 5179–5196. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-03106-9>
- 14) Fathi-azarbayjani, A., Qun, L., Chan, Y. W., & Chan, S. Y. (2010). *Novel Vitamin and Gold-Loaded Nanofiber Facial Mask for Topical Delivery*. 11(3), 1164–1170. <https://doi.org/10.1208/s12249-010-9475-z>
 - 15) Khoshbakht, S., Asghari-Sana, F., Fathi-Azarbayjani, A., & Sharifi, Y. (2020). Fabrication and characterization of tretinoin-loaded nanofiber for topical skin delivery. *Biomaterials Research*, 24(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s40824-020-00186-3>
 - 16) Moya, P., Corominas, H., Salazar, J., & Baiget, M. (2016). Farmacogenética del metotrexato. *Reumatol. Clin., Supl. (Barc.)*, 11(1), 8–15. <https://www.reumatologiaclinica.org/es-pdf-X1699258X16545651>
 - 17) Dellatorre, G., Antelo, D. A. P., Bedrikow, R. B., Cestari, T. F., Follador, I., Ramos, D. G., & Silva de Castro, C. C. (2020). Consensus on the treatment of vitiligo – Brazilian Society of Dermatology. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 95(xx), 70–82. <https://doi.org/10.1016/j.abd.2020.05.007>
 - 18) Merhi, R., Andreu, N., Gey, A., Ballanger-Désolneux, F., Boniface, K., & Seneschal, J. (2020). Efficacité et tolérance du méthotrexate dans le vitiligo : étude rétrospective, monocentrique. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*, 147(12), A105. <https://doi.org/10.1016/j.annder.2020.09.062>
 - 19) Kritskiy, I., Volkova, T., Sapozhnikova, T., Mazur, A., Tolstoy, P., & Terekhova, I. (2020). Methotrexate-loaded metal-organic frameworks on the basis of γ -cyclodextrin: Design, characterization, in vitro and in vivo investigation. *Materials Science and Engineering C*, 111(December 2019), 110774. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110774>
 - 20) Fernández Hernández, N., Pérez Davison, G., & Martínez Sánchez, G. (2008). Vitiligo: Actualización bibliográfica. *Latin American Journal of Pharmacy*, 27(6), 938–945.
 - 21) Pimentel, C. L., Puig, L., Alomar, A., & Dermatología, S. De. (2002). *Despigmentación cutánea*. 16.
 - 22) Speeckaert, R., Speeckaert, M. M., & van Geel, N. (2015). Why treatments do(n't) work in vitiligo: An autoinflammatory perspective. *Autoimmunity Reviews*, 14(4), 332–340. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2014.12.003>
 - 23) Chen, J., Li, S., & Li, C. (2021). Mechanisms of melanocyte death in vitiligo. *Medicinal Research Reviews*, 41(2), 1138–1166. <https://doi.org/10.1002/med.21754>
 - 24) Sahu, T., Ratre, Y. K., Chauhan, S., Bhaskar, L. V. K. S., Nair, M. P., & Verma, H. K. (2021). Nanotechnology based drug delivery system: Current strategies and emerging therapeutic potential for medical science. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 63(April), 102487. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102487>
 - 25) Li, X., Li, D., Zhang, Y., Lv, P., Feng, Q., & Wei, Q. (2020). Encapsulation of enzyme by metal-organic framework for single-enzymatic biofuel cell-based self-powered biosensor. *Nano Energy*, 68, 104308. <https://doi.org/10.1016/j.nanoen.2019.104308>
 - 26) Van der Helm, D., Lawson, M. B., & Enwall, E. L. (1971). The crystal structure of bis-(L-phenylalaninato) copper(II). *Acta Crystallographica Section B Structural*

- Crystallography and Crystal Chemistry*, 27(12), 2411–2418.
<https://doi.org/10.1107/s0567740871005958>
- 27) Zhu, L., Zhang, Y., & Ji, Y. (2017). Fabricating poly (1,8-octanediol citrate) elastomer based fibrous mats via electrospinning for soft tissue engineering scaffold. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 28(6).
<https://doi.org/10.1007/s10856-017-5906-7>
 - 28) Barraza-Garza, G., De La Rosa, L. A., Martínez-Martínez, A., Castillo-Michel, H., Cotte, M., & Alvarez-Parrilla, E. (2013). La microespectroscopía de infrarrojo con transformada de fourier (FTIRM) en el estudio de sistemas biológicos. *Revista Latinoamericana de Química*, 41(3), 125–148.
 - 29) Cookson, M. D., & Stirk, P. M. R. (2019). Infrared spectroscopy: fundamentals and applications .
 - 30) Adnan, M., Li, K., Xu, L., & Yan, Y. (2018). X-shaped zif-8 for immobilization rhizomucor miehei lipase via encapsulation and its application toward biodiesel production. *Catalysts*, 8(3). <https://doi.org/10.3390/catal8030096>
 - 31) Mehlana, G., Ramon, G., & Bourne, S. A. (2016). A 4-fold interpenetrated diamondoid metal-organic framework with large channels exhibiting solvent sorption properties and high iodine capture. *Microporous and Mesoporous Materials*, 231(June 2016), 21–30. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2016.05.016>
 - 32) Nezhad-Mokhtari, P., Arsalani, N., Javanbakht, S., & Shaabani, A. (2019). Development of gelatin microsphere encapsulated Cu-based metal-organic framework nanohybrid for the methotrexate delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 50(November 2018), 174–180.
<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.01.020>
 - 33) Li, Z., Kang, H., Che, N., Liu, Z., Li, P., Li, W., Zhang, C., Cao, C., Liu, R., & Huang, Y. (2014). Controlled release of liposome-encapsulated Naproxen from core-sheath electrospun nanofibers. *Carbohydrate Polymers*, 111, 18–24.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.04.017>
 - 34) Khoshbakht, S., Asghari-Sana, F., Fathi-Azarbayjani, A., & Sharifi, Y. (2020). Fabrication and characterization of tretinoin-loaded nanofiber for topical skin delivery. *Biomaterials Research*, 24(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s40824-020-00186-3>
 - 35) Davani, F., Alishahi, M., Sabzi, M., Khorram, M., Arastehfar, A., & Zomorodian, K. (2021). Dual drug delivery of vancomycin and imipenem/cilastatin by coaxial nanofibers for treatment of diabetic foot ulcer infections. *Materials Science and Engineering C*, 123(June 2020), 111975.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.111975>
 - 36) Singh, P., Pandey, S. K., Grover, A., Sharma, R. K., & Wangoo, N. (2021). Understanding the self-ordering of amino acids into supramolecular architectures: Co-assembly-based modulation of phenylalanine nanofibrils. *Materials Chemistry Frontiers*, 5(4), 1971–1981. <https://doi.org/10.1039/d0qm00784f>
 - 37) Bhagat, S. D., & Srivastava, A. (2016). Rods, helices and spherulites: Diverse self-assembled architectures from l-phenylalanine derivatives. *CrystEngComm*, 18(23), 4369–4373. <https://doi.org/10.1039/c5ce02545a>
 - 38) Lu, J. (2012). Characterization and pseudopolymorphism of l-phenylalanine anhydrous and monohydrate forms. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(4), 269–277. <https://doi.org/10.5897/ajpp11.842>

- 39) Rostamizadeh, K., Manafi, M., Nosrati, H., Kheiri Manjili, H., & Danafar, H. (2018). Methotrexate-conjugated mPEG-PCL copolymers: A novel approach for dual triggered drug delivery. *New Journal of Chemistry*, 42(8), 5937–5945. <https://doi.org/10.1039/c7nj04864e>
- 40) Jana, S., Leung, M., Chang, J., & Zhang, M. (2014). Effect of nano- and micro-scale topological features on alignment of muscle cells and commitment of myogenic differentiation. *Biofabrication*, 6(3). <https://doi.org/10.1088/1758-5082/6/3/035012>
- 41) Gao, L., Zabihi, F., Ehrmann, S., Hedtrich, S., & Haag, R. (2019). Supramolecular nanogels fabricated via host–guest molecular recognition as penetration enhancer for dermal drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 300(November 2018), 64–72. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.02.011>
- 42) Yazdi, M. K., Zarrintaj, P., Bagheri, B., Kim, Y. C., Ganjali, M. R., & Saeb, M. R. (2020). Nanotechnology-based biosensors in drug delivery. In *Nanoengineered Biomaterials for Advanced Drug Delivery*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102985-5.00032-2>

RESUMEN AUTOBIOGRAFICO

Denisse Leyva Castañeda

Candidato para obtener el grado de
Maestría en Ciencias de la ingeniería
con Orientación en Nanotecnología

Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de ingeniería Mecánica y Eléctrica

Tesis:

NANOFIBRAS ELECTROHILADAS DE POLICAPROLACTONA (PCL)-QUITOSANO (CTS)-GELATINA (GEL) COMBINADAS CON NANOESTRUCTURAS METALICO-BIOMOLECULARES AUTOENSAMBLADAS (MBIOFS) FENILALANINA (PHE) – COBRE (CU) PARA LIBERACIÓN CONTROLADA DE METOTREXATO (MTC) CON POTENCIAL APLICACIÓN EN TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES DERMATOLÓGICAS.

Nací el 28 de junio de 1992 en la ciudad de Monterrey, Nuevo León; mis padres Heriberto Leyva y Sandra Castañeda. En 2019 egresé como Ingeniero en Mecatrónica en la Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica.