



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**SÍNTESIS DE UN NOVEDOSO BIOMATERIAL
QUE CONTIENE ÁCIDO METACRÍLICO
INJERTADO EN SILICONA, SENSIBLE AL pH
CON POTENCIALES APLICACIONES A LA
CARGA Y CESIÓN DE FÁRMACOS.**

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERA QUÍMICA

PRESENTA
BRENDA VÁZQUEZ GONZÁLEZ



MÉXICO, D.F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: JUAN MANUEL NAVARRETE TEJERO

VOCAL: Profesora: SOFÍA GUILLERMINA BURILLO AMEZCUA

SECRETARIO: Profesor: EMILIO BUCIO CARRILLO

1er. SUPLENTE: Profesor: SILVIA DE JESUS MENDOZA ARELLANO

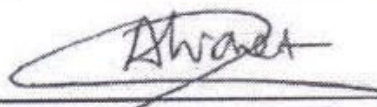
2do. SUPLENTE: Profesor: TRINIDAD MARTÍNEZ CASTILLO

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:
**LABORATORIO DE MACROMOLÉCULAS, INSTITUTO DE CIENCIAS
NUCLEARES, UNAM.**

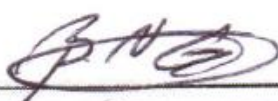
ASESOR DEL TEMA:


DR. EMILIO BUCIO CARRILLO

SUPERVISOR TÉCNICO:


DRA. CARMEN ÁLVAREZ LORENZO

SUSTENTANTE:


BRENDA VÁZQUEZ GONZÁLEZ

ABREVIATURAS

^{59}Co	Cobalto 59
^{60}Co	Cobalto 60
Abs	Absorbancia
ATR	Attenuated Total Reflectance
BzCl	Cloruro de Benzalconio
CMI	Concentración inhibitoria mínima
DSC	Differential Scanning Calorimetry
FTIR	Fourier transform infrared spectroscopy
Hz	Hertz
keV	Kilo electron volt
kGy	Kilogray
MAA	Ácido Metacrílico
MeV	Mega electrón volt
mg	Miligramo
mL	Mililitro
nm	Nanómetro
pH	Potencial de Hidrógeno
pKa	Potencial de constante de acidez
PMAA	Poli(ácido metacrílico)
MRSA	Methicillin-resistant Staphylococcus aureus
SEM	Microscopio electrónico de barrido
SR	Silicone Rubber
TGA	Análisis termogravimétrico
VCM	Vancomicina

CONTENIDO

ABREVIATURAS.....	iii
CONTENIDO.....	iv
INDICE DE FIGURAS	vii
INDICE DE TABLAS	ix
<i>RESUMEN</i>	x
INTRODUCCION.	1
OBJETIVO GENERAL	4
Objetivos particulares	4
CAPITULO 1 CONCEPTOS BÁSICOS	5
1.1 Biomateriales	5
1.2 Polímeros.....	6
1.3 Radiación Ionizante.....	7
1.3.1 Decaimiento	8
1.3.2 Radiación gamma.....	9
1.3.3 Efecto de la radiación en los polímeros.....	10
1.4 Copolímeros de injerto	11
1.4.1 Copolimerización de injerto inducida por radiación	12
1.4.2 Injerto por radicales libres.	13
1.5 Silicona	17
1.6 Ácido metacrílico.....	18
1.7 Técnicas de caracterización.....	20
1.7.1 Espectroscopia infrarroja (FTIR-ATR)	20

1.7.2	Análisis térmico	21
1.7.2.1	Calorimetría diferencial de Barrido (DSC)	22
1.7.2.2	Análisis termogravimétrico (TGA).....	24
1.7.3	Hinchamiento límite	25
1.7.4	pH crítico	26
1.7.5	Ángulo de contacto	26
1.8	Microscópio electrónico de barrido (SEM)	27
1.9	Sistemas de liberación de fármacos	28
1.9.1	Liberación controlada de agentes bioactivo	30
1.9.2	Dosificación controlada por mecanismos físicos	30
1.9.3	Sistemas controlados por difusión y disolvente	31
1.10	Estudios microbiológicos.....	32
1.11	Vancomicina	33
1.12	Cloruro de Benzalconio.....	35
CAPITULO 2 METODOLOGIA EXPERIMENTAL		38
2.1	Síntesis del biomaterial.....	38
2.2	Caracterización del biomaterial.....	41
2.3	Carga y cesión de fármacos	44
CAPITULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN		50
3.1	Síntesis.....	50
3.2	Efecto de la concentración de monómero.....	52
3.3	Efecto de la dosis de pre-irradiación	53
3.4	Efecto de la temperatura de reacción	55
3.5	Efecto de tiempo de reacción.....	57

3.6 Caracterización.....	58
3.6.1 Calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	58
3.6.2 Análisis termogravimétrico (TGA).....	59
3.6.3 Espectroscopia infrarroja FTIR-ATR.....	60
3.6.4 Hinchamiento limite	62
3.6.5 pH crítico	63
3.6.6 Ángulo de contacto.....	65
3.6.7 Microscópio electrónico de barrido (SEM).....	66
3.7 Carga de fármacos.....	71
3.8 Cesión de fármacos	73
3.9 Pruebas microbiológicas	76
CAPITULO 4 CONCLUSIONES.....	78
BIBLIOGRAFIA	80

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Método de pre-irradiación para la síntesis de copolímeros de injerto.	2
Figura 2. Efecto Estímulo-sensible aplicado en los sistemas de administración controlada de fármacos.	3
Figura 3. Decaimiento de Cobalto 60.	9
Figura 4. Representación de un copolímero de injerto.	12
Figura 5. Mecanismos de reacción.	15
Figura 6. Estructura principal del silicón.	18
Figura 7. Estructura de ácido metacrílico.	19
Figura 8. Principales procesos observados en un DSC.	23
Figura 9. Termograma típico de un estudio termogravimétrico.	24
Figura 10. Estructura de la vancomicina.	35
Figura 11. Estructura del cloruro de benzalconio.	36
Figura 12. Curva de Calibración de VCM para obtener la concentración en absorbancia 1.0 y la ecuación que representa la variable de concentración.	45
Figura 13. Curva de Calibración de BzCl para obtener la concentración en absorbancia 1.0.	47
Figura 14. Síntesis de SR-g-MAA.	51
Figura 15. Injerto de PMAA en SR a diferentes concentraciones de monómero. .	53
Figura 16. Injerto de PMAA en SR con diferentes dosis de pre-irradiación.	54
Figura 17. Injerto de PMAA en SR a diferentes temperaturas.	56
Figura 18. Injerto de PMAA en SR a diferentes tiempos de reacción.	57
Figura 19. Termograma DSC.	58
Figura 20. Diagrama de TGA.	60
Figura 21. FTIR-ATR espectros de hule de silicone.	61
Figura 22. Hinchamiento límite.	63
Figura 23. Hinchamiento en función del pH de SR-g-MAA 73 % de injerto.	64
Figura 24. Comparación de ángulo de contacto entre películas con alto y bajo porcentaje de injerto.	65
Figura 25. Silicona virgen corte transversal.	67

Figura 26. Silicona virgen corte transversal a 5000x.	67
Figura 27. Muestra B-9 Injerto 58.0% tomada del borde a 1500x.	68
Figura 28. Muestra B-9 Injerto 58.0 % tomada del corte transversal.....	68
Figura 29. Muestra B-9 Injerto 58.0 % tomada del corte transversal a 1500x.	69
Figura 30. Muestra B-6 Injerto 70.5% tomada del borde a 1500x.	69
Figura 31. Muestra B-6 Injerto 70.5 % Corte transversal.	70
Figura 32. Muestra B-6 Injerto 70.5 % tomada del corte tranversal a 5000x.....	70
Figura 33. Perfil de carga de vancomicina a los 72 h.	72
Figura 34. Perfil de carga de BzCl a los 250 h.	72
Figura 35. Cantidad liberada de vancomicina	75
Figura 36. Cantidad liberada de BzCl.....	75
Figura 37. Pruebas microbiológicas.	77

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Comparación entre las principales características de los métodos de irradiación y pre-irradiación.....	16
Tabla 2. Peso inicial de silicona sin monómero.....	35
Tabla 3. Injerto en función de la concentración de monómero.....	36
Tabla 4. Injerto en función de la dosis.....	36
Tabla 5. Injerto en función de la temperatura de reacción.....	37
Tabla 6. Injerto en función del tiempo de reacción.....	37
Tabla 7. Soluciones amortiguadoras.....	40
Tabla 8. Datos de absorbancia de vancomicina a diferentes concentraciones.....	42
Tabla 9. Peso y área de las películas de silicona injertadas y sin injerto.....	43
Tabla 10. Datos de absorbancia de Cloruro de Benzalconio.....	44
Tabla 11. Peso y área de las películas de silicona injertadas y sin injerto.....	46
Tabla 12. Resultados del perfil efecto de la concentración de monómero.....	50
Tabla 13. Resultados del Perfil efecto de la dosis de pre-irradiación.....	52
Tabla 14. Resultados del perfil efecto de la temperatura de reacción.....	54
Tabla 15. Resultados del perfil efecto del tiempo de reacción.....	55
Tabla 16. Propiedades térmicas.....	58

RESUMEN

El monómero hidrófilo ácido metacrílico (MAA), fue injertado sobre películas hidrófobas de hule de silicona (SR) por el método de pre-irradiación oxidativa empleando radiación gamma. El porcentaje de injerto de ácido metacrílico en películas de silicona, SR-g-MAA, se ve influenciado por las condiciones de reacción, así como la concentración de monómero, la dosis de radiación, el tiempo de reacción, y la temperatura.

La síntesis de copolímeros de injerto en SR usando como monómero MAA (sensible al pH), se realizó mediante el método de pre-irradiación oxidativa, usando una fuente de radiación gamma de ^{60}Co (Gammabeam 651 PT Nordion Internacional Inc.), ya que es un técnica simple y libre de aditivos lo que permite obtener productos con alto grado de pureza.

Se utilizaron vancomicina y cloruro de benzalconio como moléculas modelo para el estudio en la carga y cesión de fármacos.

El copolímero de injerto se caracterizó mediante FTIR-ATR, DSC, TGA, SEM, hinchamiento, ángulo de contacto y estudios de actividad microbiológica.

INTRODUCCION.

Los materiales poliméricos sintéticos han sido ampliamente utilizados en suministros médicos desechables, materiales protésicos, dentales y en sistemas para la administración de fármacos [1].

Las ventajas principales de los biomateriales poliméricos son su fácil fabricación y reproducibilidad, la versatilidad de presentación (látex, películas, láminas fibras etc.), su precio razonable y además es posible modular sus propiedades físicas y mecánicas

Los copolímeros son el resultado de la combinación química de dos moléculas de diferente naturaleza. Dentro de los métodos químicos se encuentran las radiaciones que son creadoras de sitios activos en los polímeros y se pueden preparar copolímeros de injerto de naturaleza y propiedades diversas, las cuales pueden ser modificadas de acuerdo a las necesidades.

El injerto inducido por radiación es un método bien conocido desde la década de los 60 y los parámetros que afectan directamente la modificación del material son: dosis e intensidad de radiación, temperatura de reacción, tiempo de reacción y concentración de monómero.

La polimerización por injerto es un método conveniente para modificar las propiedades químicas y físicas de los materiales poliméricos. La técnica de injerto por radiación ha sido ampliamente utilizada en la modificación de superficies poliméricas dando origen a los copolímeros de injerto. Estas técnicas de injerto incluyen normalmente la pre-irradiación (Fig. 1), así como el método directo, donde ambas moléculas se irradian al mismo tiempo.

La polimerización por injerto se puede lograr mediante el uso de una radiación ionizante, luz ultravioleta, o iniciadores químicos. De estos métodos, la técnica de pre-irradiación de rayos gamma, es uno de los métodos más prometedores debido a su gran penetración e injerto en matrices de polímero. [2].

En condiciones experimentales adecuadas, la modificación del polímero puede llevarse a cabo no sólo en la superficie, sino también a lo largo de la fase interna de una matriz de polímero, que forma una membrana homogénea [3].

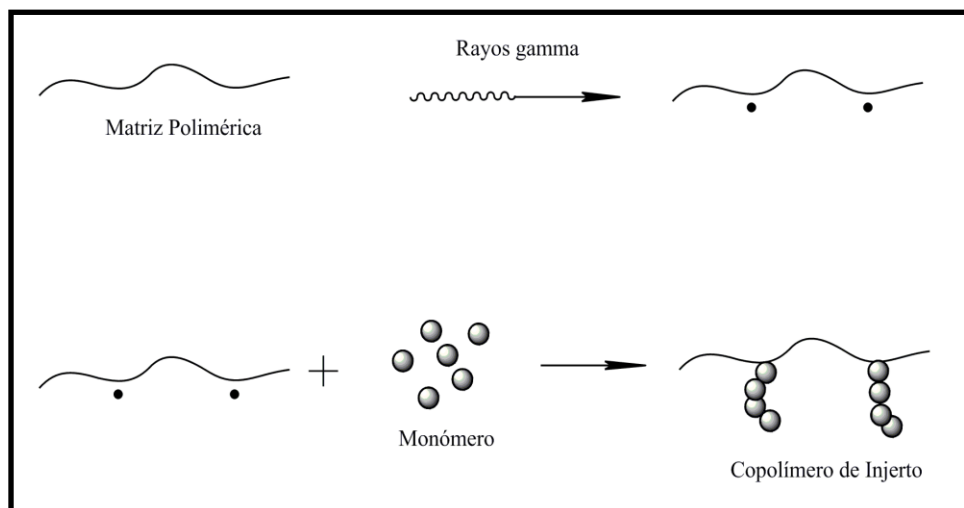


Figura1. Método de pre-irradiación para la síntesis de copolímeros de injerto.

Este método se puede usar en sustratos tales como fibras o películas, con monómero en fase líquida, vapor o solución.

En el ámbito de la tecnología farmacéutica, los polímeros encuentran aplicaciones interesantes como componentes de sistemas de liberaciones controladas, capaces de regular la velocidad de liberación del fármaco y de responder, incluso, a las condiciones del medio biológico. Los materiales que presentan cambios drásticos en respuesta a pequeños estímulos externos, tales como el pH, la corriente eléctrica, y la temperatura se han definido como "materiales inteligentes"; que se requieren para aplicaciones avanzadas tales como sistemas de administración de fármacos (Fig. 2).

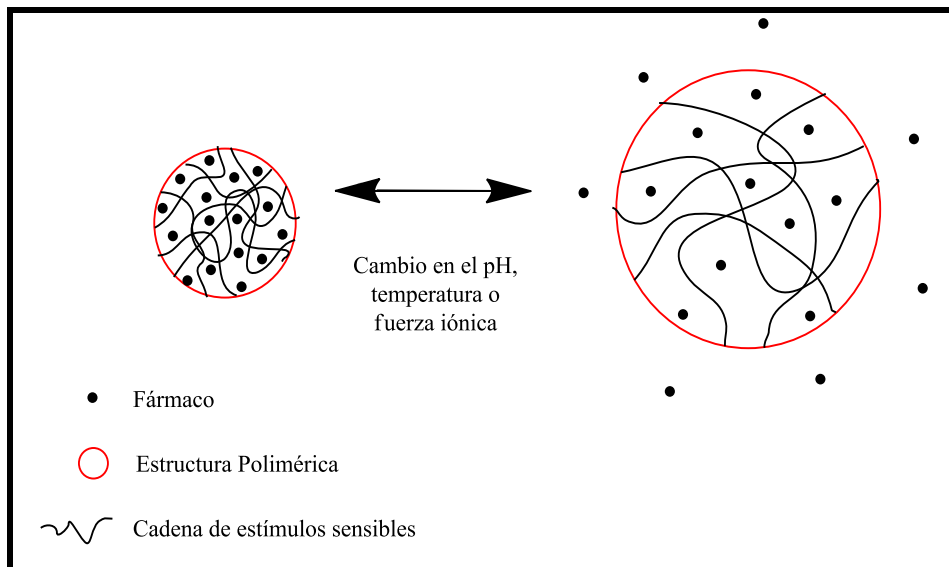


Figura 2. Efecto Estímulo-sensible aplicado en los sistemas de administración controlada de fármacos.

La utilización de materiales poliméricos como soportes de fármacos para regular y dosificar su liberación en aplicaciones específicas es una perspectiva que ha adquirido gran interés [4].

OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un biomaterial novedoso sensible al pH con potenciales aplicaciones biomédicas.

Objetivos particulares

- Sintetizar un copolímero de injerto por el método de pre-irradiación oxidativa.
- Encontrar las condiciones óptimas para lograr el mayor porcentaje de injerto.
- Caracterizar el biomaterial por espectroscopia infrarroja (FTIR-ATR), calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis termogravimétrico (TGA), hinchamiento límite, pH crítico, ángulo de contacto y microscopio de barrido (SEM).
- Estudiar la carga y liberación de fármacos (vancomicina, cloruro de benzalconio).
- Realizar estudios microbiológicos.

CAPITULO 1 CONCEPTOS BÁSICOS

1.1 Biomateriales

Hablar de biomateriales implica hablar de materiales capaces de estar en contacto con tejidos vivos durante un periodo de tiempo; como parte del tejido, con la finalidad de completar al tejido y/o de ayudar a mejorar su funcionamiento, cuando forma parte de un sistema, sin afectar al resto del organismo y sin ser afectado por él a menos que así se hubiera diseñado, como ocurre con los hilos de sutura para tejidos internos que están diseñados para ser absorbidos por el organismo [5].

El término biomaterial comprende un gran número de diferentes productos, los cuales son destinados para algún tipo de uso en contacto con un organismo vivo. En los últimos años se han desarrollado biomateriales para numerosas aplicaciones en la medicina, la farmacología, cirugía, etc.

Tales productos incluyen materiales duros para la restauración de hueso, materiales blandos para los implantes de tejido y sustitutos de órganos artificiales y diversos dispositivos para el suministro de fármacos, el control de los medicamentos, la protección de heridas y muchos otros [6].

Los biomateriales, sustancias naturales o sintéticas cuya misión es reemplazar una parte o alguna función de nuestro organismo, de forma segura y fisiológicamente aceptable, se pueden clasificar de diversas formas: según su composición química, en biometales, biopolímeros, biocerámicos, biocompuestos y semiconductores; según su origen, en naturales y sintéticos [7].

Los biomateriales pueden clasificarse según la forma en la que interactúan con el tejido en el que son implantados: así, podemos clasificarlos en biotolerados, bioinertes y bioactivos. Por otro lado, el biomaterial puede ser implantado de

manera interna o externa; al igual que puede ser temporal o permanente. Por tales motivos hace falta conocer las relaciones existentes entre el tejido u órgano a sustituir y el medio fisiológico que lo rodea con el objetivo de poder diseñar el material más apto y así evitar rechazo o corrosión del mismo [7].

La ciencia de los biomateriales se basa en las propiedades físico químicas de estos y su comportamiento cuando se encuentran en el organismo, por lo que la caracterización físico-química del material y el estudio de la interacción entre el material y el medio biológico es fundamental para el desarrollo de esta ciencia [8].

1.2 Polímeros

Un polímero es una gran molécula construida por la repetición de pequeñas unidades químicas simples equivalentes o casi equivalentes al monómero o material de partida del que se forma el polímero. Los monómeros son, por tanto, sustancias químicas de bajo peso molecular capaces de reaccionar consigo mismas o con otras sustancias para formar un polímero. La mayoría de los polímeros son obtenidos por síntesis y la reacción que da origen a los mismos se denomina polimerización [9].

En general todos los polímeros poseen densidades relativamente bajas, lo cual da como resultado productos livianos; la flexibilidad y longitud de sus cadenas moleculares les proporcionan gran resistencia a los choques o impactos y a las tensiones o esfuerzos, son resistentes a la corrosión y a los agentes químicos, son resistentes a la intemperie y a la acción microbiológica. Por lo general son impermeables al oxígeno y a la humedad, actúan como aislante eléctrico y térmico, son reciclables y reutilizables, proporcionan productos con buena apariencia física y sus propiedades se modifican fácilmente.

Según sus orígenes pueden ser:

- I. Polímeros naturales
- II. Polímeros naturales modificados
- III. Polímeros sintéticos

Los polímeros se pueden clasificar de acuerdo a la forma de las macromoléculas, que pueden ser lineales, ramificados o entrecruzadas, de acuerdo a la igualdad de los monómeros constituyentes, de tal forma que se puede hablar de Homopolímeros(constituidos por un solo monómero) y copolímeros, que son moléculas que contienen dos o más monómeros diferentes en una secuencia regular. Los copolímeros pueden ser de bloque, de injerto, al azar y alternados.

1.3 Radiación Ionizante

La ionización producida por una radiación incidente que interacciona con la materia puede ser directa o indirecta. La radiación electromagnética (rayos X y gamma γ) es radiación indirectamente ionizante. Mientras que la radiación directamente ionizante son las partículas cargadas (como electrones y las partículas α) [15].

El uso de radiaciones ionizantes, específicamente de la radiación gamma es uno de los métodos que está cobrando auge en el área de la esterilización médica. Además se puede esterilizar una gran cantidad de productos con menor consumo de energía, lo que hace menos costosa que una esterilización química o térmica.

La radiación ionizante se define como la radiación con energía suficiente para extraer un electrón de su átomo; en el instante en el que el electrón sale desprendido del átomo al que pertenecía, este se ioniza.

El Cobalto-60, ^{60}Co , es un isótopo radiactivo sintético de cobalto con una vida media de 5.27 años. Se produce artificialmente por activación de neutrones del isótopo ^{59}Co . El ^{60}Co decae por la desintegración beta de los isótopos estables de níquel-60. El núcleo de níquel activado emite dos rayos gamma con energías de 1,17 y 1,33 MeV (Fig. 3).

1.3.1 Decaimiento

En la química de radiaciones de polímeros, la radiación α no se usa por su baja profundidad de penetración. Los pocos ejemplos de esta aplicación se refieren principalmente a la polimerización inducida por la radiación en sistemas gaseosos.

Por las mismas razones, las fuentes de radiaciones β son difícilmente usadas, aunque ha sido reportado que en algunos casos de polimerización puede ser recomendable el uso de estas fuentes ya que aseguran la irradiación regular de grandes superficies. Las fuentes con ^{60}Co usadas como fuentes de radiación gamma. La radiación de una fuente de radioisótopos puede ser monoenergética o no, pero ésta debe exhibir muchas energías discretas. Por ello, para un isótopo de ^{60}Co se observan 2 líneas discretas con energías de fotón de 1.33 y 1.17 MeV. La vida media del ^{60}Co es de 5.3 años.

La Figura 3, muestra el esquema de desintegración del ^{60}Co . Se muestran las transiciones principales de decaimiento. En el diagrama se marcan las dos más importantes. Las energías de conversión internas son muy inferiores a los niveles principales de energía. [16].

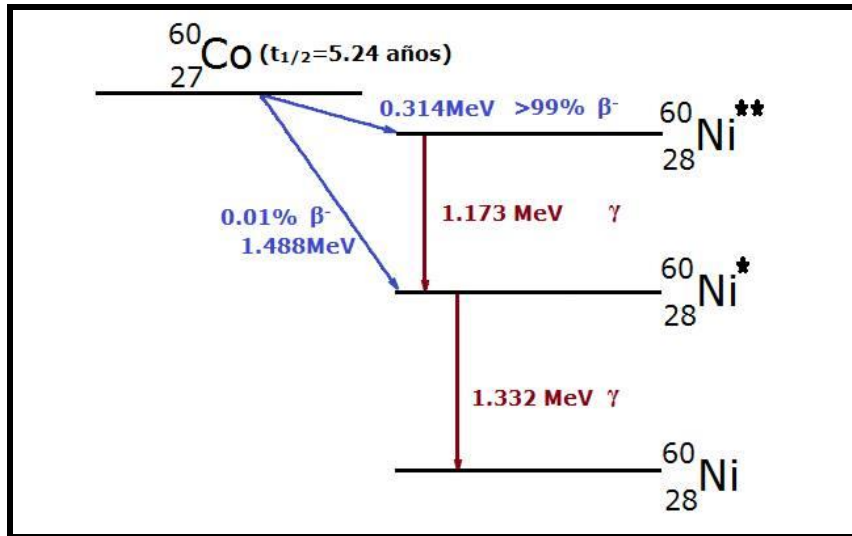


Figura 3. Decaimiento de Cobalto 60.

1.3.2 Radiación gamma

Son ondas electromagnéticas que poseen frecuencias y energías muy altas (por arriba de 10¹⁹ Hz y de 100KeV, respectivamente) de igual manera poseen una longitud de onda muy corta. Cuando son sometidos a la acción de campos eléctricos de núcleos atómicos o electrones, estos no sufren desviación en su trayectoria debido a que carecen de carga eléctrica. Tales características le permiten ser capaces de traspasar grandes espesores de materiales ya que penetran en la materia de una forma más profunda que la radiación α o β , y son capaces también de ionizar indirectamente las sustancias que encuentran en su recorrido.

Los rayos γ son producidos por la des-excitación de un núcleo de un nivel excitado a otro de menor energía y en la desintegración de isotopos radioactivos.

La irradiación de polímeros con rayos gamma genera radicales libres, y estos a su vez, pueden dar lugar a reacciones de ruptura de cadena y/o

entrecruzamiento y formación de ramificaciones, modificando las propiedades de los materiales.

La presencia de oxígeno origina reacciones de oxidación, que llevan a la ruptura de cadenas. En efecto, los radicales libres formados durante la radiación reaccionan con el oxígeno para formar radicales peróxido, los cuales son capaces de sustraer hidrógenos de la cadena principal y descomponerse, generando más radicales, que al combinarse con el oxígeno, aumentan la producción de radicales peróxido.

Este proceso, conocido como auto-oxidación, es auto-catalítico y se repite sucesivamente hasta que ocurre una reacción de terminación.

1.3.3 Efecto de la radiación en los polímeros

En los polímeros, la radiación ionizante, puede producir tanto cambios físicos como químicos, dentro de los cambios que se pueden dar son: cambio en el peso molecular debido a la ruptura de cadenas, cambio en la polidispersidad, formación de ramificaciones, la eliminación de pequeñas moléculas, la formación de puntos de insaturación en la cadena polimérica, un incremento de la reticulación formando redes tridimensionales. Dentro de los cambios físicos que se presentan son decoloración, generación de olor, rigidez, ablandamiento, mejora o disminución de la resistencia química e incluso un incremento o decremento del punto de fusión [15].

Cuando son irradiados, se producen radicales libres, y según el tipo de radicales puede ocurrir entrecruzamiento, es decir, cuando dos cadenas largas se unen a través de un enlace primario, incrementando el peso molecular y mejorando las propiedades físicas, mecánicas y eléctricas: o degradación, que es

el proceso contrario al entrecruzamiento; que afecta las propiedades mecánicas, degradándolas.

El efecto de entrecruzamiento hace que se incremente en los polímeros el rango de temperatura de utilización, la resistencia a la tensión, disminuya la solubilidad a solventes, aumente la resistencias a los agentes de oxidación y al fuego, aumente la resistencia eléctrica y a la intemperie.

Las reacciones de entrecruzamiento se llevan a cabo a temperatura ambiente y presión atmosférica. El grado de entrecruzamiento depende del número de radicales libres producidos.

1.4 Copolímeros de injerto

La polimerización es el proceso químico por el cual, mediante el calor, la luz o un catalizador, se unen varias moléculas de un compuesto para formar una cadena de múltiples eslabones, obteniéndose de esta forma un polímero.

El proceso de copolimerización permite obtener materiales que combinan las propiedades físicas y químicas de dos o más polímeros.

Los copolímeros de injerto son una clase de heteropolímeros ramificados que se construyen a partir de una cadena polimérica principal, sobre la cual se adicionan unidades de un monómero de naturaleza química diferente formando ramificaciones [10].

En la representación que se muestra (Fig. 4), A es la cadena polimérica principal, B_n y B_m son los injertos laterales a la cadena, formados por el monómero B. El número de cadenas ramificadas junto con el grado de polimerización en los injertos B_n y B_m es llamado rendimiento de injerto, el cual se determina de manera

gravimétrica como el porcentaje de incremento en la masa. Tanto la cadena polimérica principal como las laterales pueden ser homopolímeros o copolímeros.

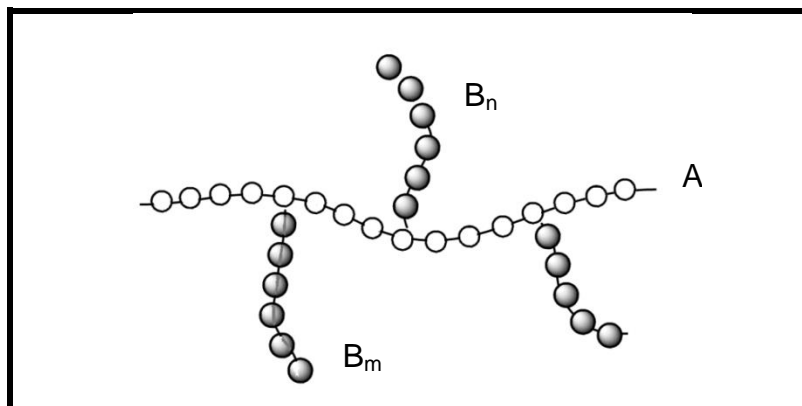


Figura 4. Representación de un copolímero de injerto.

La copolimerización por injerto se lleva a cabo como resultado de la formación de sitios activos en la cadena principal de polímero. Estos sitios activos pueden ser radicales libres o grupos químicos iónicos, los cuales inician la reacción de polimerización. La formación de estos sitios activos en la cadena principal puede llevarse a cabo por diferentes métodos, como el tratamiento por plasma, radiación de luz UV, descomposición de un iniciador químico y radiación de alta energía. De todos, el método de copolimerización de injerto inducido por radiación de alta energía ha sido más ampliamente investigado.

1.4.1 Copolimerización de injerto inducida por radiación

Existen diferentes métodos para la obtención de copolímero de injerto; estos incluyen tanto a los métodos químicos, como al injerto inducido por medio de radiación de alta energía. La inducción por radiación gamma se caracteriza por la formación de radicales libres que permiten el crecimiento de las cadenas poliméricas [11]. Todos estos intermediarios dan como resultado cambios fundamentales en la estructura química y, como consecuencia, en las propiedades

de los polímeros. Particularmente ocurre: la formación de reticulaciones inter- e intra moleculares; rompimiento de enlaces en la cadena principal, en los grupos laterales; reacciones de oxidación e injerto.

La copolimerización de injerto inducida por radiación posee gran potencial, ya que no deja residuos peligrosos. También permite iniciar la polimerización en un amplio rango de temperaturas. La naturaleza tan versátil de esta técnica se le atribuye a la habilidad que se tiene para controlar el grado de injerto al seleccionar las condiciones apropiadas de irradiación.

1.4.2 Injerto por radicales libres.

La irradiación de macromoléculas puede causar una fisión homolítica y formar así los radicales libres en el polímero. En la técnica de radiación, la presencia de un iniciador no es esencial. El medio es importante en este caso, por ejemplo, si la irradiación se lleva a cabo en el aire, los peróxidos se pueden formar en el polímero. La vida útil de los radicales libres depende de la naturaleza del polímero de la cadena principal.

El injerto procede de tres maneras diferentes:

- I. Por pre-irradiación,
- II. Por peroxidación o pre-irradiación oxidativa, y
- III. Por irradiación directa

Las técnicas de pre-irradiación y de pre-irradiación oxidativa pueden incluir una combinación de dos pasos:

1. La superficie del polímero es irradiada en el vacío o en atmósfera inerte. El injerto es iniciado por macroradicales atrapados en los polímeros irradiados y la homopolimerización no se produce. (Fig. 5a).

Este método tiene tres inconvenientes principales: i) la posible degradación de la matriz del polímero, ya que la dosis es mayor que en el método directo, ii) es fuertemente dependiente de la temperatura de reacción y de la cristalinidad del polímero, y iii) el rendimiento de los injertos es menor que en el método directo

2. El polímero es pre-irradiado en la presencia de aire u oxígeno, de modo que los macroradicales formados se convierten en peróxidos y/o hidroperóxidos, los cuales inician el injerto por descomposición térmica al ponerse en contacto con las unidades monoméricas que son los sitios activos para dar inicio a la polimerización de injerto. (figura 5b).

Los productos peroxi estables se tratan a continuación con el monómero a temperatura más alta, donde los peróxidos generarán radicales, con lo que da inicio el injerto. La ventaja de esta técnica es que los productos peroxi intermediarios se pueden almacenar durante largos períodos antes de realizar la etapa de injerto.

Por otro lado, en la técnica de irradiación directa (Fig. 5c), el polímero y los monómeros son irradiados simultáneamente, para formar radicales libres y la subsecuente polimerización.

Dado que los monómeros no están expuestos a la radiación en la técnica de pre-irradiación, la ventaja obvia es que el método es relativamente libre de la formación de homopolímero, que se produce con la técnica directa.

El injerto por radiación inducida difiere de la iniciación química en muchos aspectos; en esta técnica no se requiere de un iniciador para la formación de radicales libres.

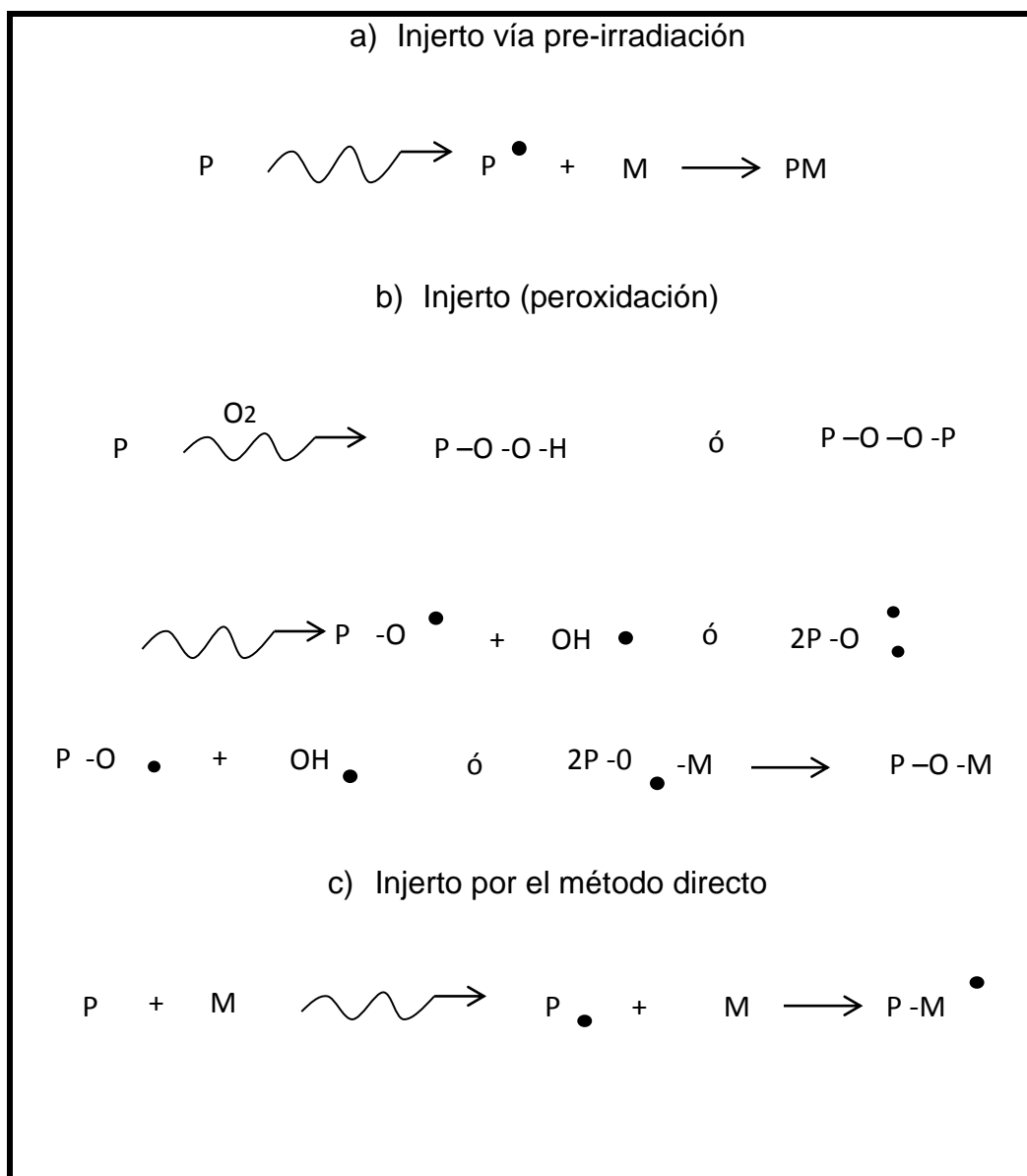


Figura 5. Mecanismos de reacción.

En el método directo el polímero y una solución de monómero se irradian simultáneamente preferentemente a vacío, generándose radicales libres en ambos, el polímero y el monómero los cuales reaccionan inmediatamente, iniciando el crecimiento de las cadenas injertadas.

Una de las complicaciones de este método es que el monómero puede reaccionar entre sí generando homopolímero, provocando que el injerto disminuya. Para evitar esta reacción secundaria en ocasiones se utiliza un inhibidor que retarda la homopolimerización, como sales de hierro o la selección de bajos rangos de dosis para evitar la rápida terminación del crecimiento de cadenas injertadas.

Los parámetros a considerar para usar cualquiera de los métodos descritos con anterioridad son: la razón de dosis, la dosis de irradiación, la temperatura, la concentración de monómero y el tipo de disolvente.

Una comparación entre las principales características de los métodos de pre-irradiación (a) y el de irradiación directa (c) se muestra en la tabla 1. Hasta el momento, no se ha decidido cuál de los dos métodos es mejor; en la práctica, el método de pre-irradiación ha llamado mucho la atención porque la formación de homopolímero es mínima y el injerto se puede llevar a cabo en cualquier momento e incluso lejos de las fuentes radioactivas.

Tabla 1. Comparación entre las principales características de los métodos de irradiación y pre-irradiación

Características	Irradiación directa	Pre-irradiación
Dosis de Irradiación	Baja	Alta
Intensidad de la dosis	Baja	Alta
Atmósfera	Vacío, nitrógeno o inerte	Vacío, nitrógeno, inerte o aire
Tipo de radicales iniciados	Radicales libres	Radicales atrapados
Base polimérica	Polímeros sensibles a la radiación	Polímero resistentes a la radiación
Efecto de la homopolimerización	Alto	Bajo
Temperatura	No necesaria	Necesaria para romper los peróxidos
Tiempo de reacción	Relacionado con la dosis de radiación	No relacionado con la dosis de radiación

1.5 Silicona

Las siliconas son una categoría general de polímeros sintéticos cuya estructura principal se compone de unidades repetitivas de silicio unido al oxígeno para formar la cadena polimérica (Fig. 6), los átomos de silicio están unidos también a grupos orgánicos, típicamente con grupos metilos [12].

Las siliconas se caracterizan por su gran resistencia a temperaturas extremas (de -60°C a 250°C), su resistencia a la intemperie, al ozono, a la radiación, la humedad, además tiene excelentes propiedades aislantes, tienen una gran vida útil y una gran resistencia a la deformación por compresión, además son aptas para uso alimenticio y sanitario.

Se caracterizan por tener una temperatura de transición vítrea T_g baja, (-123°C), esto debido al valor tan alto del ángulo Si-O-Si (140°) y a la longitud del enlace Si-O $1.64 \text{ \AA} \pm 0.03$ que le permite al polímero tener cadenas flexibles y libre rotación alrededor del enlace Si-O. Por otro lado la presencia de grupos alquilo alrededor de la cadena principal explica su carácter hidrofóbico y su baja tensión superficial.

El hule de silicona posee una interesante resistencia química, que incluye algunos ácidos, oxidantes químicos, amoniaco y alcohol isopropílico. La silicona se hincha cuando se expone a disolventes no polares como el benceno o el tolueno, retornando a su forma original cuando el disolvente se evapora.

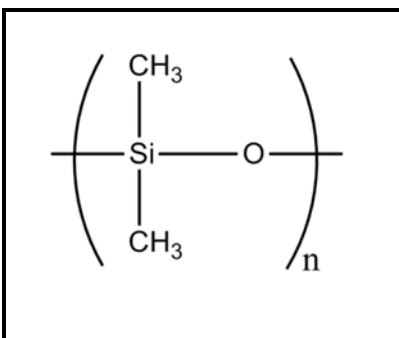


Figura 6. Estructura principal del silicón.

1.6 Ácido metacrílico

El ácido metacrílico (Fig. 7), es un líquido incoloro, con olor característico, de irritante a tóxico al contacto con la piel, ojos y mucosas. Se deben tomar las precauciones correspondientes en su manejo (uso de guantes, lentes de protección, cubre bocas, trabajo en campana de ventilación). Es además flamable por tanto debe mantenerse alejado de fuentes de ignición así como de altas temperaturas. Tiene una temperatura de fusión de 16 °C, una temperatura de ebullición de 163 °C y un punto de inflamación de 77 °C. Su peso molecular y densidad son de 86.06 g/mol y 1.02 g/mL respectivamente. [13] El ácido metacrílico reporta un pH de 1.2-2.0 a 20 °C y un pKa de 4.66.

El uso de monómeros con grupos funcionales ionizables como los ácidos acrílico, metacrílico, 2-vinilpiridina, 4-vinilpiridina, acrilamida o metacrilamida, para la preparación de sistemas poliméricos, adsorben en general grandes cantidades de agua debido a la presencia de grupos carboxílicos que proveen la habilidad de formar uniones tipo hidrógeno que son los responsables de que esto ocurra, y por ello presentan muy pobres propiedades mecánicas por sí solos. Por esta razón, el uso de ácido metacrílico permite modificar otros monómeros menos hidrófilos.

La síntesis de polímeros inteligentes, además de ser sensibles a la temperatura, pueden ser sensibles al pH del medio, generando cambios en sus propiedades, según sea el polímero (con grupos ácidos o básicos). Dentro de los polímeros con grupos ácidos, el ácido metacrílico (MAA) es uno de los más empleados, debido a la sensibilidad al pH, ya que contiene grupos funcionales ionizables que pueden aceptar o donar protones en respuesta al cambio de pH. [14].

El ácido metacrílico contiene un doble enlace carbono-carbono y una unión doble carbono-oxígeno, lo cual permite la hidrogenación, hidroxilación y degradación en el grupo carbonilo.

Los grupos carboxilos son capaces de establecer una mayor cantidad de interacciones de tipo puente de hidrógeno. En el doble enlace carbono-carbono existe un grupo metilo.

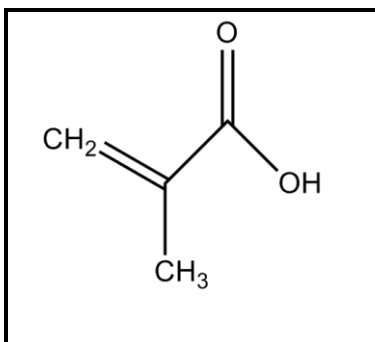


Figura 7. Estructura de ácido metacrílico.

1.7 Técnicas de caracterización

El conjunto de técnicas de caracterización que nos permiten conocer las propiedades de un material polimérico deben ser complementarias, ya que resulta sumamente importante mejorar los procesos de obtención con el objetivo de poder disponer de mejores o nuevos materiales y productos. La caracterización de macromoléculas comprende métodos y técnicas de evaluación de parámetros y comprende [11].

- i) Composición química forma y tamaño
- ii) Pesos moleculares y distribuciones
- iii) Orden creciente en estado sólido
- iv) Comportamiento térmico

El principal objetivo para determinar la estructura molecular de una cadena polimérica es relacionar la estructura del polímero y las propiedades del mismo en su aplicación final.

1.7.1 Espectroscopia infrarroja (FTIR-ATR)

El análisis de vibraciones de los materiales poliméricos a través de la espectroscopia infrarroja, es un método experimental apropiado para obtener información sobre parámetros estructurales de los mismos. Así, además de poderse analizar las especies químicas presentes en el compuesto, es posible obtener entre otros, datos sobre el estado de orden de los polímeros [17].

Esta técnica es una de las más útiles para identificar compuestos químicos orgánicos o inorgánicos, además de que se puede usar para determinar la cantidad de algunos componentes de una mezcla desconocida así como el análisis de sólidos, líquidos y gases.

Cuando la luz infrarroja pasa a través de una muestra de polímero, algunas de las frecuencias son absorbidas mientras que otras frecuencias son transmitidas. Las transiciones involucradas en la absorción del infrarrojo están asociadas con cambios vibracionales dentro de la molécula.

Los diferentes enlaces presentes en los polímeros (C-C, C=C, O-H, N-H, etc.) tienen diferentes frecuencias vibracionales. La presencia de estos enlaces en los polímeros puede ser detectada, identificando las frecuencias características como bandas de absorción en el espectro infrarrojo. Los polímeros usualmente absorben en el rango de $4000\text{-}650\text{ cm}^{-1}$.

FTIR-ATR, es una técnica ampliamente usada para el análisis de muestras de polímero con baja transmisión. ATR es un método de contacto que involucra un cristal con un índice de refracción grande y baja absorción en el infrarrojo en la región de interés. La profundidad de la penetración depende de varios factores que incluyen el ángulo de incidencia y el índice refractivo.

La principal ventaja del ATR es que puede obtener espectros de muestras opacas. La longitud del cristal determina la sensibilidad de la técnica debido a que la relación señal/ruido se mejora con un incremento en el número de reflexiones, que está en función de la longitud del cristal.

1.7.2 Análisis térmico

Las propiedades térmicas de los polímeros, tales como la temperatura de fusión (T_m), la temperatura de transición vítrea (T_g) y la temperatura de cristalización (T_c), se ven influenciadas por la estructura, forma, composición, y movilidad de las moléculas, segmentos de moléculas y la presencia de partículas dispersas de dichos polímeros. De igual manera, observando las propiedades

térmicas se puede llegar a conclusiones respecto a la estructura y comportamiento de los polímeros [18].

1.7.2.1 Calorimetría diferencial de Barrido (DSC)

Esta técnica permite determinar variaciones en la temperatura de transición vítrea, en la temperatura de fusión, en la cristalinidad y en las entalpías de fusión afectada por interacciones que presentan los componentes de la mezcla, tanto en mezclas de polímeros como en polímeros puros. La DSC mide la diferencia de energía requerida para mantener la temperatura de la muestra igual a la temperatura de referencia en una muestra patrón, cuando ambas están sometidas a un programa de temperatura controlada. Los cambios físicos o químicos que sufre la muestra se manifiestan como exotermas, endotermas o cambios en la pendiente de la línea base del termograma.

Un polímero completamente amorfo, a temperaturas altas está en forma de un líquido viscoso, y al enfriarlo, se vuelve cada vez más elástico hasta que llega a la temperatura de transición vítrea, T_g , se convierte en un sólido duro, rígido y frágil. Lo que sucede es que, conforme disminuye la temperatura, el polímero se contrae porque las cadenas se mueven menos y se atraen más. Dado que va disminuyendo el volumen, es decir, los espacios entre las moléculas, los segmentos de las cadenas tienen cada vez menos lugar para girar, hasta que al llegar a la T_g , dejan de hacerlo, el material se pone rígido y en esas condiciones se vuelve vítreo, es decir, frágil, porque como sus cadenas aunque todavía vibran ya no pueden girar para cambiar su posición, y no tienen manera de amortiguar los impactos. A esta restricción del movimiento molecular también contribuye por su puesto, la falta de suficiente energía debida a las bajas temperaturas.

Evidentemente, el estado vítreo lo alcanzan diferentes polímeros a diferentes temperaturas. Los que sean más flexibles, con menos grupos voluminosos en sus

cadena, podrán girar o permanecer flexibles a temperaturas menores que otros. Por ejemplo los silicones tienen temperaturas de transición vítrea de $-123\text{ }^{\circ}\text{C}$. En cambio, polímeros con grupos grandes o grupos muy polares, tienen tan baja movilidad que son vítreo a temperatura ambiente y reblandecerlos se requiere de altas temperaturas.

El equipo registra la cantidad de energía que hay que suministrar o retirar de la muestra, para mantener a esta última y a la referencia a la misma temperatura. En un termograma típico (Fig. 8), la ordenada es medida directa de la entalpía de cualquier transición que ocasione un flujo diferencial de calor, entre la muestra y la referencia. La abscisa está representada por la temperatura. La entalpía de cualquier transición es directamente proporcional al área bajo la curva.

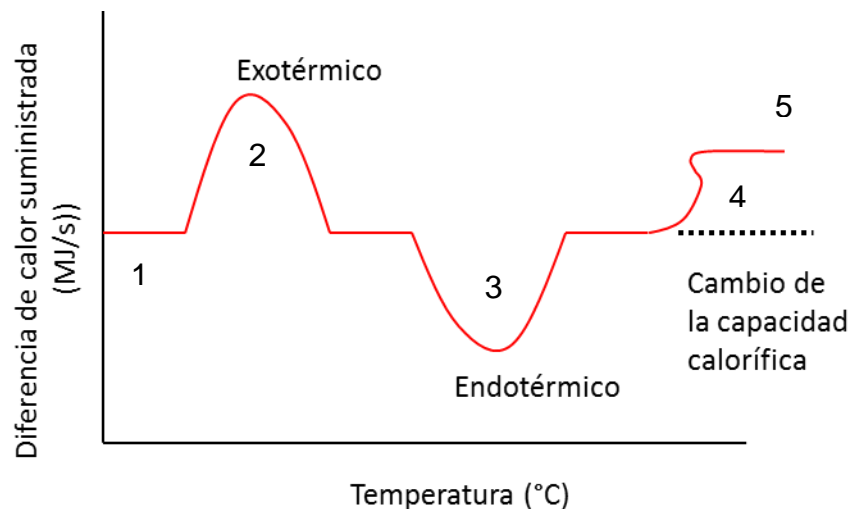


Figura 8. Principales procesos observados en un DSC. 1) Parte de la curva sin efectos térmicos (línea de base), 2) Pico de cristalización, 3) Pico de fusión de la fase cristalina, 4) Transición vítrea de la fase amorfa, 5) Comienzo de la degradación

1.7.2.2 Análisis termogravimétrico (TGA)

Esta técnica mide la cantidad y tasa de cambio en el peso de un material como función del tiempo o temperatura en una atmosfera controlada, con ella es posible caracterizar materiales que presenta pérdida de masa debida a la descomposición por oxidación o deshidratación (Fig. 9).

La estabilidad térmica es la estabilidad contra la degradación del material expuesto a temperaturas elevadas en un ambiente controlado. El vacío o atmosferas de gases inerte como el nitrógeno, helio y argón) o un ambiente oxidativo (por ejemplo en aire.)

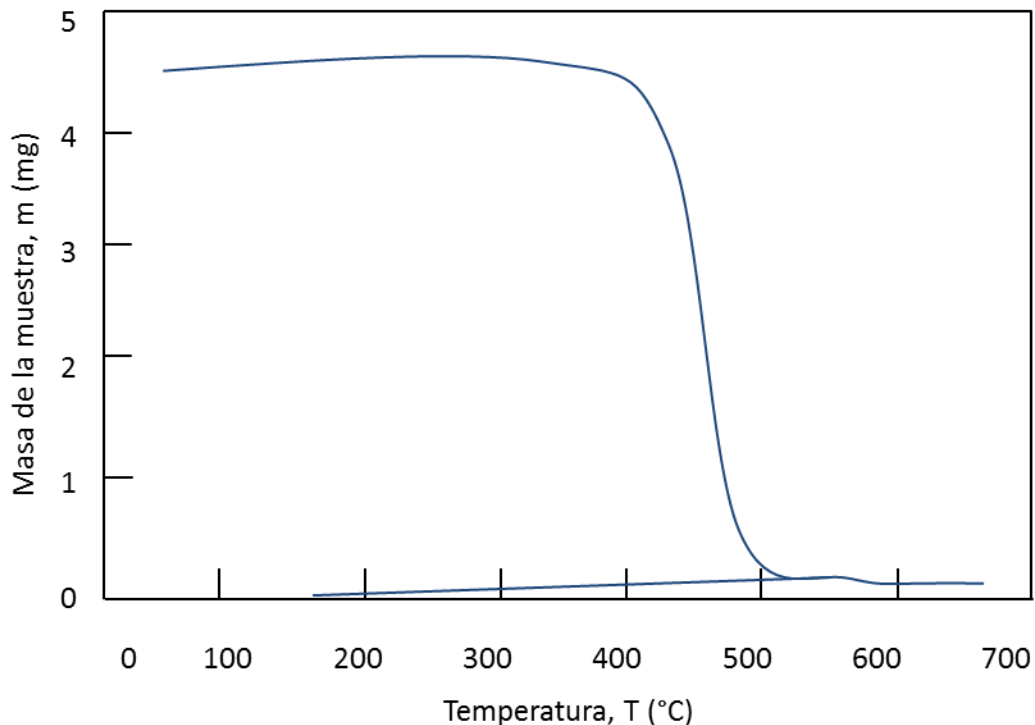


Figura 9. Termograma típico de un estudio termogravimétrico.

El análisis de TGA proporciona información para la selección de materiales prediciendo su comportamiento con base a su estabilidad oxidativa y térmica, efectos de reactividad corrosiva sobre el material, humedad, y contenidos de compuesto volátiles.

1.7.3 Hinchamiento límite

Los polímeros son capaces de absorber grandes cantidades de agua, manteniendo su estructura tridimensional, en cantidades que dependen de la hidrofilia de los polímeros constituyentes. Este proceso además es reversible y dependiente de las condiciones ambientales. El mecanismo por el que los polímeros son capaces de absorber tanto volumen de soluciones acuosas no es solamente físico, sino que depende de la naturaleza química del polímero.

La técnica de hinchamiento se utiliza con frecuencia para determinar el parámetro de solubilidad de los polímeros. Se basa en evaluar el hinchamiento del polímero en una serie de disolventes de parámetros de solubilidad conocidos. Se asume que se alcanzará el máximo hinchamiento cuando el parámetro de solubilidad del disolvente sea igual al del polímero. El hinchamiento define la capacidad de penetración de las moléculas de disolvente en el polímero, dependiendo de la naturaleza del disolvente.

En este método lo primero que se determina es el tiempo de hinchamiento límite, que es la duración en la que el polímero absorberá mayor cantidad de disolvente (llegando a un hinchamiento constante), en este caso se utiliza agua destilada, la cantidad absorbida es la relación del por ciento de hinchamiento respecto al peso inicial de la película completamente seca. Una vez obtenido el tiempo de hinchamiento límite, se realiza a diferentes pH, cercanos al rango en que se cree que puede presentar una transición de hidrofilia a hidrofóbico,

midiendo la cantidad de disolvente gravimétricamente obteniendo los porcentajes de hinchamiento a partir de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Hinchamiento} = \frac{(W_f - W_i)}{W_i} * 100$$

Dónde W_i es el peso inicial de la muestra y W_f el peso final de la muestra.

Conocer la capacidad de los materiales de absorber agua y diferentes fluidos, los convierte en materiales de enorme interés, sobre todo en la medicina como sistemas de liberación controlada. La hidrofilia de estos sistemas es debido a grupos como $-\text{OH}$, $-\text{CCOOH}$. [19].

1.7.4 pH crítico

El grado de ionización de un grupo funcional es función del pH del medio. En medio acuoso de pH y fuerza iónica apropiada, los grupos pendientes se ionizan y desarrollan cargas fijas sobre el sistema polimérico, generando fuerzas electrostáticas de repulsión que a su vez producen el fenómeno de hidratación/deshidratación dependiente del pH.

1.7.5 Ángulo de contacto

El ángulo de contacto es una propiedad superficial de lo sólidos que cuantifica su tendencia a la hidrofobicidad como parámetro importante para analizar los mecanismos de interacción entre las fases sólida y líquida [20].

La medición del ángulo de contacto de una gota de un determinado líquido sobre un sustrato es utilizada para caracteriza la humectabilidad de la superficie del mismo.

El ángulo de contacto Θ se define como el ángulo formado entre la superficie y la línea tangente al punto de contacto entre la gota de líquido y la superficie del sustrato.

Cuando se da una completa humectación, la gota de líquido se extenderá sobre la superficie y el ángulo de contacto estará cercano a 0° , por otro lado si la humectación es parcial el ángulo de contacto resultante caerá en el rango de $0-180^\circ$.

Mediante la medición del ángulo de contacto no solo se pueden determinar las propiedades hidrofílicas/hidrofóbicas de la superficie de un material sino que además el ángulo de contacto es un parámetro de interés en la determinación de la tensión superficial de sólidos, análisis de superficies de materiales para uso biomédico (por ejemplo para evaluar la limpieza de estos materiales) y en el estudio de adhesión/repelencia sobre superficies poliméricas. Sin embargo, varios factores pueden afectar los resultados cuando se lleva a cabo la medición del ángulo de contacto, tales como, la contaminación, humedad y rugosidad de la superficie.

1.8 Microscópio electrónico de barrido (SEM)

La microscopía electrónica de barrido es utilizada como una de las técnicas más versátiles en el estudio y análisis de las características micro estructural de objetos sólidos.

Esta técnica nos permite observar muestras relacionadas con el campo de la ciencia de los materiales y biomateriales. Además podemos observar la morfología de la muestra en tres dimensiones. La estructura atómica, y por tanto sus propiedades, que se reflejan en la morfología del material. La información que se

obtiene de este análisis es meramente cualitativa, las conclusiones que podamos obtener de un estudio completo y cuantitativo sobre un material deben de estar de acuerdo con su forma externa o morfología, relacionar la forma de un materia con sus propiedades y estructura interna, así como deducir procesos de formación y crecimiento, o inferir información sobre la homogeneidad de la muestra en estudio.

Para el caso de los materiales poliméricos, que en su mayoría son materiales aislantes, es necesario cubrir a las muestras con una capa conductora para mejorar la resolución de las imágenes formadas.

La principal ventaja de esta técnica es la facilidad de su manejo combinada como una buena resolución; las imágenes obtenidas presentan una amplia profundidad de campo, que posibilita el estudio de muestras rugosas o microcristales [16,21]

1.9 Sistemas de liberación de fármacos

En un sistema de liberación controlada, 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, está determinada por las propiedades del polímero y, en menor medida, depende de los factores ambientales, como pueden ser el pH, la temperatura y los fluidos del organismo. Por ello, los sistemas de liberación controlada deben ser capaces de permitir la administración de sustancias bioactivas de una forma lenta y continua durante períodos largos de tiempo [22].

El objetivo principal de la liberación controlada es simple: conseguir la cantidad correcta del agente activo, en el momento adecuado y en el lugar preciso. Este método de liberación se usa habitualmente para prolongar el tiempo en el que la dosis terapéutica está presente de forma efectiva utilizando una única

dosis, y para eliminar o minimizar las concentraciones que exceden los requerimientos terapéuticos.

Los materiales poliméricos permiten liberar de forma controlada fármacos de bajo peso molecular y permiten una gran variedad de rutas de administración (oral, parenteral, transdermal, nasal, ocular, etc.). En casos en los que la actividad de los fármacos convencionales se pierde o se ve disminuida en el medio corporal, la combinación con macromoléculas puede mejorar la eficacia de estos fármacos, aliviando la respuesta inmunológica del paciente y reduciendo la inactivación biológica del agente terapéutico.

En general, y desde el punto de vista ideal, los polímeros deben estar libres de aditivos, impurezas, estabilizadores, residuos de catalizador o emulsionantes. Generalmente, son sintetizados por procesos de polimerización que conducen a elevadas conversiones, son químicamente inertes y esto hace que su uso en medicina sea posible. Pero este comportamiento inerte es relativo, porque la mayoría de los polímeros están contaminados con sustancias de bajo peso molecular, por ejemplo monómero residual, catalizadores, etc., que se difunden desde el polímero y reaccionan químicamente con las moléculas biológicas.

El adecuado diseño de un dispositivo de liberación de fármacos para una aplicación biomédica, debe tener en cuenta que las propiedades físicas y mecánicas del polímero sean las apropiadas, ya que el fallo de estos sistemas a menudo tiene su origen en una inadecuada resistencia mecánica. En este sentido, los parámetros más importantes que han de ser considerados son las propiedades elásticas, el grado de hinchamiento, la resistencia a la tracción y a la compresión, la cizalla bajo cargas estáticas y dinámicas, la resistencia al desgarre y a la fatiga. La degradación térmica es de menor importancia debido a las relativamente pequeñas fluctuaciones de temperatura que se dan en el organismo [23,24].

1.9.1 Liberación controlada de agentes bioactivo

El perfil de liberación de agentes bioactivos es el resultado del fenómeno de difusión en el polímero y de restricciones de transferencia de masa en la interfase polímero/líquido [25].

Una de las tareas más laboriosas en el campo de la tecnología de la liberación controlada, reside en el desarrollo de formulaciones de polímeros (tipo matriz) capaces de liberar fármacos a velocidad constante durante un tiempo determinado. Una aproximación es la utilización de polímeros hidrófilos que presenten la capacidad de hincharse en un medio acuoso, sin disolverse, y de liberar el fármaco disuelto o disperso en ellos, proporcionando una velocidad prácticamente constante.

La migración del fármaco al medio acuoso desde un sistema de esta naturaleza implica un proceso de absorción de agua o fluido biológico, y otro simultáneo de desorción del fármaco, mediante un mecanismo de difusión, controlado por el hinchamiento que sufre el material polimérico.

Los sistemas poliméricos de liberación de fármacos se pueden clasificar según la forma de incorporación del fármaco, distinguiéndose transportadores químicos y físicos.

1.9.2 Dosificación controlada por mecanismos físicos

En el caso de sistemas con unión física entre el polímero y el agente bioactivo, los tipos más representativos en función del mecanismo de actuación son los sistemas:

- controlados por difusión, bien en depósitos o reservorios (membranas), en matrices (monolíticos)
- controlados por el disolvente (sistemas osmóticos y sistemas controlados por hinchamiento).

1.9.3 Sistemas controlados por difusión y disolvente

La cantidad de producto bioactivo que llega a una zona determinada de aplicación, se controla mediante un fenómeno de difusión del compuesto: directamente a través de la estructura molecular del polímero o a través de macro o microporos. Sin embargo, el caso más frecuente es una combinación de ambos mecanismos [26].

Estos sistemas pueden presentarse en dos formas bien diferenciadas:

- Sistemas con depósito o sistemas con un núcleo interno que contiene el fármaco. Consisten en un núcleo de agente activo rodeado por una membrana delgada, homogénea y no porosa. El principio activo está contenido dentro de una capa de polímero, la cual puede hincharse o no en el medio biológico donde se aplica. El transporte del fármaco al exterior se da por la disolución del soluto en la interface soluto/polímero y su posterior difusión hacia el exterior a través de la membrana.
- Sistemas matrices o dispositivos monolíticos. En estos sistemas el compuesto bioactivo se encuentra uniformemente distribuido en un soporte de polímero sólido. El fármaco puede encontrarse disuelto en la matriz polimérica o disperso si su contenido es mayor que el límite de solubilidad. La migración del fármaco al medio se produce por difusión

molecular a través del soporte o por difusión a través de microporos existentes en la matriz polimérica.

En cambio los controlados por disolvente son matrices poliméricas o sistemas con depósito donde la liberación es controlada por la penetración de un disolvente, vía ósmosis o hinchamiento.

- a) Sistemas controlados por hinchamiento. Son sistemas monolíticos en los que el compuesto activo se encuentra disuelto o disperso en un soporte de polímero hidrófilo, entrecruzado o no, el cual se hincha sin disolverse cuando se pone en contacto con un medio acuoso. En estos sistemas el grado de hinchamiento (y por tanto la cantidad de fármaco liberada) depende del balance hidrófilo/hidrófobo de la matriz polimérica y del grado de entrecruzamiento.

- b) Sistemas osmóticos. Son sistemas compuestos por un núcleo de fármaco rodeado por una membrana polimérica selectiva al agua. La membrana permite el paso del agua pero no el del fármaco. La membrana polimérica presenta una pequeña apertura a través de la cual se libera el fármaco como consecuencia del aumento de la presión hidrostática.

1.10 Estudios microbiológicos

El uso de dispositivos médicos implantables/insertables tiene un riesgo inherente de causar reacciones de cuerpo extraño adversos u otros efectos secundarios derivados de la adhesión de proteínas del huésped y las células o proliferación de bacterias y hongos [27,28]. Hay un período crítico de 6 h después de la implantación en el que la adhesión microbiana se debe evitar con el fin de obtener un implante duradero a largo plazo [29]. Durante este período inicial, un

implante es particularmente susceptible a la colonización bacteriana y se espera que la colonización de microorganismos se pueda limitar al depositar agentes antimicrobianos en el dispositivo, con el fin de obtener un rendimiento alto del dispositivo implantable [30].

La incorporación de los antisépticos o los antibióticos en la mayor parte o en la superficie del dispositivo médico se ha mostrado adecuada para reducir el riesgo de colonización de microorganismos [31,32]. Entre los antisépticos usados comúnmente, cloruro de benzalconio (BzCl) es uno de los más seguros biocidas sintéticos con relativamente amplio espectro antimicrobiano [33,34]. Por otro lado, la vancomicina es altamente eficaz contra muchas bacterias Gram-positivas, particularmente contra las formas resistentes de *Staphylococcus aureus* como *S. aureus* resistente a la meticilina (MRSA) [35], que se ha convertido en el principal agente causal de infecciones nosocomiales [36]. a pesar de los avances en este campo, el desarrollo de materiales adecuados para la producción de dispositivos médicos implantables capaces de cargar los medicamentos antimicrobianos y para proporcionar una entrega local a la tasa apropiada sigue siendo una tarea difícil [35,37].

1.11 Vancomicina

La vancomicina es un antibiótico de espectro reducido; su efecto antibacteriano se limita a bacterias Gram positivas aerobias y anaerobias. Entre los microorganismos sensibles a vancomicina se incluyen *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, incluyendo las cepas meticilin resistentes (SAMR) (1).

La vancomicina, descubierta en 1956 y aprobada por la Administración Federal de Alimentos y Drogas (FDA) en 1958, es un antibiótico polipeptídico, que presenta un peso molecular de 1449.3 g/mol, lo que la clasifica como una

molécula grande. Presenta seis valores de pKa, correspondientes a un grupo amino primario, uno secundario, un grupo carboxílico y tres grupos fenoles; obtenido de *Nocardia orientalis* (*Streptomyces orientalis*, *Amycolaptosis orientalis*). [55]

La estructura química de la vancomicina se presenta en la figura 10. Su fórmula empírica es $C_{66}H_{75}Cl_2N_9O_{24}$. Es un compuesto complejo, anfótero formado por (Dámaso 90) un residuo de glucosa, ácido aspártico, N-metil-leucina, ácido 3-metil-4cetoheptanoico, dos grupos ortometil-hidroxibenceno y dos grupos para-metil-hidroxibenceno.

La vancomicina está cargado positivamente en los grupos de amina primaria y secundarias (véase la Figura 10) [48].

La vancomicina se presenta en forma de polvo blanco, cristalino, muy soluble en agua. En solución acuosa es muy estable, no apreciándose pérdida de actividad durante dos semanas, tanto en ambiente frío ($5^{\circ} C$) como a temperatura ambiente.

La vancomicina ha sido el fármaco de elección durante los últimos 30 años para el tratamiento de las infecciones por MRSA. La aparición de cepas con susceptibilidad disminuida a este antibiótico, representa un problema clínico significativo con muy pocas opciones terapéuticas.

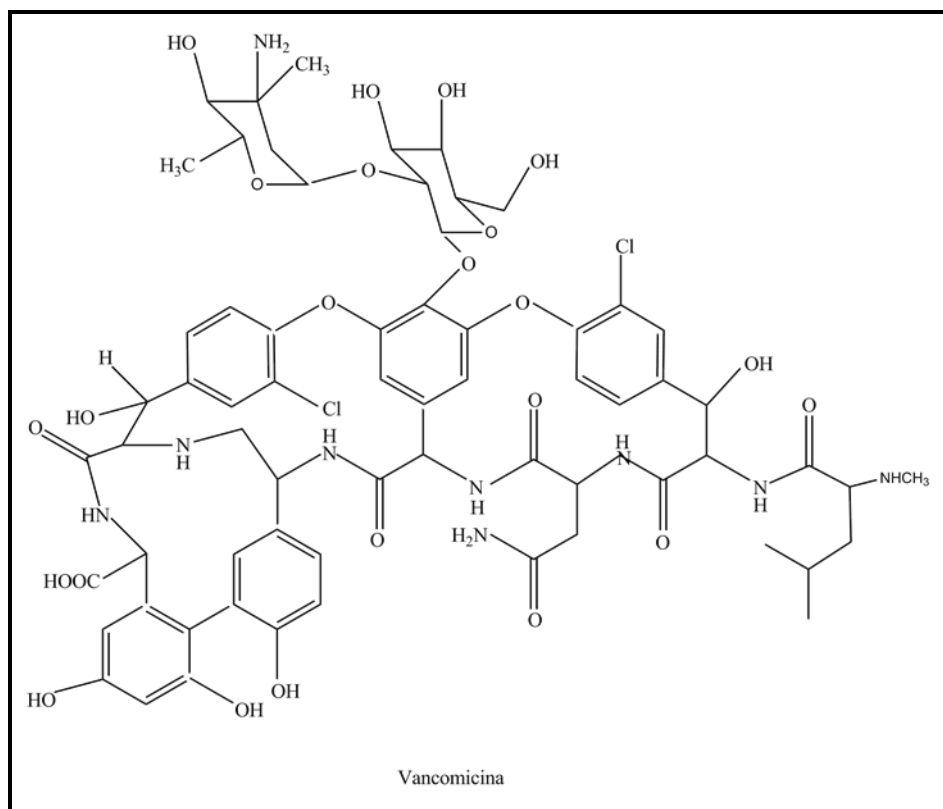


Figura 10. Estructura de la vancomicina

1.12 Cloruro de Benzalconio

El cloruro de benzalconio es una solución acuosa que comprende una mezcla de cloruros de alquibencil dimetil amonio (C_8-C_{18}) de peso molecular medio de 360 g/mol, y contiene no menos de 475 g/l y no más de 525 g/l de cloruros alquibencildimetilamonio, calculado como $C_{22}H_{40}ClN$ (Mw 354,0) (Fig. 11). La solución puede contener alcohol.

Este fármaco es un líquido claro, incoloro o ligeramente amarillento, miscible con agua y con alcohol. Es termolábil y fotosensible; al agitar la solución acuosa se produce mucha espuma.

El Cloruro de benzalconio es un compuesto de amonio cuaternario que tiene una acción desinfectante y antiséptica lenta. Es bacteriostático a dosis baja y bactericida a dosis altas, pero solamente es activo contra bacterias Gram positivas.

La solución presenta una baja tensión superficial y propiedades detergentes y emulgentes.

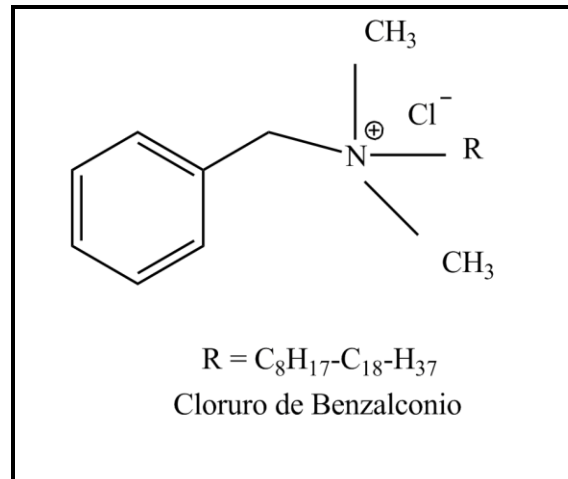


Figura 11. Estructura del cloruro de benzalconio

Por otro lado, es importante conocer que la exposición tanto a la luz, la temperatura y la humedad son factores críticos que influyen en la estabilidad de los medicamentos, alterando las características y propiedades físico-químicas del principio activo, disminuyendo la potencia del fármaco y en consecuencia también su efectividad.

Tanto la VCM como el BzCl son medicamentos que experimentan reacciones de fotólisis (ruptura de enlaces químicos por causa de energía radiante). Y el resultado de esta foto-descomposición es una reacción de oxidación. Donde la fuerza que dispara la descomposición es la luz que transfiere la energía necesaria para lograrlo.

Los factores más importantes en la degradación de estos fármacos por fotólisis son la intensidad de luz y su longitud de onda. Y este fenómeno es independiente de la temperatura. Por ellos es importante evitar la exposición de estos medicamentos; por lo que se recomienda almacenarlos en frascos color ámbar o cubrir los envases con aluminio.

Estas reacciones de oxidación son una de las causas por lo que produce inestabilidad en los fármacos.

De estas reacciones se puede reconocer la degradación de los medicamentos, por sus cambios observados a simple vista como: en la apariencia, color, liberación de gas y forma de la dosificación.

CAPITULO 2 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

2.1 Síntesis del biomaterial

Para llevar a cabo la síntesis, se utilizó hule de silicona comercial (SR) de la marca “Goodfellow” libre de aditivos; se cortaron 30 muestras de silicona de 1cm x 2.5 cm y 1mm de espesor.

Cada muestra se lavó durante 24 horas en etanol bajo agitación constante para asegurar que el hule estuviera completamente limpio y libre de impurezas, se secaron a vacío y se registró el peso de cada una de ellas. (Tabla 2)

Tabla 2. Peso inicial de silicona sin monómero

Etiqueta	Peso Inicial (g)	Etiqueta	Peso Inicial (g)
B-1	0.2642	B-16	0.2867
B-2	0.2732	B-17	0.2537
B-3	0.2577	B-101	0.2590
B-4	0.2440	B-102	0.2813
B-5	0.2486	B-103	0.2768
B-6	0.209	B-104	0.2666
B-7	0.2520	B-105	0.2547
B-8	0.2710	B-106	0.2613
B-9	0.2660	B-201	0.2620
B-10	0.2629	B-202	0.2793
B-11	0.2667	B-203	0.2569
B-12	0.2652	B-204	0.2637
B-13	0.2508	B-205	0.2744
B-14	0.2609	B-206	0.2647
B-15	0.2498	B-207	0.2647

Se utilizó ácido metacrílico de la marca “Aldrich”, el cual se purificó previamente a presión reducida; se utilizó como disolvente tolueno de la marca “J.T. Baker” 99.7%.

Cada muestra de hule de silicón se pesó y se colocó en ampollitas de vidrio sin sellar para irradiar a razón de dosis de 11.3 kGy/h en el rango de 15 a 100 kGy utilizando una fuente de ⁶⁰Co (Gammabeam 651-PT), asignando dosis de

radiación de acuerdo a cada diseño experimental, con la finalidad de encontrar las condiciones óptimas para obtener un copolímero con alto porcentaje de injerto.

Se realizaron cuatro diseños experimentales:

1) Injerto en función de la concentración de monómero

Se mantuvieron constantes la dosis, el tiempo de reacción y la temperatura; variando la concentración de monómero.

Tabla 3. Injerto en función de la concentración de monómero

Dosis (kGy)	Tiempo de reacción (h)	Temperatura ° C	Disolvente	Concentración PMAA/Tolueno [%]
100	5	70	Tolueno	30
				40
				50
				60
				80

2) Injerto en función de la dosis

Se mantuvieron constantes el tiempo de reacción, la temperatura, la concentración de monómero; variando la dosis.

Tabla 4. Injerto en función de la dosis

Tiempo de reacción (h)	Disolvente	Concentración PMAA/Tolueno [%]	Temperatura ° C	Dosis (kGy)
5	Tolueno	50	70	15
				30
				45
				60
				75

3) Injerto en función de la temperatura de reacción

Se mantuvieron constantes el tiempo, la dosis, la concentración de monómero; variando la temperatura.

Tabla 5. Injerto en función de la temperatura de reacción

Tiempo de reacción (h)	Disolvente	Concentración PMAA/Tolueno [%]	Dosis (kGy)	Temperatura °C
5	Tolueno	50	100	50
				60
				70
				80
				90

4) Injerto en función del tiempo de reacción

Se mantuvieron constantes la dosis, la temperatura, la concentración de monómero; variando el tiempo de reacción.

Tabla 6. Injerto en función del tiempo de reacción

Temperatura °C	Disolvente	Concentración PMAA/Tolueno [%]	Dosis (kGy)	Tiempo (h)
70	Tolueno	70	100	0.5
				1
				2
				3
				4

A cada muestra de silicona pre-irradiada se le agregaron 8 mL de fase líquida respetando la relación monómero/disolvente de cada experimento contenido en el diseño experimental descrito anteriormente; el sistema se

desoxigena mediante 6 ciclos de congelación-descongelación, y las ampollas se sellan a vacío.

Cada ampollita se colocó en un baño maría ajustado a la temperatura de reacción (entre 50 y 90 °C), durante el tiempo de reacción (de 0.5 a 10 h). Las películas injertadas se retiraron de las ampollas y se sometieron a tres lavados de 12 horas con etanol bajo agitación.

El rendimiento de injerto fue calculado de manera gravimétrica como el porcentaje de incremento en la masa de la muestra de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\% \text{ de injerto} = \frac{\text{Peso final de la muestra} - \text{Peso inicial de la muestra}}{\text{Peso inicial de la muestra}} * 100$$

2.2 Caracterización del biomaterial

El sistema obtenido fue analizado por diversos métodos de caracterización, para comprobar la presencia del injerto, así como los cambios en su estructura y sus propiedades fisicoquímicas por medio de espectroscopia infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR-ATR), donde se utilizó un espectrómetro por Transformada de *Fourier* marca *Perkin Elmer*, modelo *SpectrumOne* acoplado a un ATR con una resolución de 4 cm⁻¹ y 16 barridos.

Las transiciones de fase como el punto de fusión y temperatura de transición vítrea se analizaron mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC), se utilizó un equipo *TA Instruments*, y la cantidad de muestra fue aproximadamente 10 mg; utilizando una rampa de calentamiento de 10 °C/min., en un intervalo de 25 a 250 °C bajo atmósfera de nitrógeno.

La estabilidad térmica fue determinada por análisis termogravimétrico utilizando un TGA Q50 (TA Instruments), con una velocidad de calentamiento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ dentro de un intervalo de temperatura de 250 a $800\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Al obtener las películas injertadas, se hizo el estudio de hinchamiento límite; la determinación de porcentaje de absorción de agua se llevó a cabo por diferencia de peso entre la película húmeda y la película seca empleando un método gravimétrico. Se colocaron las películas en agua destilada a temperatura ambiente, durante ciclos de 15 minutos hasta llegar a un peso constante. La cuantificación se realizó sacando las muestras del agua, retirando el exceso de agua con papel absorbente para posteriormente pesarlas.

El porcentaje de hinchamiento se obtiene a partir de esta ecuación:

$$\% \text{ Hinchamiento} = \frac{w - w_0}{w_0} * 100$$

Donde w es el peso húmedo de la muestra y w_0 es peso inicial (seco) de la muestra.

Para conocer el pH crítico, las muestras injertadas se sumergen en un amortiguador de pH conocido durante 2 horas (hinchamiento límite), el análisis se realizó a pH entre el intervalo de 2 a 10 en los cuales se espera encontrar el pH crítico, cada vez que se va cambiando el pH se retiran la película, se seca y se pesa.

La determinación de pH crítico se determinó a temperatura ambiente.

Se obtuvo el porcentaje de hinchamiento con la misma ecuación con la que se obtuvo el hinchamiento límite (para cada determinación) y se trazó una gráfica de porcentaje de hinchamiento versus pH, donde el pH crítico corresponde al punto de inflexión formado.

Los amortiguadores se obtienen mezclando las proporciones de las soluciones I (Ácido bórico 0.2 M + Ácido cítrico 0.05 M) y II (Orto fosfato trisódico $12\text{H}_2\text{O}$ 0.1 M) variando los volúmenes de acuerdo a la tabla 7.

Tabla 7. Soluciones amortiguadoras.

pH	Solución I (mL)	Solución II (mL)
2.0	195	5
2.5	184	16
3.0	176	24
3.5	166	34
4.0	155	45
4.5	144	56
5.0	134	66
5.5	126	74
6.0	118	82
6.5	109	91
7.0	99	101
7.5	92	108
8.0	85	115
8.5	78	122
9.0	69	131
9.5	60	140
10.0	54	146
10.5	49	151
11.0	44	156
11.5	33	167
12.0	17	183

El ángulo de contacto es sensible a la composición química de la película molecular superior; ésta medida del ángulo de contacto estático fue hecha por el método de la gota de líquido usando un medidor de ángulo de contacto modelo Cam-Micro usando soluciones pH.

La morfología de las muestras se analizó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM); se hicieron cortes transversales a las películas y se observaron desde el borde a diferentes resoluciones para su posterior análisis y comparación con la película virgen.

Las muestras se recubrieron con iridio y el microscopio usado fue un Microscopio Electrónico de Barrido Emisión de Campo FESEM ULTRA Plus.

2.3 Carga y cesión de fármacos

Para hacer las determinaciones cuantitativas de ambos fármacos se elige, la longitud de onda correspondiente a cada fármaco; 262 nm para vancomicina y 280 nm para cloruro de benzalconio.

Para verificar el cumplimiento de la ley de Beer, se realizó la curva de calibración; absorbancia (Abs) en función de la concentración, por lo que se preparan soluciones de ambos fármacos de concentraciones conocidas y se mide la absorbancia a la longitud de onda. Si es válida la ley de Beer, para esa sustancia a esas concentraciones, la relación debe ser una recta, que pase por el origen de los ejes cartesianos.

Para el estudio de carga y liberación de fármacos se preparó una curva de calibración con diez estándares de concentración decreciente a partir de una solución de vancomicina con una concentración de 5 mg/mL, tal como se muestra en la tabla 8.

Se hizo la curva de calibración con las absorbancias leídas en el UV-VIS (Modelo Cary100 Scan UV-Visible SpectrophotometerVarian) a partir de las diluciones preparadas.

Tabla 8. Datos de absorbancia de vancomicina a diferentes concentraciones

Muestra	Concentración	Absorbancia	Muestra	Concentración	Absorbancia
Sol. Madre	5.04 mg/mL	2.021			
Sol. 1	2.52 mg/mL	1.018	Sol. 6	3.78 mg/mL	1.495
Sol. 2	1.26 mg/mL	0.513	Sol. 7	1.89 mg/mL	0.742
Sol. 3	0.63 mg/mL	0.266	Sol. 8	0.945 mg/mL	0.379
Sol. 4	0.315 mg/mL	0.134	Sol. 9	0.472 mg/mL	0.190
Sol. 5	0.157 mg/mL	0.068	Sol. 10	0.236 mg/mL	0.098

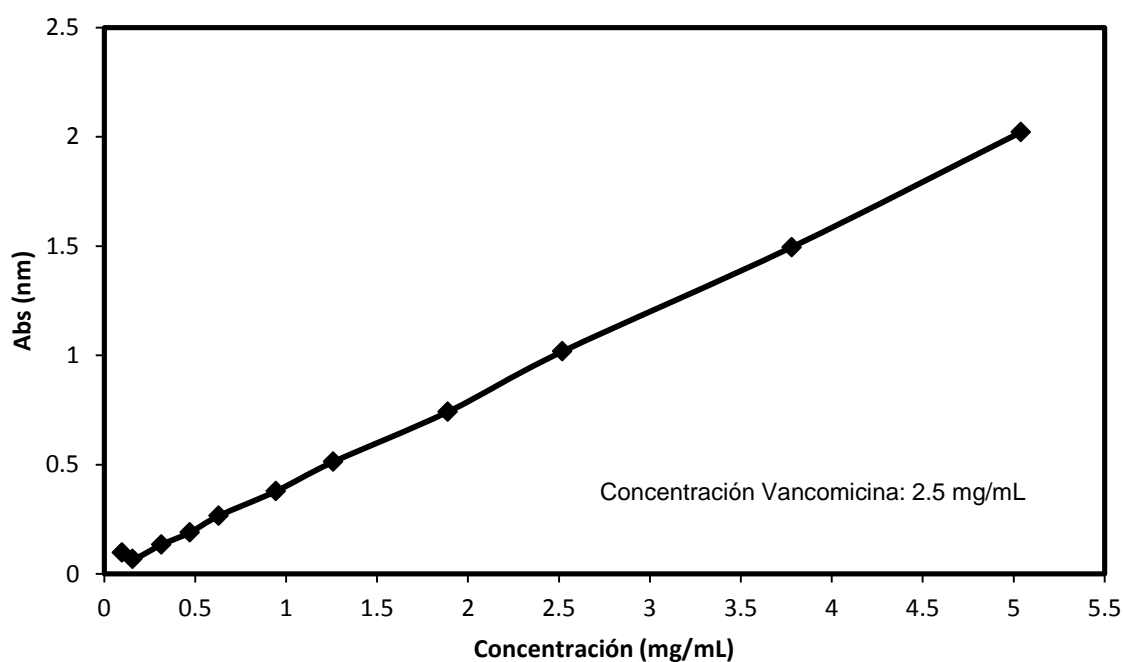


Figura 12. Curva de Calibración de VCM para obtener la concentración en absorbancia 1.0 y la ecuación que representa la variable de concentración.

Se lee en absorbancia 1.0 una concentración de 2.5 mg/mL de acuerdo a la ecuación:

$$Y=0.3948x+0.0154$$

Dónde x es la concentración de la solución y y es la absorbancia.

Se preparó 250 mL de vancomicina con la concentración leída a uno, para la carga del fármaco.

Se seleccionaron tres muestras de silicona con diferentes porcentajes de injerto y una muestra de silicona virgen, cada película se dividió en 3 partes iguales, se midió, se pesó y se registró en la Tabla siguiente:

Tabla 9. Peso y área de las películas de silicona injertadas y sin injerto.

B-12 (71%)		B-7 (42.7%)		B-14 (17.5%)		SR (virgen)	
W_0 (g)	Área cm^2	W_0 (g)	Área cm^2	W_0 (g)	Área cm^2	W_0 (g)	Área cm^2
0.1038	0.88	0.1214	0.99	0.095	0.85	0.0864	0.83
0.1141	1.023	0.099	1.023	0.094	0.9	0.0817	0.78
0.1985	1.65	0.132	1.05	0.114	1.0	0.0954	0.90

Cada muestra se colocó en viales con 10 mL de la solución, teniendo cuidado de tapar el tubo con papel aluminio, ya que el fármaco es muy susceptible a la luz.

La cantidad de fármaco cargado en la película, fue monitoreada espectrofotométricamente verificando la absorbancia a 262nm durante una semana. La cantidad cargada se estimó restando la cantidad remanente en la solución a partir del contenido inicial.

Se espera alcanzar el punto de saturación de las películas, que deberá corresponder a una asíntota de la variación de la concentración con respecto al tiempo.

Una vez finalizada la carga, se retiraron las muestras de la solución para enjuagarlas con un poco de agua destilada y se secaron durante 3 días para asegurarse de que estuvieran completamente secas.

Lo mismo se hizo para Cloruro de benzalconio, en donde se preparó una curva de calibración con 13 estándares de concentración decreciente a partir de una concentración inicial de 14.85 mg/mL, tomando en cuenta el intervalo de concentración del compuesto. Tabla (10)

Tabla 10. Datos de absorbancia de Cloruro de Benzalconio a diferentes concentraciones

Muestra	Concentración (mg/mL)	Abs. (nm)	Muestra	Concentración (mg/mL)	Abs. (nm)
Solución Madre	14.84	3.2705	Solución 8	0.695	0.6466
Solución 1	7.42	3.106	Solución 9	0.463	0.4397
Solución 2	3.71	2.76	Solución 10	0.3478	0.3215
Solución 3	1.855	1.6397	Solución 11	0.231	0.2088
Solución 4	0.9275	0.8589	Solución 12	0.1739	0.1473
Solución 5	5.575	3.111	Solución 13	0.115	0.09845
Solución 6	2.7825	2.2776			
Solución 7	1.3912	1.2374			

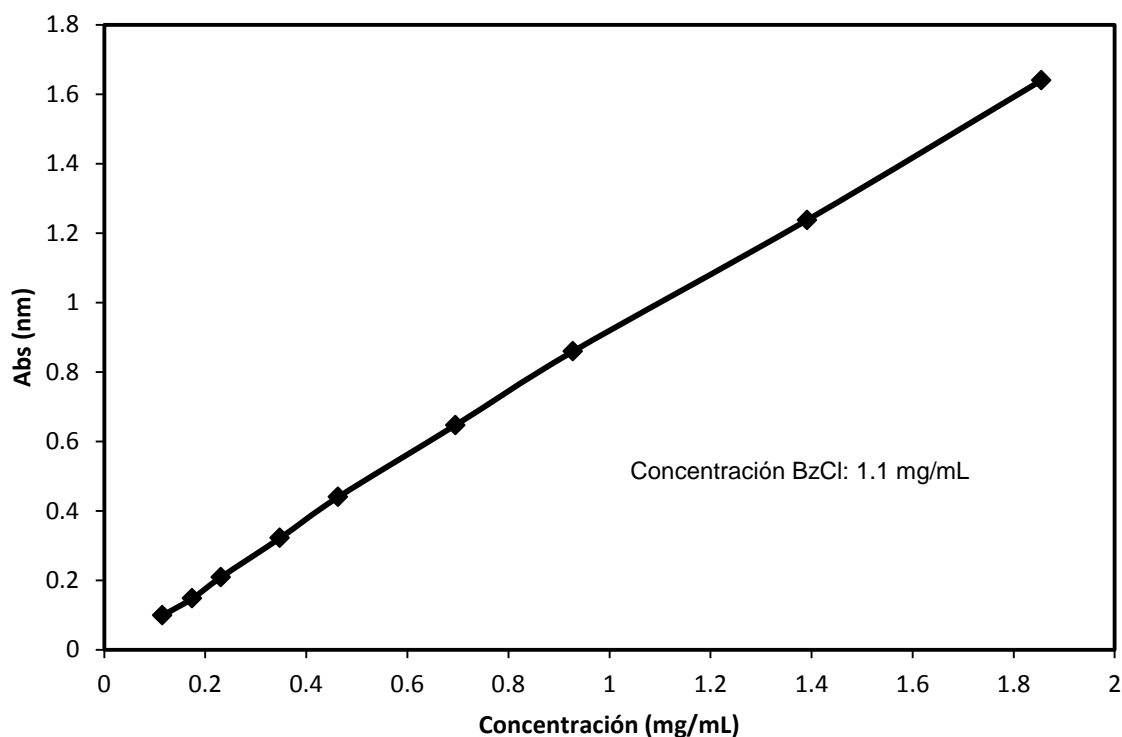


Figura 13. Curva de Calibración de BzCl para obtener la concentración en absorbancia 1.0

En absorbancia 1.0 se tiene una concentración de 1.1 mg/mL de acuerdo a la ecuación:

$$Y=0.8861x+0.0117$$

Dónde:

x es la concentración de la solución.

y es la absorbancia.

Se prepararon 250 mL de BzCl con esta concentración, que se usó para la carga del fármaco.

Se seleccionaron tres muestras de silicona a diferentes porcentajes de injerto y una muestra de silicona virgen (66, 46, 18, SR virgen), cada película se dividió en 3 partes iguales, se midió, se pesó y se registró en la Tabla siguiente:

Tabla 11. Peso y área de las películas de silicona injertadas y sin injerto

B-105 (66%)		B-203 (46%)		B-101 (18%)		SR (virgen)	
W_0 (g)	Área cm^2	W_0 (g)	Área cm^2	W_0 (g)	Área cm^2	W_0 (g)	Área cm^2
0.1140	1.023	0.121	1.2	0.098	1.0	0.084	0.80
0.1228	1.0	0.122	1.1	0.092	1.0	0.075	0.81
0.1737	1.15	0.121	1.05	0.115	1.1	0.097	0.80

Cada muestra se colocó en frascos viales con 10 mL de la solución, tapados y cubiertos con papel aluminio ya que el fármaco es muy susceptible a la luz.

La cantidad de fármaco cargado en la película, fue monitoreada espectrofotométricamente verificando la absorbancia a 280 nm durante una semana. La cantidad cargada se estimó restando la cantidad remanente en la solución a partir del contenido inicial.

La carga finalizó cuando se alcanzó el punto de saturación de las películas, que corresponde a una asíntota de la variación de la concentración con respecto al tiempo.

Una vez finalizada la carga, se retiraron las muestras de la solución para enjuagarlas con un poco de agua destilada y se secaron durante 3 días para asegurarse de que estuvieran completamente secas.

Para analizar la liberación de los fármacos, las muestras cargadas completamente secas se colocaron en una solución buffer 7.4.

Esta solución se preparó a partir de fosfato monobásico 0.2 M (solución I) y Sosa (NaOH) 0.2M (solución II). Se tomó 50 mL de la solución I a un matraz aforado de 200 mL y se añadió la cantidad de 34.7 mL de solución de NaOH 0.2 M.

Se aforó a 200 mL con agua destilada y con un potenciómetro se determinó el pH, se ajustó de acuerdo al resultado con solución I o II según correspondiera.

La cantidad liberada en este medio acuoso se midió de la misma manera como se hizo con la carga. Se monitoreó la absorbancia de la solución con respecto al tiempo y se calculó la cantidad liberada en la solución, las lecturas se registraron durante 72 horas, hasta que no se percibió ningún cambio en la concentración.

CAPITULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Síntesis

La reacción de polimerización para la formación del copolímero de injerto SR-g-MAA se muestra en la Figura 14, en primera instancia, el SR se irradió en presencia de aire con el fin de generar peróxidos e hidroperóxidos en la cadena de silicona.

En presencia de oxígeno los radicales poliméricos generados tras la irradiación se convierten en derivados peroxi que propician reacciones de reticulación, lo cual a su vez minimiza los cambios en la estructura y conserva las características mecánicas de las películas SR [38].

Los peróxidos intermediarios se descomponen sometidos a calentamiento, lo que produce los macrorradicales que reaccionaron con los dobles enlaces de MAA para activar el injerto en las cadenas de SR.

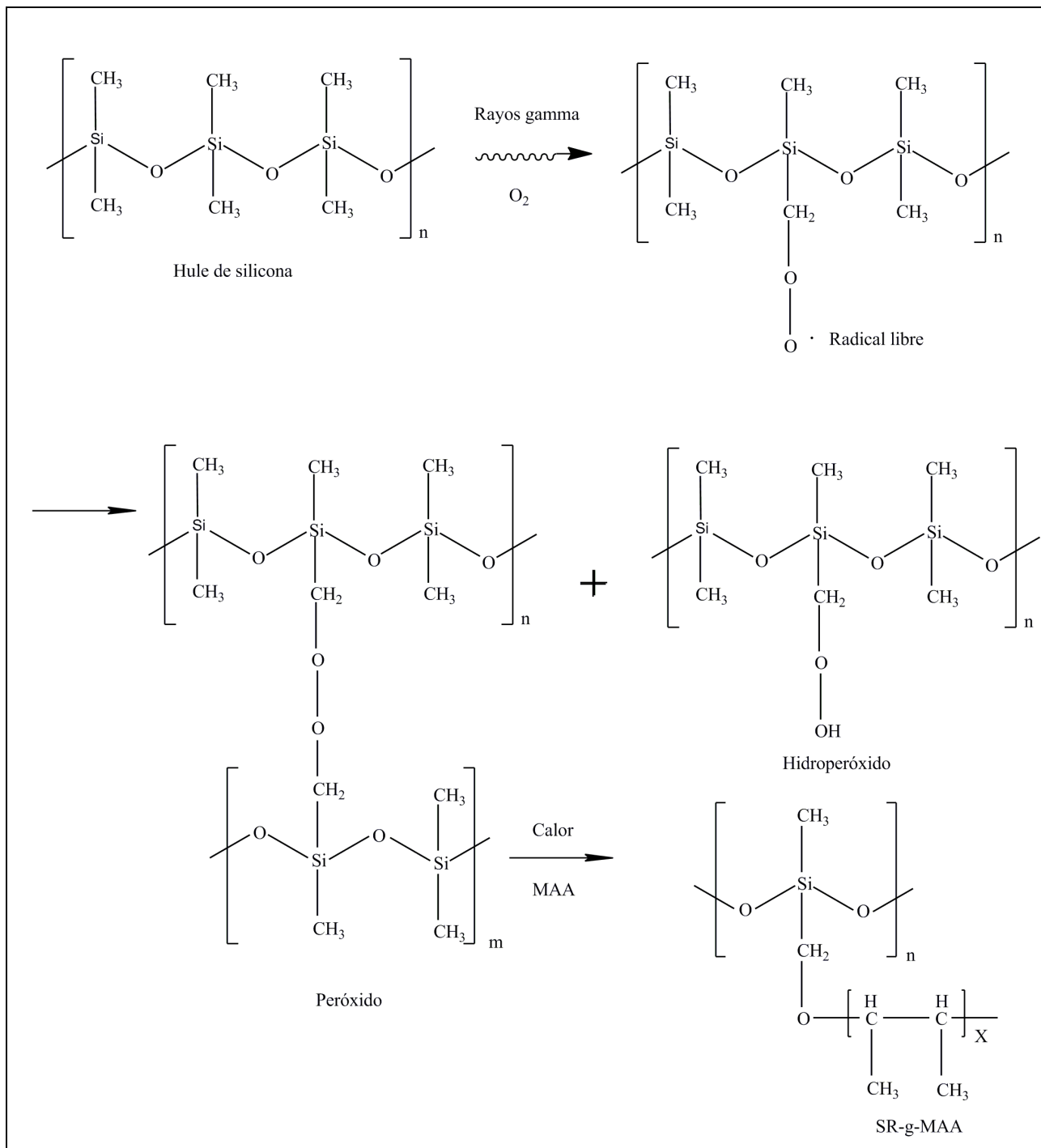


Figura 14. Síntesis de SR-g-MAA

3.2 Efecto de la concentración de monómero

La Figura 15 muestra la dependencia del porcentaje de injerto de MAA en SR con respecto a la concentración inicial del monómero. Se sabe que el injerto por radiación de algunos monómeros acrílicos, incluyendo MAA y sus derivados, se acompaña de homopolimerización. A medida que aumentaba la concentración de monómeros, la difusión en la masa de SR se favoreció y por lo tanto más monómero podía entrar en contacto con los puntos reactivos para la propagación de las cadenas en crecimiento.

Los datos mostraron que el injerto de PMAA en SR aumenta cuando se incrementa la concentración del monómero hasta una concentración de 60 % (v/v).

Por encima de esta concentración el injerto no se incrementa, debido probablemente al incremento de las reacciones de homopolimerización del MAA, es decir, a la dificultad de la difusión del monómero hacia los sitios activos. Por otro lado la formación del homopolímero no tiene este impedimento, por lo que puede continuar en la fase continua.

Tabla 12. Resultados del perfil efecto de la concentración de monómero

Etiqueta	Concentración (MAA-Tolueno)	% Injerto
B-101	30 %	18.04
B-102	40 %	40.00
B-103	50 %	54.22
B-104	60 %	64.17
B-201	70 %	66.78
B-105	70 %	66.35

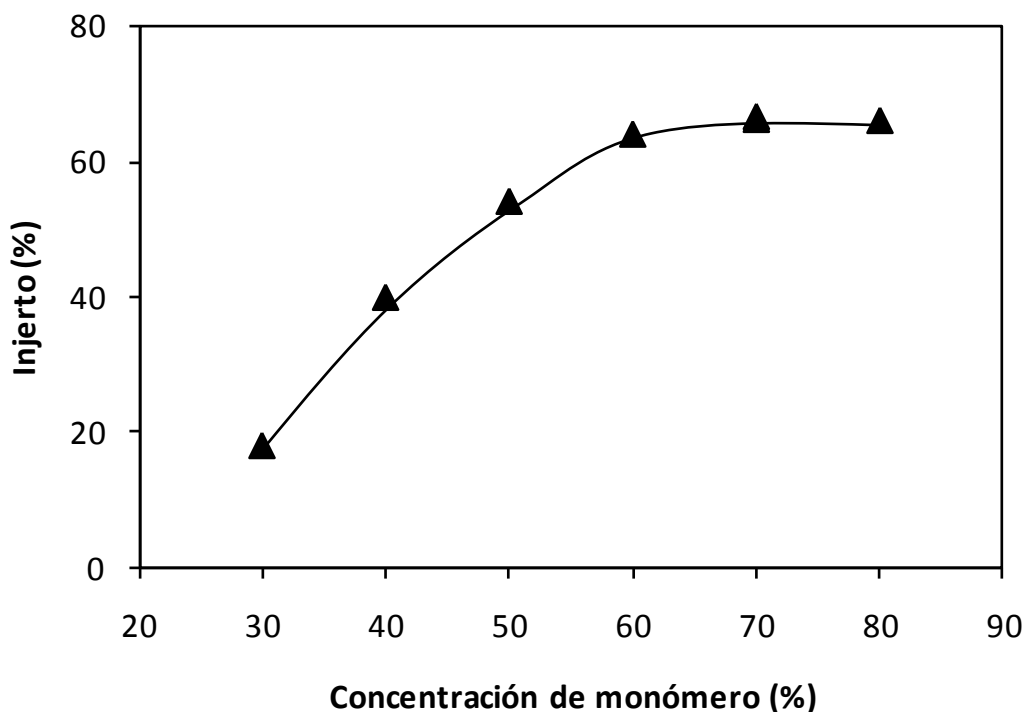


Figura 15. Injerto de PMAA en SR a diferentes concentraciones de monómero. Tiempo de reacción 5 h, temperatura de reacción 70 °C, y la dosis pre-irradiación 100 kGy.

3.3 Efecto de la dosis de pre-irradiación

La Figura 16 muestra el porcentaje de la PMAA injertado en SR como una función de la dosis de pre-irradiación. El rendimiento de injerto aumentó con la dosis de irradiación; los porcentajes de injerto observados estuvieron en un intervalo entre 9 y 70 % esto debido a que al aumentar la dosis de pre-irradiación aumenta la cantidad de radicales libres que se producen, estos radicales reaccionan subsecuentemente con el oxígeno del aire y generar más peróxidos en la matriz de polímero. Estos peróxidos más tarde forman macrorradicales para iniciar el proceso de injerto tras el calentamiento, tal como lo muestra el mecanismo mostrado en la figura 10.

En consecuencia, a mayor dosis, más cadenas de PMAA pueden ser injertados en la matriz polimérica.

Se observó que al aumentar la dosis más allá de 60 kGy se obtiene un copolímero de injerto rígido e incluso quebradizo.

Tabla 13. Resultados del Perfil efecto de la dosis de pre-irradiación

Etiqueta	Dosis (kGy)	% Injerto
B-13	15	8.7
B-14	30	17.5
B-15	45	23.9
B-16	60	34.2
B-203	75	46.43
B-105	100	66.35

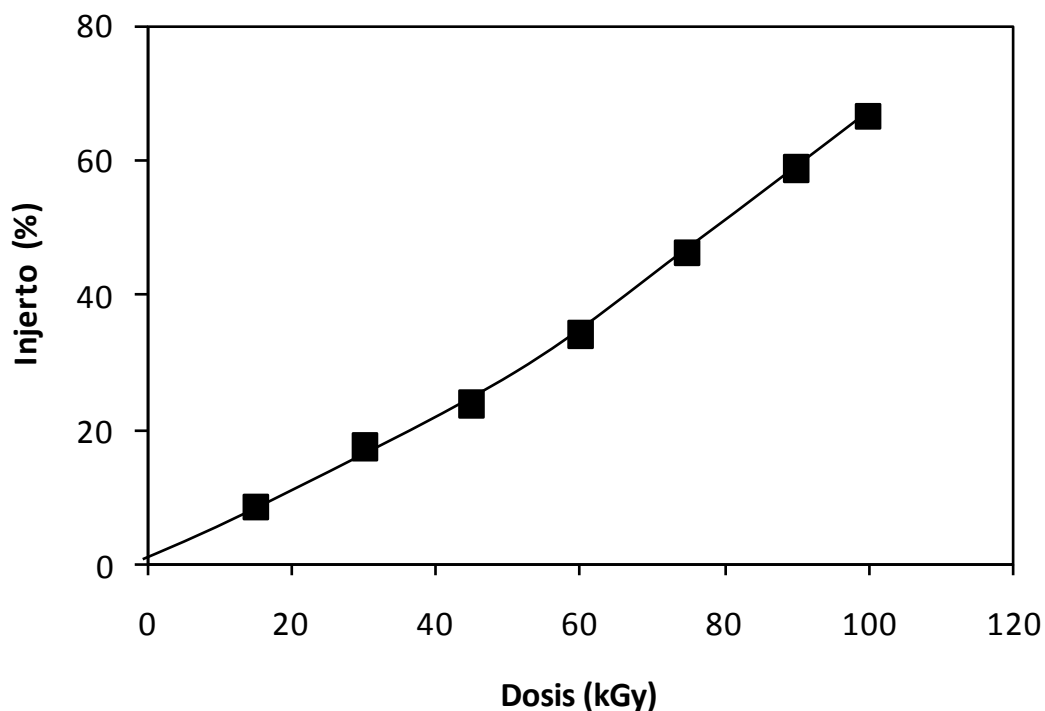


Figura 16. Injerto de PMAA en SR con diferentes dosis de pre-irradiación. Tiempo de reacción 5 h, temperatura de reacción 70 °C, y concentración 70 % monómero (MAA) en tolueno.

3.4 Efecto de la temperatura de reacción

El injerto de PMAA en función de la temperatura de reacción (Fig. 17), mostró un rendimiento cercano a 5 % a 50°C, no se percibió la formación de homopolímero. Mientras que a 90 °C se superó el 100 % de incremento en peso, con abundante formación de homopolímero, que es fácil de identificar ya que es insoluble en tolueno, y su formación produce turbidez en el medio de reacción.

En el método de pre-irradiación oxidativa, la temperatura es un factor muy importante, ya que es responsable de la descomposición térmica de los peróxidos y los hidroperóxidos que se formaron en la cadena principal del polímero durante la pre-irradiación en presencia de aire.

La descomposición térmica de los peróxidos e hidroperóxidos da lugar a la formación de dos tipos de radicales, radicales $RO\cdot$ y radicales \cdot y $OH\cdot$; los primeros que están unidos a la cadena SR, son los responsables del injerto, en tanto que los radicales $OH\cdot$ son responsables de la homopolimerización. Por debajo de 60 °C el porcentaje de injerto es bajo debido a la baja concentración de radicales generados a tan baja temperatura; esto podría explicarse por el hecho de que los hidroperóxidos son más activos que los peróxidos, que requieren una temperatura más alta para la descomposición. Esto significa que un aumento de temperatura genera más sitios de injerto en SR.

A partir de 70 °C el injerto aumenta considerablemente y está acompañado de abundante formación de homopolímero.

Tabla 14. Resultados del perfil efecto de la temperatura de reacción.

Etiqueta	Temperatura	% Injerto
B-3	50	6.5
B-1	60	13.2
B-2	70	31.6
B-6	80	70.5
B-5	90	115.6

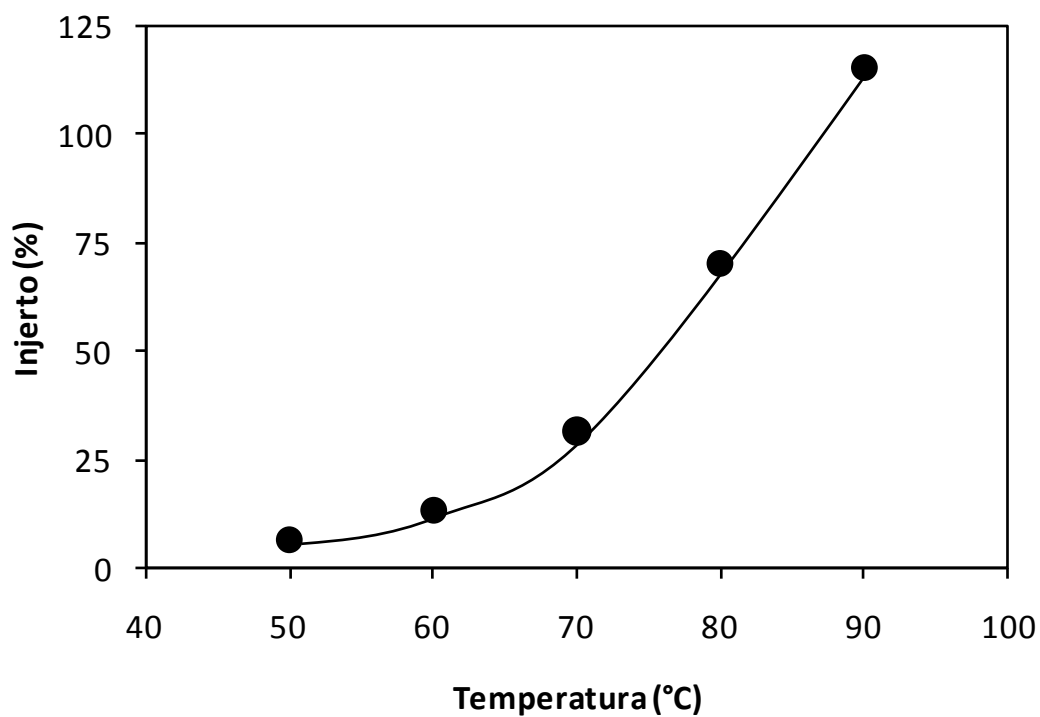


Figura 17. Injerto de PMAA en SR a diferentes temperaturas. Tiempo de reacción 5 h, dosis de pre-irradiación 100 kGy, y concentración 70 % monómero (MAA) en tolueno.

3.5 Efecto de tiempo de reacción

El rendimiento del injerto en función del tiempo de reacción que se muestra en la Figura 18 (a 70 °C, con una dosis de 100 kGy y 70 % monómero), en general se incrementa al aumentar el tiempo de reacción.

Tabla 15. Resultados del perfil efecto del tiempo de reacción.

Etiqueta	Tiempo de reacción (h)	% Injerto
B-205	0.5	0.70
B-17	1	29.00
B-204	2	36.93
B-8	3	51.00
B-9	4	58.00
B-201	5	66.78
B-12	7	71.00
B-10	10	106.00

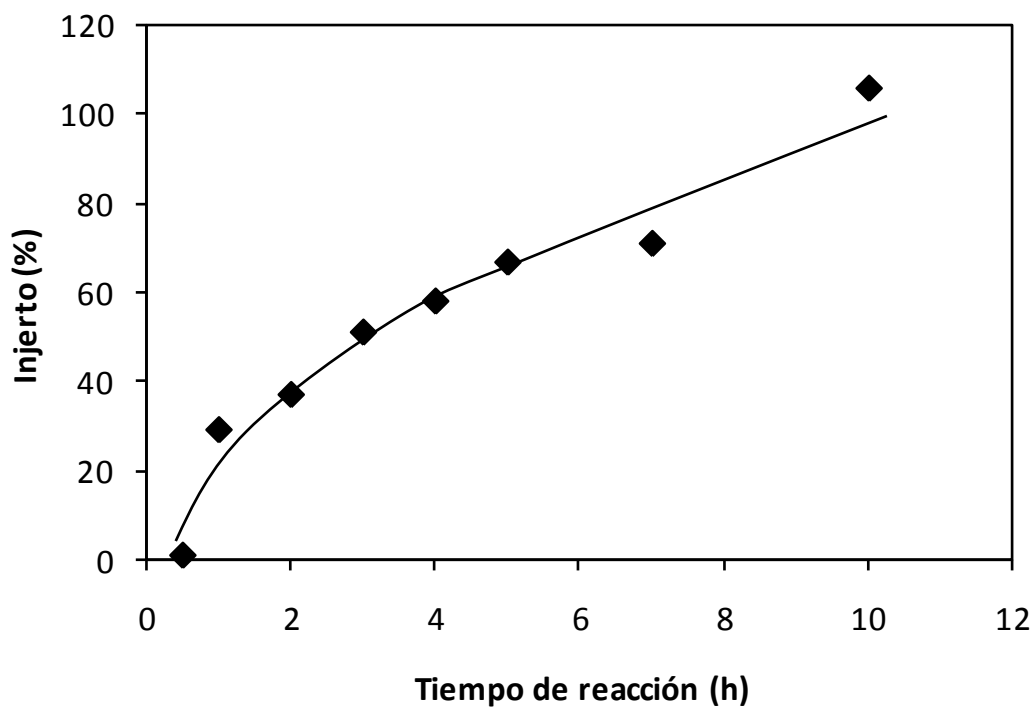


Figura 18. Injerto de PMAA en SR a diferentes tiempos de reacción. Temperatura de reacción 70 °C, y concentración 70 % monómero (MAA) en tolueno y dosis de pre-irradiación de 100 kGy.

3.6 Caracterización.

Las técnicas de DSC y TGA confirmaron el injerto de MAA en SR (Figuras 19 y 20).

3.6.1 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Los termogramas DSC del hule de silicona, de la SR injertada y del PMAA se presentan en la Figura 19.

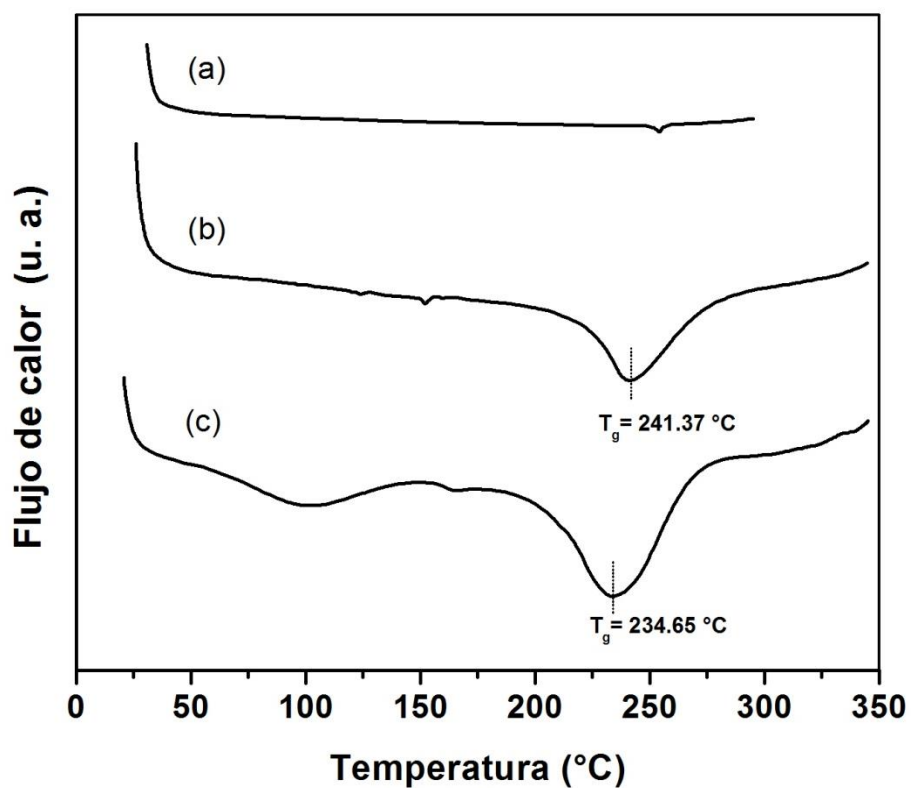


Figura 19. Termograma DSC a) SR, b) SR-g-MAA 66% injerto, c) PMAA.

Como se observa, la silicona no muestra ninguna transición en todo el intervalo de temperatura del análisis.

Por su parte el homopoliácridometacrílico (PMAA), muestra transiciones entre 50 y 100 °C y un intervalo definido de T_g alrededor de 234 °C, transición vítrea seguida de anhidración [39]. El copolímero de injerto SR-g-MAA mostró la misma transición a 241 °C, lo que corrobora la presencia de PMAA en el copolímero. No se observaron transiciones para SR desde su temperatura de transición vítrea (-129 °C) [40] ya que no está en el rango del intervalo de temperatura evaluada (Tabla XVI).

3.6.2 Análisis termogravimétrico (TGA)

Los análisis de TGA se llevaron a cabo en el intervalo de temperatura de 25-800 °C bajo atmósfera de nitrógeno inerte. El copolímero SR-g-MAA mostró tres pasos de la pérdida de peso. El primer paso que se produjo en el rango de 200-280 °C corresponde a la anhidración de PMAA; la segunda 370-470 °C se atribuye a la escisión de la cadena principal de PMAA [41,42], mientras que el tercero a partir de 470 °C se debe a la descomposición térmica de SR.

Tabla 16. Propiedades térmicas.

Muestra	TGA (10 % pérdida en peso, °C) ^a	Residuo (%) ^a @ 800 °C	T _g (°C) ^b
PMAA	207.11 °C	7.26	220.65
SR	500.64	27.8	N/R
SR-g-MAA	401.32	18.66	233.60

^aanalizadas a 10 °C min⁻¹, ^bmedidas a 10 °C min⁻¹

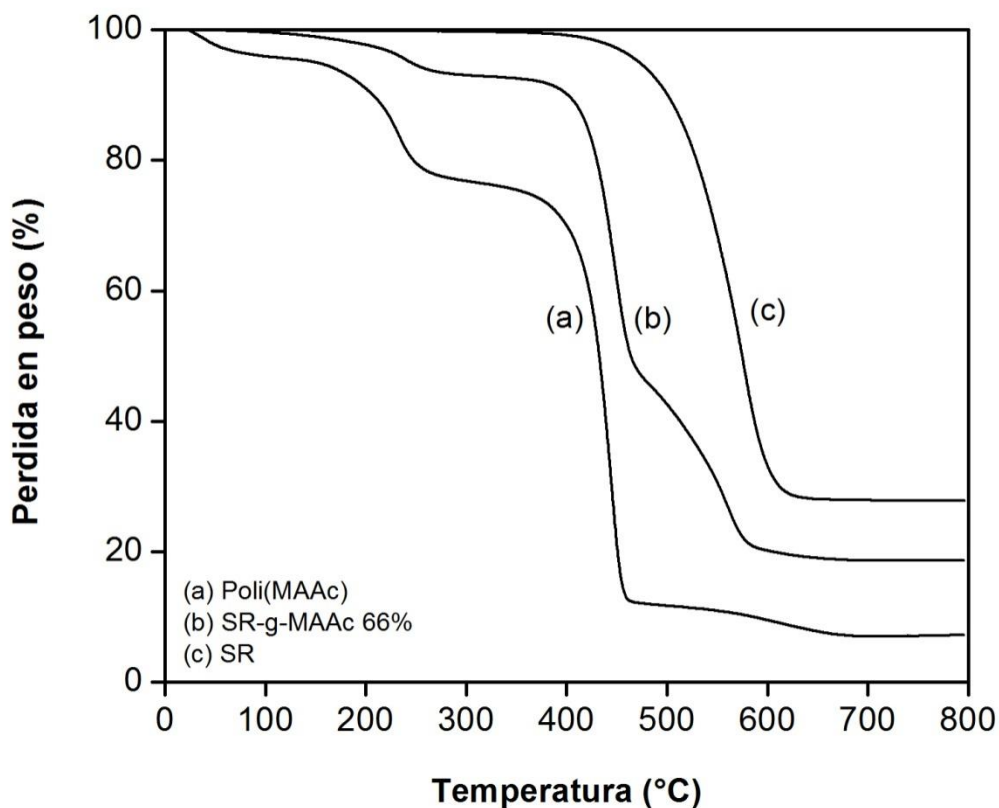


Figura 20. Diagrama de TGA a) PMAA, b) SR-g-MAA 66% injerto, c) SR

3.6.3 Espectroscopia infrarroja FTIR-ATR

Los espectros FT-IR de la SR, del copolímero de injerto SR-g-MAA y del PMAA formado durante la reacción de injerto se muestran en la Figura 21. El espectro de la película SR virgen mostró una banda a 1012 cm^{-1} debido a la vibración de estiramiento del enlace Si-OC, y señales a 2957 y 1260 cm^{-1} que corresponden a los grupos metilo CH en CH_3 y Si-CH_3 respectivamente [43]. El PMAA mostró una señal a 1696 cm^{-1} debido al C=O del grupo carbonilo del PMAA y una banda a 1180 cm^{-1} correspondientes a enlaces C-O-C; se observaron estos

picos característicos en el espectro de SR-g-MAA (Figura 21b) que indica la presencia de PMAA en el copolímero de injerto.

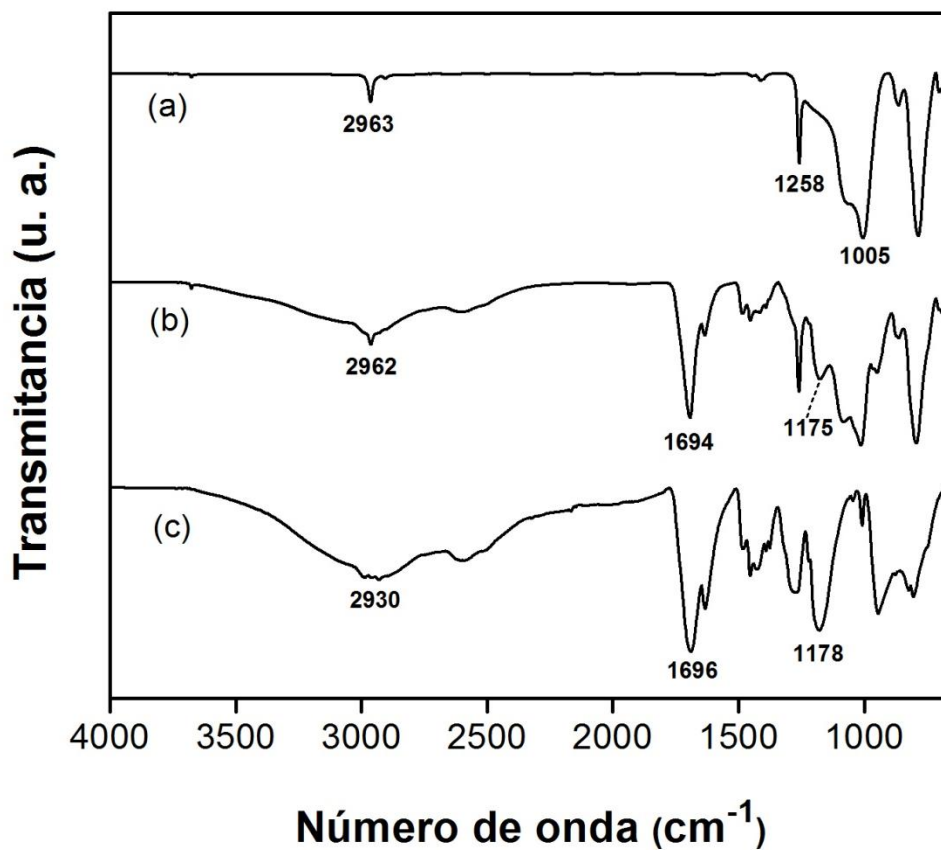


Figura17.

Figura 21. FTIR-ATR espectros de hule de silicone (a) SR, b) SR-g-MAA 59% de injerto y c) PMAA.

3.6.4 Hinchamiento limite

El injerto de un monómero hidrófilo a una matriz hidrófoba disminuye la energía interfacial de la matriz en el entorno biológico acuoso y reduce la fuerza motriz de la superficie de la matriz polimérica permitiendo que el material hidrófobo tenga una mejor afinidad con el agua. [44].

La película SR virgen no se hincha en agua, en cambio, a medida que se incrementa el nivel de injerto, el hinchamiento también incrementa (Fig. 22). Los resultados indican que la inclusión de una pequeña fracción de PMAA, altera la estructura y confiere a la película injertada un cierto nivel de hidrofiliidad. Esto debido a que un aumento en la cantidad de PMAA injertado, significa una mayor concentración de grupo afines al agua, presentes en el seno de la película.

Por un lado, la diferencia entre la concentración de iones, el biomaterial hinchado y la solución externa produce una presión osmótica, que sólo puede reducirse a través de la dilución de carga, es decir, por el hinchamiento del hule y por otro, la densidad de carga neta entre las cadenas genera repulsiones electrostáticas que tienden a expandir el biomaterial, lo que contribuye al hinchamiento.

La cinética de absorción sigue una curva exponencial con un máximo de absorción alrededor de 2 horas sin importar el porcentaje de injerto, esto es, el hinchamiento es una función de la cantidad de PMAA injertado en la matriz de SR (por la capacidad de atraer el agua) pero el tiempo de hinchamiento límite no lo es.

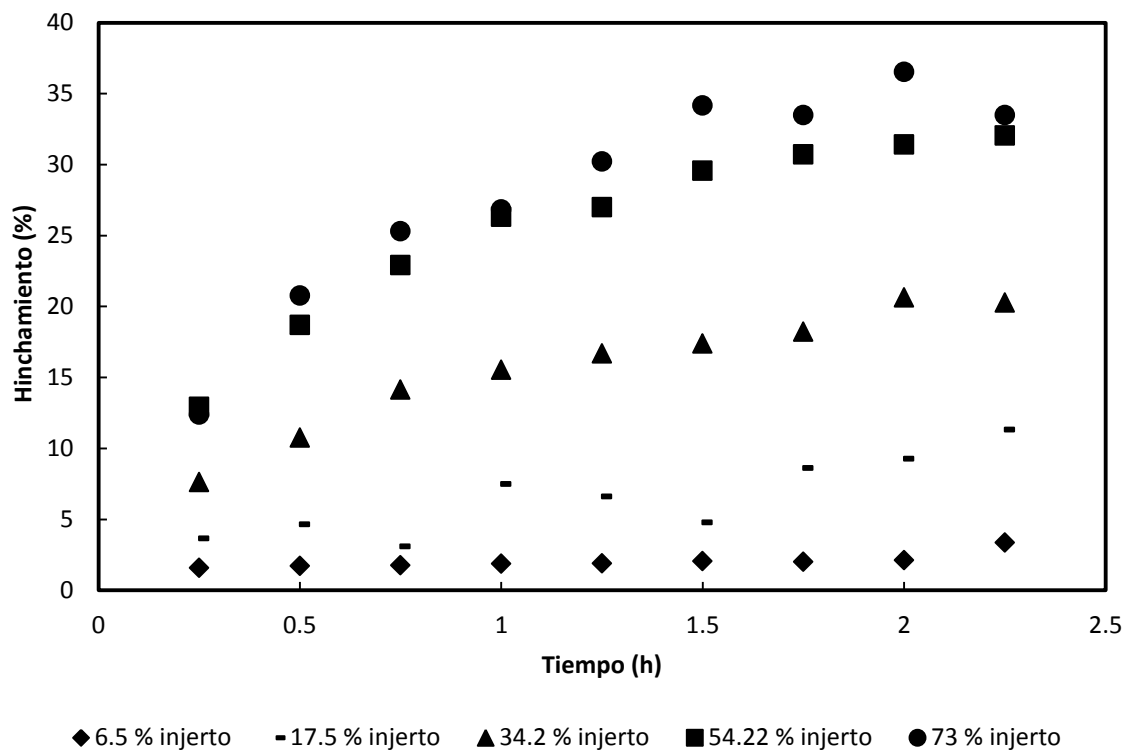


Figura 22. Hinchamiento límite. Después de 2 horas se observa que alcanza un máximo de tiempo que la película puede absorber el líquido (agua).

3.6.5 pH crítico

El pH crítico se define como el punto de inflexión entre el punto S_H (%) (Porcentaje de hinchamiento) versus pH.

Este punto de pH crítico puede definirse como el pH al que las cadenas de polímero cambian bruscamente su comportamiento de hidrófobo (estado colapsado) a hidrófilo (estado extendido) [45].

El comportamiento del fenómeno estímulo-respuesta se estudió mediante hinchamiento para obtener un punto del pH crítico.

El copolímero de injerto presenta una respuesta a pH alrededor de 6 (Fig. 23), lo cual indica que el PMAA presente en el copolímero conserva su sensibilidad al pH.

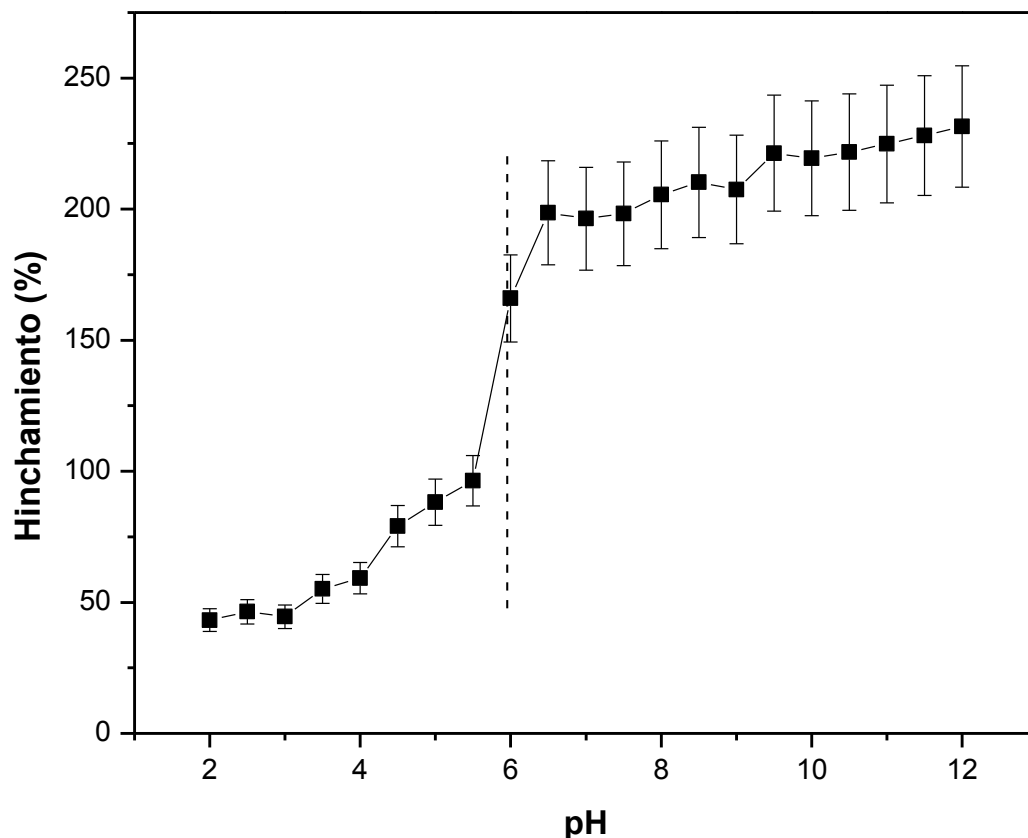


Figura 23. Hinchamiento en función del pH de SR-g-MAA 73 % de injerto

A un pH por debajo de 6, el extremo del grupo ácido COOH del PMAA no se ionizan (estado colapsado), lo cual permite la formación de enlaces de hidrógeno entre las cadenas poliméricas, disminuyendo su exposición al de agua, por lo que se observan bajos niveles de hinchamiento.

A valores de pH superiores a 6, la ionización de los grupos -COOH conduce a repulsiones entre las cadenas de PMAA, lo que les hace adoptar una conformación extendida, más absorbente al agua.

3.6.6 Ángulo de contacto

El ángulo de contacto del agua sobre la superficie de un material indica directamente sus propiedades hidrófilas o hidrófobas. Es lógico pensar que una película con mayor nivel de injerto de PMAA sea más hidrofílica y por lo tanto muestre un ángulo de contacto menor con respecto al SR virgen o un material con menor grado de injerto. Los resultados obtenidos concuerdan con ésta hipótesis, como se puede observar en la figura 24, mayor nivel de injerto se observó un menor ángulo de contacto.

La capacidad de respuesta al pH de los copolímeros injertados, se evaluó también mediante la medición de las variaciones del ángulo de contacto de gotas con diferente pH. Como era de esperar, el ángulo de contacto disminuye cuando el pH aumenta (Figura24). Para valores de pH superiores a 6, los valores de ángulo de contacto se mantuvieron.

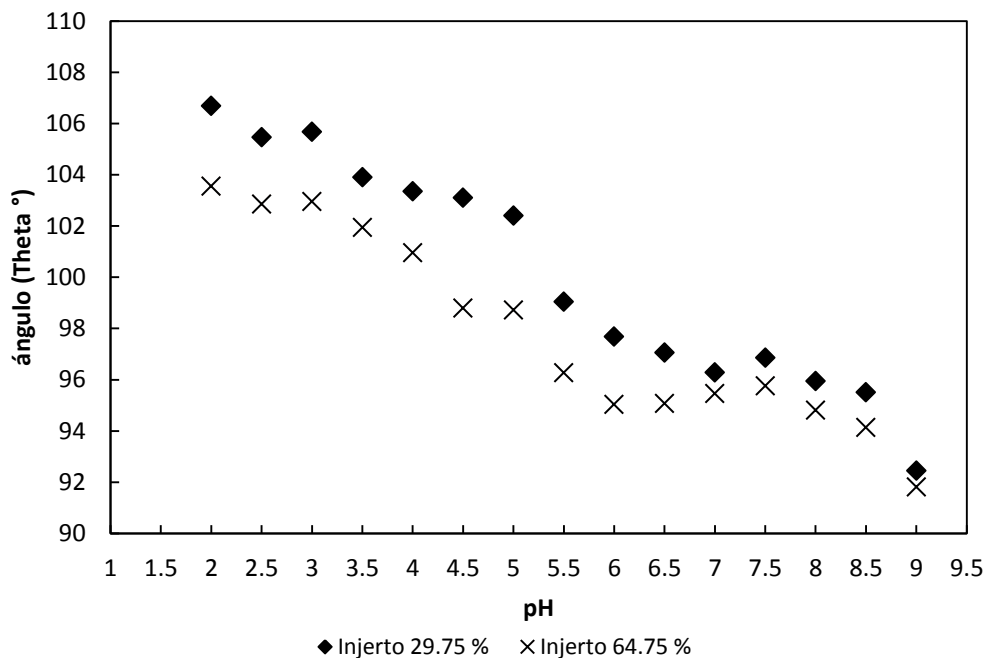


Figura 24. Comparación de ángulo de contacto entre películas con alto y bajo porcentaje de injerto.

3.6.7 Microscópio electrónico de barrido (SEM)

Los cambios en la morfología de las películas causados por el injerto de PMAA se estudiaron mediante SEM.

Las imágenes de las películas de los materiales injertados, muestran la aparición de nódulos a lo largo del seno de la película. La cantidad de nódulos se incrementa en los materiales con mayor % de injerto.

En las imágenes es posible observar el cambio en la matriz de SR al incrementar el % de injerto. En la película con 58% de injerto (figuras 27, 28 y 29), es posible identificar regiones de la matriz SR con la misma apariencia que la del material virgen.

El material con un nivel de injerto del 70 % (fig. 30-32) muestra una matriz muy diferente, las grietas que se observan son evidencia de la naturaleza rígida del material a este nivel de injerto.

Se puede concluir que el método de hinchamiento con tolueno fue muy efectivo, permitiendo la saturación de la matriz con el monómero, incrementando el nivel de injerto en el seno de la película.

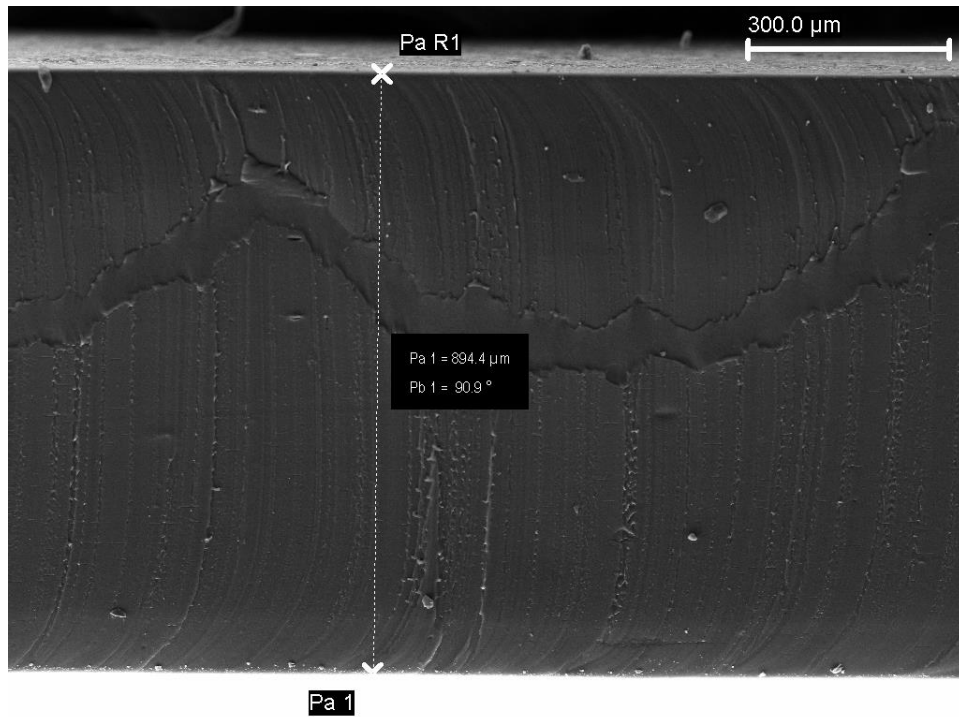


Figura 25. Silicona virgen corte transversal.

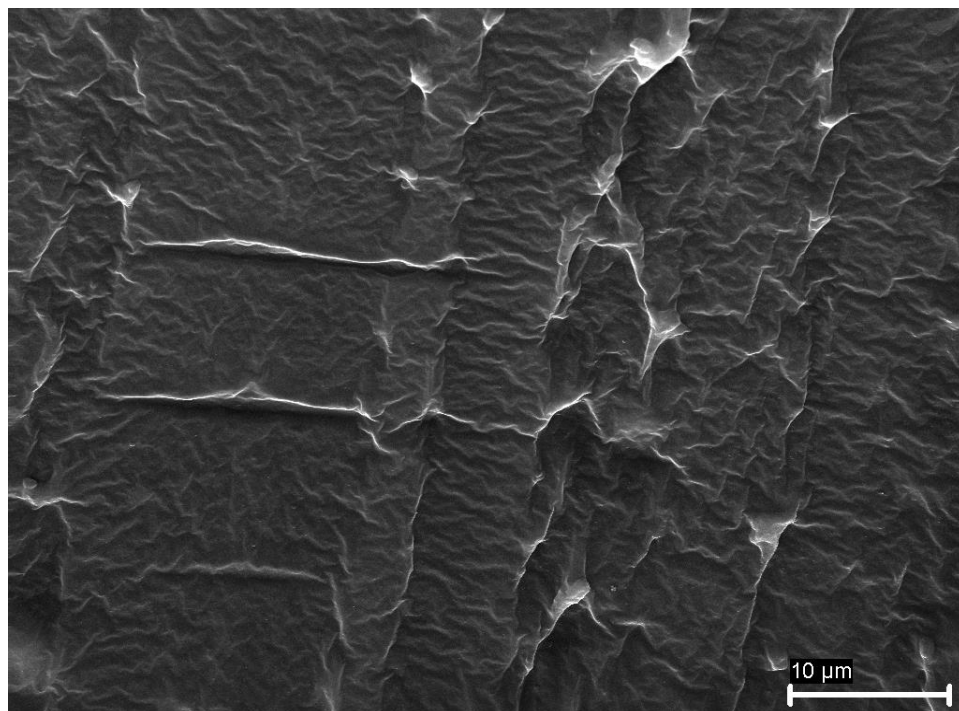


Figura 26. Silicona virgen corte transversal a 5000x.

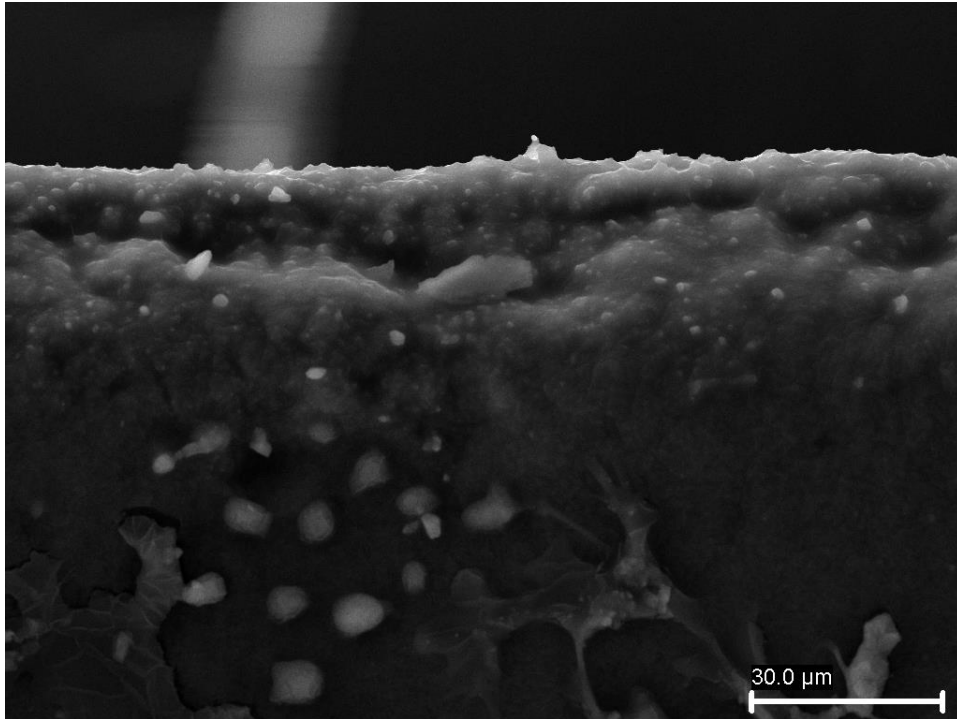


Figura 27. Muestra B-9 Injerto 58.0% tomada del borde a 1500x.

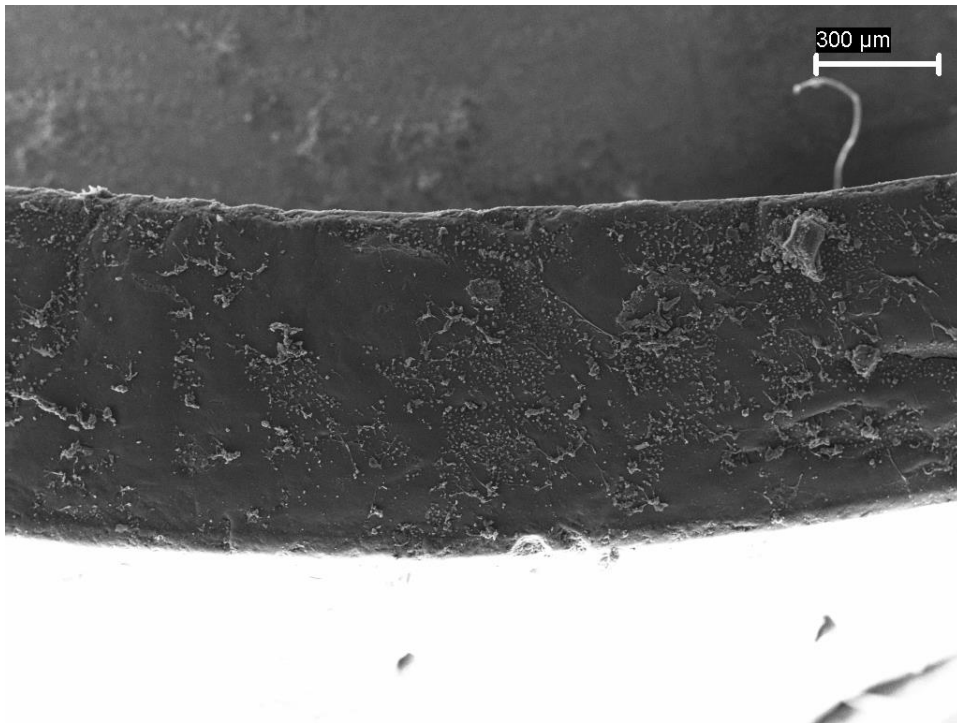


Figura 28. Muestra B-9 Injerto 58.0 % tomada del corte transversal.

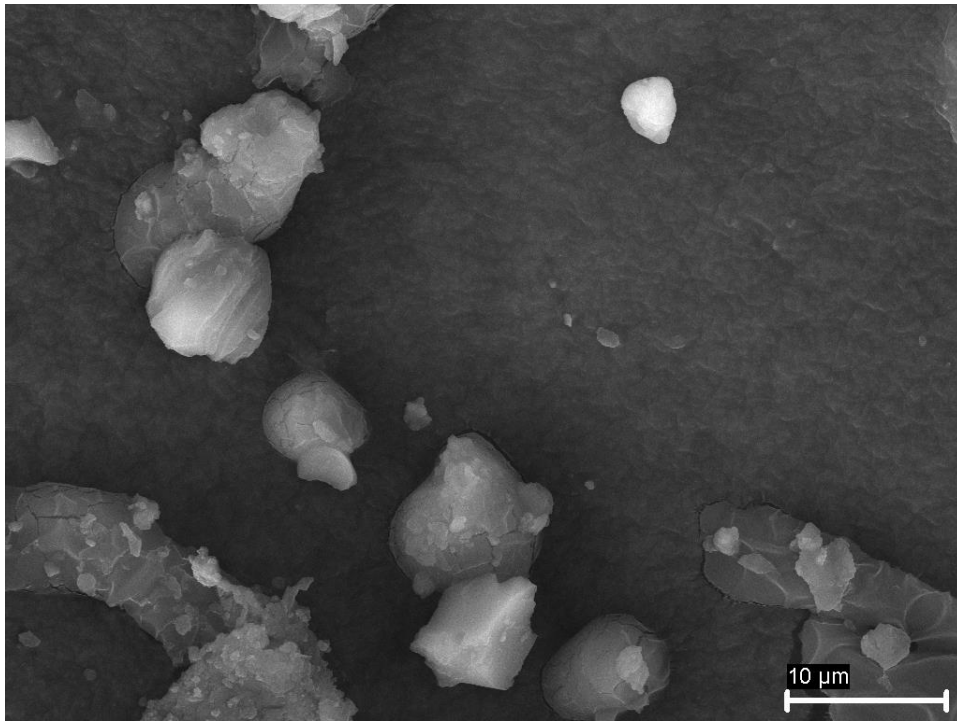


Figura 29. Muestra B-9 Injerto 58.0 % tomada del corte transversal a 1500x.

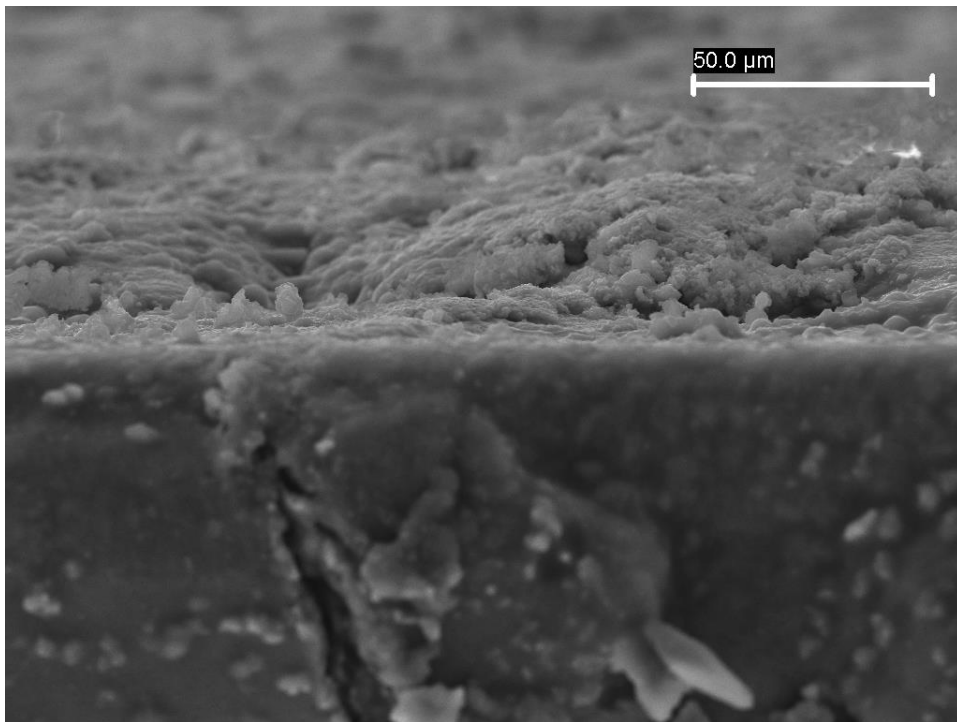


Figura 30. Muestra B-6 Injerto 70.5% tomada del borde a 1500x.

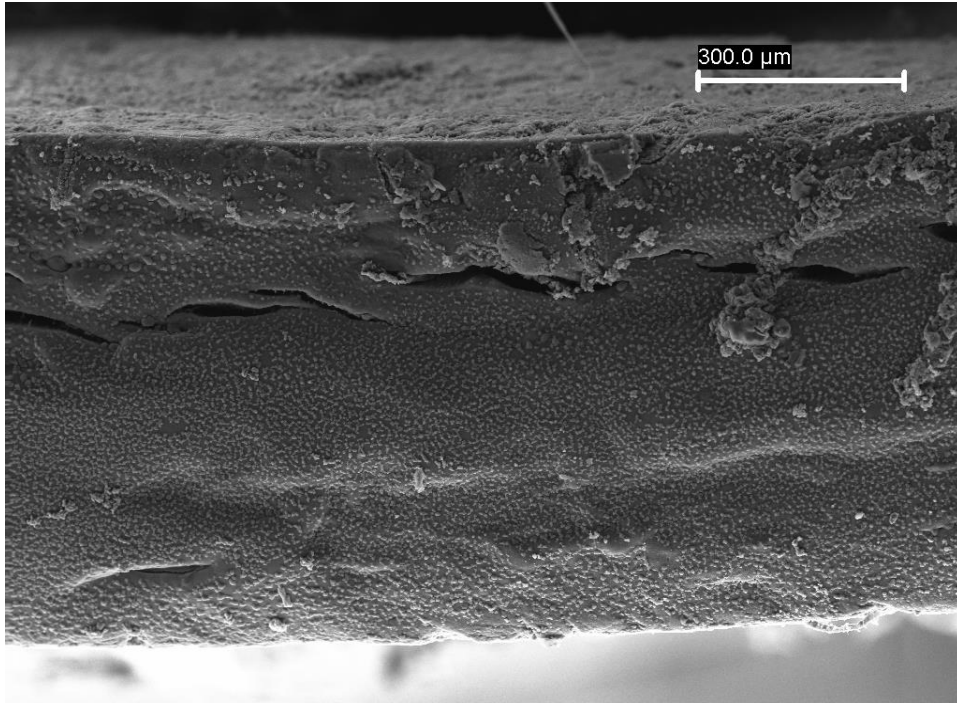


Figura 31. Muestra B-6 Injerto 70.5 % Corte transversal.

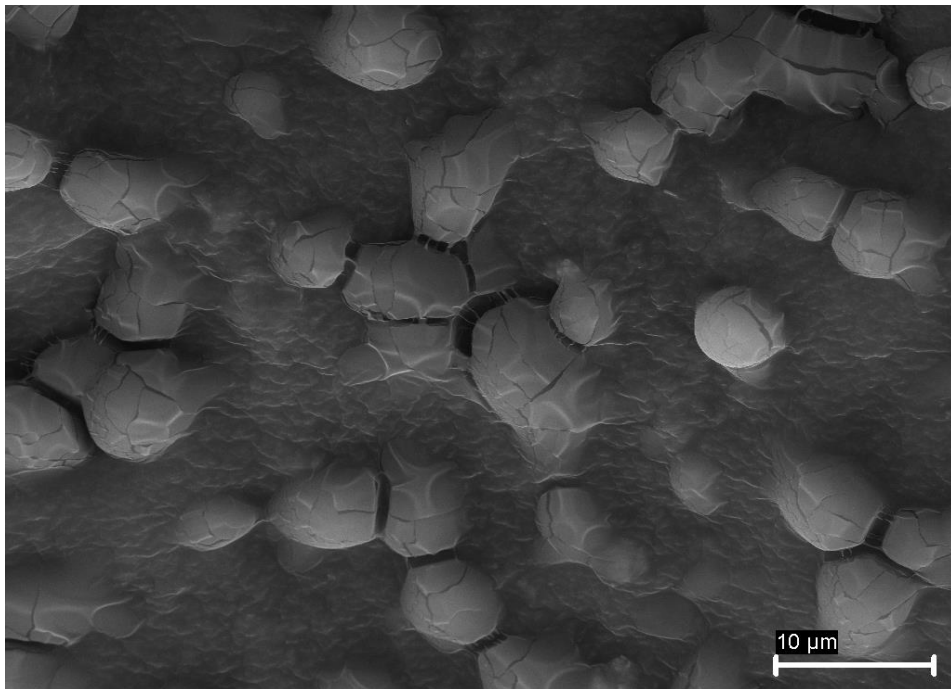


Figura 32. Muestra B-6 Injerto 70.5 % tomada del corte transversal a 5000x

3.7 Carga de fármacos

Los experimentos para la carga de fármacos se llevaron a cabo por inmersión de las películas en soluciones de BzCl y VCM preparadas en agua con el fin de exponer la película a un entorno en el que los grupos ácidos del PMAA se ionicen favoreciendo así las interacciones con moléculas de carga opuesta. Por otra parte, se evitó el uso de tampones para evitar el efecto de blindaje que los iones pueden ejercer sobre las interacciones iónicas [47].

Las películas SR-g-MAA cargadas con las cantidades correspondientes de BzCl y VCM, alcanzaron el equilibrio de carga en aproximadamente 75 h (Figuras 33 y 34), mientras que las películas SR vírgenes no absorben cantidades importantes de estos fármacos, la incorporación de ambos fármacos aumenta a medida que el rendimiento de injerto es mayor. Esto significa que la carga fue impulsada por interacciones iónicas de los restos catiónicos de los fármacos con los extremos aniónicos del ácido carboxílico, disponibles en el copolímero de injerto. La carga máxima de BzCl fue de aproximadamente 5.8 mg/cm^2 , que es equivalente a 0.016 mmol/cm^2 . La carga máxima de vancomicina fue de aproximadamente 15.2 mg/cm^2 ; es decir, 0.010 mmol/cm^2 . Estas cantidades de BzCl y vancomicina cargadas son similares o incluso superiores a las reportadas previamente para otros sistemas poliméricos de arquitectura más compleja [23,24,34,35].

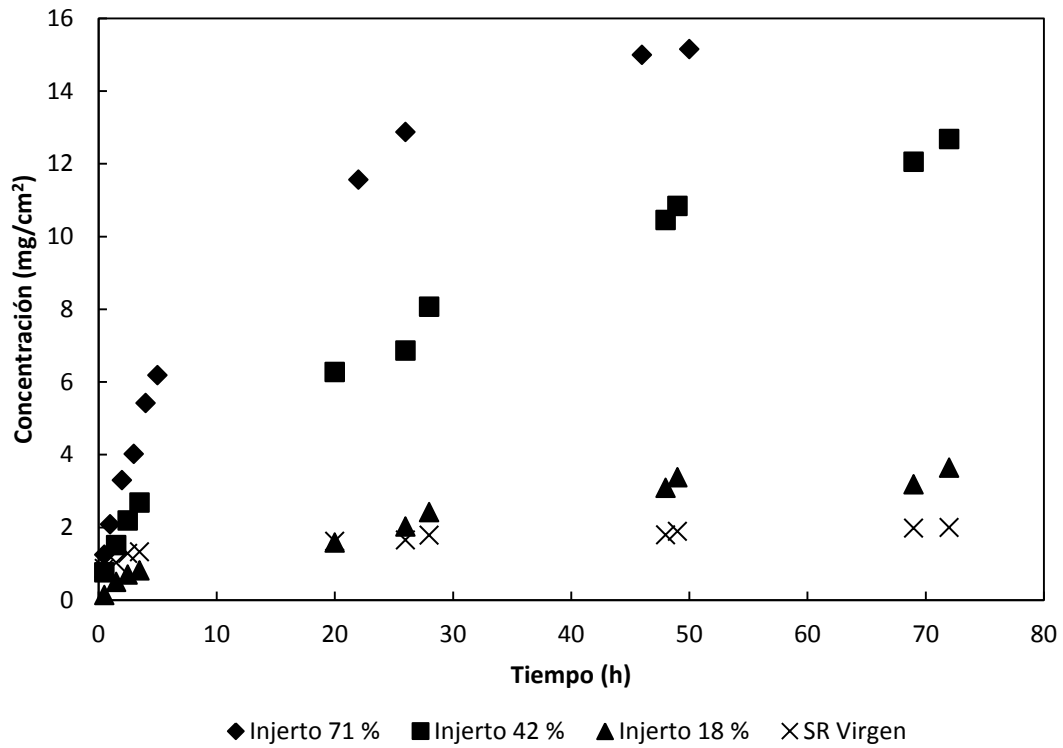


Figura 33. Perfil de carga de vancomicina a los 72 h.

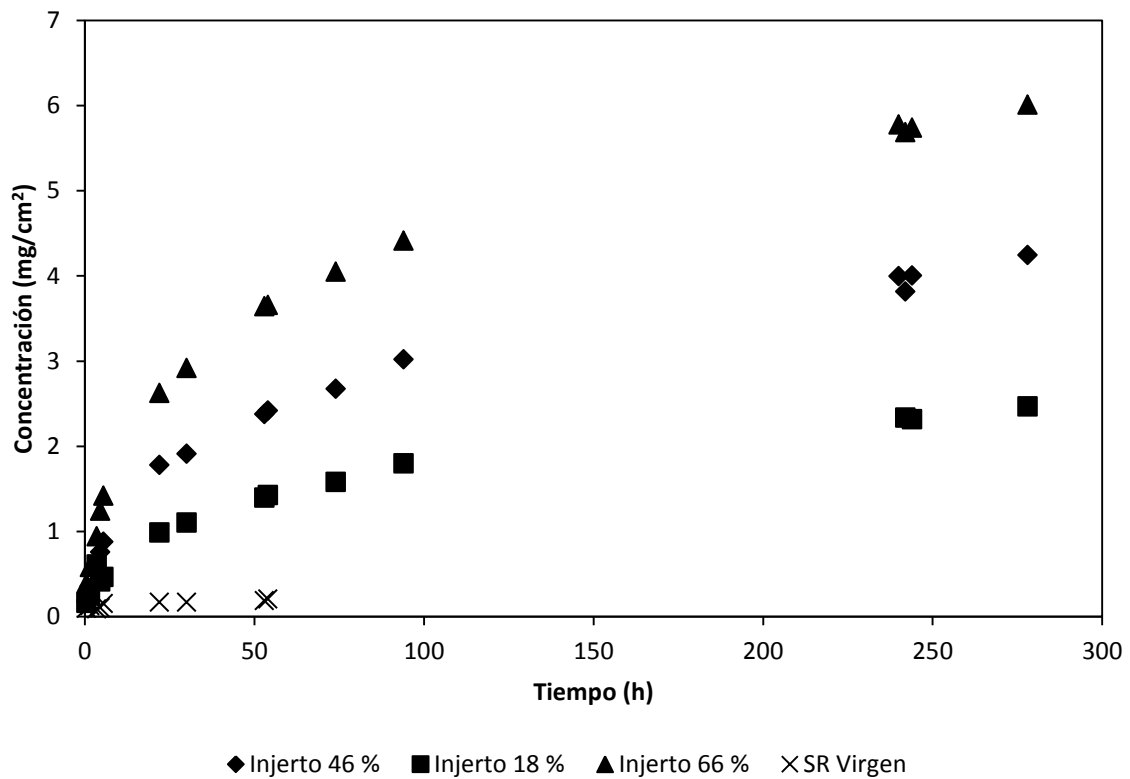


Figura 34. Perfil de carga de BzCl a los 250 h.

3.8 Cesión de fármacos

Los experimentos de liberación se llevaron a cabo en un volumen relativamente grande (5mL) con el fin de crear condiciones de inmersión y, por tanto, un fuerte gradiente de concentración. Las películas se sumergieron en la solución buffer de pH 7 a 37 °C durante varios días; la liberación del fármaco se monitoreó utilizando las curvas de calibración preparadas; leyendo la absorbancia UV de la solución que rodea las películas.

Se decidió realizar el estudio sin agitación ya que estudios recientes han señalado que los perfiles de liberación bajo condiciones estáticas se asemejan más a la difusión lenta del fármaco de dispositivos de liberación implementados in vivo [49].

Las películas SR-g-MAA cargadas con los dos fármacos, se sumergieron durante al menos 24 horas. En ambos casos (BzCl y VCM) se observó una liberación relativamente rápida, ya que ambos fármacos alcanzaron la concentración máxima estable en tan sólo 7 y 5 horas respectivamente (Fig. 35 y 36).

En los perfiles de liberación presentados no se observa ninguna influencia del nivel de % de injerto sobre el tiempo de liberación.

La dinámica de liberación observada puede ser considerada aún como controlada y puede ser aún adecuada para inhibir el crecimiento de *staplyloccoccus aureus*.

Las dinámicas de liberación rápidas mantienen su interés, ya que las primeras horas posteriores al implante de dispositivos son las más críticas, en las que es necesario inhibir la adhesión, la proliferación de micro organismos y la formación de biopelículas.

La difusión de los fármacos hacia el tejido circundante, que tiene lugar con el uso de dispositivos saturados (recubiertos) con fármacos, puede crear zonas de inhibición muy eficientes, a diferencia de los dispositivos en donde el fármaco está unido covalentemente.

Las películas cargadas con vancomicina liberaron mayor cantidad de fármaco (con respecto a la cantidad almacenada), que las películas cargadas con BzCl, resultado que puede explicarse, por el hecho de que a pH 7.4 los grupos

-COOH ionizados de películas SR-g-MAA, pueden interactuar fuertemente con los grupos amina cuaternaria del BzCl (Fig. 10), mientras que a este pH los grupos amina de vancomicina (Fig. 9) se desprotonan y por lo tanto la interacción con los grupos COOH es más débil.

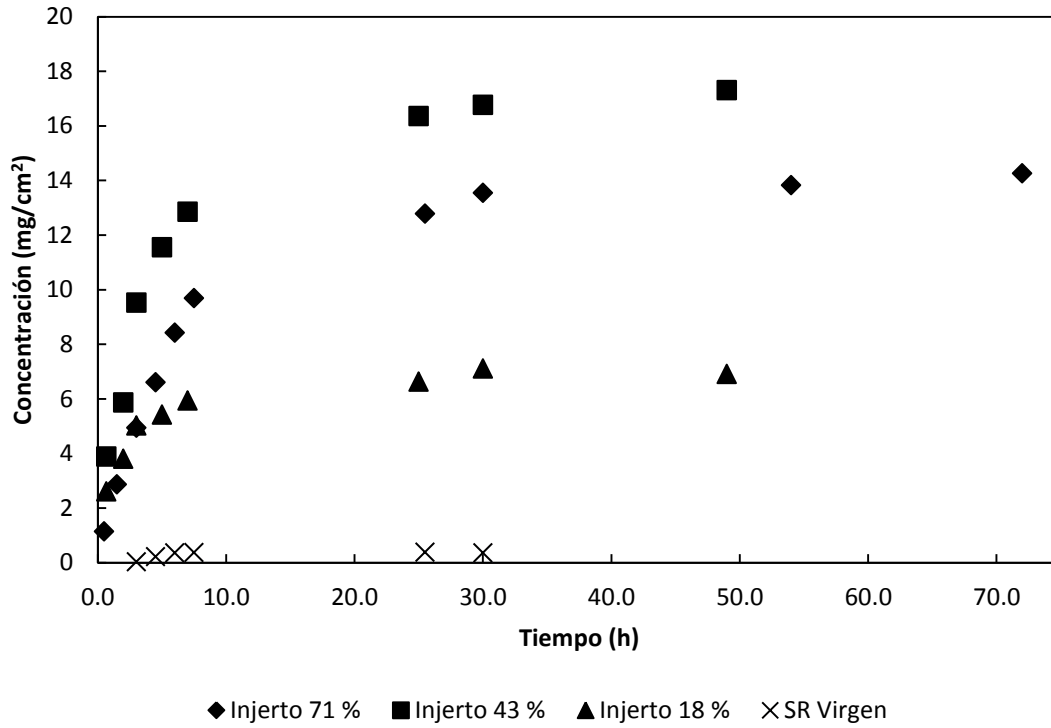


Figura 35. Cantidad liberada de vancomicina hasta 72 h, en medio pH 7.4 y 37 °C

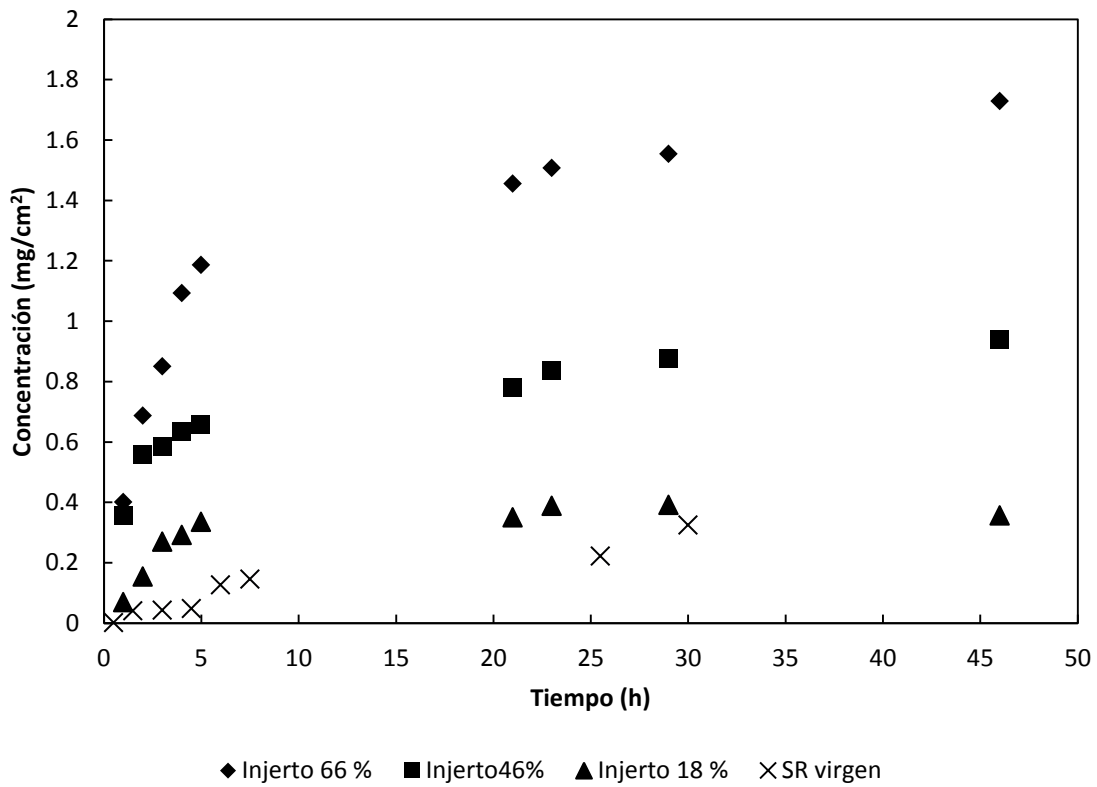


Figura 36. Cantidad liberada de BzCl hasta 72 h, en medio pH 7.4 y 37 °C.

3.9 Pruebas microbiológicas

Las películas SR-g-MAA cargados con el fármaco fueron colocados individualmente en placas de agar y expuestos frente a *S. aureus*. A diferencia de la SR virgen, las películas SR-g-MAA cargados con BzCl o VCM llevaron a zonas de inhibición (Figura 37) lo que confirma que los agentes antimicrobianos pueden ser liberados al medio ambiente circundante en forma activa y a una velocidad adecuada. Las zonas de inhibición fueron mayores para las películas cargadas con vancomicina debido a la menor afinidad de este fármaco para la película y por lo tanto mayor velocidad de liberación en comparación con BzCl.

Tanto BzCl y la vancomicina son eficaces contra el *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), el principal patógeno nosocomial responsable de infecciones asociadas con el uso de dispositivos biomédicos [36,38]. Los valores de la concentración inhibitoria mínima (CMI) para BzCl y VCM contra el MRSA se han notificado que son de 5 mg/L [50] y 1 mg/L de [51], respectivamente. Esto significa que 1 cm² cargado de la pieza de SR-g-MAA (66 % de rendimiento de injerto) sumergido en 1 L podría proporcionar suficiente BzCl o la vancomicina exceder la CMI. Por lo tanto, se podría esperar una prevención eficaz de las infecciones causadas por *S. aureus* si este copolímero de injerto se utiliza como material para la fabricación de dispositivos médicos.

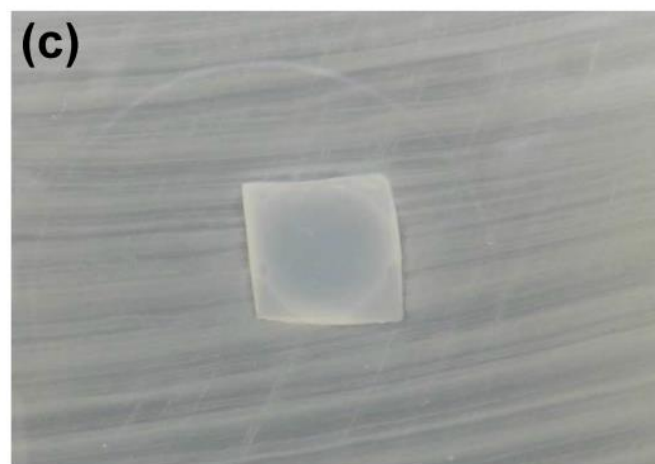
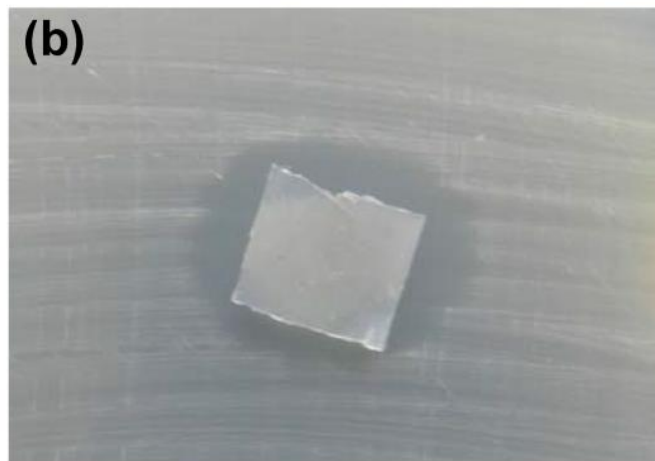
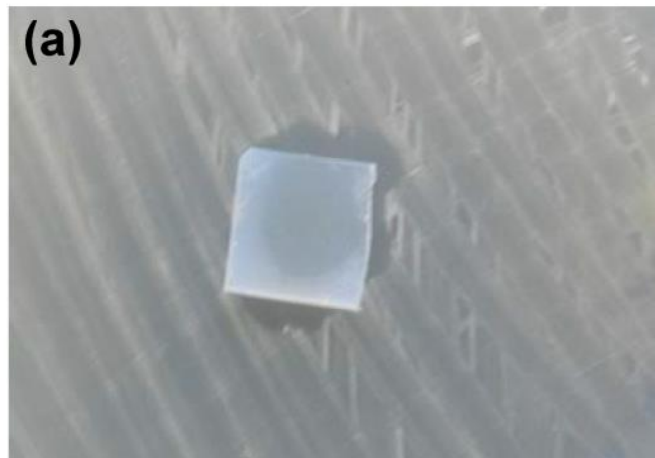


Figura 37. Pruebas microbiológicas. Películas cargadas con agentes antimicrobianos (VCM y BzCl) expuestos a *Staphylococcus aureus*; a) BzCl 4.37 mg/cm^2 , b) VCM 11.82 mg/cm^2 , c) Película de SR virgen

CAPITULO 4 CONCLUSIONES

Se injertó ácido metacrílico en hule de silicona empleando radiación gamma por el método de pre-irradiación oxidativa; los parámetros como la dosis de irradiación, la temperatura, la concentración de monómero y el tiempo de reacción influyeron directamente sobre el porcentaje de injerto teniendo como resultados entre 9 y 120 % de rendimiento de injerto.

Para lograr altos porcentajes de injerto, las condiciones óptimas para llevar a cabo la técnica de injerto son: dosis de radiación de 100 kGy, una concentración de monómero al 60 % (v/v), una temperatura de reacción de 70 °C y tiempo de reacción de 5 horas.

Los resultados de la caracterización del biomaterial confirman el injerto de ácido metacrílico en silicona:

- En el análisis de TGA la película de SR-g-MAA presentó dos etapas de degradación a 450 °C aproximadamente y 516 °C, correspondientes al PMAA y la SR respectivamente.
- Las transiciones presentes en el diagrama de DSC están asociadas con la transición vítrea y se confirma que se llevó a cabo el injerto con un aumento de 6.72 °C debido a la formación del nuevo sistema.
- El espectro de SR-g-MAA muestra una señal a 1696 cm^{-1} característica del carbonilo del PMAA.
- Las observaciones con SEM, confirman la modificación de la superficie y la estructura de la matriz de SR debida a la inclusión del PMAA.

El injerto de PMAA se produce en la mayor parte del seno de la matriz de SR; el copolímero resultante posee la capacidad de hincharse en agua lo que lo hace un material altamente hidrofílico con fuerte hinchamiento dependiente del pH.

Grupos de ácido carboxílico ionizados de PMAA actúan como puntos de unión adecuados para los agentes antimicrobianos de carga positiva, tales como cloruro de benzalconio y vancomicina, que conduce a muy altas cargas.

Curiosamente los copolímeros SR-g-MAA pueden sostener la liberación del fármaco durante al menos 24 h (más en el caso de cloruro de benzalconio) e inhibir de manera eficiente in vitro el crecimiento de *Staphylococcus aureus*. El material SR-g-MAA se comporta como un polímero inteligente, debido a la respuesta a pH lo que lo hace un biomaterial ideal como sistema de liberación de fármacos. Todas estas características pueden ofrecer los materiales SR-g-MAA con la mejora de rendimiento de injerto, en comparación con SR virgen, para aplicaciones biomédicas.

BIBLIOGRAFIA

- [1] B.D. Ratner, A. S. Hoffman, Biomaterials Science, Academic Press, San Diego California USA, **1996**, pp 50-56, 346-349.
- [2] G.H. Hsiue, W.K. Huang. J. Appl. Polym. Sci. **1985**, Vol. 30, pp 1023-1033.
- [3] G.H Hsie, J.S. Young. J. Membrane Sci. **1993**, Vol. 82, pp 117-120.
- [4] V. Sáez, E. Hernáez, L. Sanz-Angulo. Revista Iberoamericana de polímeros, **2002**, Vol. 3, pp 1, 3, 5.
- [5] A. Chapiro, Radiat. Phys. Chem, **1995**, Vol. 46, pp 159-161.
- [6] D.W. Callister. Introducción a la ciencia e ingeniería de los materiales 2, ed. Reverté, 3° ED. **2000**, pp 198-208, 388-391, 408-411, 416-425.
- [7] J.B. Park J.D. Broznio, Biomaterials, principles and applications; Taylor & Francis Group, **2002**, pp. 21-24, 27-32, 35.
- [8] D.R. Askeland. Ciencia e ingeniería de los materiales. 4° ED. S.I.: CENGAGE Learning. **2010**, pp 400, 406-412, 416-428.
- [9] S.B. Raymond, C. Carrather, Introduction Polymer chemistry, third ed. ED. Reverté. **2002**. pp 142-145.
- [10] W. Huang, F. Yibei, W. Chaoyang, X. Yunshu, B. Zhishang. Radiat. Phys. Chem. **2002**, Vol. 64, pp 229–233.
- [11] A. Battacharya, B.N. Misra. Prog. Polym. Sci. **2004**, Vol. 29, pp 767-814.
- [12] A. Colas, J. Curtis, Biomaterials Science 2nd ed. Elsevier Publications. **1996**, pp 80-86.
- [13] CIIT (Chemical Industry Institute of Toxicology) 90-Day vapor inhalation toxicity study of methacrylic acid in B6C3F1 mice, Sprague-Dawley rats and Fischer-344 rats. Springfield, VA, USA. **1984**, pp 216-220.
- [14] I. Y Galaev, B.Mattiasson, Trends Biotechnol. **1999**, Vol. 17, pp 335–340.
- [15] K. Makuuchi, S. Cheng, Radiation Processing of Polymer Materials and its industrial applications, First edition, Ed. John Wiley & sons Inc. **2012**.
- [16] I. Goldstein, Plenum press, New York **1992**, pp 21-29

- [17] J.M. Pastor, T. Jawhari, J.C. Merino. Revista Iberoamericana de polímeros. **2003**, Vol. 43, pp 3-6, 9.
- [18] www.uco.es/~iq2sagrl/TranspATG.pdf.
- [19] N. Pinzón, A. Espinosa, J. Perilla, E. Hernáez, I. Katime. Revista Iberoamericana. **2002**, Vol. 3, pp 38-54.
- [20] E.W. Washburn. Phys. Rev. **1921**, Vol. 17, pp 273-283.
- [21] Apuntes de Microscopía Electrónica, UAM-I. **2001**, pp 14-16.
- [22] R.A. Fassihi, W.A. Ritschel. J. Pharm. Sci. **1993**, Vol. 82, pp 750-754.
- [23] F. Muñoz-Muñoz, J.-C. Ruiz, C. Alvarez-Lorenzo, A. Concheiro, E. Bucio, Radiat. Phys. Chem. **2012**, Vol. 81, pp 531-540.
- [24] H.R. Lin, L.H. Ou, Y.J. Lin, M.H. Ling. J. Appl. Polym. Sci. **2010**, Vol. 118, pp 1878-1886.
- [25] N.A. Peppas, R.E. Benner. Biomaterials **1960**, Vol. 1, pp 158-162.
- [26] B. Scharf, J. Magnan, L. Collet, E. Ulmer, A. Chays. Hearing Res. **1994**, Vol. 75, pp 11-26.
- [27] C. von Eiff, B. Jansen, W. Kohnen, K. Becker. Drugs **2005**, Vol. 65, pp 179-214.
- [28] A.E. Madkour, G.N. Tew. Polym. Int. **2008**, Vol. 57, pp 6-10.
- [29] K.A. Poelstra, N.A. Barezzi, A.M. Rediske, A.G. Felts, J.B. Slunt, D.W. Grainger. J. Biomed. Mater. Res. **2002**, Vol. 60, pp 206-215.
- [30] S. Campton-Johnston. J. Wilson. Crit. Care Nurs. Q. **2001**, Vol. 24, pp 64-77.
- [31] J.M. Goddard, J.H. Hotchkiss. Prog. Polym. Sci. **2007**, Vol. 32, pp 698-725.
- [32] N.J. Hickok, I.M. Shapiro, Adv. Drug Deliv. Rev. **2012**, Vol. 64, pp 1165-1176.
- [33] A. Asadinezhad, I. Novák, M. Lehocký, V. Sedlařík, A. Vesel, I. Junkar, P. Sáha, I. Chodák. Colloid. Surfaces B. **2010**, Vol. 77, pp 246-256.
- [34] M.J. Garcia-Fernandez, G. Brackman, T. Coenye, A. Concheiro, C. Alvarez-Lorenzo. Biofouling. **2013**, Vol. 29, pp 261-271.

- [35] A. Shukla, S.N. Avadhany, J.C. Fang, P.T. Hammond, *Small* **2010**, Vol. 6, pp 2392-2404.
- [36] G. Taubes, *Science* **2008**, 321, 356-361.
- [37] L. Montanaro, D. Campoccia, C.R. Arciola. *Biomaterials* **2007**, Vol. 28, pp 5155-5168.
- [38] C. Raggi, P. Filippini, M. Monaco, A. Pantosti, R. Creti, L. Baldassarri. *Clin. Microbiol.* **2013**, Vol. 2, pp 1-6.
- [39] G. Polacco, M.G. Cascone, L. Petarca, A. Peretti. *Eur. Polym. J.* **2000**, Vol. 36, pp 2541-2544.
- [40] B. Pradhan, S.K. Srivastava, A.Saxena. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2012**, Vol. 12, pp 8975-8984.
- [41] G. Bianco, M.S. Soldi, E.A. Pinheiro, A.T.N. Pires, M.H. Gehlen, V. Soldi. *Polym. Degrad. Stabil.* **2003**, Vol. 80, pp 567-574.
- [42] S. Çavuş, E. Çakal. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2012**, Vol. 51, pp 1218-1226.
- [43] G. Camino, S.M. Lomakin, M. Lagueard. *Polymer* **2002**, Vol. 43, pp 2011-2015.
- [44] Y. Jin-Sheng, H. Ging-Ho. *J. Appl. Polymer Sci.* **1996**, Vol. 61, pp 221-230.
- [45] E.S. Gil, S.M. Hudson. *Prog. Polym. Sci.* **2004**, Vol. 29, 1173-1222.
- [46] B. Jacquet, D. Wei, B. Reck, F. Reinhold, X. Zhang, H. Wu. *Polym. Sci.* **2013**, Vol. 291, pp 1659-1667.
- [47] R. Rodriguez, C. Alvarez-Lorenzo, A. Concheiro. *Biomacromolecules* **2001**, Vol. 2, pp 886-893.
- [48] K. Takács-Novák, B. Noszál, M. Tokes-Kovesdi, G. Szasz. *Int. J. Pharm.* **1993**, Vol. 89, pp 261-263.
- [49] T. Casalini, M. Masi, G. Perale, nt. *J. Pharm.* **2012**, Vol. 429, pp 148-157.
- [50] A. Concheiro, C G. Camino, S.M. Lomakin, M. Lagueard, *Polymer.* **2002**, Vol. 43, pp 2011-2015.
- [51] Ruiz, J.C., C. Alvarez-Lorenzo, P. Taboada, G. Burillo, E. Bucio, K. De Prijck, H.J. Nelis, T. Coenye y A. Concheiro, **2008**, *Eur J Pharm Biopharm.* Vol. 70, pp. 467–477.

- [52] A. Shukla, S.N. Avadhany, J.C. Fang, P.T. Hammond. *Small* **2010**, Vol. 6, pp 2392-2404.
- [53] N. Akimitsu, H. Hamamoto, R.I. Inoue, M. Shoji, A. Akamine, K.I. Takemori, N. Hamasaki, K. Sekimizu. *Antimicrob. Agents. Ch.* **1999**, Vol. 43, pp 3042-3043.
- [54] J.A. Lepe, J. Domínguez-Herrera, J. Pachón, J. Aznar. *J. Antimicrob. Chemother.* **2014**, Vol. 69, pp 136-138.
- [55] P. Bhateja, K. Purnapatre, S. Dube, T. Fatma, A. Rattan A. *Int Antimicrob Agents* **2006**; 27(3):201-11.