



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA

Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado

TESIS:

**PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y ACTIVIDAD
ANTIMICROBIANA DE PELÍCULA DE
QUITOSANO/CARBOXIMETILCELULOSA/GLICEROL
PARA LIBERAR L-ARGININA AL 10%**

PRESENTA:

C. D. Dalia Zamora García
Matrícula: 223450010

PARA OBTENER EL GRADO DE:

Maestría en Estomatología con
Opción Terminal en Ortodoncia

DIRECTOR DE TESIS:

D. C. Miguel Angel Casillas Santana

DIRECTOR METODOLÓGICO:

D. C. Brenda Eréndida Castillo Silva

ASESOR DISCIPLINARIO:

M. O. Yareli Hernández Ávila

LECTOR DE TESIS:

M. O. Janete Carrillo Arellano

REGISTRO CIFE: 2024278

H. Puebla de Zaragoza, mayo 2025

DICTAMEN DE APROBACIÓN DE TESIS



Oficio No. FESIEP/CIFE/065/2025

C. Dalía Zamora García
Estudiante de la Maestría en Estomatología con opción en Terminal en Ortodoncia
Matrícula No.: 223450010
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
PRESENTE

Sirva este medio para enviarle un cordial saludo, asimismo, en mi doble calidad de Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado y Presidenta del Comité de Investigación de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; aprovecho para felicitarla por el avance significativo en su proceso académico. En atención a su solicitud, me permito notificarle que su tesis titulada:

"Propiedades fisicoquímicas y actividad antimicrobiana de película de quitosano/carboximetilcelulosa/ glicerol para liberar L-arginina al 70%".

ha recibido la aprobación oficial para su impresión.

Su trabajo ha sido registrado en el Libro de Registros No. 09, página 01, con el No. de Asignación 2024278, quedando debidamente documentado en esta Secretaría de Investigación. Esta tesis será presentada como parte del procedimiento para su examen profesional, necesario para obtener el grado de Maestría en Estomatología.

Próximos pasos:

1. Impresión de la tesis: Proceda con los trámites de impresión conforme a los lineamientos establecidos por la Facultad.
2. Revisión del documento: Asegúrese de que el texto cumpla con los estándares académicos y formales.
3. Coordinación del examen profesional: Comuníquese con el Responsable de la Etapa Terminal de la Maestría de su elección para programar su examen de grado y gestionar los trámites administrativos correspondientes

Le recordamos que el cumplimiento de los plazos y requisitos establecidos es fundamental para garantizar la fluidez del proceso.

Reconocimiento y mensaje final:

Este logro refleja su esfuerzo, dedicación y el impacto de su investigación en el ámbito de la Estomatología. Le felicitamos por este avance significativo y confiamos en que continuará demostrando su compromiso académico y profesional.

Para cualquier consulta o información adicional, no dude en comunicarse con nosotros. Estamos a su disposición para acompañarla en esta etapa crucial de su formación.

Sin otro particular, le reitero mi más atenta y distinguida consideración y le deseo éxito en la etapa final de esta carrera académica.

Atentamente

"Pensar bien, para vivir mejor"

H. Puebla de Zaragoza, viernes 30 de mayo de 2024.

MEP. Gisela Nataly Rubín de Celis Quintana
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología

*Nota: Se anexa Formato de Impresión de Tesis - C. Dalía Zamora García - Maestría en Estomatología - Terminal en Ortodoncia - S.I.E.P. - Facultad de Estomatología - B.U.A.P. (origina) - p.s.c.y.a.

*C.c.p. Archivo

*MCO. FJMA/MEP. GNRCQ/yaneth

Secretaría de Investigación y
Estudios de Posgrado
Facultad de
Estomatología

31 poniente 1304, Col. Volcanes
Puebla, Pue.
C.P. 72410
Tel. Of. 22*22 29 55 00
Ext. 5526

AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA
SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESIS RECEPCIONAL**

Para obtener el Grado de: Maestría en Estomatología con opción en Terminal en Ortodoncia.

No. Registro CIFE: 2024278. **Fecha de Registro ante CIFE:** miércoles 16 de octubre del 2024.

Título de la Tesis: "Propiedades fisicoquímicas y actividad antimicrobiana de película de quitosano/carboximetilcelulosa/glicerol para liberar L-arginina al 10%".

Nombre del estudiante: Dalia Zamora García.

Matrícula: 223450010.

Domicilio: Avenida Venustiano Carranza S/N, Ejido Michoacán de Ocampo, Mexicali, Baja California.

No. Cel.: 68*62 01 99 92.

Fecha de ingreso a la Facultad: jueves 05 de enero 2023.

Firma: 

Director de Tesis: DC. Miguel Angel Casillas Santana.

Grado académico: Doctor en Ciencias Odontológicas.

Adscripción: Facultad de Estomatología.

ID: 100526485.

No. Cel. 44*48 46 76 45.

Firma: 

Director Disciplinario: MO. Yareli Hernández Ávila.

Grado académico: Maestría en Ortodoncia.

Adscripción: Facultad de Estomatología.

ID: 100426099.

No. Cel. 22*21 99 20 62.

Firma: 

Director Metodológico: DC. Brenda Eréndira Castillo Silva.

Grado académico: Doctor en Ciencias Odontológicas.

Adscripción: Facultad de Estomatología.

ID: NSS526469.

No. Cel. 44*42 42 60 77.

Firma: 

Lector: MO. Janete Carrillo Arellano.

Grado académico: Maestría en Ortodoncia.

Adscripción: Facultad de Estomatología.

ID: 100442377.

No. Cel. 22*24 92 58 53.

Firma: 

Nombre y firma de aprobación por parte del Responsable de la Maestría en Estomatología en Terminal en Ortodoncia.

MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez.

Firma: 

La Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado

Facultad de Estomatología,

Autoriza la impresión de la Tesis.

MEP. Gisela Nataly Rubin de Celis Quintana



Fecha oficial de emisión: viernes 30 de mayo del 2025.

Sello

OFICIO DE ACEPTACIÓN DE PROYECTO C.I.F.E.
Constancia No. FESIEP/CIFE/314/2024



Constancia No. FESIEP/CIFE/314/2024

DC. Miguel Ángel Casillas Santana
Responsable del Proyecto de Investigación
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
PRESENTE

Sirva este medio para enviarle un cordial saludo, asimismo la que suscribe MEP. Gisela Nataly Rubín de Celis Quintana en mi calidad de Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, y tras un detenido análisis y evaluación en el Proyecto de Investigación (Colectivo):

Nombre del Título del Proyecto:

"Propiedades fisicoquímicas y actividad antimicrobiana de película de quitosano/carboximetilcelulosa/ glicerol para liberar L-arginina al 10%"

Presentado por:

No.	Cargos	Nombres	ID y/o Matrícula
1	Responsable del Proyecto de Investigación:	DC. Miguel Ángel Casillas Santana	100526485
2	Directora Disciplinaria:	MO. Yareli Hernández Ávila	100426099
3	Directora Metodológica:	DC. Brenda Eréndira Castillo Silva	NS5526469
4	Estudiante de Maestría en Estomatología Terminal en Ortodoncia	C. Dalia Zamora García	223450010

HAGO CONSTAR que, ha sido oficialmente ACEPTADO. Este relevante proyecto, ha sido registrado ante el Comité de Investigación de la Facultad de Estomatología (C.I.F.E.), inscrito en el libro de registros No. 09, página 01, bajo el No. de asignación 2024278, en la Secretaría de Investigación de esta Unidad Académica.

Para los fines legales que los interesados convengan, y sin otro particular, reitero a Usted mi más atenta y distinguida consideración.

Atentamente
"Pensar bien, para vivir mejor"

H. Puebla de Z., a miércoles 16 de octubre del 2024

MEP. Gisela Nataly Rubín de Celis Quintana
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología

*C.c.p. Archivo
*MCO. FJMA/MEP. GNRCQ/yaneth

Secretaría de Investigación y
Estudios de Posgrado
Facultad de
Estomatología

31 poniente 1304, Col. Volcanes
Puebla, Pue.
C.P. 72410
Tel. Of. 22*22 29 55 00
Ext. 5526

REPORTE DE SIMILITUD ANTI PLAGIO



8% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.




Filtered from the Report

- Bibliography
- Quoted Text
- Small Matches (less than 10 words)

Exclusions

- 1 Excluded Match

Top Sources

- 6%  Internet sources
- 1%  Publications
- 5%  Submitted works (Student Papers)

Integrity Flags

0 Integrity Flags for Review

No suspicious text manipulations found.

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.



AGRADECIMIENTOS

Las palabras, por nobles que sean, apenas rozan la magnitud de lo que en mí habita. Sin embargo, las dejo aquí, como vestigios sobre el papel, para que sepan que cada logro lleva también su huella. Cada línea escrita es un acto de gratitud profunda, un intento de honrar el amor que me han entregado a través de los años.

A mi padre, Mario, mi mayor ejemplo de integridad, trabajo y perfección ofrecida con humildad. Me enseñaste que la disciplina forja el camino, que el esfuerzo constante se convierte en virtud y que lo que cultivamos en la mente se manifiesta en nuestra realidad. Gracias a ti aprendí que todo lo que somos comienza con lo que pensamos.

A mi madre, Ana María, mujer sabia y firme, que me mostró desde la infancia que el conocimiento se abraza con pasión y respeto. Tu vida es un ejemplo de excelencia serena y tus actos me enseñaron que el compromiso y la responsabilidad no son solo virtudes, sino herencias del alma.

A mis hermanos, mis eternos aliados y compañeros de vida.

Ney, eterna soñadora, cuya existencia es música y luz. Me has mostrado que la vida se construye al ritmo del corazón, que los sueños se alcanzan con pasión y que la belleza habita en los gestos sencillos y en la mirada sensible que sabe reconocer lo extraordinario en aquellas pequeñas cosas.

Mario, mi hermano menor, mente brillante y tenaz. Tu ingenio y determinación me inspiran a creer en lo posible, incluso cuando parece inalcanzable. Has sido prueba viva de que la inteligencia, guiada por la voluntad y astucia, tiene el poder de imaginar y de crear sin límites.

A Lili y Óscar, mis hermanos de camino, con quienes compartí risas, lágrimas, desvelos, aventuras y aprendizajes genuinos. Esta travesía no habría tenido la misma magia sin su compañía, son el mejor equipo que la universidad pudo elegir. En cada paso que dimos juntos se forjaron memorias imborrables.

A mis buenos maestros, desde los primeros pasos académicos hasta hoy, por haberme guiado con vocación y dedicación. Por ver en mí un potencial cuando aún estaba en construcción y por sembrar con paciencia lo que hoy florece.

¡Gracias!

Son ustedes el centro de mi corazón.

*Mi admiración eterna para aquel buen hombre de lerdo andar,
quien dejó anidadas sus palabras en el joven corazón de su leal aprendiz:
“El estudio es la única forma científica de lograr ser alguien”
—Francisco García Gutiérrez.*

ÍNDICE GENERAL	I
ÍNDICE DE TABLAS	III
ÍNDICE DE GRÁFICAS	III
ÍNDICE DE FIGURAS	IV
ABREVIATURAS	VI

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. ANTECEDENTES	3
3.1. Antecedentes generales	3
3.1.1. Tratamiento de ortodoncia	3
3.1.2. Aceleración del movimiento dentario ortodóntico	3
3.1.3. L-Arginina y óxido nítrico: Su papel en el movimiento dentario ortodóntico	4
3.1.4. Sistemas de administración de fármacos	5
3.1.5. Películas bucales mucoadhesivas	9
3.1.6. Quitosano	10
3.1.7. Carboximetilcelulosa	11
3.1.8. Métodos de elaboración de biopelículas	12
3.1.9. Propiedades fisicoquímicas de biopelículas orales	13
3.1.10. Actividad antimicrobiana de biopelículas orales	14
3.1.11. Propiedades antimicrobianas del quitosano y L-Arginina	15
3.2. Antecedentes específicos	15
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	18
5. JUSTIFICACIÓN	19
6. HIPÓTESIS	20
7. OBJETIVOS	20
7.1. Objetivo general	20
7.2. Objetivos específicos	20
8. MATERIALES Y MÉTODOS	21
8.1. Diseño del estudio	21
8.2. Población y muestra	21
8.3. Criterios de selección	21
8.3.1. Inclusión	21
8.3.2. Exclusión	22
8.3.3. Eliminación	22
8.4. Variables	22
8.5. Concordancia y fiabilidad	23
8.6. Ubicación espacio-temporal	23
8.7. Procedimientos, técnicas y fuentes de recolección	24
8.7.1. Técnica de elaboración de películas	24
8.7.2. Pruebas de caracterización de películas	25
8.7.2.1. Interacciones entre los grupos funcionales	25
8.7.2.2. Desintegración	26
8.7.2.3. Grosor	27
8.7.2.4. Microestructura y porosidad	28
8.7.2.5. Rugosidad	28
8.7.2.6. Porcentaje de alargamiento a la rotura	29
8.7.2.7. Índice de hinchamiento	30
8.7.2.8. Ángulo de contacto	31
8.7.2.9. pH del medio	32
8.7.3. Actividad antimicrobiana	32
8.8. Análisis estadístico	33
9. RESULTADOS	34

9.1. Interacciones de los grupos funcionales	34
9.2. Desintegración	35
9.3. Grosor	36
9.4. Microestructura y porosidad	37
9.5. Rugosidad	38
9.6. Porcentaje de alargamiento a la rotura	39
9.7. Índice de hinchamiento	40
9.8. Ángulo de contacto	41
9.9. pH del medio	42
9.10. Actividad antimicrobiana	43
10. DISCUSIÓN	45
10.1. Interacciones de los grupos funcionales	45
10.2. Desintegración	46
10.3. Grosor	47
10.4. Microestructura y porosidad	49
10.6. Porcentaje de alargamiento a la rotura	52
10.7. Índice de hinchamiento	54
10.8. Ángulo de contacto	55
10.9. pH del medio	56
10.10. Actividad antimicrobiana	57
11. CONCLUSIÓN	60
12. BIBLIOGRAFÍA	61
13. ANEXOS	69

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resumen de las características de los polímeros más comunes utilizados para desarrollar películas poliméricas_____	10
Tabla 2. Grupos de estudio_____	22
Tabla 3. Variables de estudio_____	22
Tabla 4. Estadística por variable_____	33
Tabla 5. Resultados de prueba de prueba de desintegración_____	35
Tabla 6. Resultados de mediciones de grosor y promedios obtenidos por grupo_	36
Tabla 7. Medias obtenidas de pruebas por triplicado de grupos de estudio_____	39
Tabla 8. Resultados arrojados por máquina de pruebas universales Instron de las 3 películas del grupo control_____	40
Tabla 9. Resultados arrojados por máquina de pruebas universales Instron de las 3 películas del grupo experimental_____	40
Tabla 10. Media de peso e índices de hinchamiento de películas de grupo control y experimental _____	41
Tabla 11. Resultados promedio de pruebas pH triplicadas por grupo en los distintos intervalos de tiempo _____	42
Tabla 12. Resultados promedio del logaritmo de UFC/ml de <i>S. mutans</i> de cinco repeticiones _____	43

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Comparativa pH promedios obtenidos de ambos grupos por intervalos de tiempo_____	43
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de la L-Arg_____	4
Figura 2. Representación esquemática de la remodelación ósea y la regulación del NO durante el movimiento dental ortodóncico en los sitios de compresión y tensión_____	5
Figura 3. Comportamiento típico de sistema de administración de fármaco convencional y sistema de administración de fármaco controlado_____	6
Figura 4. Clasificación de las vías de administración de los fármacos_____	7
Figura 5. Representación esquemática de sistemas de administración de fármacos controlados novedosos y nanoestructurados empleados en vía oral_____	8
Figura 6. Estructura química del CH_____	11
Figura 7. Estructura química de la CMC_____	12
Figura 8. Esquema del método convencional solvent casting_____	13
Figura 9. Pasos para la elaboración de películas con L-Arg al 10%_____	25
Figura 10. Ejemplo de espectrofotómetro FT-IR Vertex 70v (Bruker Optics Inc., Billerica, MA, USA)_____	26
Figura 11. Técnica modificada de caja Petri para prueba de desintegración_____	27
Figura 12. SEM JSM-5800LV (JEOL Ltd., Akishima, Tokyo, Japón)_____	27
Figura 13. Prueba de rugosidad con AFM JSPM-5200 (JEOL Ltd., Akishima, Tokyo, Japón) de DITCo BUAP_____	28
Figura 14. Medidor de rugosidad superficial SurfTest SJ-301 Series (Mitutoyo Corporation, Kawasaki, Kanagawa, Japón) y método utilizado con cinta doble cara paralela a punta de rugosímetro_____	29
Figura 15. Máquina de pruebas universales Instron 5567 (Instron Corporation, Norwood, MA, USA). Película colocada en posición inicial. Película llevada a la rotura. Medidas establecidas por norma ISO 527-3 y ASTM D882_____	30
Figura 16. Balanza analítica Ohaus AV114 Adventurer Pro (Ohaus Corporation, Parsippany, NJ, USA). Ejemplo del procedimiento de pesaje inicial de una película antes de ser inmersa en saliva artificial. Pesaje a los 5 minutos de ser inmersa en saliva. Pesaje 1 hora después de ser inmersa en saliva_____	31

Figura 17. Cámara réflex Canon EOS 550D (Canon Inc., Ota-ku, Tokio, Japón) y software ImageJ (Rasband W, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) _____	31
Figura 18. Potenciómetro Roca PHS-3CU (Shanghai Yueping Scientific Instruments Co., Ltd., Shanghái, China) y medición inicial del medio de saliva artificial (Viarden Lab, Mission, TX, USA)_____	32
Figura 19. Espectro FTIR de grupo control y grupo experimental_____	35
Figura 20. Películas de grupo control y experimental en saliva artificial a 37° C_	36
Figura 21. Imágenes SEM de la sección transversal de membranas. Mediciones realizadas en película de grupo control. Mediciones realizadas en película de grupo experimental_____	37
Figura 22. Imágenes del SEM de la superficie de película control_____	37
Figura 23. Imágenes del SEM de la superficie de película experimental_____	38
Figura 24. Perfil obtenido de rangos nanométricos de AFM de DITCo BUAP____	38
Figura 25. Perfil de rugosidad de una película del grupo control y de una película del grupo experimental_____	39
Figura 26. Fotografías comparativas de películas control y experimental sumergidas en saliva artificial en los distintos intervalos del tiempo_____	41
Figura 27. Medidas obtenidas de ángulo de contacto de película control y película experimental_____	41
Figura 28. Resultados prueba antimicrobiana_____	44

ABREVIATURAS

AFM	Microscopio de fuerza atómica
ASTM	Sociedad Americana para Pruebas y Materiales
AuNP	Nanopartículas de oro
BD	Becton, Dickison and Company
BHI	Infusión cerebro corazón
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
CH	Quitosano
cm	centímetro
CMC	Carboximetilcelulosa
CMI	Concentración mínima inhibitoria
COFEPRIS	Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios
DITCo	Dirección de Innovación y Transferencia de Conocimiento
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
eNOS	Óxido nítrico sintasa endotelial
et al.	Y otros
FDA	Administración de alimentos y medicamentos
FEBUAP	Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
FTIR	Espectrofotometría infrarroja por transformada de Fourier
g	Gramo
iNOS	Óxido nítrico sintasa inducible
ISO	Organización Internacional de Estandarización
L-Arg	L-Arginina
L-NAME	Éster metílico de N-nitro-L-arginina
L-NMMA	L-NG-monometil arginina
MA	Massachusetts
MCA	Ácido monocloroacético

MD	Maryland
ml	Mililitro
mm	milímetro
NiTi	Níquel-titanio
NJ	Nueva Jersey
nm	Nanómetros
nNOS	Óxido nítrico sintasa neuronal
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintasa
OTM	Movimiento dental ortodóncico
pH	Potencial de hidrógeno
Ra	Rugosidad promedio
rpm	Revoluciones por minuto
Rq	Rugosidad cuadrática media
Rz	Rugosidad máxima
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>S. mutans</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
SEM	Microscopio electrónico de barrido
TEM	Microscopía electrónica de transmisión
TX	Texas
UFC	Unidades formadoras de colonias
μl	Microlitros
μm	Micras
USA	Estados Unidos de América
UV	Luz ultravioleta

PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE PELÍCULA DE QUITOSANO/CARBOXIMETILCELULOSA/GLICEROL PARA LIBERAR L-ARGININA AL 10%

1. RESUMEN

Introducción: El tratamiento ortodóntico busca corregir maloclusiones, aunque puede ser prolongado y generar efectos indeseados. La búsqueda de alternativas menos invasivas que aceleren el movimiento dental es de gran interés. Por ello se estudia una biopelícula mucoadhesiva de quitosano, carboximetilcelulosa y glicerol para liberar L-Arginina, precursora del óxido nítrico, con el fin de acelerar el movimiento dentario. **Objetivo:** Evaluar las propiedades fisicoquímicas y la actividad antimicrobiana de una película de quitosano/carboximetilcelulosa/glicerol para la liberación de L-Arginina al 10%. **Materiales y métodos:** Se analizaron las propiedades fisicoquímicas mediante espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier, así como la desintegración, grosor, microestructura, porosidad, rugosidad, alargamiento a la rotura, hinchamiento, ángulo de contacto, pH y el efecto antimicrobiano sobre *Streptococcus mutans*. **Resultados:** Las formulaciones presentaron propiedades fisicoquímicas favorables para la liberación de L-Arginina al 10%, con propiedades antimicrobianas moderadas. **Conclusión:** Las películas desarrolladas tienen potencial como sistema de liberación controlada en ortodoncia. Se recomienda continuar investigando para mejorar su efecto antimicrobiano y optimizar la formulación.

PALABRAS CLAVE

| L-Arginina | Óxido nítrico | Sistema de administración de fármacos | Película de quitosano | Película de carboximetilcelulosa | Propiedades físicas | Propiedades químicas | Actividad antimicrobiana |

2. INTRODUCCIÓN

Un tratamiento de ortodoncia tiene como objetivo corregir las maloclusiones dentales y así restablecer el equilibrio funcional del sistema estomatognático. Esto es posible gracias al movimiento dental, el cual se produce por una serie de procesos biológicos y físicos donde el diente es sometido a fuerzas que generan inflamación, dando como resultado la diferenciación celular seguida de una remodelación ósea.

La aparatología ortodóntica tradicional, aunque eficaz, suele requerir tratamientos prolongados que pueden ir acompañados de molestias y efectos secundarios adversos. Por lo que surgen distintas técnicas para acelerar el movimiento dentario; corticotomías, micro-osteoperforaciones, irradiación con láser de baja intensidad o vibraciones de alta y baja frecuencia son algunas de las más utilizadas. No obstante, suelen ser invasivas, costosas y, por lo tanto, poco aceptadas por los pacientes. Este estudio busca una vía alternativa menos invasiva, con un principio biológico-farmacológico que consiste en un sistema de liberación controlada en forma de película mucoadhesiva compuesta de quitosano (CH), carboximetilcelulosa (CMC) y glicerol para la liberación de L-Arginina (L-Arg) un aminoácido precursor del óxido nítrico (NO), sustancia involucrada en eventos biológicos relacionados con la ortodoncia como la inflamación aséptica, la transducción de señales mecánicas, y de particular interés para este trabajo, la remodelación ósea. Investigaciones precedentes sugieren que la L-Arg aumenta la tasa de movimiento dentario en ortodoncia, por lo tanto, su integración en una biopelícula puede proporcionar un mecanismo de liberación controlada que favorezca a la aceleración de tratamientos ortodónticos, razón que lleva a evaluar si las propiedades fisicoquímicas y la actividad antimicrobiana de esta, son favorables para utilizarse en la cavidad oral y proporcionar un análisis integral de un nuevo andamio que podría aplicarse como un método local de aceleración del tratamiento ortodóntico.

3. ANTECEDENTES

3.1. Antecedentes generales

3.1.1. Tratamiento de ortodoncia

La ortodoncia es la especialidad de la odontología que se ocupa del estudio, prevención y corrección de las alteraciones del desarrollo, la forma y posición de los dientes en las arcadas, así como también la relación de los maxilares, con el fin de restablecer el equilibrio funcional del sistema estomatognático y mejorar al mismo tiempo la estética facial (1). Estos cambios se logran a través de la remodelación del periodonto estimulado por la fuerza ejercida de la aparatología. Conocer los mecanismos biomecánicos y biológicos que subyacen al movimiento dental ortodóncico (OTM) son indispensables para un tratamiento seguro y eficaz. Hasta el día de hoy, la teoría de la compresión-tensión es bien aceptada, describe al OTM como resultado de la reabsorción ósea en las áreas de compresión y la formación de hueso en la zona de tensión, propone que las respuestas celulares son moduladas por mensajeros químicos, liberados del flujo sanguíneo y de las células *in situ*, en respuesta al estrés mecánico aplicado al ligamento periodontal y hueso alveolar (2).

3.1.2. Aceleración del movimiento dentario ortodóncico

El tratamiento ortodóncico es un procedimiento complejo que requiere la utilización de aparatología fija por largos periodos de tiempo, que en promedio es de 24.9 meses (3), no obstante, una duración excesiva puede ocasionar daño a la salud bucodental; deterioro periodontal, dolor, reabsorción radicular, desvitalización de los dientes, trastornos temporomandibulares, caries (4) e incluso el abandono de la terapéutica. La aceleración de la actividad de osteoclastos, o bien, la reabsorción ósea en el lado de la compresión, se considera un determinante de la velocidad del movimiento dentario ortodóncico (5). Por ello, se han buscado procedimientos que contribuyen en el aceleramiento del movimiento dentario, que van desde los menos invasivos; el uso de fármacos, irradiación con láser de baja intensidad, vibraciones de baja y alta frecuencia (6), hasta las técnicas quirúrgicas invasivas; micro-osteoperforaciones, corticotomías (7). Es de interés para este estudio la categoría farmacológica,

particularmente en los sistemas de liberación controlada de fármacos, con la elaboración y caracterización de membranas mucoadhesivas que sirvan de vehículo para la L-Arg, principio activo precursor del óxido nítrico.

3.1.3. L-Arginina y óxido nítrico: Su papel en el movimiento dentario ortodóntico

La L-Arginina es un aminoácido semiesencial en la dieta humana que está presente en los fluidos fisiológicos. Su pH oscila entre el 10 y 12, considerado básico, esto se atribuye a que posee un grupo guanidina en su estructura química (Figura 1), lo que le confiere su alcalinidad. Se ha demostrado que también es un importante agente elevador del pH en la cavidad bucal (8).

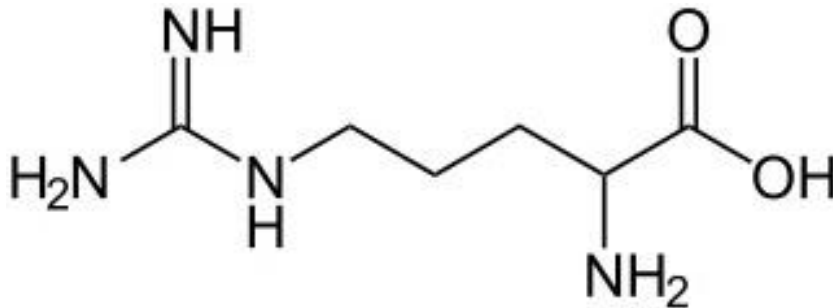


Figura 1. Estructura química de la L-Arg (8).

Este nutriente es necesario para la síntesis de proteínas y otras sustancias de bajo peso molecular; como la creatina, las poliaminas, la homoarginina, la agmatina y el óxido nítrico (9). El NO es una molécula de señalización ubicua que media numerosos procesos celulares asociados con los sistemas cardiovascular, nervioso e inmunológico. Este también juega un papel esencial en la regulación de la homeostasis ósea (10). El NO es producido por la óxido nítrico sintasa (NOS) como consecuencia del proceso de conversión de L-Arg en L-citrulina con la participación de oxígeno y nicotinamida adenina dinucleótido fosfato. Existen tres isoformas de NOS: NOS neuronal (nNOS), NOS endotelial (eNOS) y NOS inducible (iNOS). Las dos primeras son enzimas dependientes del calcio expresadas constitutivamente, caracterizadas por la producción rápida de una pequeña cantidad de NO.

Por otro lado, la iNOS es una enzima independiente del calcio que se regula al alza a nivel transcripcional durante inflamación, lo que provoca una producción de NO

relativamente lenta pero aumentada (11). El NO está ampliamente involucrado en eventos biológicos relacionados con la ortodoncia, como la inflamación aséptica, la transducción de señales mecánicas y la remodelación ósea, ya que se ha demostrado su efecto regulador sobre las actividades celulares y los estados funcionales de los osteoclastos, osteocitos y fibroblastos del ligamento periodontal involucrados en el OTM (12). Después de aplicar la fuerza de ortodoncia a los dientes, comienza la remodelación ósea; en la región de compresión se lleva a cabo la osteoclastogénesis o reabsorción ósea, mientras que en la región de tensión se presenta la osteogénesis o formación de hueso, a esto se le conoce como “teoría de la presión-tensión” (Figura 2) (10).

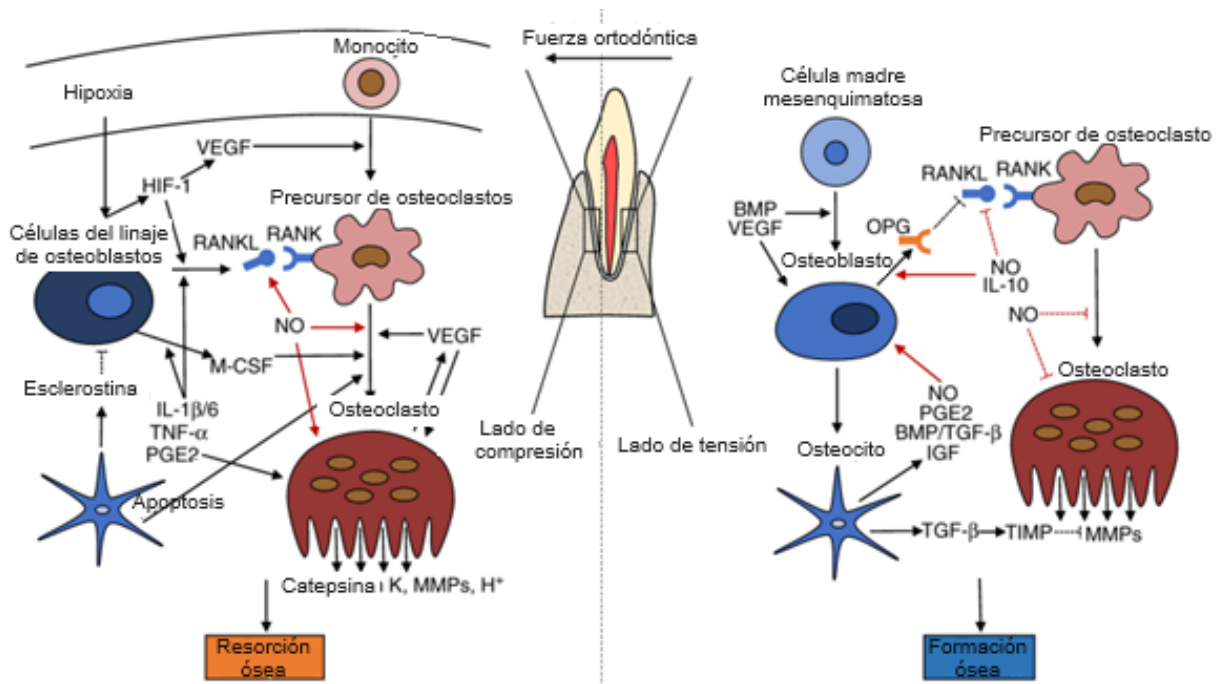


Figura 2. Representación esquemática de la remodelación ósea y la regulación del NO durante el movimiento dental ortodóncico en los sitios de compresión y tensión.

Tomada y traducida de Yan et al., 2021 (10).

3.1.4. Sistemas de administración de fármacos

Un sistema de administración de fármacos permite la liberación del principio activo para lograr una respuesta terapéutica deseada. Los sistemas de administración de fármacos convencionales sufren de baja biodisponibilidad y fluctuaciones en el nivel de fármaco en plasma, no pueden lograr una liberación sostenida, después de tomar

una dosis convencional, se metaboliza rápidamente y el nivel del fármaco aumenta, seguido inmediatamente por una disminución exponencial. Los sistemas de administración controlada se desarrollan para combatir estos problemas, ya que los niveles del fármaco se mantienen constantes dentro de la ventana terapéutica (13). En la figura 3 se observa el comportamiento de ambos sistemas.

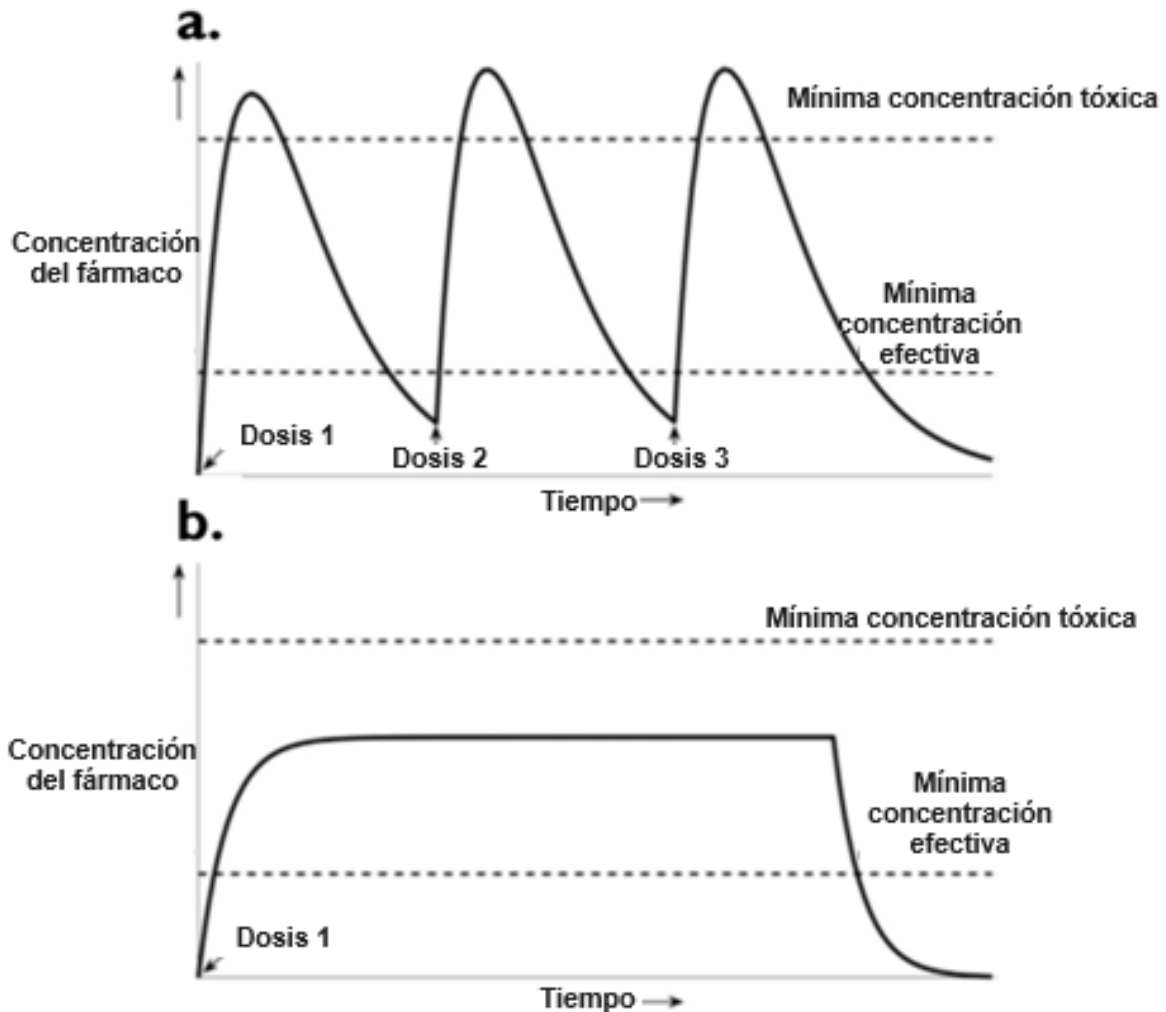


Figura 3. Comportamiento típico de (a) sistema de administración de fármaco convencional; (b) sistema de administración de fármaco controlado.

Tomada y traducida de Adepú et al., 2021 (13).

El sistema de liberación controlado de fármacos se define como una formulación o dispositivo que permite el transporte de un agente terapéutico en el cuerpo para regular la velocidad, el tiempo y la liberación de los fármacos en el sitio correcto. Esto ayuda a reducir la frecuencia de administración y mejora el cumplimiento del paciente.

Una menor exposición del agente al entorno biológico reduce la toxicidad y sus efectos adversos, por lo tanto, se aumenta la eficacia general de la formulación (13). En un sistema de liberación controlado, el agente bioactivo es incorporado a un soporte que generalmente es un material polimérico o una combinación de varios. La velocidad de liberación de la sustancia activa desde dicho sistema al medio que la rodea, viene determinada por las propiedades del propio polímero y, en menor medida, depende de los factores ambientales, como pueden ser el pH, la temperatura y los fluidos del organismo (14).

Las formas de dosificación se pueden administrar a través de diferentes vías según el lugar de destino, la duración del tratamiento y los atributos fisicoquímicos del fármaco (15). En la figura 4 se muestra la clasificación de las vías de administración, describe aquellas que presentan el efecto de primer paso (16).

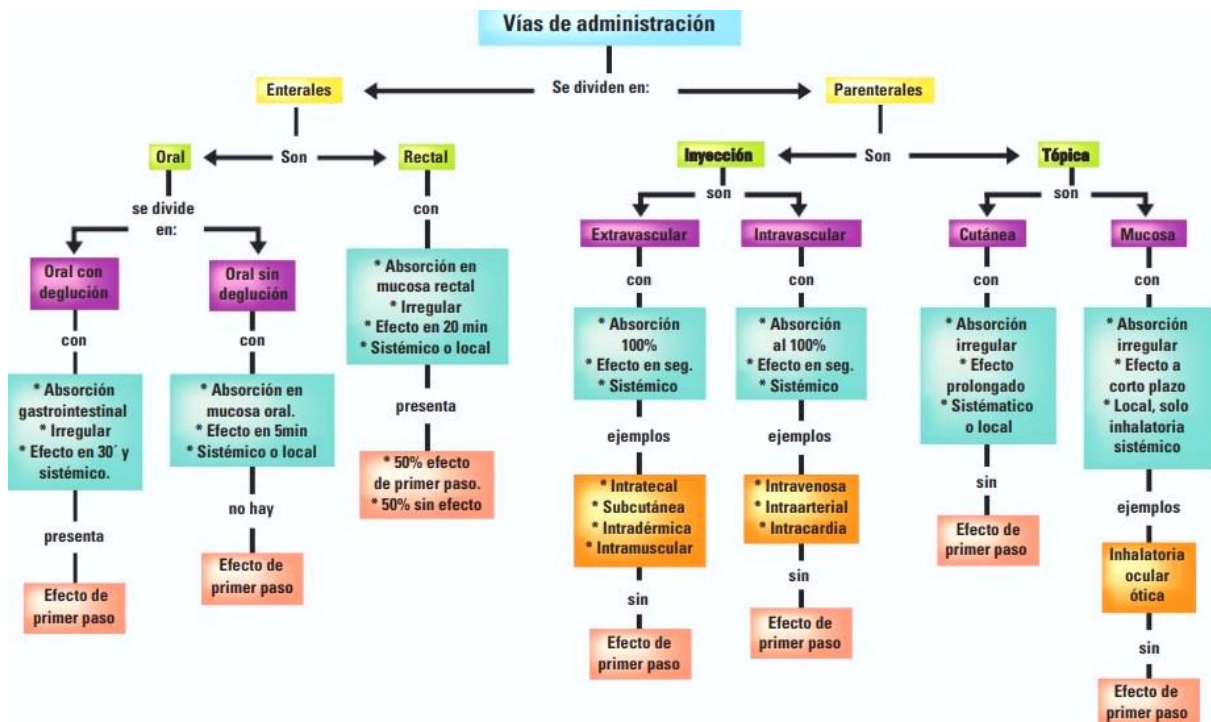


Figura 4. Clasificación de las vías de administración de los fármacos (16).

La administración oral de fármacos ha ganado una creciente popularidad en la industria farmacéutica. Informes en la literatura sobre ensayos clínicos indican que es una forma prometedora de aplicar una amplia gama de agentes terapéuticos a través de la mucosa oral (17). La administración transmucosa en la cavidad oral tiene varias

ventajas sobre la administración enteral: evita el efecto de primer paso hepático, la eliminación presistémica en el tracto gastrointestinal y la posible degradación química del fármaco a pH estomacal. Además, no se infunde por la variación en la tasa de vaciamiento gástrico o la presencia de alimentos. La mucosa bucal está altamente vascularizada, lo que permite el paso de los fármacos al torrente sanguíneo, y tiene una actividad enzimática reducida en relación con otras mucosas, como la nasal y la intestinal (18). En el diseño de dispositivos locales de administración de fármacos, encontramos a los hidrogeles, liposomas, nanopartículas poliméricas, películas mucoadhesivas, micelas, nanofibras electrohiladas, las cuales se esquematizan en la figura 5 (19).

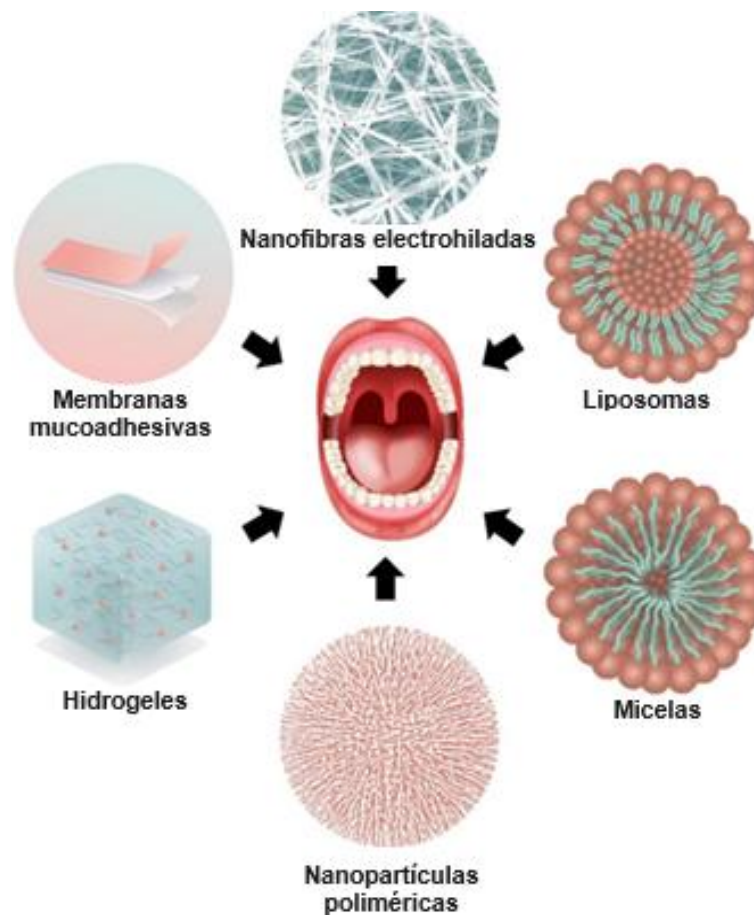


Figura 5. Representación esquemática de sistemas de administración de fármacos controlados novedosos y nanoestructurados empleados en vía oral.
Tomada y traducida de Hosseinpour-Moghadam et al., 2021 (19).

3.1.5. Películas bucales mucoadhesivas

Es de interés para este estudio destacar a las películas bucales mucoadhesivas. Estas se definen como películas cargadas de fármacos, compuestas de una o varias capas de matriz polimérica (20), que están diseñadas para adherirse específicamente a la mucosa oral y liberar el principio activo de forma controlada con biodisponibilidad mejorada debido a que evita con éxito tanto la degradación enzimática del tracto gastrointestinal como el metabolismo de primer paso en el hígado (21-23). La mucoadhesividad de tales películas evita que se traguen, asegurando una absorción deseable en la boca y conduciendo a una disponibilidad biológica suficiente (19). Al diseñar un sistema de administración de fármaco controlado, es necesario considerar las propiedades del biomaterial a utilizar. Un biomaterial es una sustancia creada para interactuar con sistemas biológicos y lograr un efecto terapéutico; estos deben seleccionarse según el tipo de formulación y la vía de administración del fármaco. Entre las características ideales que debe tener un polímero mucoadhesivo se encuentran; no ser tóxico ni irritante para la mucosa, permitir la liberación del fármaco, no debe degradarse durante el almacenamiento, ser económicos, reproducibles, con resistencia mecánica óptima (13). En los últimos años, los polímeros naturales han demostrado ser una excelente opción como biomaterial gracias a su alta biocompatibilidad, biodegradabilidad y no toxicidad; además, cuentan con excelentes propiedades mecánicas y químicas. Estos se han investigado ampliamente en el área de la biomedicina, ya que tienen la capacidad de encapsular compuestos activos en nanopartículas para transportarlos en un tejido específico (24). Entre los biopolímeros naturales más empleados para este fin se encuentran: la celulosa, el quitosano, el alginato y la gelatina (25). La tabla 1 describe las características de diversos polímeros más comúnmente empleados para la fabricación de películas poliméricas (18).

Tabla 1. Resumen de las características de los polímeros más comunes utilizados para desarrollar películas. Tomada y traducida de Riccio et al., 2022 (18).

Polimero	Síntesis	Propiedades
Celulosa	Biosíntesis de bacterias, plantas y algunos animales	Biocompatibilidad, baja inmunogenicidad y baja toxicidad. Capaz de formar películas rígidas, altamente hidrofílicas y puede usarse como agente de refuerzo
Quitosano	Desacetilación de la quitina, que se extrae del exoesqueleto de crustáceos, hongos e insectos	Es una base débil que necesita un medio ácido para solubilizarse. Altamente hidrofílico, antialérgico, anticoagulante, hemostático, analgésico, antimicrobiano, biodegradable, biodegradable, biocompatible, bio/mucoadhesivo, no tóxico, no inmunogénico y comestible
Gelatina	Biosintetizado a partir del colágeno que proviene del cuero y huesos de mamíferos	Alta porosidad, biocompatibilidad, no inmunogenicidad, buenas propiedades mecánicas, bio/mucoadhesividad, es comestible y se disuelve fácilmente y es débil a la humedad
Goma gellan	Biosinterizado a partir de la fermentación aeróbica por la bacteria <i>Sphingomonas elodea</i>	Estabilizador, espesante, emulsionante, agente gelificante, bio/mucosidad, biodegradabilidad, baja toxicidad, termoresponsividad
Pectina	Extraído de las paredes celulares de las plantas	Alta solubilidad en agua, biocompatibilidad, biodegradabilidad, no toxicidad, estabilidad en medio ácido. Agente gelificante, emulsionante y estabilizante
Polietilenglicol	Sinterizado a partir de la reacción entre óxido de etileno y etilenglicol en agua	Hidrofiliicidad, biodegradabilidad, biocompatibilidad, no toxicidad, no inmunogenicidad, agente emulsionante, humectante, lubricante, plastificante, detergente, modificador de superficie
Alcohol polivinílico	Síntesis a partir de acetato de polivinilo	Solubilidad en agua y alcohol, inodoro, insípido, biocompatible, no tóxico, no cancerígeno, bio/mucoadhesivo, transparente, flexible y tiene buenas propiedades de barrera
Polivinilpirrolidona	Síntesis a partir de la reacción entre acetileno y formaldehído	Inodoro, incoloro, soluble en agua y alcohol, químicamente inerte, bio/mucoadhesivo, tiene buenas propiedades mecánicas
Alginato de sodio	Extraído de <i>Pseudomonas</i> , <i>Azotobacter</i> , y algas pardas	Biocompatible, biodegradable, no tóxico, hidrófilo, soluble en agua y alcohol, químicamente estable (pH 5 a 10), tiene carga negativa, la viscosidad depende del pH, bio/mucoadhesividad, se desintegra fácilmente

Entre estos polímeros, se seleccionó al quitosano y a la carboximetilcelulosa, los cuales han sido ampliamente estudiados y su uso está aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, sigla en inglés) (24).

3.1.6. Quitosano

El quitosano es un polímero catiónico natural derivado de la desacetilación de la quitina, que pertenece al grupo de los polisacáridos. La quitina se ubica como el segundo, después de la celulosa, polímero natural más abundante en el mundo. Es un componente que se extrae comúnmente de los desechos del caparazón de crustáceos; cangrejos y camarones. El CH está compuesto por β -D-glucosamina y N-acetilglucosamina unidas por enlaces glucosídicos β -1,4 (Figura 6) (26). Este se produce al desacetilar la quitina.

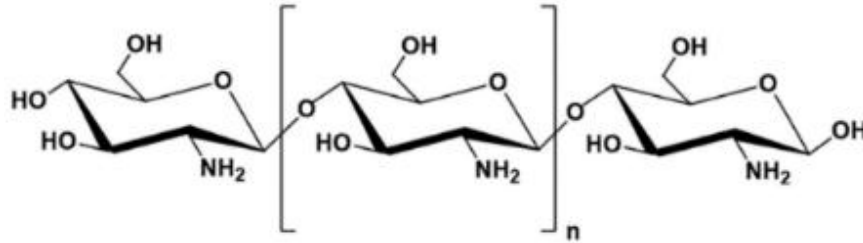


Figura 6. Estructura química del CH (26).

El CH al ser un material inocuo, biocompatible y biodegradable con propiedades catiónicas, reacciona con especies cargadas negativamente, las cuales aportan importantes ventajas al ser incorporados. Estas propiedades pueden usarse para incorporación y/o liberación programada de compuestos activos y producir diferentes matrices, como: geles, biopelículas, membranas, micropartículas y nanopartículas (27).

Sin embargo, al igual que otros biopolímeros de origen natural, los materiales a base de CH presentan propiedades físicas y mecánicas que pueden mejorarse al incorporar aditivos, uno de los más utilizados es el glicerol, que se utiliza para reducir la atracción intermolecular entre cadenas de polímeros, aumenta la flexibilidad de la película y favorece su maleabilidad (28). El glicerol o glicerina, es un poliol incoloro, inodoro y soluble en agua, formador de soluciones neutras y aprobadas por la FDA para aplicarse en alimentos y fármacos sin riesgo. Debe ser adicionado generalmente a bajas concentraciones, ya que, de lo contrario, influye negativamente en la permeabilidad de las películas (29).

3.1.7. Carboximetilcelulosa

La celulosa es un polímero lineal formado por unidades β -1,4 de glucosa, el polisacárido más abundante en la naturaleza. La celulosa se puede clasificar como un polímero semirrígido debido a la gran cantidad de enlaces de hidrógeno en su estructura química, que a menudo forman una red polimérica interconectada más densa y compacta. Debido a la dificultad de trabajar directamente con las fibras de celulosa, generalmente se reduce a su formato nanométrico, que corresponde a 1 a

100 nm, para incorporarse a diferentes sistemas de entrega, como películas poliméricas (18). Un derivado de esta es la carboximetilcelulosa (Figura 7).

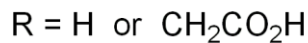
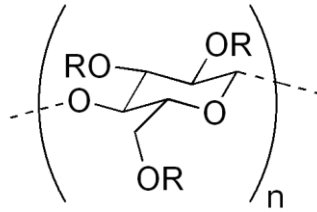


Figura 7. Estructura química de la CMC (30).

Se produce por reacción de celulosa con ácido monocloroacético (MCA) o su sal sódica en medio alcalino. A diferencia de la celulosa, la CMC es un polisacárido aniónico soluble en agua y es uno de los éteres de celulosa industriales más utilizados. La CMC es útil en sistemas donde intervienen coloides hidrofílicos y tiene aplicaciones en diferentes áreas industriales, como farmacéutica, alimentaria, cosmética, textil, entre otras. La CMC muestra la capacidad de suspender sólidos en medios acuosos, estabilizar emulsiones, absorber humedad, y se utiliza principalmente como espesante, auxiliar de suspensión, aglutinante, agente gelificante, estabilizador y agente de retención de agua (30). Posee excelentes propiedades fisicoquímicas, como propiedades hidrófilas, no tóxicas, bioadhesivas, sensibles al pH, poco inmunogénicas. Debido a estas interesantes propiedades, muchos investigadores han desarrollado películas e hidrogeles de CMC para diversas aplicaciones (31). Cuando la CMC se mezcla con otros materiales, como el quitosano, la resistencia mecánica de la película mezclada se puede mejorar considerablemente (32).

3.1.8. Métodos de elaboración de biopelículas

En los últimos años, se han reportado numerosos estudios centrados en el diseño y elaboración de películas orales como; electrohilado (33), electropulverización (34), extrusión de fusión en caliente (35), bioimpresión 3D (36) y fundición de soluciones o “solvent casting”, siendo este último el método más utilizado, de fácil reproducción y

bajo costo (Figura 8) (18). Los componentes se solubilizan y la solución se transfiere o se esparce en un molde para su secado. Los componentes principales son los polímeros, el fármaco y el plastificante. También se pueden incluir otros componentes, como pigmentos, sabores, edulcorantes y estabilizadores (37). Se deben observar las propiedades reológicas de la mezcla polimérica, ya que afectan la velocidad de secado, las características mecánicas y el contenido de uniformidad. El proceso de mezcla puede introducir burbujas en el líquido; por lo tanto, la degasificación es un requisito previo para obtener un producto homogéneo. Una vez que la película está completamente seca, se corta en tamaño y forma compactos, según la dosis requerida (38). Las ventajas de este método incluyen distribución de espesor uniforme, máxima pureza óptica y estabilidad dimensional (39).

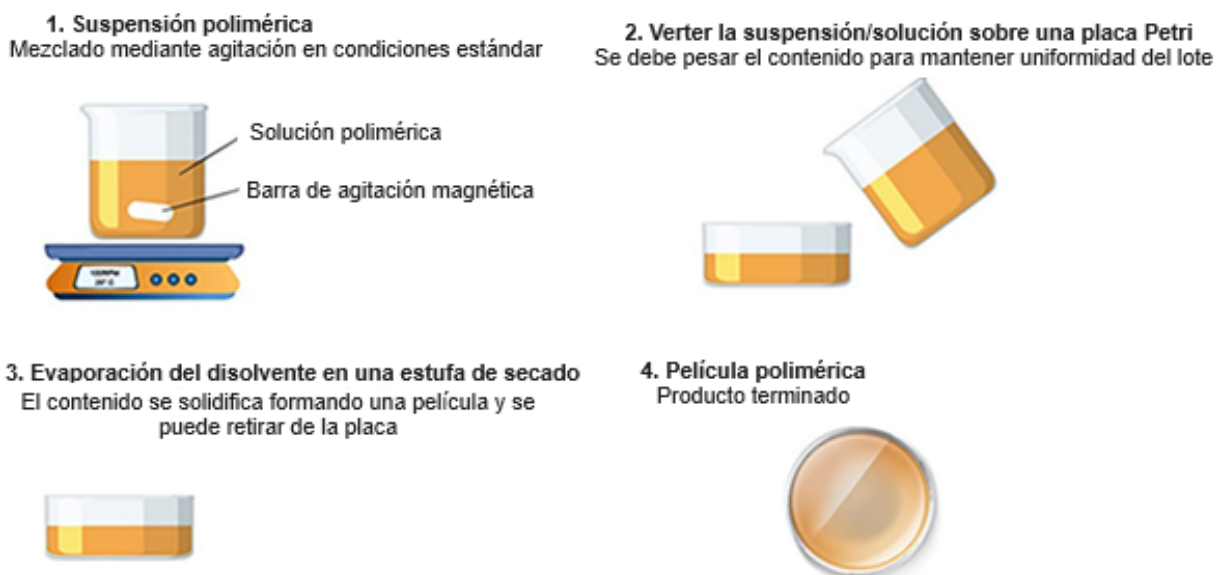


Figura 8. Esquema del método convencional casting.

Tomada y traducida de Riccio et al., 2022 (18).

3.1.9. Propiedades fisicoquímicas de biopelículas orales

Los sistemas de administración de fármacos por la mucosa oral deben estar diseñados para su adhesión en la mucosa oral, proporcionar un mayor tiempo de contacto del fármaco con el tejido y favorecer su liberación controlada. Además, evaluar la integridad física y química de las películas orales es un factor fundamental para el desempeño, la reproducción y utilización de estas. Si bien es necesario evaluar

este rendimiento, actualmente no existen métodos de prueba o estándares físico-químicos universales recomendados por la FDA u otra farmacopea. Para caracterizar estas propiedades, los investigadores han informado parámetros como; la resistencia a la tracción-deformación, porcentaje de alargamiento a la rotura (40-41); interacciones entre los grupos funcionales por espectrofotometría infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) (40); grosor (20); rugosidad (43); capacidad de hinchamiento (44); microestructura (20); ángulo de contacto (40-41); pH (44).

3.1.10. Actividad antimicrobiana de biopelículas orales

La evaluación de la actividad antimicrobiana de una película mucoadhesiva es sustancial por varias razones, especialmente dado su uso previsto en la cavidad oral, el cual es un entorno complejo en el que prosperan las bacterias y otros microorganismos. Una película con actividad antimicrobiana ayudaría a reducir la formación de placa y prevenir infecciones bucales. Así mismo, la película está destinada a permanecer en la cavidad oral hasta 6 horas, periodo mínimo en el cual debe mantenerse libre de colonizaciones bacterianas comunes en infecciones bucales como *Streptococcus mutans* (*s. mutans*) y *Candida albicans* (*C. albicans*), y funcionar de manera eficaz mientras esté en contacto con los tejidos bucales (40). En México, la evaluación de la actividad antimicrobiana de los medicamentos implica una serie de principios regulatorios guiados por la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS). Un principio regulatorio clave es el apego a los estándares establecidos por las farmacopeas oficiales, como la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM). La FEUM describe metodologías y criterios específicos para evaluar los agentes antimicrobianos, con ensayos microbiológicos, los cuales implican probar la efectividad del medicamento contra bacterias u hongos específicos. Las técnicas más comunes incluyen difusión en disco, dilución en caldo y métodos de dilución en agar. Otra prueba es la de concentración mínima inhibitoria (CMI), que determina la concentración más baja del agente antimicrobiano que inhibe el crecimiento visible del microorganismo. Y el control de calidad garantiza que el agente antimicrobiano cumpla con los estándares de pureza, potencia y calidad requeridos para uso terapéutico, esto incluye pruebas de estabilidad y cumplimiento

de límites específicos para contaminantes (45). Estos principios garantizan que los medicamentos sean seguros para el uso público.

3.1.11. Propiedades antimicrobianas del quitosano y L-Arginina

La literatura ha reportado que el CH tiene propiedades antimicrobianas conocidas debido a su capacidad para alterar las membranas celulares microbianas e interferir con la síntesis de la pared celular (27). Su carga positiva lo ayuda a interactuar con las membranas bacterianas cargadas negativamente, lo que puede mejorar su actividad antimicrobiana (40). Por otro lado, L-Arg es un aminoácido que puede tener varios efectos beneficiosos en la cavidad oral. Si bien no es conocida tradicionalmente por sus propiedades antimicrobianas, puede influir en el entorno oral al afectar potencialmente el pH y apoyar la respuesta inmunitaria local. También podría tener efectos indirectos en el crecimiento bacteriano al alterar las condiciones en la cavidad oral (8). La combinación de CH y L-Arg podría ofrecer efectos antimicrobianos sinérgicos. La acción antimicrobiana directa del quitosano podría complementarse con los efectos de la L-Arg en el entorno oral y conducir a un perfil antimicrobiano mejorado.

3.2. Antecedentes específicos

Hasta el momento, no existe ningún estudio que reporte la utilización de películas mucoadhesivas de quitosano, carboximetilcelulosa y glicerol para liberación de L-Arg con la finalidad de acelerar el movimiento dental ortodóncico. Por consiguiente, se citan investigaciones basadas en este principio, en donde utilizaron precursores del NO, como la L-Arg, o inhibidores de este, en modelos murinos y demostraron que el NO regula un gran número de procesos celulares relacionados con el recambio óseo y sugieren que si puede funcionar como un acelerador del tratamiento ortodóncico. Además, se incluirán las referencias de investigadores que sirvieron como guía para la elaboración y caracterización de las biopelículas, independientemente del campo al que fueron aplicadas.

Shirazi et al., en el año 2002, utilizaron 48 ratas Sprague-Dawley, divididas en 4 grupos, el primer grupo fue control, al cual no se les colocó ninguna solución, a los demás grupos

se les inyectó de forma subperióstica, adyacente al primer molar solución salina, L-Arg y un inhibidor de la NOS. También aplicaron a estos tres grupos, 60 g de fuerza con un resorte cerrado níquel-titanio (NiTi) de 5 mm entre el incisivo superior y el primer molar durante 13 días. Obtuvieron resultados significativos, su conclusión fue que la inyección de L-Arg incrementó la remodelación ósea y el OTM, mientras que el inhibidor de NO condujo a una disminución del OTM. También observaron que el NO disminuyó la reabsorción de la superficie radicular de los órganos dentarios sometidos a fuerzas ortodónticas. A nivel histológico, el grupo con L-Arg aumentó el número de osteoclastos que rodeaban al diente sometido al movimiento de ortodoncia y la inhibición de la producción de NO tuvo un efecto opuesto en el número de osteoclastos (46).

Ese mismo año 2002 Hayashi et al., usaron 22 ratas Wistar, sometieron a 165mN sus primeros molares con resortes NiTi de 0.012", por 21 días e inyectaron cada tercer día, de forma subperióstica en la zona del primer molar, NG-nitro-L-arginina metil éster HCl, un inhibidor general de la actividad de la NOS. Obtuvieron una reducción de relevancia en el movimiento dental, llegaron a la conclusión que el NO es un mediador bioquímico importante en la respuesta del tejido periodontal a la fuerza ortodóntica y se produce principalmente a través de la actividad del NOS constitutivo (47).

Akin et al., en el 2004 requirieron una muestra más grande, empleando 54 ratas Sprague-Dawley divididas en 3 grupos dependiendo del principio activo inyectado de forma subperióstica en zona de incisivos superiores: Control, L-Arg e inhibidor, cada 12 horas. Aplicando 20 g de fuerza recíproca a los incisivos con un resorte de acero 0.35 mm. Ellos utilizaron éster metílico de N-nitro-L-arginina (L-NAME) como inhibidor de la NOS. Las ratas se sacrificaron al quinto día del experimento. Se disecaron sus premaxilares y se obtuvieron secciones de tejido de los tercios coronal, medio y apical de las raíces de los incisivos. En sus resultados reportaron que los osteoclastos multinucleares, las lagunas de Howship, la vascularización capilar y el movimiento dental ortodóntico aumentaron significativamente en los grupos L-Arg en comparación con los grupos L-NAME y de control (48).

En 2022, Sun et al., utilizaron 24 ratones macho C57BL/6J, los cuales se dividieron aleatoriamente en cuatro grupos: grupo control sin OTM, grupo OTM, grupo OTM+L-Arg y OTM+L-NG-monometil arginina (L-NMMA) como inhibidor de la NOS. Se inyectaron de

forma subperióstica cada 2 días por 7 días. Observaron que el movimiento dental disminuyó en el grupo de inhibidores de NOS mientras que se aumentó en el grupo de L-Arg. Llegaron a la conclusión que el NO participa en la regulación del movimiento de los dientes en el tratamiento de ortodoncia y además favorece a la formación de hueso en el lado tensión del diente (49).

Souza et al. en 2016, evaluaron la efectividad de un hidrogel con L-Arg donde encontraron que las concentraciones del 10 y 15% eran más efectivos para la expresión de NOSi en acelerar el proceso de cicatrización de heridas (50).

Kawasaki et al. en 2016 realizaron una película de CH y CMC donde observaron en las pruebas de tracción, adhesión celular y ángulo de contacto, que la unión de estos dos polímeros era estable, la resistencia mecánica fue adecuada y, por lo tanto, es un material prometedor para aplicaciones biomédicas (51).

En 2016 Laffleur et al., pusieron a prueba a la CMC para saber si era un potencial excipiente para la administración bucal de fármacos. Esta se evaluó respecto al efecto mucoadhesivo y potenciador de la permeación y la citotoxicidad, encontraron finalmente que este polímero no mostró ningún efecto tóxico. Además, reveló propiedades mucoadhesivas mejoradas mediante el ensayo de tracción. Obtuvieron como conclusiones que la CMC cumple con los requisitos como excipiente potencial de ser mucoadhesivo y potenciador de la permeación para la administración bucal de fármacos (52).

En 2019 Wang et al. elaboraron y caracterizaron una película de quitosano/curdlan/carboximetilcelulosa y observaron que, en comparación con el CH puro, las películas mezcladas exhibieron mejores propiedades mecánicas, permeabilidad y estabilidad térmica. Además, los análisis de luz visible, con microscopio electrónico de barrido (SEM) y FTIR indicaron una buena compatibilidad entre CH y CMC (53).

Un estudio publicado en el 2020 de Nitti et al., nos da pauta a reafirmar que nuestra propuesta de transportar a la L-Arg en el biopolímero quitosano es viable. Ya que ellos encontraron una adecuada biocompatibilidad de la L-Arg y su efecto estabilizador en esferas de quitosano. Este aminoácido mejoró las propiedades fisicoquímicas en la estructura del andamio, aumentó la resistencia a la tracción y su módulo elástico; tuvo también buena respuesta biológica, dio a los fibroblastos murinos una mayor capacidad

de biocompatibilidad, resultó un buen modulador de las interacciones entre las células objetivo y el andamio (54).

Wang et al. en 2020, prepararon una película de CH modificada con Arg y nanopartículas de oro (AuNP), pero investigaron su eficacia como material de apósito para la cicatrización de heridas. En base a sus resultados con FTIR, ellos confirmaron que la Arg se injertó con éxito en el quitosano. Esta película CH-Arg/AuNP resultante se caracterizó mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) y SEM. Observaron que la modificación de Arg y AuNP mejoró la hidrofilia, la resistencia mecánica y las propiedades antibacterianas de la película, lo que a su vez proporcionó un entorno ideal mejorado para la adhesión y proliferación celular. Estos hallazgos acumulativos respaldan la viabilidad de la unión del CH y la L-Arg en una biopelícula (40).

Castello et al. en 2018 incorporaron glicerol a películas de CH, encontraron que aumento la flexibilidad, hubo una mayor hidrofiliidad y absorción de agua, un menor ángulo de contacto. Y concluyeron que la adición de glicerol produce sistemas más homogéneos en concentraciones menores de 5% (28).

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

En la práctica ortodóntica, la eficiencia en el movimiento dental es un aspecto crítico que determina la duración y efectividad del tratamiento. Acelerar el movimiento dental sin comprometer la salud periodontal y sin aumentar la incomodidad del paciente es un desafío constante. En la búsqueda de métodos menos invasivos y cómodos para acelerar el OTM, encontramos en la literatura que utilizar precursores del NO resulta prometedor para este fin, ya que este, además de tener diversas funciones fisiológicas, también participa como regulador en la remodelación ósea. La L-Arg es un aminoácido semiesencial en nuestra dieta diaria, y funciona como precursor del NO. Sin embargo, investigaciones reportan que al consumir L-Arg por vía oral, un gran porcentaje de esta es degradada por el intestino delgado en el metabolismo de primer paso y por lo tanto no ingresa a la circulación sistémica. Esto nos lleva a estudiar vías alternativas para que la entrega de L-Arg sea efectiva y útil para nuestro fin. Hasta el día de hoy, solo se ha

reportado la inyección subperióstica de L-Arg en modelos murinos, obteniendo un incremento en el OTM. Sin embargo, este método resulta invasivo y poco práctico para su aplicación. Por ello, el presente estudio se enfoca en la elaboración y caracterización con pruebas fisicoquímicas y antimicrobianas de películas mucoadhesivas utilizando quitosano, carboximetilcelulosa, glicerol como biopolímeros formando un sistema de liberación controlada para la L-Arg al 10%. La falta de estudios que aborden la eficacia y seguridad de esta combinación específica plantea la necesidad de investigar sus características para su futura aplicación en el tratamiento ortodóntico.

Pregunta de investigación

¿Las películas de quitosano/carboximetilcelulosa/glicerol presentan propiedades fisicoquímicas y antimicrobianas favorables para la liberación de L-Arginina al 10%?

5. JUSTIFICACIÓN

La tendencia actual de los procesos de ortodoncia es que se disminuyan los tiempos de tratamiento, y así mismo, evitar en gran medida los efectos indeseados. Sabemos que existen múltiples enfoques de aceleración del OTM, entre los cuales se encuentran la estimulación por vibraciones, terapias con láser de baja intensidad, técnicas quirúrgicas, entre otros. Sin embargo, planteamos una opción menos invasiva, mediante el uso de películas mucoadhesivas. Los polímeros naturales han recibido una atención considerable durante las últimas décadas como plataformas para la administración bucal de fármacos dada su capacidad para dosificarlos en regiones específicas y mejorar la biodisponibilidad del fármaco. Se llevó a cabo un importante esfuerzo de investigación para identificar que el quitosano y la carboximetilcelulosa poseen múltiples características como biocompatibilidad, biodegradabilidad y no toxicidad, que los convierte en biopolímeros aptos para su uso en la formación de estas películas mucoadhesivas con propiedades fisicoquímicas y antimicrobianas favorables para liberar L-Arg precursora del NO, y este a su vez, promueva a la aceleración del OTM y sea un mecanismo prometedor para acortar los tratamientos ortodónticos y reducir los posibles daños secundarios.

6. HIPÓTESIS

Hipótesis científica (Hi): La película de quitosano/carboximetilcelulosa/glicerol si presentan propiedades fisicoquímicas y antimicrobianas favorables para la liberación de L-Arginina al 10%.

Hipótesis nula (Ho): La película de quitosano/carboximetilcelulosa/glicerol no presentan propiedades fisicoquímicas y antimicrobianas favorables para la liberación de L-Arginina al 10%.

7. OBJETIVOS

7.1. Objetivo general

- Evaluar las propiedades fisicoquímicas y la actividad antimicrobiana de una película de quitosano/carboximetilcelulosa/glicerol para la liberación de L-arginina al 10%.

7.2. Objetivos específicos

- Identificar las interacciones entre los grupos funcionales mediante FTIR.
- Determinar el tiempo de desintegración de la película por el método de la placa petri en saliva artificial a 37°C.
- Determinar el grosor con imágenes obtenidas en SEM.
- Describir la microestructura y porosidad superficial de la película mediante imágenes de SEM.
- Determinar la rugosidad mediante microscopio de fuerza atómica (AFM).
- Obtener el porcentaje de alargamiento a la rotura con máquina de pruebas universales (Instron).
- Obtener el índice de hinchamiento mediante la técnica de swelling con saliva artificial a 37°C al 1 min, 5 min, 30 min, 1 h y 2 h.
- Medir ángulo de contacto con imágenes obtenidas con réflex lente macro.

- Cuantificar pH del medio durante la liberación de la L-Arg con potenciómetro al contacto, al 1 min, 5 min, 30 min, 1 h y 2 h.
- Evaluar la actividad antimicrobiana de película en cepa de *S. mutans* mediante el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC).

8. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1. Diseño del estudio

Experimental, longitudinal, descriptivo e *in vitro*.

8.2. Población y muestra

Basado en el artículo de Alaei et al. en 2021, donde las películas a evaluar comparten características similares a las de este estudio, todas las pruebas fisicoquímicas se realizaron por triplicado ($n = 3$) y los datos se informan como valores medios. Por la naturaleza de este trabajo, no es necesario tener una n mayor, ya que las películas son sintetizadas con la misma formulación (41).

Los grupos se dividen en dos; grupo control, que serán las películas elaboradas sin en el principio activo y en el grupo experimental con películas con el 10% de L-Arg. En la tabla 2 se describen estos grupos. Se llevó a cabo un tipo de muestreo no probabilístico por conveniencia.

Tabla 2. Grupos de estudio. Fuente propia.

Grupo	Descripción
Control	Películas de quitosano/carboximetilcelulosa/glicerol sin L-Arg
Experimental	Películas de quitosano/carboximetilcelulosa/glicerol/L-Arg al 10 %

8.3. Criterios de selección

8.3.1. Inclusión

Películas elaboradas recientes, no mayor a 15 días.

Películas del mismo grosor.

8.3.2. Exclusión

Películas cuya mezcla no fue homogénea.

8.3.3. Eliminación

Películas que se rompieron y/o contaminaron.

8.4. Variables

Las variables de este estudio se describen en la tabla 3, incluyendo su definición conceptual, definición operacional, escala y categoría.

Tabla 3. Variables. Fuente propia.

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala	Categoría
Películas	Película delgada que contiene el fármaco a liberar	Mezcla de CH, CMC, glicerol y L-Arg, que, al secarse, se obtiene una película	Ordinal, cuantitativa, razón, gramos	Independiente
L-Arginina	Aminoácido semiesencial precursor del óxido nítrico	Medición en porcentaje del aminoácido en la mezcla	Cuantitativa, razón, continua, porcentaje	Independiente
FTIR	Técnica para identificar los grupos funcionales en muestras sólidas y líquidas, utiliza energía del infrarrojo para su análisis	Identificación de las interacciones entre los grupos funcionales de los componentes presentes en películas	Cuantitativa, razón, continua, numérico (cm-1)	Dependiente
Desintegración	Deshacer un material poniendo fin a la unión de sus componentes	Registro del tiempo necesario para que la muestra de película se disuelva visualmente	Cuantitativa, razón continua, minutos	Dependiente
Grosor	Dimensión más pequeña de un cuerpo de tres dimensiones	Medición de dimensiones del borde de la película mediante las imágenes obtenidas del SEM en el Software AxioVision	Cuantitativa, razón, continua, micras	Dependiente
Microestructura	Aspectos morfológicos microscópicamente	Descripción de la morfología y microestructura de la superficie de las películas mediante imágenes obtenidas del SEM en el Software AxioVision	Cualitativa nominal	Dependiente

Porosidad	Espacios vacíos en la estructura de un material	Conteo de poros presentes en las películas	Cuantitativa, razón, continua, micras	Dependiente
Rugosidad	Variaciones micrométricas en la superficie de un material	Medición de la rugosidad superficial de las películas mediante AFM	Cuantitativa, razón, continua, micras	Dependiente
Porcentaje de alargamiento a la rotura	Resistencia de la película contra la deformación	Deformación máxima que sufre una película antes de que falle o se rompa en la máquina de pruebas universales (Instron)	Cuantitativa, porcentaje	Dependiente
Índice de hinchamiento	Incremento de volumen debido a la retención de agua	Medición del peso de la película antes y después de ser sumergida en saliva artificial	Cuantitativa, razón, continua, porcentaje	Dependiente
Ángulo de contacto	Ángulo que forma la superficie de un líquido al entrar en contacto con un sólido	Medición del ángulo de una gota de saliva artificial hacia las películas	Cuantitativa, grados	Dependiente
pH del medio	Coefficiente que indica el grado de acidez o basicidad de una solución acuosa	Medición resultante del potenciómetro, donde los valores del pH varían en una escala que va de 0 hasta 14	Cuantitativa, razón, continua, numérico	Dependiente
Actividad antimicrobiana	Capacidad para inhibir el crecimiento microbiano	Conteo de UFC en cultivos de cepa <i>S. mutans</i>	Cuantitativa, numérica, (UFC/ml)	Dependiente

8.5. Concordancia y fiabilidad

Se capacitó al investigador por expertos en cada uno de los procedimientos. En la elaboración de la película, los reactivos se midieron con instrumentos de laboratorio calibrados y en buen estado. Se entrenó para realizar las pruebas de caracterización con los diferentes equipos, la cuales fueron realizadas cada una por triplicado. Para determinar la concordancia intra e inter observador se utilizó el Coeficiente de correlación intraclase o R^2 de Pearson.

8.6. Ubicación espacio-temporal

El presente estudio se llevó a cabo en la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (FEBUAP), así como en la Dirección de Innovación y Transferencia de Conocimiento (DITCo), el Laboratorio Multidisciplinario FEBUAP y el

Laboratorio de Biomateriales FEBUAP. En el periodo comprendido de agosto 2023 a diciembre 2024.

8.7. Procedimientos, técnicas y fuentes de recolección

Consistió en 3 fases:

1. Elaboración de películas al 10% de L-Arg y sin L-Arg
2. Pruebas de caracterización
3. Prueba microbiológica

8.7.1. Técnica de elaboración de películas

Hasta el momento, la literatura científica no ha documentado la elaboración de películas mucoadhesivas con base en CH/CMC y L-Arg orientados a la aceleración del tratamiento ortodóncico. En este contexto, se optó por adaptar el método de preparación de películas descrito por Musazzi et al. empleando el método “solvent casting” por su fácil reproducción y bajo costo (39). Además, se incorporó glicerol como plastificante, como lo reportado en la literatura (28-29). A continuación, se describe el proceso de elaboración de las películas.

- Se pesaron en la balanza analítica Ohaus AV114 Adventurer Pro (Ohaus Corporation, Parsippany, NJ, USA) correctamente calibrada todos los reactivos a utilizar.
- Se solubilizaron 0.75 g de carboximetilcelulosa (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Burlington, MA, USA) 0.75% en 25 ml de agua destilada a 25°C.
- Al obtener una mezcla homogénea, se le agregó 1g de quitosano de bajo peso molecular (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Burlington, MA, USA) en agitación de 350 revoluciones por minuto (rpm) hasta que se observó nuevamente una solución uniforme.
- Se agregaron 2.675 g de L-Arg (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Burlington, MA, USA), que representa el 10%, en agitación de 350 rpm hasta que se logró observar en una sola fase.
- Se incorporó a la mezcla 0.5 ml de glicerol (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Burlington, MA, USA).
- Se realizó un vaciado de 2 ml de la solución con una jeringa milimétrica en cajas Petri de 9 cm de diámetro, y se procedió a su secado a temperatura ambiente.

- A los 6 días se observaron homogéneas y secas, listas para realizar las pruebas de caracterización. El proceso se resume en la figura 9.



Figura 9. Pasos para la elaboración de películas con L-Arg al 10%. Fuente propia

- Este procedimiento se repitió para el grupo control, pero sin la incorporación de la L-Arg.
- Posteriormente se cortaron de manera estandarizada de 6 mm de diámetro, con un área de superficie de 28.27 mm², lo cual se definirá como una unidad de dosis única para las pruebas de caracterización, a excepción de la prueba mecánica.

8.7.2. Pruebas de caracterización de películas

8.7.2.1. Interacciones entre los grupos funcionales

Por medio del método de FTIR se identificaron los grupos funcionales presentes en las películas. Para esto se colocó y evaluó una película de cada grupo en la celda infrarroja del espectrofotómetro FT-IR Vertex 70v (Bruker Optics Inc., Billerica, MA, USA) el cual se encuentra en DITCo BUAP. Las muestras estuvieron sometidas a una fuente de luz infrarroja, la cual hizo un barrido desde el número

de onda de 4000 cm^{-1} hasta 1000 cm^{-1} , en una temperatura de 26°C (40). Un ejemplo del espectrofotómetro utilizado se observa en la figura 10.

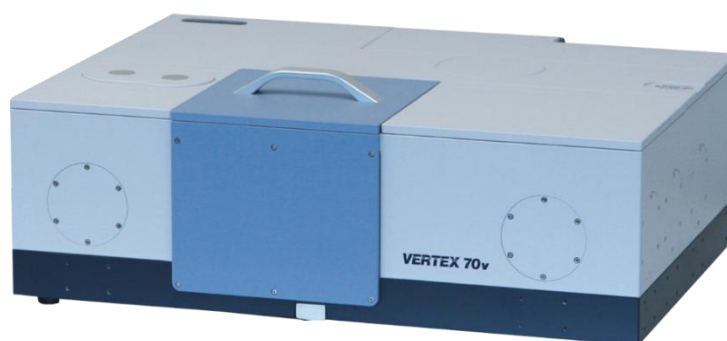


Figura 10. Ejemplo de Espectrofotómetro FT-IR Vertex 70v (Bruker Optics Inc., Billerica, MA, USA). Fuente Blue Scientific, 2025.

8.7.2.2. Desintegración

Se realizó por el método de caja Petri modificado de la literatura por Korelc et al. con saliva artificial (pH: 6.8) a una temperatura constante de 37°C y con agitaciones a 60 rpm simulando el medio oral. Se empleó el uso de una parrilla de calentamiento y agitación magnética Guardian 5000 (Ohaus Corporation, Parsippany, NJ, USA). Las películas se recortaron de forma estandarizada, midiendo 6 mm de diámetro (figura 11 A). Se colocaron en 5 mL de saliva artificial (Viarden Lab, Mission, TX, USA) (figura 11 B). La desintegración se definió como la pérdida de la integridad estructural de la matriz polimérica. Esta se evaluó mediante inspección visual directa con ayuda de una cámara réflex Canon EOS 550D (Canon Inc., Ota-ku, Tokio, Japón), equipada con lente macro, realizando un registro fotográfico periódico a intervalos definidos durante el ensayo. La observación se centró en la disolución completa del material. Este procedimiento se realizó por triplicado para cada formulación. De acuerdo con los criterios reportados en la literatura, si después de 12 horas la película conservaba su estructura sin evidencia de disolución total, se clasificó como no desintegrada (44).

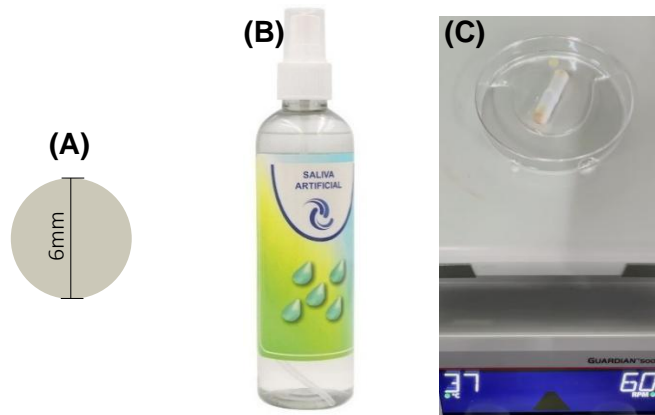


Figura 11. (A) Medida estandar de películas. (B) Saliva artificial (Viarden Lab, Mission, TX, USA). (C) Método de caja Petri modificado de la literatura por Korelc et al. (44) empleando 5mL de saliva artificial, 37 °C, 60 rpm. Fuente propia.

8.7.2.3. Grosor

Se midió el grosor en micras de las imágenes obtenidas del SEM JSM-5800LV (JEOL Ltd., Akishima, Tokyo, Japón) (figura 12). La preparación de las películas consistió en el recubrimiento de estas con oro, mediante un proceso de pulverización catódica en dos ciclos consecutivos, con un intervalo de 30 segundos y una corriente de 45 mA, con el fin de crear una superficie conductora. Las películas recortadas en la medida estándar de 6 mm de diámetro se colocaron perpendiculares al soporte de la muestra en el SEM, como lo reportado por Han et al. en su metodología (75). Al obtener las imágenes de ambos grupos, se empleó el software ImageJ (Rasband W, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) y se realizaron las medidas de 5 lugares diferentes y se calculó el grosor promedio para cada una.



Figura 12. SEM JSM-5800LV (JEOL Ltd., Akishima, Tokyo, Japón). Fuente propia.

8.7.2.4. Microestructura y porosidad

Se describió mediante imágenes obtenidas del SEM JSM-5800LV (JEOL Ltd., Akishima, Tokyo, Japón). Siguiendo el procedimiento antes mencionado de la preparación de muestras para el uso del SEM. Las películas recortadas en la medida estándar (6 mm de diámetro) se colocaron paralelas al soporte de la muestra en el SEM para evaluar la microestructura superficial y la presencia o ausencia de poros (75).

8.7.2.5. Rugosidad

Inicialmente se planteó utilizar microscopía de fuerza atómica para esta prueba. Han et al. lo definen como una de las herramientas de investigación más útiles y emergentes para proporcionar la apariencia general de la superficie de una membrana (75). Sin embargo, este enfoque resultó inadecuado debido a las limitaciones del equipo. El AFM de DITCo empleado en este estudio JSPM-5200 (JEOL Ltd., Akishima, Tokyo, Japón) el cual se muestra en la figura 13 A, tiene un rango de escaneo máximo de 3 μm , lo que resultó ser extremadamente fino para capturar la rugosidad de las películas en estudio, figura 13 B. Como consecuencia, la imagen obtenida mostró un perfil a escalas nanométricas, que no refleja con precisión la verdadera rugosidad de estas películas, esto se observa en la figura 13 C.

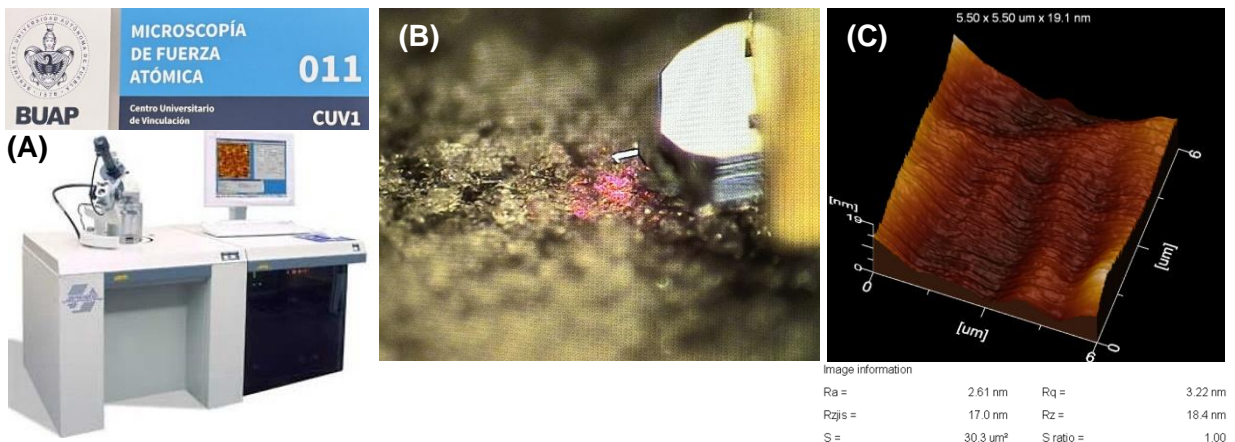


Figura 13. (A) AFM de DITCo BUAP JSPM-5200 (JEOL Ltd., Akishima, Tokyo, Japón). (B) Cantilever de AFM con rango de escaneo máximo de 3 μm . (C) Perfil obtenido con rangos nanométricos. Fuente propia.

Dada esta limitación, se optó por utilizar un medidor de rugosidad superficial Surfptest SJ-301 Series (Mitutoyo Corporation, Kawasaki, Kanagawa, Japón), mostrado en la figura 14 A. Este instrumento ofrece un rango de escaneo más adecuado para capturar la rugosidad a escalas biológicamente relevantes. Para realizar las mediciones, las películas se fijaron con cinta adhesiva de doble cara paralela a la punta del rugosímetro (figura 14 B). Se calcularon los valores promedio de tres medidas para ambos grupos de películas. Esta metodología permitió una evaluación más exacta y representativa de la rugosidad superficial de las películas mucoadhesivas orales.

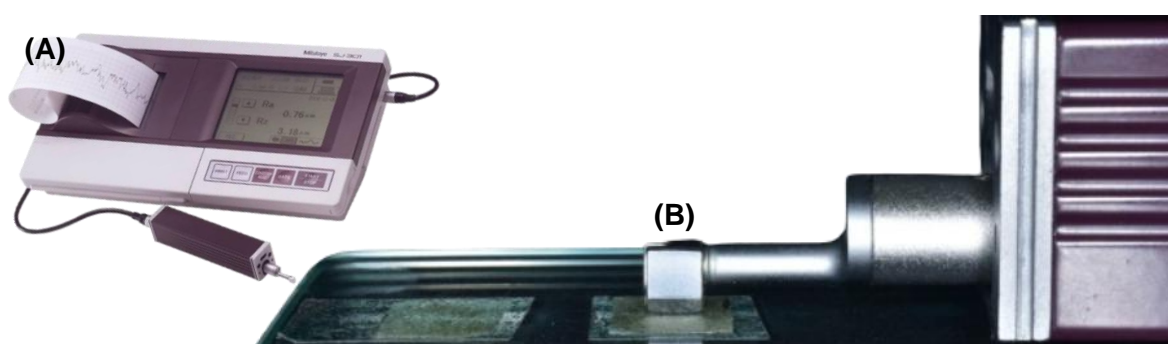


Figura 14. (A) Surfptest SJ-301 Series (Mitutoyo Corporation, Kawasaki, Kanagawa, Japón). (B) Método utilizado con cinta doble cara paralela a punta de rugosímetro. Fuente propia.

8.7.2.6. Porcentaje de alargamiento a la rotura

Se obtuvo mediante el uso de una máquina de pruebas universales Instron 5567 (Instron Corporation, Norwood, MA, USA) (figura 15 A) a una velocidad de cabezal de 5mm/min hasta su ruptura, tal como se observa en la figura 15 C. Todas las muestras se cortaron en la forma estándar rectangular de 150 mm y un ancho de 10 mm (figura 15 D), siguiendo los parámetros establecidos por la norma ISO 527-3 y ASTM D882 para películas delgadas menores a 1 mm de espesor (56). Se empleó siguiente ecuación (60):

$$\% \text{ de alargamiento a la rotura} = \frac{\text{Aumento de la longitud en el momento de la rotura} \times 100}{\text{Longitud inicial}}$$

Se realizaron 3 pruebas de cada grupo de películas, como lo dicta el estándar para materiales isotrópicos y se calculó el promedio para cada grupo.

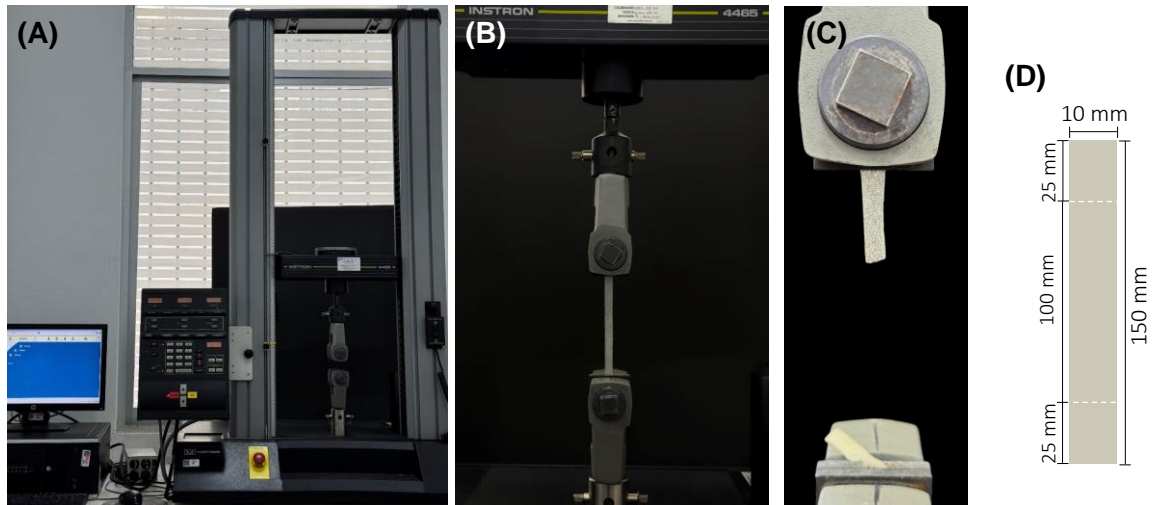


Figura 15. (A) Máquina de pruebas universales Instron 5567 (Instron Corporation, Norwood, MA, USA). (B) Película colocada en posición inicial. (C) Película llevada a la rotura. (D) Medidas establecidas por norma ISO 527-3 y ASTM D882 (56). Fuente propia.

8.7.2.7. Índice de hinchamiento

Se determinó de acuerdo con el método swelling descrito en la literatura (55), utilizando saliva artificial (Viarden Lab, Mission, TX, USA) con pH: 7.54 a una temperatura constante de 37°C, para asimilar las condiciones de la cavidad oral utilizando una parrilla de calentamiento y agitación magnética Guardian 5000 (Ohaus Corporation, Parsippany, NJ, USA). Las películas se recortaron de forma estandarizada de 6 mm de diámetro. En una balanza analítica Ohaus AV114 Adventurer Pro (Ohaus Corporation, Parsippany, NJ, USA) (figura 16 A) se pesó la película antes (m_1) y después (m_2) de ser inmersa en 5 ml de saliva artificial en los distintos intervalos del tiempo: a los 5 minutos y 1 hora, después de eliminar el exceso de saliva de su superficie utilizando papel filtro, se observa un ejemplo de secuencia en la figura 16 B, C y D. Para calcular el índice, se utilizó la fórmula:

$$\text{Índice de hinchamiento} = \frac{m_2 - m_1}{m_1} \times 100$$

Se replicó la prueba 3 veces por cada grupo y los valores medios se tomaron como índice de hinchamiento.



Figura 16. (A) Balanza analítica Ohaus AV114 Adventurer Pro (Ohaus Corporation, Parsippany, NJ, USA). (B) Ejemplo del procedimiento de pesaje inicial de una película antes de ser inmersa en saliva artificial. (C) Pesaje a los 5 minutos de ser inmersa en saliva. (D) Pesaje 1 hora después de ser inmersa en saliva. Fuente propia.

8.7.2.8. Ángulo de contacto

Se midió con el método modificado de la literatura por Wiphanurat et al. (58) con imágenes obtenidas con cámara réflex Canon EOS 550D equipada con lente macro de (Canon Inc., Ota-ku, Tokio, Japón) (figura 17 A), se utilizaron películas recortadas estandarizadas de 6 mm de diámetro. Se dejaron caer gotas (3 μ l) de saliva artificial (Viarden Lab, Mission, TX, USA) sobre la superficie de la muestra en condiciones ambientales. Y posteriormente se realizaron las mediciones angulares de cada muestra con el software ImageJ (Rasband W, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) (figura 17 B).

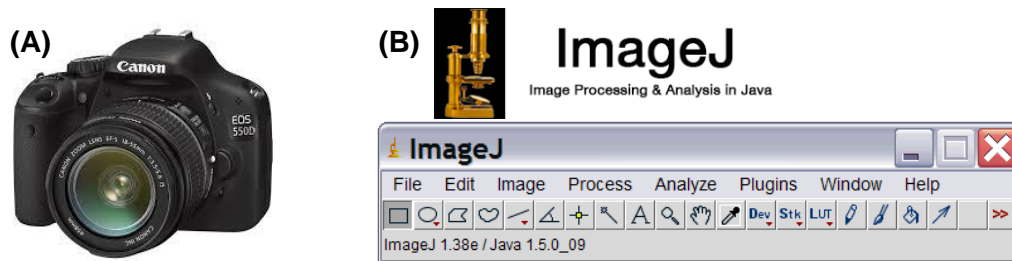


Figura 17. (A) Canon EOS 550D (Canon Inc., Ota-ku, Tokio, Japón) (B) Software ImageJ (Rasband W, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA). Fuente propia.

8.7.2.9. pH del medio

Se cuantificó el pH del medio durante la liberación de la L-Arg con un potenciómetro de mesa Roca PHS-3CU (Shanghai Yueping Scientific Instruments Co., Ltd., Shanghái, China) (figura 18 A), haciendo una modificación a la técnica reportada por Korelc et al., se utilizaron películas recortadas de forma estandarizada de 6 mm de diámetro y se colocó en un vaso de precipitados con 5 mL de saliva artificial (Viarden Lab, Mission, TX, USA) (pH: 7.08) a una temperatura de 25.3°C (figura 18 B). Se realizaron las mediciones al contacto, al minuto, 5 minutos, 30 minutos, 1 hora y 2 horas. Este experimento se realizó por triplicado en cada grupo y se obtuvieron las medias por grupo.

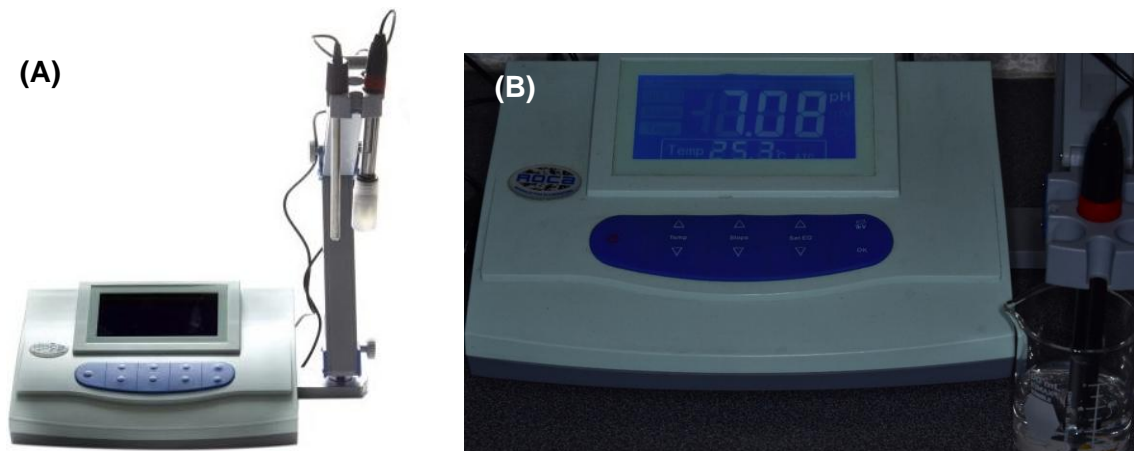


Figura 18. (A) Potenciómetro de mesa Roca PHS-3CU (Shanghai Yueping Scientific Instruments Co., Ltd., Shanghái, China). (B) Medición inicial del medio de saliva artificial (Viarden Lab, Mission, TX, USA) pH 7.08. Fuente propia.

8.7.3. Actividad antimicrobiana

Se realizó un ensayo microbiológico en medio líquido de infusión cerebro corazón (BHI) (BD, Franklin Lakes, NJ, USA) bajo condiciones controladas. Primeramente, las películas de cada grupo fueron recortadas en discos de 6 mm de diámetro. Posteriormente, se esterilizaron mediante exposición a luz ultravioleta (UV) en una cabina de bioseguridad clase II (Labconco Corporation, Kansas City, MO, USA) durante 20 minutos por cada lado. Para verificar su esterilidad, se colocaron gotas de 25 μ L sobre placas con medio BHI sólido (BD, Franklin Lakes, NJ, USA) las cuales se incubaron a 37 °C en condiciones anaeróbicas durante 24 horas. La ausencia de crecimiento microbiano confirmó la

esterilización adecuada de las membranas. Para la preparación del inóculo bacteriano, se utilizó una cepa de *S. mutans* cultivada en medio BHI líquido. El inóculo se ajustó a una densidad óptica de 0.05, correspondiente a una concentración aproximada de 7.52 ± 0.4 Log UFC/ml, de acuerdo con un promedio de cinco repeticiones. Se distribuyeron tres grupos; *S. mutans* en medio BHI sin películas, *S. mutans* en presencia de película control y *S. mutans* en presencia de película experimental con L-Arg al 10 %. Para cada condición se utilizaron tubos con 5 ml de medio BHI líquido con el inóculo ajustado (0.05). Las muestras se incubaron durante 24 horas a 37 °C en condiciones anaeróbicas. Tras la incubación, se evaluó el crecimiento bacteriano mediante la determinación de unidades formadoras de colonia (UFC/ml) por el método de “Goteo en placa por sellado masivo”, descrito por Corral-Lugo et al. (57). Las placas se incubaron durante 24 horas a 37 °C en condiciones anaeróbicas, y posteriormente se realizó el recuento de colonias. Todas las pruebas fueron realizadas por quintuplicado para asegurar la reproducibilidad y confiabilidad de los resultados.

8.8. Análisis estadístico

Se reportó una estadística descriptiva. En la tabla 4 se describe la estadística aplicada por variable.

Tabla 4. Estadística por variable.

Variable	Estadística correspondiente
Películas	No aplicable
FTIR	Descriptiva
Desintegración	Descriptiva
Grosor	Descriptiva
Microestructura	Descriptiva
Porosidad	Descriptiva
Rugosidad	Descriptiva
Porcentaje de alargamiento a la rotura	Descriptiva
Índice de hinchamiento	Descriptiva
Ángulo de contacto	Descriptiva
pH del medio	Descriptiva
Actividad antimicrobiana	Descriptiva

9. RESULTADOS

9.1. Interacciones de los grupos funcionales

Se realizó un análisis por FTIR con el objetivo de identificar los grupos funcionales presentes en las películas del grupo control y del grupo experimental. Las muestras fueron evaluadas en un espectrofotómetro con un rango espectral de 4000-849.56 cm^{-1} . En la figura 19 se presentan los espectros correspondientes, donde el grupo control se representa en color azul y el grupo experimental en color rojo.

Ambos espectros mostraron señales características de los componentes poliméricos, como una banda ancha en la región de 3500-3000 cm^{-1} –OH y –NH, bandas en 2920-2880 cm^{-1} C–H, y señales en 1650–1550 cm^{-1} C=O y NH, además de bandas intensas entre 1150–1020 cm^{-1} C–O y C–O–C. Sin embargo, el grupo experimental presentó diferencias notables con respecto al control, como un aumento de intensidad en la región de 3300-3100 cm^{-1} y ligeros desplazamientos en bandas alrededor de 1630 y 1400 cm^{-1} , lo cual sugiere la incorporación de L-Arg a la matriz polimérica, debido a las vibraciones de deformación de los grupos amino y guanidina (40).

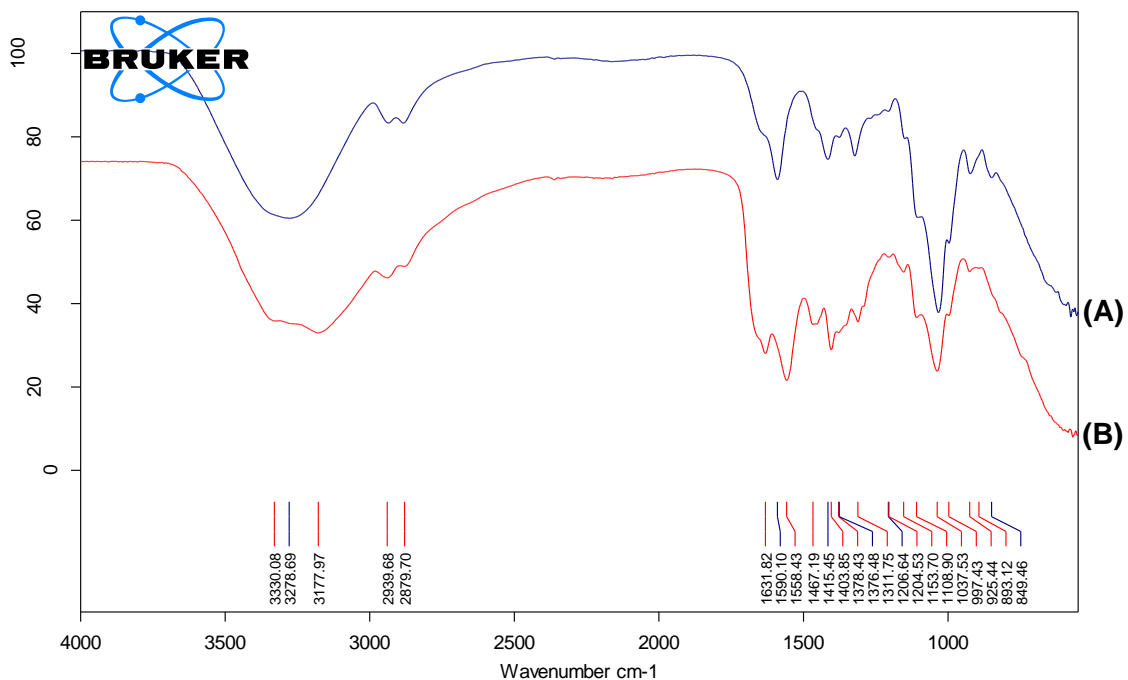


Figura 19. Espectro FTIR de (A) grupo control, (B) grupo experimental. Fuente propia.

9.2. Desintegración

La integridad estructural de las películas fue monitoreada a lo largo del ensayo de desintegración mediante observación directa y registro fotográfico en distintos intervalos de tiempo. En la tabla 5 se presentan los resultados de cada formulación, indicando si las películas conservaron su estructura o mostraron evidencia de desintegración.

En la figura 20 se ilustran los cambios visuales en las películas correspondientes a los distintos grupos experimentales después de haber sido expuestas al medio simulado durante 12 horas. En todos los casos, se documentó el aspecto superficial y estructural mediante imágenes obtenidas con la cámara réflex Canon EOS 550D (Canon Inc., Ota-ku, Tokio, Japón).

Las tres réplicas de cada grupo experimental conservaron una matriz coherente al término del periodo de observación (12 horas), sin presentar disolución completa ni ruptura significativa de la estructura polimérica. De acuerdo con los criterios establecidos, estas muestras fueron clasificadas como no desintegradas.

Tabla 5. Resultados de prueba de prueba de desintegración.

	0 minutos	1 hora	8 horas	12 horas	Desintegradas
Grupo control	-	-	-	-	No
	-	-	-	-	No
	-	-	-	-	No
Grupo experimental	-	-	-	-	No
	-	-	-	-	No
	-	-	-	-	No

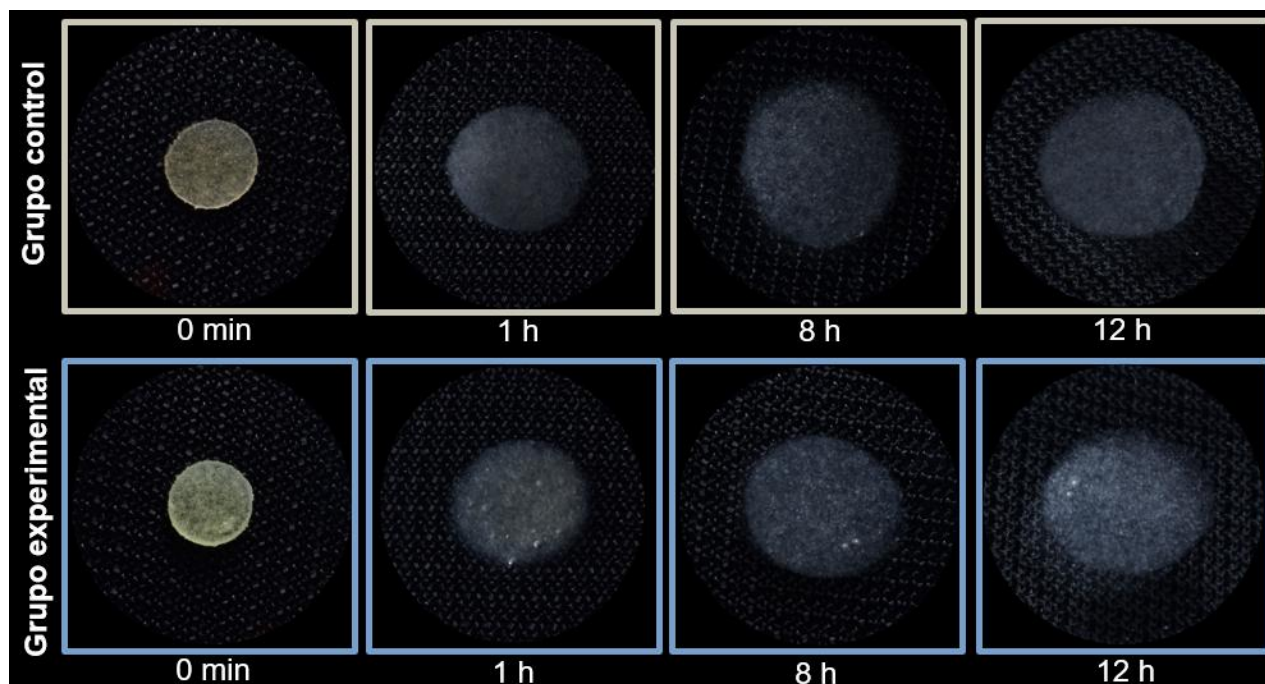


Figura 20. Películas en saliva artificial a 37° C. Fuente propia.

9.3. Grosor

En la figura 21 A y B se presentan las imágenes de alta resolución obtenidas del SEM con una magnificación de x100, perpendiculares al soporte de las películas y medidas en el software ImageJ (Rasband W, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) en 5 lugares distintos, obteniendo un promedio por grupo. En las película del grupo control se obtuvo un grosor promedio de 251 μm y en la del grupo experimental un promedio de 158 μm , siendo este último de espesor menor. En tabla 6 se muestran estos resultados.

Tabla 6. Resultados de mediciones y promedios obtenidos por grupo

	1	2	3	4	5	Promedio
Grupo control	316 μm	288 μm	238 μm	214 μm	202 μm	251.6 μm
Grupo experimental	152 μm	148 μm	176 μm	188 μm	128 μm	158.4 μm

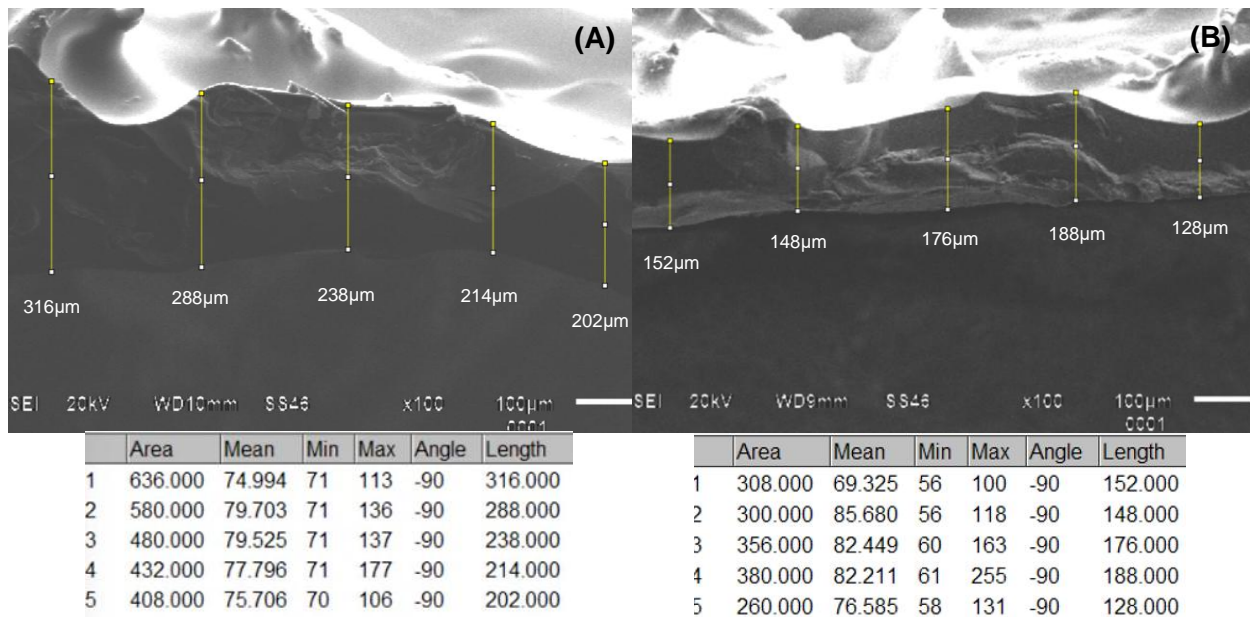


Figura 21. Imágenes SEM de la sección transversal de membranas

(A) Mediciones realizadas en película de grupo control. (B) Mediciones realizadas en película de grupo experimental. Fuente propia.

9.4. Microestructura y porosidad

Las figuras 22 y 23 son las imágenes de alta resolución obtenidas del SEM de la película control y experimental respectivamente, con tres distintas magnificaciones; x100 (A), x1000 (B), x2000 (C).

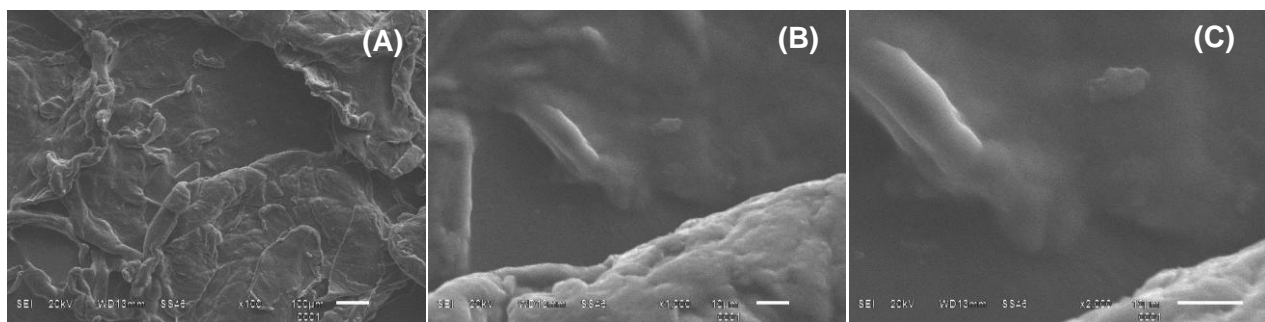


Figura 22. Imágenes de alta resolución del SEM de la superficie de película control.

(A) Magnificación x100, microestructura asimétrica, con múltiples irregularidades.

(B) Magnificación x1000, superficie lisa con ciertas depresiones y desniveles.

(C) Magnificación x2000, se observa más uniformidad y la ausencia de poros.

Fuente propia.

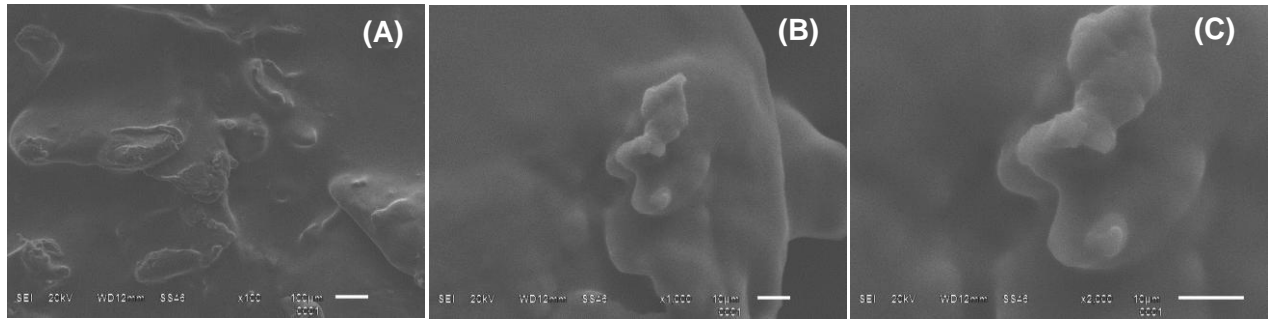


Figura 23. Imágenes del SEM de la superficie de película experimental.

(A) Magnificación x100, superficie uniforme, con pocas irregularidades alargadas.

(B) Magnificación x1000, superficie lisa con ciertas proyecciones irregulares.

(C) Magnificación x2000, microestructura con proyecciones, lisa y sin poros.

Fuente propia.

9.5. Rugosidad

Se muestra en la figura 24 los resultados obtenidos del perfil de una película con el AFM de DITCo, el cual tuvo la limitante por su cantilever el cual posee un rango de escaneo máximo de 3 μm , lo que arrojó datos nanométricos e irreales de la rugosidad de las películas en estudio.

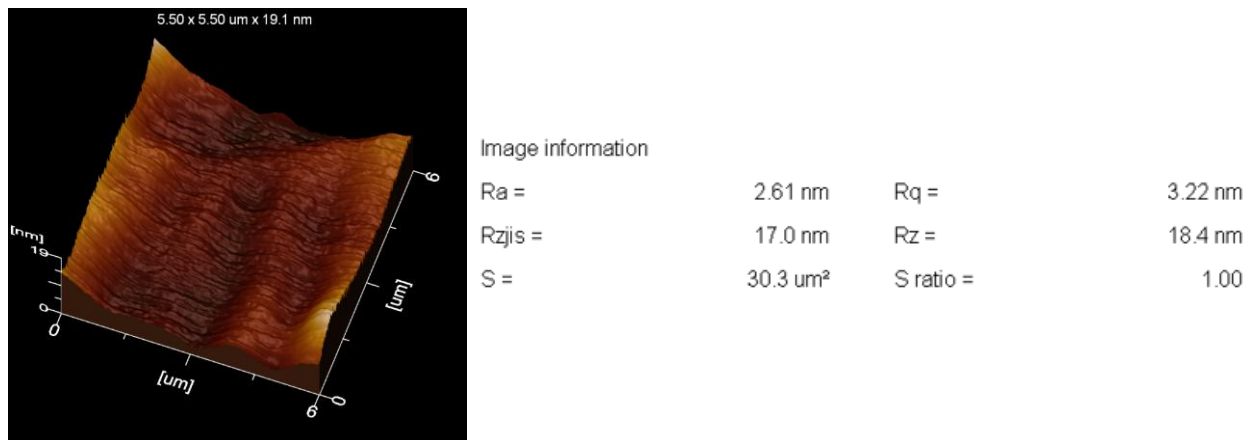


Figura 24. Perfil obtenido de rangos nanométricos de AFM de DITCo BUAP JSPM-5200 (JEOL Ltd., Akishima, Tokyo, Japón). Fuente propia.

Al utilizar el medidor de rugosidad superficial SurfTest SJ-301 Series (Mitutoyo Corporation, Kawasaki, Kanagawa, Japón) se obtuvo un rango más adecuado y representativo de la rugosidad superficial de las películas mucoadhesivas orales. En la

tabla 7 se vaciaron las medias obtenidas de las pruebas triplicadas por grupo; rugosidad media aritmética (Ra), amplitud media (Rz) y rugosidad media cuadrática (Rq). En la figura 25 se muestra un ejemplo por grupo de las gráficas arrojadas por el medidor de rugosidad superficial.

Tabla 7. Medias obtenidas de pruebas por triplicado de grupos de estudio.

	Grupo control	Grupo experimental
Ra=	7.58 μm	7.46 μm
Rz=	34.50 μm	38.08 μm
Rq=	8.95 μm	9.42 μm

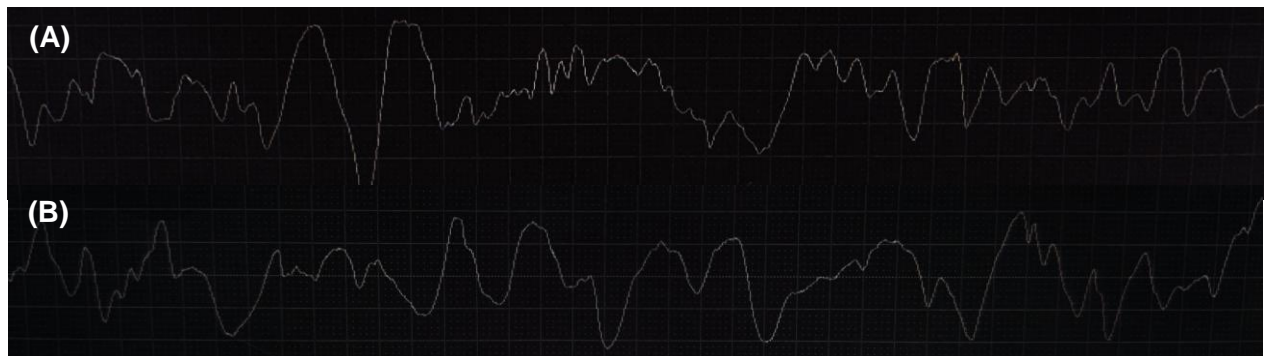


Figura 25. (A) Gráfica obtenida del perfil de rugosidad de una película del grupo control, observándose los picos aquellos que se elevan y los valles los que bajan. (B) Gráfica obtenida del perfil de rugosidad de una película del grupo experimental con sus picos y valles. Fuente propia.

9.6. Porcentaje de alargamiento a la rotura

Esta prueba representa un parámetro mecánico importante para evaluar la ductilidad de las películas. Los resultados obtenidos por la máquina de pruebas universales Instron 5567 (Instron Corporation, Norwood, MA, USA) se enumeran y promedian en las tablas 8 y 9.

Tabla 8. Resultados arrojados por máquina de pruebas universales Instron 5567 (Instron Corporation, Norwood, MA, USA) de las 3 películas del grupo control.

	Longitud inicial (mm)	Carga de pico de la máquina (N)	Extensión en carga de pico de la máquina (mm)	Deformación en carga de pico de la máquina (%)
1	100	0.93	31.73	31.73
2	100	0.98	32.17	32.17
3	100	1.13	35.85	35.85
Promedio		1.01	33.25	33.25

Tabla 9. Resultados arrojados por máquina de pruebas universales Instron 5567 (Instron Corporation, Norwood, MA, USA) de las 3 películas del grupo experimental.

	Longitud inicial (mm)	Carga de pico de la máquina (N)	Extensión en carga de pico de la máquina (mm)	Deformación en carga de pico de la máquina (%)
1	100	1.20	37.74	37.74
2	100	1.30	40.43	40.43
3	100	1.32	40.81	40.81
Promedio		1.27	39.66	39.66

9.7. Índice de hinchamiento

El peso y porcentaje de hinchamiento de las películas del grupo control y experimental sumergidas en saliva artificial se evaluó a los 5 minutos y 1 hora desde el contacto inicial. Los resultados, obtenidos tras realizar la prueba tres veces por grupo, se expresaron como promedio y se muestran en la tabla 10. En la figura 26 se evidencian los cambios visuales en las películas en los intervalos de tiempo correspondientes con imágenes obtenidas de cámara réflex Canon EOS 550D (Canon Inc., Ota-ku, Tokio, Japón).

Tabla 10. Media de peso e índices de hinchamiento de películas de grupo control y experimental.

	Peso inicial (g)	Peso a los 5 minutos (g)	índice de hinchamiento a los 5 minutos (%)	Peso a 1 hora (g)	índice de hinchamiento a 1 hora (%)
Grupo control	0.0164	0.0291	77.50	0.0570	246.95
Grupo experimental	0.0181	0.3008	70.25	0.0893	392.71

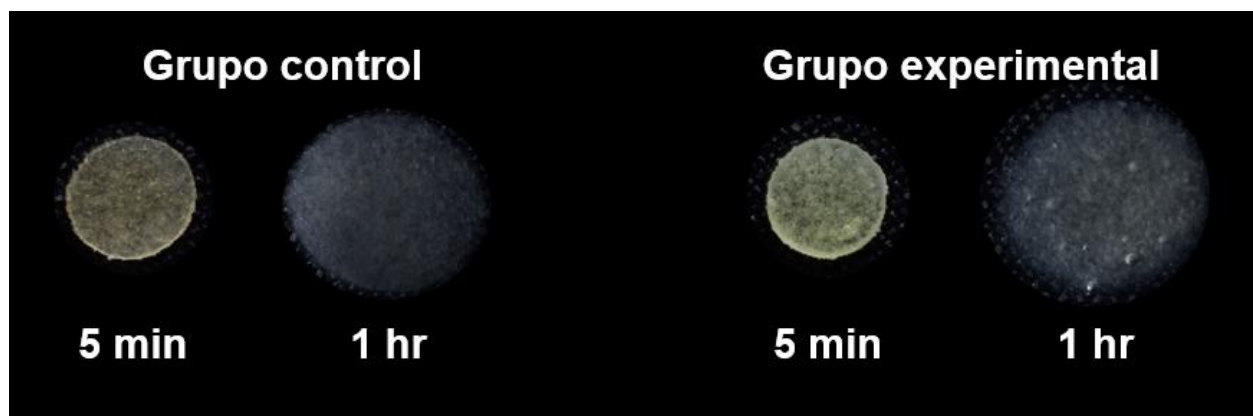


Figura 26. Fotografías comparativas de películas control y experimental sumergidas en saliva artificial en los distintos intervalos del tiempo; 5 minutos y 1 hora con cámara réflex Canon EOS 550D (Canon Inc., Ota-ku, Tokio, Japón) . Fuente propia.

9.8. Ángulo de contacto

La figura 27 muestra las fotografías y mediciones angulares del contacto de una gota de saliva artificial sobre la superficie de la película de grupo control (A) y del grupo experimental (B) con el software ImageJ (Rasband W, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA).

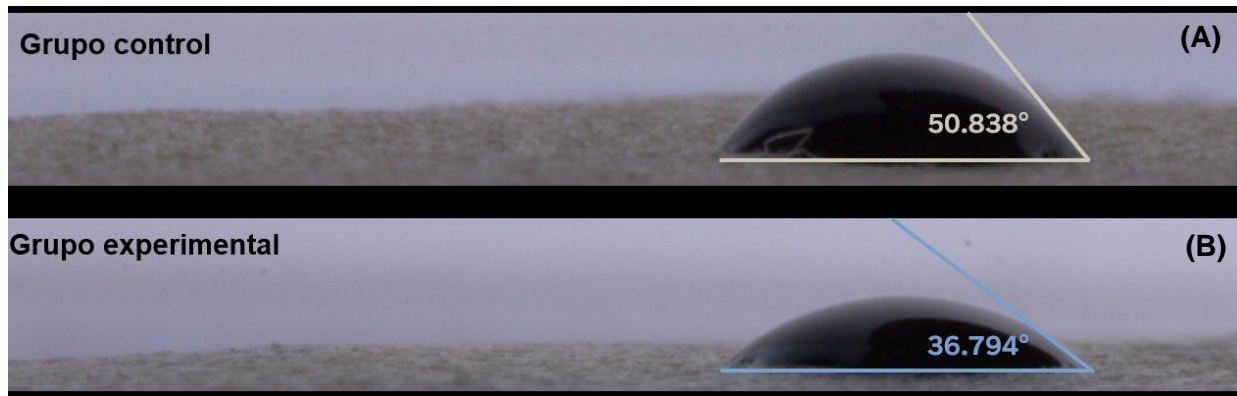


Figura 27. (A) Medida obtenida del ángulo de contacto de película control = 58.838°.

(B) Medida obtenida del ángulo de contacto de película experimental = 36.794°.

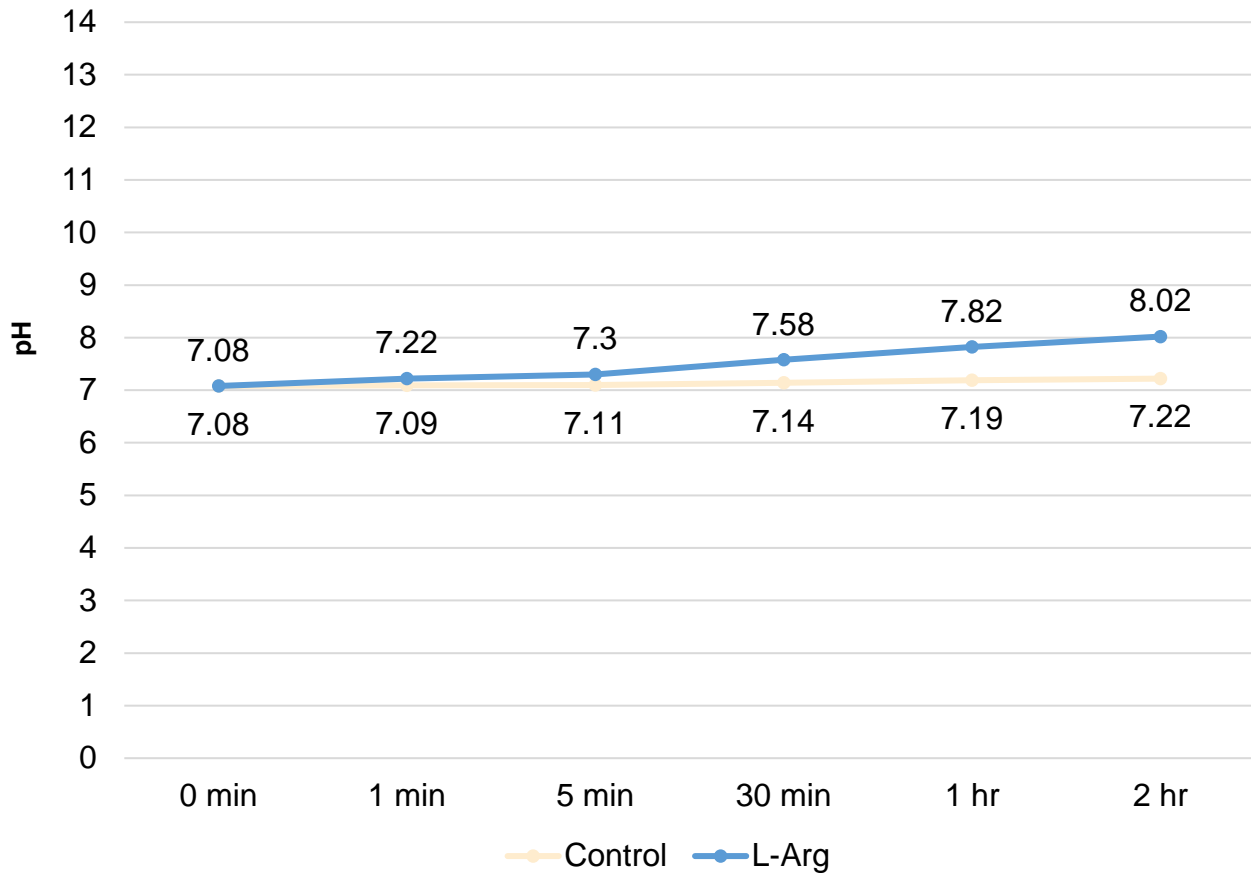
Fuente propia

9.9. pH del medio

El pH se evaluó en un medio que consistió de saliva artificial (Viarden Lab, Mission, TX, USA) con pH inicial de 7.08 a una temperatura constante de 25.3°C. El cambio de pH fue registrado al permanecer las películas 1 minuto, 5 minutos, 30 minutos, 1 hora y 2 horas. Este experimento se realizó por triplicado en cada grupo y se obtuvieron las medias por grupo, las cuales se presentan en la tabla 11 y la gráfica 1.

Tabla 11. Resultados promedio de pruebas triplicadas por grupo en los distintos intervalos de tiempo.

	pH inicial	pH al minuto con película	pH a los 5 minutos con película	pH a los 30 minutos con película	pH a 1 hora con película	pH a 2 horas con película
Grupo control	7.08	7.09	7.11	7.14	7.19	7.22
Grupo experimental	7.08	7.22	7.30	7.58	7.82	8.02



Gráfica 1. Comparativa pH promedios obtenidos de ambos grupos por intervalos de tiempo.

9.10. Actividad antimicrobiana

Se evaluó el crecimiento de *S. mutans* en medio BHI líquido durante 24 horas a 37°C en condiciones anaeróbicas, en presencia de películas del grupo control y del grupo experimental con L-Arg. Se partió de un inóculo con una densidad óptica de 0.05, correspondiente a una carga bacteriana de 7.52 ± 0.4 Log UCF/ml (valor promedio de cinco repeticiones) como valor basal. Se plasman los resultados obtenidos en la tabla 12 y en la figura 28 las imágenes demostrativas de la prueba microbiológica.

Tabla 12. Resultados promedio del logaritmo de UFC/ml de *S. mutans* de cinco repeticiones.

	Log. del No. de UFC/ml	Densidad óptica
<i>S. mutans</i>	7.41 ± 0.23	0.27
<i>S. mutans</i> + película control	7.3 ± 0.27	0.1
<i>S. mutans</i> + película L-Arg 10%	7.65 ± 0.12	0.7

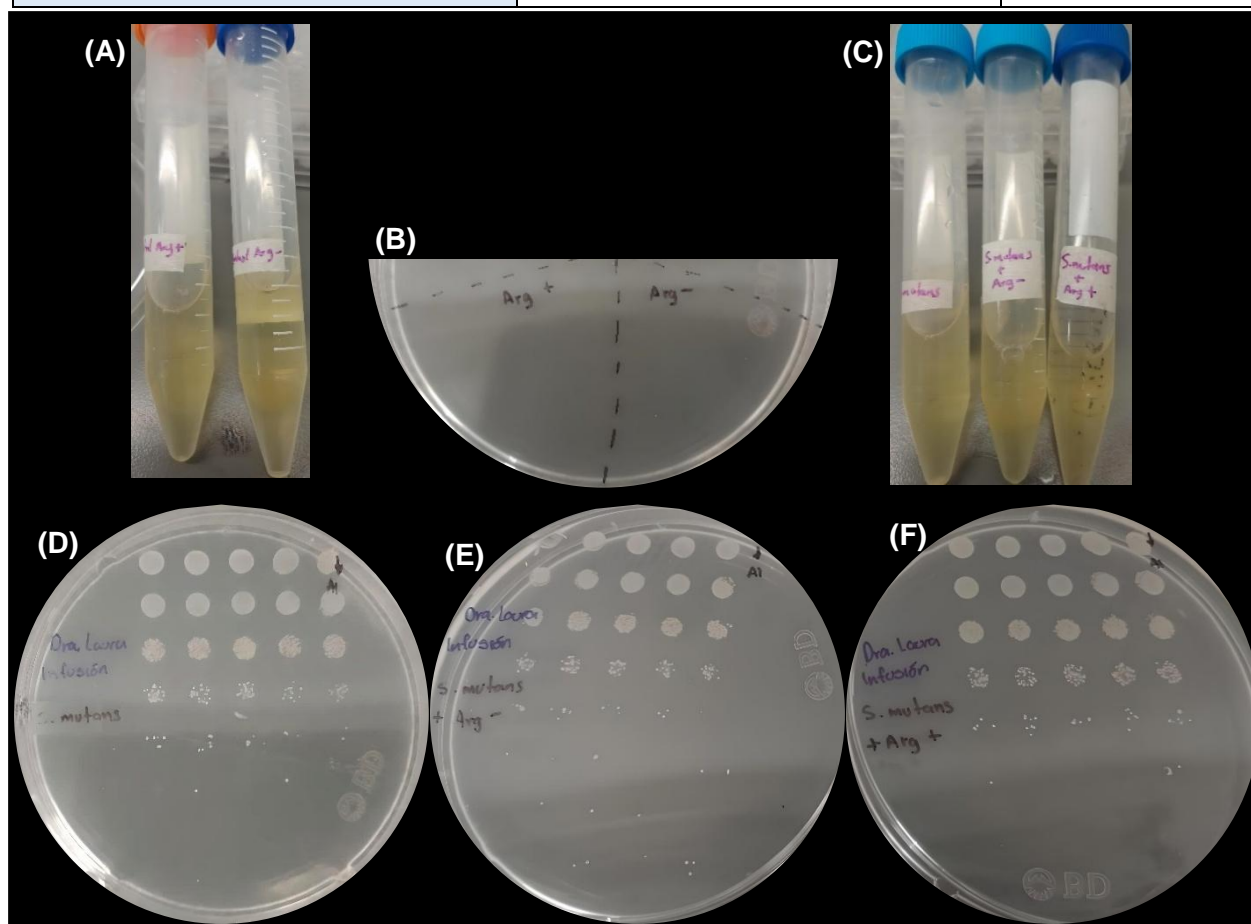


Figura 28. Resultados prueba antimicrobiana. (A) Control del medio BHI con películas, densidad óptica en membrana control 0.11 y experimental 0.15. (B) Comprobación de esterilidad de las películas en medio sólido BHI. (C) Crecimiento de *S. mutans* solo y en presencia de películas control y con Arginina. (D) Placas de BHI sólido con *S. mutans* solo. (E) Placas de BHI sólido con *S. mutans* y en presencia de película control. (F) Placas de BHI sólido con *S. mutans* y en presencia de película experimental.

Fuente propia.

10. DISCUSIÓN

La optimización de los tratamientos ortodóncicos, en términos de eficacia y duración, ha sido una de las principales motivaciones en la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas. En este contexto, la L-Arg ha sido de interés debido a los resultados alentadores observados en los estudios realizados en modelos murinos (46-49). Sin embargo, su potencial aplicación en humanos continúa sin ser plenamente explorada. Es por ello, que el presente estudio se centró en la elaboración de películas mucoadhesivas de quitosano, carboximetilcelulosa y glicerol con la incorporación de la L-Arg al 10% y en su caracterización con diversas pruebas fisicoquímicas y antimicrobianas, las cuales fueron; interacción entre sus grupos funcionales, desintegración, grosor, microestructura, porosidad, rugosidad, porcentaje de alargamiento a la rotura, capacidad de hinchamiento, ángulo de contacto, pH del medio y actividad antibacteriana. A continuación, se analizan y discuten los resultados obtenidos a partir de dichas pruebas, los cuales fueron contrastados con la literatura científica, lo que permitió establecer su relevancia, limitaciones y el posible impacto clínico de estas películas en el ámbito de la ortodoncia.

10.1. Interacciones de los grupos funcionales

El análisis por FTIR permitió confirmar la presencia de los grupos funcionales característicos de los componentes utilizados en la formulación de las películas, así como evidenciar diferencias estructurales atribuibles a la incorporación de L-Arg en el grupo experimental.

En el espectro correspondiente al grupo control se observaron bandas típicas que coinciden con las reportadas por Indriyati et al. en películas poliméricas similares (81). Destaca una banda ancha alrededor de 3278 cm^{-1} , correspondiente a las vibraciones de estiramiento de los grupos $-\text{OH}$ y $-\text{NH}_2$ presentes en el quitosano, la carboximetilcelulosa y el glicerol. Las señales en 2923 cm^{-1} y 2882 cm^{-1} se atribuyen al estiramiento de enlaces C-H alifáticos, mientras que el pico en 1642 cm^{-1} puede asociarse al estiramiento del grupo carbonilo C=O, correspondiente a la amida I del CH o a grupos carboxilos de la CMC. Adicionalmente, la señal en 1562 cm^{-1} es indicativa del estiramiento del grupo N-H (amida II), mientras que las bandas en el intervalo de 1400 a 1375 cm^{-1} reflejan vibraciones de deformación de grupos $-\text{CH}_2$ y $-\text{CH}_3$ (53).

En comparación, el espectro del grupo experimental presentó variaciones significativas, lo que sugiere una interacción efectiva entre este aminoácido y la matriz polimérica. En particular, se evidenció un incremento en la intensidad y anchura de la banda en la región 3300–3100 cm^{-1} , lo cual puede atribuirse a la presencia de los grupos amino primario y guanidino de la L-Arg, que intensifican las vibraciones asociadas a enlaces N–H y O–H debido a la formación de puentes de hidrógeno con los polímeros. Asimismo, se detectó una ligera modificación en la señal cercana a los 1620 cm^{-1} , que podría relacionarse con el grupo C=N de la estructura guanidínica, o bien con una alteración en las interacciones intermoleculares de los carbonilos y grupos amino, producto de enlaces iónicos o de hidrógeno (40).

Adicionalmente, se observaron cambios sutiles en la región de 1400–1200 cm^{-1} , que pueden estar asociados a interacciones electrostáticas entre los grupos carboxilo de la L-Arg y los grupos amino del quitosano (54). Estas interacciones intermoleculares no sólo evidencian la integración química del principio activo en la matriz, sino que también produjo modificaciones en la estructura molecular y generó un impacto en las propiedades físicas y químicas de la película, como se discute en los siguientes apartados.

10.2. Desintegración

La integridad física de una película delgada para liberación sostenida de un fármaco es un factor crucial para su desempeño en el medio oral, así como también durante la fabricación y manejo del producto (40). Uno de los parámetros para evaluar esta integridad de las películas fue la prueba de desintegración, teniendo como objetivo principal determinar la estabilidad estructural de las matrices poliméricas frente a un entorno simulado de la cavidad oral durante un periodo prolongado. Los resultados obtenidos mostraron que, tanto las películas del grupo control como las del grupo experimental, no se desintegraron tras 12 horas de inmersión, manteniendo una matriz coherente al finalizar el periodo de análisis. Esta observación se mantuvo de manera consistente en las tres repeticiones realizadas por cada grupo, lo que refuerza la reproducibilidad del comportamiento observado. El hecho de que ambas formulaciones conservaran su integridad estructural sugiere una adecuada interacción entre los

polímeros principales, el quitosano y la carboximetilcelulosa, y el glicerol como plastificante. De acuerdo con lo reportado por Castello et al., además de mejorar la flexibilidad del sistema, el glicerol puede favorecer la formación de enlaces intermoleculares, lo que contribuye a una mayor cohesión y estabilidad de la matriz polimérica (28). Este comportamiento estructural es congruente con estudios previos que destacan la estabilidad de sistemas basados en quitosano (27, 40, 43, 44, 60) y de quitosano con carboximetilcelulosa (51, 53) por su capacidad de formar películas delgadas resistentes al medio húmedo.

No obstante, otros estudios como el de Hachity et al., han reportado la desintegración completa en los primeros minutos de películas formuladas con biopolímeros bajo condiciones similares, en donde utilizan concentraciones más altas de glicerol, al 15% y 20%, pero que, en concentraciones bajas de glicerol, al 1%, 3%, 5% y 10% fueron reportadas como no desintegradas en un lapso de 24 horas. En ese sentido, la estabilidad observada en las formulaciones de este estudio, que incluye un porcentaje bajo de glicerol, puede indicar una composición y procesamiento óptimo para aplicaciones que demandan resistencia en entornos húmedos como la cavidad oral.

La ausencia de desintegración observada en las películas sugiere una liberación prolongada de la L-Arg, lo cual resulta fundamental para mantener concentraciones terapéuticas eficaces en el sitio de aplicación sin requerir reemplazos frecuentes. Esta propiedad es relevante en el contexto de interés del presente estudio, donde se busca que el biopolímero permanezca adherido a la mucosa bucal al menos 8 horas, asegurando una acción sostenida.

Sin embargo, sería pertinente en futuros estudios ampliar el tiempo de evaluación y considerar más condiciones dinámicas que simulen con mayor realismo el entorno bucal, incluyendo, por ejemplo, la presión de los tejidos bucales como carrillos con los que estaría en constante roce, si está pensada a adherirse a la mucosa vestibular.

10.3. Grosor

La evaluación del grosor de películas delgadas constituye un parámetro crítico en el desarrollo de sistemas de liberación mucoadhesiva destinados a la cavidad oral, ya que dicho espesor se encuentra directamente relacionado con la precisión de la dosis

incorporada en la matriz polimérica, además de ser determinante para lograr una adecuada bioadhesión (73). Asimismo, desde el punto de vista de la comodidad y la practicidad de uso, Joshi et al., han establecido que una película bucal ideal no debe superar los 400 μm de espesor, a fin de resultar imperceptible al usuario y poseer una adhesividad adecuada que evite su desprendimiento de la mucosa oral (42).

En el presente estudio se observó que las películas del grupo control presentaron un grosor promedio de 251 μm , mientras que las del grupo experimental un promedio significativamente menor de 158 μm . Esta disminución en el espesor podría atribuirse a una buena interacción entre los componentes de la matriz polimérica y la L-Arg, la cual, al ser un aminoácido hidrofílico con grupos funcionales polares, podría haber interferido en la reticulación y disposición tridimensional de las cadenas de quitosano y carboximetilcelulosa, resultando en una estructura más compacta durante el secado reduciendo el espesor final de la película.

Estudios han reportado valores de grosor variables dependiendo de la composición, método de preparación y condiciones de secado de las películas. Por ejemplo, Timur et al., desarrollaron películas mono y bicapa para administración bucal y reportaron espesores promedio entre 100 y 500 μm en películas monocapa de quitosano, rangos que son consistentes con nuestros resultados, situando nuestras formulaciones dentro de los valores aceptables para aplicaciones orales (20).

Por otra parte, Yildiz Pekoz et al., proponen que el espesor ideal de las películas bucales varía entre 50 y 100 μm . Ellos obtuvieron películas sumamente delgadas de 37 a 39 μm , atribuyendo que el espesor de la película se explica por la viscosidad del gel inicial (73). Sin embargo, una película excesivamente delgada puede comprometer su integridad mecánica o reducir el tiempo de permanencia en el sitio de aplicación. Por tanto, la formulación experimental desarrollada en este estudio, con un grosor promedio de 158 μm , se encuentra dentro de un rango funcional para uso en cavidad oral.

Por otro lado, las variaciones observadas en las mediciones de grosor dentro de una misma película pueden explicarse por el fenómeno descrito por Alopaeus et al., quienes atribuyen estas diferencias al proceso de secado (59). En su estudio, a pesar de que las películas húmedas fueron preparadas con un espesor uniforme inicial de aproximadamente 1000 μm , el secado natural produjo contracciones diferenciales,

especialmente entre la zona central y los bordes. Este comportamiento también fue evidenciado en el presente estudio, donde, en el grupo experimental, el espesor varió entre 148 y 188 μm . De manera similar, Alopaeus et al. reportaron rangos de espesor final entre 70 y 235 μm , lo que apoya la idea de que la distribución del material y las condiciones de secado influyen significativamente en la homogeneidad del grosor (59). Por tanto, se sugiere optimizar la técnica de vertido, especialmente incrementando la cantidad de solución depositada en las regiones periféricas, con el fin de minimizar estas variaciones durante el secado y lograr una película más uniforme.

10.4. Microestructura y porosidad

El análisis de microestructura mediante SEM es una técnica ampliamente utilizada para estudiar la organización superficial y detalles submicroscópicos de los sistemas de administración de fármacos en matrices poliméricas (76). Permite observar directamente la morfología del material, su nivel de compactación, presencia de poros, proyecciones y otros elementos topográficos que pueden influir en su desempeño biofuncional.

En el presente estudio, las imágenes obtenidas a diferentes aumentos revelaron leves diferencias morfológicas entre las películas del grupo control y las del grupo experimental, pero ambas mantuvieron una superficie uniforme, lo que sugiere una buena integración entre sus componentes (53) pero no totalmente lisa, se observaron ciertas elevaciones y la ausencia de poros.

Estas observaciones concuerdan con lo reportado en la literatura, en estudios como el de Hachity-Ortega et al., (63) y Galo Cárdenas et al., (74) se ha demostrado que la incorporación de compuestos activos o plastificantes pueden modificar la morfología de películas de quitosano, generando estructuras con microproyecciones.

Asimismo, la ausencia de poros en ambas formulaciones sugiere una estructura cerrada y compacta, lo cual es deseable en aplicaciones donde se busca controlar la liberación del principio activo, evitar una disolución rápida e inhibir la penetración de bacterias, como lo reporta Pérez-Gutiérrez et al., quienes reportaron morfologías superficiales en sus membranas comparables a las observadas en el presente estudio. Dichas membranas estaban compuestas por matrices poliméricas con los mismos componentes; CMC, CH y glicerol empleados como vehículos (76).

Han et al., utilizaron de igual manera el SEM para evaluar la porosidad en películas de carboximetilcelulosa, ellos obtuvieron imágenes de las superficies superiores y de cortes transversales similares a las de este estudio. Los autores atribuyen la formación de poros a la velocidad del proceso de desmezcla, el cual influye de manera determinante en la morfología final de las membranas. En este sentido, una desmezcla instantánea favorece la aparición de macrohuecos o poros de gran tamaño, mientras que una desmezcla más lenta propicia la generación de estructuras más densas y compactas. Asimismo, señalan que un incremento en la viscosidad de la solución precursora de la película retarda el proceso de solidificación, lo que inhibe la desmezcla rápida. Este fenómeno conduce a la supresión de macrohuecos y a la formación de una arquitectura interna más uniforme y densa (75). En concordancia con estos hallazgos, la viscosidad obtenida en esta mezcla y el secado lento implementado durante la elaboración de las películas en el presente estudio resulta favorable, ya que contribuye a minimizar la porosidad, permitiendo la obtención de películas homogéneas y libres de poros. La ausencia de poros y la estructura compacta observada tiene un impacto en el perfil de liberación del principio activo, ya que limita la difusión inmediata del mismo, favorece una liberación más controlada y sostenida en el tiempo.

10.5. Rugosidad

Estudiar la rugosidad superficial en estas películas es relevante, ya que se ha reportado que una mayor rugosidad puede favorecer la adhesión al incrementar el área de contacto disponible entre las superficies involucradas (43). En este estudio, inicialmente se intentó utilizar AFM para la caracterización topográfica de las películas, sin embargo, se identificó una limitación técnica importante, el equipo utilizado poseía un rango de escaneo máximo de 3 μm , lo cual resultó insuficiente para capturar con precisión la rugosidad real de estas películas. Las imágenes obtenidas se restringieron a una escala nanométrica que, si bien permitía observar estructuras superficiales finas, no reflejaban el relieve real de las películas a una escala más representativa del uso clínico. Esto coincide con lo reportado por Galo Cárdenas et al., quienes señalan que el AFM, aunque útil para análisis de nanoestructura, puede subestimar las irregularidades de superficies heterogéneas si se trabaja fuera de su rango óptimo (74).

Por tal motivo se empleó un medidor de rugosidad superficial SurfTest SJ-301 Series (Mitutoyo Corporation, Kawasaki, Kanagawa, Japón) que permitió realizar un análisis más adecuado de las películas en estudio. En el grupo control se obtuvieron valores promedio de $R_a = 7.58 \mu\text{m}$, $R_z = 34.50 \mu\text{m}$ y $R_q = 8.95 \mu\text{m}$. Por otro lado, el grupo experimental presentó valores promedio de $R_a = 7.46 \mu\text{m}$, $R_z = 38.08 \mu\text{m}$ y $R_q = 9.42 \mu\text{m}$. Estos resultados indican que, aunque la rugosidad promedio (R_a) fue ligeramente menor en el grupo experimental, los valores de rugosidad máxima (R_z) y rugosidad cuadrática media (R_q) fueron más altos en comparación con el grupo control. Esto sugiere que la adición de L-Arg pudo haber inducido una redistribución superficial del material, generando picos y valles más pronunciados, sin alterar de forma significativa la rugosidad media general. Este comportamiento podría estar relacionado con interacciones moleculares entre los grupos funcionales de la L-Arg y la matriz polimérica, lo que habría provocado una organización más heterogénea en la superficie, como se ha señalado en estudios previos como el de Han et al. (75).

Galo Cárdenas et al., respaldan esta observación al demostrar que la presencia de cualquier aditivo puede modificar la rugosidad superficial de una película de quitosano. No obstante, señalan que la incorporación de plastificantes, como el glicerol, tiende a generar superficies más homogéneas, lo que mejora propiedades como la suavidad de la película (74).

De forma complementaria, Hachity-Ortega et al. evidencian que la inclusión de aditivos como el glicerol en películas de quitosano puede modificar significativamente su topografía superficial, dependiendo de la proporción utilizada y de la compatibilidad entre los componentes (63). En el presente estudio, dado que la concentración de glicerol se mantuvo constante en ambas formulaciones, se atribuye a la incorporación de L-Arg la modificación observada en la microtopografía del sistema.

Desde un punto de vista funcional, una mayor rugosidad puede favorecer el anclaje de las películas sobre superficies húmedas o irregulares, como las mucosas orales, mejorando así su capacidad mucoadhesiva (67). Sin embargo, una rugosidad excesiva podría actuar como una barrera física, ralentizando la liberación del principio activo o, por otro lado, facilitar la colonización bacteriana (76). Por lo tanto, la caracterización de la rugosidad no solo constituye un indicador físico, sino también un parámetro funcional

clave en el diseño de sistemas terapéuticos. Actualmente, no se ha establecido un rango óptimo de rugosidad para películas mucoadhesivas con características similares a las evaluadas en este estudio. Sin embargo, investigaciones como la realizada por Yoda et al., han demostrado que incluso valores promedio de Ra muy bajos pueden influir en la adhesión bacteriana. En dicho estudio, se observó que superficies con una Ra de 30 nm ya favorecían la adhesión de *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) sobre diversos biomateriales. No obstante, los autores concluyen que la adhesión microbiana es un fenómeno multifactorial, y que es poco probable que pueda atribuirse exclusivamente a una sola propiedad de la superficie, como la rugosidad (83).

10.6. Porcentaje de alargamiento a la rotura

Para que una película delgada sea un vehículo efectivo y permita su fabricación, manipulación y colocación es fundamental poseer propiedades mecánicas adecuadas, una resistencia intermedia y cierta flexibilidad para promover y facilitar la interacción con la mucosa (59). La literatura reporta que las propiedades mecánicas pueden ser evaluadas mediante ensayos de resistencia a la tracción, resistencia a la perforación, el módulo elástico, la resistencia al plegado y el alargamiento a la rotura (41), siendo este último el realizado en este trabajo.

El análisis del porcentaje de alargamiento a la rotura permitió evaluar la capacidad de deformación de las películas formuladas antes de sufrir fractura, parámetro directamente relacionado con la ductilidad, flexibilidad y la resistencia mecánica del material. En este estudio, las películas del grupo control, compuestas por quitosano, carboximetilcelulosa y glicerol, presentaron un promedio de elongación del 33.25%. En contraste, las películas del grupo experimental, que incluyeron además un 10% de L-Arg, mostraron un valor promedio superior, alcanzando el 39.66%. Este incremento en el porcentaje del grupo experimental sugiere una mejora en la flexibilidad inducida por la adición de L-Arg. La L-Arg, al ser un aminoácido con múltiples grupos funcionales, particularmente grupos amino (8), podría estar interactuando mediante enlaces de hidrógeno o interacciones iónicas con los grupos funcionales presentes en el quitosano y la carboximetilcelulosa. Estas interacciones pueden contribuir a una red polimérica más cohesionada, pero a la vez más flexible, lo que permitiría una mayor deformación antes de la fractura. Este

comportamiento es consistente con lo reportado por Wang et al., ellos explican que el grupo -NH_2 de la L-Arg se combina con el grupo -COOH del quitosano para formar un enlace amida, ya que en sus películas modificadas con L-Arg observaron una mejor resistencia mecánica en comparación con las películas de quitosano solo (40).

Asimismo, la presencia de L-Arg podría estar generando un efecto plastificante adicional, complementario al del glicerol, como lo reporta en su investigación Castello et al., donde la elongación máxima de sus películas aumentó con la incorporación de glicerol a películas de quitosano solo, de un 17.4% a un 22.7%, reduciendo las interacciones entre cadenas poliméricas rígidas y favoreciendo la movilidad de estas (28).

Batista et al., corroboran en su estudio que las propiedades mecánicas de una película bucal de quitosano pueden mejorarse mediante la adición de plastificantes, esto ocurre porque las moléculas que se interponen entre las cadenas poliméricas y el plastificante interactúan con sus grupos funcionales y aumentan la movilidad, flexibilidad y tenacidad de las películas. Ellos obtuvieron resultados promedio de porcentajes de alargamiento de 20.06 a 20.27% (65).

Dahiya et al., reafirma este mecanismo, explica que las moléculas de plastificante se interponen entre las hebras individuales del polímero, descomponiendo así en gran medida las interacciones polímero-polímero. Esta acción se facilita ya que la interacción polímero-plastificante se considera más fuerte que la interacción polímero-polímero, lo que proporciona mayor oportunidad para que las hebras de polímero se muevan entre sí, y se transforman las películas duras y frágiles en una forma más flexible y resistente (66). Como ya se ha mencionado con anterioridad, no existen estándares universales recomendados por la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos) o alguna farmacopea como la USP (Farmacopea de los Estados Unidos) que se encuentren disponibles para evaluar atributos mecánicos de películas mucoadhesivas orales, sin embargo, gracias a investigaciones como la de Khan et al., informan que el porcentaje medio de alargamiento a la rotura para películas delgadas idealmente debería estar entre el 30% y el 60%, lo que es indicativo de un equilibrio adecuado entre flexibilidad y elasticidad. Valores más altos pueden afectar negativamente los pasos de fabricación, incluido el proceso de corte, el envasado, la manipulación y colocación por parte del paciente (61). Los resultados obtenidos en el presente estudio son favorables,

ya que se encuentran dentro del rango óptimo sugerido por Khan et al., indicando un equilibrio adecuado entre flexibilidad y elasticidad en las películas analizadas.

Preis et al. robustecen lo anterior, afirmaron que una alta flexibilidad en las películas puede ser una desventaja; ocasionar cortes no homogéneos y, por consiguiente, variaciones en la carga del fármaco. Asumieron que un porcentaje de elongación de 6.5% es suficiente para una manipulación sin daños, una correcta producción y posible uso farmacéutico de películas (62).

10.7. Índice de hinchamiento

Este ensayo permite evaluar la capacidad del material para absorber fluidos sin perder su integridad, lo cual tiene una relación directa entre la tasa de hidratación, mucoadhesión y liberación controlada de compuestos activos; a medida que se produce hinchamiento, habrá una liberación del fármaco (44). Los resultados obtenidos arrojaron un comportamiento similar en ambos grupos transcurridos los primeros 5 minutos de inmersión en saliva, el grupo control presentó un índice de hinchamiento promedio de 77.50% mientras que el grupo experimental un 70.25%, lo cual indica que las primeras etapas de contacto con el medio acuoso ambas formulaciones absorbieron fluido de manera moderada. Sin embargo, a los 60 minutos se observó una diferencia más pronunciada, el grupo control tuvo un índice promedio de 246.95% mientras que en el grupo experimental presentó un hinchamiento mayor, con un promedio de 392.71%. Esto sugiere que la adición de L-Arg incrementa la capacidad del sistema para hincharse y, por consiguiente, liberar este principio activo al medio.

Como lo reporta Wang et al., la L-Arg al ser un aminoácido polar, la convierte en una sustancia hidrofílica, la cual mejora esta capacidad al mezclarse con quitosano y presentar grupos altamente hidrofílicos como -OH, -NH₂ y -COOH (40). Sin embargo, esto podría generar un aumento en la capacidad de retención de agua y comprometer la integridad estructural del sistema. Lo cual no ocurrió en este estudio, ya que la integridad de las películas se mantuvo estable conforme a lo observado en la prueba de desintegración.

Esto es de especial interés, ya que un mayor grado de hinchamiento en otros estudios, como el de Khan et al., quien reportó índices de 2630% y 1197% después de 20 minutos

en películas con L-Arg, está asociado a una desintegración acelerada del sistema debido a la ruptura de la red polimérica por exceso de hidratación debido a la gran cantidad de -OH disponibles (61). Comparando esto con los resultados de este estudio, donde se obtuvieron índices de hinchamientos mayores a 300%, no se observó desintegración tras 12 horas de inmersión en saliva artificial, lo que indica una matriz robusta, probablemente estabilizada por las interacciones químicas de sus componentes (40). Esto se ve respaldado por De Moura et al., quienes reportaron una mejora en la disminución de la solubilidad de sus películas al incorporar CMC y CH, afirmando que este compuesto reduce las interacciones entre los biopolímeros y las moléculas del agua (64). Esto contribuye a que los sistemas basados en quitosano y carboximetilcelulosa mantienen un equilibrio adecuado entre hinchamiento e integridad estructural, permitiendo que el material se hidrate sin colapsar.

Por tanto, el notable aumento en la capacidad de hinchamiento del grupo experimental podría tener implicaciones beneficiosas en términos de su aplicación terapéutica, ya que una mayor hidratación podría favorecer una mejor adhesión a la mucosa oral y una liberación prolongada de la L-Arg.

10.8. Ángulo de contacto

Uno de los parámetros para la evaluación de la bioadhesión de una película mucoadhesiva, es la medición del ángulo de contacto, ya que está directamente relacionado con la hidrofiliidad de la superficie, y por ende con su capacidad de interacción con medios biológicos acuosos, como la mucosa oral (40). La teoría de humectación considera una superficie hidrófila cuando un ángulo de contacto es menor de 90°, cuando el ángulo de contacto es mayor de 90°, la superficie se considera hidrófoba (67). Esto es muy consistente en la literatura, afirmando que superficies más hidrofílicas, es decir, con menores ángulos de contacto, tienden a mostrar mejores propiedades mucoadhesivas y mayor capacidad de interacción con fluidos biológicos (41).

En el presente estudio se observó una disminución en el valor del ángulo de contacto en las películas del grupo experimental (36.79°) en comparación con las películas grupo control (50.83°), lo cual indica un aumento en la hidrofiliidad de las formulaciones al

incorporar L-Arg al 10%. En el caso específico de las películas elaboradas con quitosano, la inclusión de L-Arg mejora esta propiedad, según lo reportado por Wang et al., al ser un aminoácido polar, posee una naturaleza hidrofílica que se ve potenciada al combinarse con el quitosano. Esta mezcla da lugar a una superficie rica en grupos funcionales altamente hidrofílicos, como -OH, -NH₂ y -COOH, lo que contribuye significativamente a mejorar la afinidad por el agua (40).

La arginina, además de su carácter hidrofílico, aporta cualidades que la hacen interactuar iónicamente con la mucosa. Estos resultados están en línea con el estudio realizado por Alaei y Omidian, quienes señalan que los aditivos catiónicos o cargados positivamente, por ejemplo, algunos aminoácidos, como la L-Arg, pueden modificar favorablemente la interacción superficie-liquido en matrices poliméricas destinadas a la administración mucoadhesiva (41).

Asimismo, se ha reportado que combinaciones de biopolímeros, como el quitosano y la carboximetilcelulosa ya presentan ángulos de contacto hidrofílicos, lo que concuerda con los valores obtenidos para el grupo control de este estudio (51). Sin embargo, la incorporación de L-Arg mostró un menor ángulo de contacto, tal como lo evidencia también las modificaciones de superficies poliméricas reportada por Lucano-Sánchez et al., quienes destacan que la incorporación de compuestos funcionales (-OH) aumenta la energía superficial, el comportamiento frente al agua y la capacidad de hinchamiento (68). El resultado obtenido en el grupo experimental no solo indica un aumento en la hidrofiliidad, sino que también refuerza su relación con otras propiedades físicas y mecánicas de las películas, como el hinchamiento, la desintegración y la liberación del principio activo, las cuales están estrechamente vinculadas entre sí.

10.9. pH del medio

La evaluación del pH del medio es fundamental para comprender cómo un sistema de liberación de fármacos puede influir en el entorno bucal y asegurar que no provoque alteraciones hacia valores excesivamente ácidos o básicos, lo cual resultaría desfavorable para la mucosa oral (55). Los resultados obtenidos en este estudio mostraron que las películas del grupo control generaron cambios en el pH del medio, elevándose progresivamente desde 7.08 a 7.22 tras dos horas de inmersión; esta ligera

alcalinización podría atribuirse a la naturaleza de los componentes, principalmente de carboximetilcelulosa y glicerol. En contraste, las películas del grupo experimental mostraron un aumento del pH más rápido desde el primer minuto, alcanzando un valor de 8.02 después de 2 horas. Este comportamiento sugiere la liberación de L-Arg en el medio, un aminoácido descrito en la literatura como fuertemente básico, con un pH reportado de 11.4 en solución al 10% (69).

Según lo reportado por Abdella et al., para evitar la irritación de la mucosa bucal, es fundamental que el pH superficial de las películas mucoadhesivas se aproxime al de la saliva, cuyo rango fisiológico oscila entre 6.5 y 7.5 (70). En concordancia con esta premisa, Shinkar et al., afirman que un pH entre 5.5 y 7.0 es bien tolerado y no provoca irritaciones en la mucosa oral (71). No obstante, en el presente estudio se evaluó el pH de un medio simulado utilizando saliva artificial, la cual presentaba un pH inicial de 7.08, ligeramente básico. Este valor confiere al medio un carácter alcalino desde el inicio, por lo que es importante considerar este factor para evitar interpretaciones erróneas.

Por otro lado, diversos estudios han documentado el uso de L-Arg como agente regulador del pH bucal, particularmente en el contexto de la prevención de la desmineralización dental y el tratamiento de caries incipientes. Estas investigaciones han demostrado que los pacientes con un pH salival más alcalino presentan un menor riesgo de desarrollar caries (72). Cabe destacar que la L-Arg ya se encuentra incorporada en productos comerciales como dentífricos y colutorios, lo cual respalda que este rango de pH no resulta perjudicial para la salud de los tejidos orales.

En conjunto, los resultados de esta prueba respaldan el potencial de esta película como un vehículo eficaz para la liberación de L-Arg en el medio bucal, favoreciendo además a un entorno menos ácido. Esta propiedad podría traducirse en beneficios clínicos, especialmente en pacientes con riesgo de caries, al promover un microambiente más alcalino que inhiba el crecimiento de microorganismos acidogénicos.

10.10. Actividad antimicrobiana

El diseño de sistemas mucoadhesivos para aplicaciones orales representa una estrategia prometedora debido a su capacidad para liberar principios activos de manera localizada y sostenida. En este contexto, es fundamental que su permanencia en la cavidad bucal

no propicie la colonización bacteriana (45) en particular por especies cariogénicas como *S. mutans*, uno de los microorganismos patógenos orales importantes, no solo porque provoca enfermedades en cavidad bucal, sino también por su capacidad para invadir diferentes tejidos y órganos a través del torrente sanguíneo (63).

En el presente estudio se observó un resultado particularmente interesante, la película del grupo control no promovió el crecimiento bacteriano e incluso mostró una ligera reducción en comparación con el grupo sin película. Este hallazgo sugiere que los componentes de la matriz polimérica, especialmente el CH, podrían haber ejercido una actividad antimicrobiana. El CH es ampliamente reconocido por su capacidad para interactuar con las membranas bacterianas mediante mecanismos electrostáticos, provocando alteraciones en su integridad, pérdida de componentes intracelulares y eventual muerte celular (82, 84).

Cetin et al., demostraron que las membranas formuladas a base de quitosano exhiben una actividad antimicrobiana significativa frente a *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) y *Escherichia coli* (*E. coli*), lo cual sustenta la hipótesis de que dicho biopolímero puede desempeñar un papel clave en la inhibición de la colonización bacteriana por cepas tanto grampositivas como gramnegativas (80). Existen numerosas revisiones bibliográficas que analizan esta actividad antibacteriana del quitosano, Li et al., resaltan que esta se puede ver afectada por numerosos factores, como el tipo de microorganismo, el peso molecular del quitosano, su densidad óptica, el pH, la temperatura, modificaciones químicas, entre otras (77).

No obstante, estudios como los de Kusmono y Abdurrahim (78), así como el de Pérez-Gutiérrez (76), emplearon la técnica del halo de inhibición para evaluar la actividad antimicrobiana de películas de quitosano, sin observar zonas claras de inhibición. En consecuencia, los autores proponen complementar dicha evaluación con el recuento de UFC, ya que este método permite obtener datos más precisos y cuantificables sobre la eficacia real del material frente a la proliferación bacteriana.

Por otro lado, las membranas experimentales con un 10 % de L-Arg evidenciaron un ligero incremento en el crecimiento de *S. mutans* en comparación con el grupo control, un resultado poco esperado considerando que la L-Arg, como aminoácido de carácter básico, se asocia con la generación de un entorno menos ácido y, por ende, menos

favorable para el crecimiento de bacterias acidúricas. Sin embargo, es relevante destacar que dicho incremento fue moderado y no correspondió a un crecimiento exponencial ni descontrolado. A pesar de que este comportamiento no favorece directamente el efecto antibacteriano deseado, no debe considerarse un hallazgo negativo. Por el contrario, abre la posibilidad de ajustar las concentraciones de L-Arg o combinarla con otros agentes antimicrobianos con el fin de potenciar su eficacia. Considerando lo anterior, diversos estudios han evidenciado que la incorporación de aditivos a las películas base quitosano puede potenciar significativamente su actividad antimicrobiana, como Khubiev et al., han reportado que la adición de compuestos como nanopartículas metálicas, nanomateriales de carbono, por ejemplo, grafeno, y extractos vegetales, mejora notablemente la eficacia antimicrobiana de estas matrices poliméricas (79). En línea con esta perspectiva, Indriyati et al., desarrollaron películas con una composición similar a la propuesta en el presente estudio, empleando quitosano como agente antimicrobiano natural, carboximetilcelulosa como agente homogeneizante, glicerol como plastificante, y celulosa bacteriana como aditivo funcional. Los ensayos de caracterización realizados por dichos autores demostraron que estas películas fueron eficaces en la inhibición del crecimiento microbiano, lo que refuerza su potencial aplicación como materiales con propiedades antimicrobianas mejoradas (81).

Adicionalmente, la L-Arg ha sido reconocida por su capacidad de modular la microbiota oral, favoreciendo el crecimiento de especies no acidogénicas y contribuyendo a la neutralización del pH en la cavidad bucal. En este sentido, investigaciones como la de Herrera-Guardiola han destacado los beneficios de la L-Arg como aditivo en formulaciones de quitosano para múltiples aplicaciones en la salud bucodental (82).

En conjunto, estos hallazgos resaltan la necesidad de realizar una caracterización más amplia del comportamiento microbiológico de los sistemas poliméricos diseñados para aplicaciones clínicas. Si bien la inclusión de L-Arg en la formulación no produjo una inhibición directa del crecimiento bacteriano, la película control evidenció un potencial efecto antimicrobiano atribuible al quitosano, lo que abre la posibilidad de continuar optimizando este tipo de sistemas. Futuros trabajos podrían enfocarse en modular la tasa de liberación de arginina, combinarla con otros compuestos bioactivos o evaluar su

impacto sobre la composición general del biofilm oral. Así, se podrán diseñar plataformas más eficaces y seguras.

11. CONCLUSIÓN

El estudio realizado ha demostrado que estas formulaciones presentan características favorables para su aplicación potencial en tratamientos ortodónticos. Las interacciones observadas entre la L-Arg y los componentes de la película, evidenciadas mediante espectroscopía infrarroja (FTIR), sugieren una integración efectiva de este aminoácido en la matriz polimérica, lo que modifica las propiedades estructurales y físicas de las películas, sin comprometer su estabilidad.

Los resultados obtenidos en términos de desintegración, grosor, microestructura, rugosidad y alargamiento a la rotura indican que las películas experimentales con L-Arg poseen una flexibilidad adecuada, lo que facilita su manipulación y colocación en la mucosa oral, y una estructura compacta que favorece la liberación controlada del principio activo. La mejora en la capacidad de hinchamiento y la hidrofiliidad también resalta el potencial de adherirse a la mucosa y liberar el elemento terapéutico.

Aunque la actividad antimicrobiana observada fue moderada, con una ligera reducción en el crecimiento de *S. mutans* en las películas del grupo control, las películas experimentales mostraron un leve aumento en la proliferación bacteriana. Este hallazgo sugiere que la concentración de L-Arg podría necesitar ajustes o una combinación con otros agentes antimicrobianos para mejorar su eficacia en la prevención de infecciones. En conclusión, las películas mucoadhesivas desarrolladas en este estudio presentan un alto potencial como sistemas de liberación controlada de L-Arg en la cavidad bucal, exhibiendo propiedades fisicoquímicas favorables para su posible aplicación en tratamientos ortodónticos. No obstante, se requieren estudios adicionales para optimizar la formulación, evaluar su eficacia clínica a largo plazo y mejorar su actividad antimicrobiana, posiblemente mediante la combinación con otros compuestos bioactivos.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Proffit WR. Ortodoncia: teoría y práctica. Bases biológicas del tratamiento ortodóncico. Madrid: Harcourt Brace; 1994. p. 266–288.
2. Huang H, Williams R, Kyrkanides S. Accelerated orthodontic tooth movement: molecular mechanisms. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2014;146(5):620–32.
3. Abbing A, Koretsi V, Eliades T, Papageorgiou SN. Duration of orthodontic treatment with fixed appliances in adolescents and adults: a systematic review with meta-analysis. *Prog Orthod.* 2020;21(1):37.
4. Wishney M. Potential risks of orthodontic therapy: a critical review and conceptual framework. *Aust Dent J.* 2017;62 Suppl 1:86–96.
5. Li Y, Zhan Q, Bao M, Yi J, Li Y. Biomechanical and biological responses of periodontium in orthodontic tooth movement: up-date in a new decade. *Int J Oral Sci.* 2021;13(1):20.
6. Isola G, Matarese M, Briguglio F, Grassia V, Picciolo G, Fiorillo L, Matarese G. Effectiveness of low-level laser therapy during tooth movement: a randomized clinical trial. *Materials.* 2019;12:2187.
7. Nimeri G, Kau CH, Abou-Kheir NS, Corona R. Acceleration of tooth movement during orthodontic treatment--a frontier in orthodontics. *Prog Orthod.* 2013;14(1):42.
8. Ledder RG, Mistry H, Sreenivasan PK, Humphreys G, McBain AJ. Arginine exposure decreases acidogenesis in long-term oral biofilm microcosms. *mSphere.* 2017;2(4):e00295-17.
9. Wu G, Meininger CJ, McNeal CJ, Bazer FW, Rhoads JM. Role of L-arginine in nitric oxide synthesis and health in humans. *Adv Exp Med Biol.* 2021;1332:167–87. doi:10.1007/978-3-030-74180-8_10
10. Yan T, Xie Y, He H, Fan W, Huang F. Role of nitric oxide in orthodontic tooth movement. *Int J Mol Med.* 2021;48(3).
11. Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J.* 2012;33:829–37.
12. Asiry MA. Biological aspects of orthodontic tooth movement: a review of literature. *Saudi J Biol Sci.* 2018;25:1027–32.

13. Adepu S, Ramakrishna S. Controlled drug delivery systems: current status and future directions. *Molecules*. 2021;26(19):5905.
14. Klein-Nulend J, van Oers RF, Bakker AD, Bacabac RG. Nitric oxide signaling in mechanical adaptation of bone. *Osteoporos Int*. 2014;25:1427–37.
15. Laffleur F, Bacher L, Vanicek S, Menzel C, Muhammad I. Next generation of buccadhesive excipient: preactivated carboxymethyl cellulose. *Int J Pharm*. 2016;500(1–2):120–7.
16. Marín Y, Nájera B. Formas farmacéuticas y vías de administración de uso más frecuente. En: Espinosa M, editor. *Farmacología y terapéutica en odontología: fundamentos y guía práctica*. México: Médica Panamericana; 2012. p. 9–15.
17. Golshani S, Vatanara A, Amin M. Recent advances in oral mucoadhesive drug delivery. *J Pharm Pharm Sci*. 2022;25:201–17.
18. Riccio BVF, Silvestre ALP, Meneguín AB, et al. Exploiting polymeric films as a multipurpose drug delivery system: a review. *AAPS PharmSciTech*. 2022;23:269.
19. Hosseinpour-Moghadam R, Mehryab F, Torshabi M, Haeri A. Applications of novel and nanostructured drug delivery systems for the treatment of oral cavity diseases. *Clin Ther*. 2021;43(12):377–402.
20. Timur SS, Yüksel S, Akca G, Şenel S. Localized drug delivery with mono and bilayered mucoadhesive films and wafers for oral mucosal infections. *Int J Pharm*. 2019;559:102–12.
21. Tran PHL, Duan W, Tran TTD. Recent developments of nanoparticle-delivered dosage forms for buccal delivery. *Int J Pharm*. 2019;571:118697.
22. Shirvan AR, Bashari A, Hemmatinejad N. New insight into the fabrication of smart mucoadhesive buccal patches as a novel controlled-drug delivery system. *Eur Polym J*. 2019;121:109321.
23. Lai KL, Fang Y, Han H, Li Q, Zhang S, Li HY, Lee WYT. Orally-dissolving film for sublingual and buccal delivery of ropinirole. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2018;163:9–18.
24. Gopi S, Amalraj A, Sukumaran NP, Haponiuk JT, Thomas S. Biopolymers and their composites for drug delivery: a brief review. *Macromol Symp*. 2018;380(1):1800114. doi:10.1002/masy.201800114

25. Gholamali I, Yadollahi M. Bio-nanocomposite polymer hydrogels containing nanoparticles for drug delivery: a review. *Regen Eng Transl Med*. 2021;7(2):129–46. doi:10.1007/s40883-021-00207-0
26. Kruk K, Winnicka K. Alginates combined with natural polymers as valuable drug delivery platforms. *Mar Drugs*. 2023;21(1):11.
27. Romero A, Pereira J. Review: Chitosan, a versátil biomaterial. State of the art from its obtaining to its multiple applications. *Rev Ing UC*. 2020;27(2):118–35.
28. Castelló ME, Anbinder PS, Amalvy JI, Peruzzo PJ. Production and characterization of chitosan and glycerol-chitosan films. *MRS Adv*. 2018;3(61):3601–10.
29. Rivero S, Damonte L, García MA, Pinotti A. An insight into the role of glycerol in chitosan films. *Food Biophys*. 2016;11(2):117–27.
30. Padmanabhan SK, Lamanna L, Friuli M, Sannino A, Demitri C, Licciulli A. Carboxymethylcellulose-based hydrogel obtained from bacterial cellulose. *Molecules*. 2023;28(2):829.
31. Suneetha M, Sun Moo O, Mo Choi S, Zo S, Rao KM, Han SS. Tissue-adhesive, stretchable, and self-healable hydrogels based on carboxymethyl cellulose-dopamine/PEDOT:PSS via mussel-inspired chemistry for bioelectronic applications. *Chem Eng J*. 2021;426:130847.
32. Sebti I, Delves-Broughton J, Coma V. Physicochemical properties and bioactivity of nisin-containing cross-linked hydroxypropylmethyl cellulose films. *J Agric Food Chem*. 2003;51(22):6468–74.
33. Silva AR, Carreira P, Santos C, Reis M, Mateus AI. Film: using electrospinning to create bioactive films. *Appl Mech Mater*. 2019;890:260–7.
34. Wang J, Jansen JA, Yang F. Electrospinning: possibilities and challenges of engineering carriers for biomedical applications – a mini review. *Front Chem*. 2019;7:398.
35. Thakkar R, Thakkar R, Pillai A, Ashour EA, Repka MA. Systematic screening of pharmaceutical polymers for hot melt extrusion processing: a comprehensive review. *Int J Pharm*. 2020;576:118989. doi:10.1016/j.ijpharm.2019.118989.

36. Yu J, Park SA, Kim WD, Ha T, Xin YZ, Lee J, et al. Current advances in 3D bioprinting technology and its applications for tissue engineering. *Polymers (Basel)*. 2020;12(12):1–30.
37. Dixit RP, Puthli SP. Oral strip technology: overview and future potential. *J Control Release*. 2009;139(2):94–107.
38. Anbukarasu P, Sauvageau D, Elias A. Tuning the properties of polyhydroxybutyrate films using acetic acid via solvent casting. *Sci Rep*. 2015;5:1–14.
39. Musazzi UM, Khalid GM, Selmin F, Minghetti P, Cilurzo F. Trends in the production methods of orodispersible films. *Int J Pharm*. 2020;576:118963.
40. Wang K, Qi Z, Pan S, Zheng S, Wang H, Chang Y, et al. Preparation, characterization and evaluation of a new film based on chitosan, arginine and gold nanoparticle derivatives for wound-healing efficacy. *RSC Adv*. 2020;10(35):20886–95.
41. Alaei S, Omidian H. Mucoadhesion and mechanical assessment of oral films. *Eur J Pharm Sci*. 2021;159:105727.
42. Joshi D, Garg T, Goyal AK, Rath G. Advanced drug delivery approaches against periodontitis. *Drug Deliv*. 2016;23(2):363–77.
43. Cardenas G, Anaya P, del Rio R, Schrebler R, Von Plessing C, Schneider M. Scanning electron microscopy and atomic force microscopy of chitosan composite films. *J Chil Chem Soc*. 2010;55:352–4.
44. Korelc K, Larsen BS, Gašperlin M, Tho I. Water-soluble chitosan eases development of mucoadhesive buccal films and wafers for children. *Int J Pharm*. 2023;631:122544.
45. *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos*. 8^a ed. México: Secretaría de Salud; 2004.
46. Shirazi M, Nilforoushan D, Alghasi H, Dehpour AR. The role of nitric oxide in orthodontic tooth movement in rats. *Angle Orthod*. 2002;72:211–5.
47. Hayashi K, Igarashi K, Miyoshi K, Shinoda H, Mitani H. Involvement of nitric oxide in orthodontic tooth movement in rats. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2002;122:306–9.

48. Akin E, Gurton AU, Olmez H. Effects of nitric oxide in orthodontic tooth movement in rats. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2004;126:608–14.
49. Sun Y, Fu J, Lin F, et al. Force-induced nitric oxide promotes osteogenic activity during orthodontic tooth movement in mice. *Stem Cells Int.* 2022;2022:4775445.
50. Jerônimo MS, Barros AD, Morita VE, et al. Oral or topical administration of L-arginine changes the expression of TGF and iNOS and results in early wound healing. *Acta Cir Bras.* 2016;31(9):586–96.
51. Kawasaki T, Nakaji-Hirabayashi T, Masuyama K, Fujita S, Kitano H. Complex film of chitosan and carboxymethyl cellulose nanofibers. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2016;139:95–9.
52. Laffleur F, Bacher L, Vanicek S, Menzel C, Muhammad I. Next generation of buccadhesive excipient: Preactivated carboxymethyl cellulose. *Int J Pharm.* 2016;500(1–2):120–7.
53. Wang K, Du L, Zhang C, Lu Z, Lu F, Zhao H. Preparation of chitosan/curdlan/carboxymethyl cellulose blended film and its characterization. *J Food Sci Technol.* 2019;56(12):5396–404.
54. Nitti P, Gallo N, Palazzo B, Sannino A, Polini A, Verri T, et al. Effect of L-arginine treatment on the in vitro stability of electrospun aligned chitosan nanofiber mats. *Polym Test.* 2020;91:106758.
55. Dinte E, Muntean DM, Andrei V, Boşca BA, Dudescu CM, Barbu-Tudoran L. In vitro and in vivo characterization of a mucoadhesive buccal film loaded with doxycycline hyclate for topical application in periodontitis. *Pharmaceutics.* 2023;15(2):580.
56. Zhang X, Zhang Z, Wu W, Yang J, Yang Q. Preparation and characterization of chitosan/nano-ZnO composite film with antimicrobial activity. *Bioprocess Biosyst Eng.* 2021;44(6):1193–9.
57. Corral-Lugo A, Morales-García YE, Pazos-Rojas LA, Ramírez-Valverde A, Martínez-Contreras RD, Muñoz-Rojas J. Cuantificación de bacterias cultivables mediante el método de “Goteo en Placa por Sellado (o estampado) Masivo.” *Rev Colomb Biotecnol.* 2012;14:147–56.
58. Wiphanurat C, Hanthanon P, Ouipanich S, Harnkarnsujarit N, Magaraphan R, Nampitch T. Blending HDPE with biodegradable polymers using modified natural

- rubber as a compatibilizing agent: mechanical, physical, chemical, thermal and morphological properties. *Polymer Bulletin*. 2023;80:11421–37.
59. Alopaeus J, Hellfritzsich M, Gutowski T, Scherließ R, Almeida A, Sarmiento B, Škalko-Basnet N, Tho I. Mucoadhesive buccal films based on a graft co-polymer – A mucin-retentive hydrogel scaffold. *Eur J Pharm Sci*. 2020;142:105142.
60. Farahmandnejad M, Alipour S, Nokhodchi A. Physical and mechanical properties of ocular thin films: a systematic review and meta-analysis. *Drug Discov Today*. 2024;29:103964.
61. Khan S, Boateng J. Effects of cyclodextrins (beta and gamma) and L-arginine on stability and functional properties of mucoadhesive buccal films loaded with omeprazole for pediatric patients. *Polymers*. 2018;10:1–14.
62. Preis M, Knop K, Breitzkreutz J. Mechanical strength test for orodispersible and buccal films. *Int J Pharm*. 2014;461:22–9.
63. Hachity-Ortega JA, Jerezano-Domínguez AV, Pazos-Rojas LA, Flores-Ledesma A, Pazos-Guarneros DDC, Parra-Solar KA, et al. Effect of glycerol on properties of chitosan/chlorhexidine membranes and antibacterial activity against *Streptococcus mutans*. *Front Microbiol*. 2024;15:1430954.
64. de Moura MR, Lorevice MV, Mattoso LHC, Zucolotto V. Highly stable, edible cellulose films incorporating chitosan nanoparticles. *J Food Sci*. 2011;76:N25–9.
65. Batista P, Castro P, Madureira AR, Sarmiento B, Pintado M. Development and characterization of chitosan microparticles-in-films for buccal delivery of bioactive peptides. *Pharmaceuticals*. 2019;12:32.
66. Dahiya M, Saha S, Shahiwala AF. A review on mouth dissolving films. *Curr Drug Deliv*. 2009;6:469–76.
67. Rios PF, Dodiuk H, Kenig S, McCarthy S, Dotan A. The effect of polymer surface on the wetting and adhesion of liquid systems. *J Adhes Sci Technol*. 2007;21:227–41.
68. Luceño-Sánchez JA, Maties G, Gonzalez-Arellano C, Diez-Pascual AM. Synthesis and characterization of graphene oxide derivatives via functionalization reaction with hexamethylene diisocyanate. *Nanomaterials*. 2018;8:870.

69. Merck KGaA. L-Arginine CAS 74-79-3 | 101542 [Internet]. Darmstadt: Merck KGaA; Available from: https://www.merckmillipore.com/MX/es/product/L-Arginine%2CMDA_CHEM-101542.
70. Abdella S, Afinjuomo F, Song Y, Upton R, Garg S. Mucoadhesive buccal film of estradiol for hormonal replacement therapy: Development and in-vivo performance prediction. *Pharmaceutics*. 2022;14:542.
71. Shinkar DM, Dhake AS, Setty CM. Drug delivery from the oral cavity: a focus on mucoadhesive buccal drug delivery systems. *PDA J Pharm Sci Technol*. 2012;66:466–500.
72. Surdilovic D, Ille T. Correlation between the pH value of stimulated and unstimulated saliva and the caries risk in children. *Eur J Pharm Med Res*. 2022;9.
73. Yildiz Pekoz A, Sedef Erdal M, Okyar A, Ocak M, Tekeli F, Kaptan E, et al. Preparation and in-vivo evaluation of dimenhydrinate buccal mucoadhesive films with enhanced bioavailability. *Drug Dev Ind Pharm*. 2016;42:916–25.
74. Galo Cárdenas D, Anaya P, del Río R, et al. Scanning electron microscopy and atomic force microscopy of chitosan composite films. *J Chil Chem Soc*. 2010;55(3):352–354.
75. Han B, Zhang D, Shao Z, Kong L, Lv S. Preparation and characterization of cellulose acetate/carboxymethyl cellulose acetate blend ultrafiltration membranes. *Desalination*. 2013 Feb 5;311:80-89.
76. Pérez-Gutiérrez S, Ramírez-Enciso JÁ, Pazos-Rojas LA, Flores-Ledesma A, Reyes-Cervantes E, Pazos-Guarneros D del C, et al. Antibacterial properties of polymeric membranes containing doxycycline for potential applications in foot ulcer treatment. *Int J Mol Sci*. 2025;26:3274.
77. Li J, Zhuang S. Antibacterial activity of chitosan and its derivatives and their interaction mechanism with bacteria: Current state and perspectives. *Eur Polym J*. 2020;138:109984.
78. Kusmono, Abdurrahim I. Water sorption, antimicrobial activity, and thermal and mechanical properties of chitosan/clay/glycerol nanocomposite films. *Heliyon*. 2019;5:e02342.

79. Khubiev OM, Egorov AR, Kirichuk AA, Khrustalev VN, Tskhovrebov AG, Kritchenkov AS. Chitosan-based antibacterial films for biomedical and food applications. *Int J Mol Sci.* 2023;24.
80. Cetin FS, Avci T, Uygur E, Ilhan E, Kaya E, Tinaz GB, et al. Development and characterization of antimicrobial chitosan/polyethylene oxide/bacterial cellulose nanofibers. *Polymers.* 2025;17.
81. Indriyati, Dara F, Primadona I, Srikandace Y, Karina M. Development of bacterial cellulose/chitosan films: structural, physicochemical and antimicrobial properties. *J Polym Res.* 2021;28.
82. Herrera-Guardiola S, Valencia ME. Andamios de quitosano con L-Arginina para su aplicación en salud dental. *Rev Nac Odontol.* 2021;17:1–21.
83. Yoda I, Koseki H, Tomita M, Shida T, Horiuchi H, Sakoda H, et al. Effect of surface roughness of biomaterials on *Staphylococcus epidermidis* adhesion. *BMC Microbiol.* 2014;14:234.

13. ANEXOS

Bioética

Esta investigación se realizó en base a los lineamientos del Comité de Investigación de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Los reactivos/sustancias que se utilizan no representan riesgo para el personal. El manejo de RPBI del proyecto se efectuó conforme a la NOM-087-ECOL-SSA1-200.