



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**SÍNTESIS DE BIOMATERIALES EN HILOS DE SUTURA QUE CONTIENEN
POLÍMEROS VINÍLICOS**

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. FELIPE LÓPEZ SAUCEDO

TUTOR: Dr. EMILIO BUCIO CARRILLO
INSTITUTO DE CIENCIAS NUCLEARES, UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, ENERO DE 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



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

Dr. Ricardo Vera Graziano	Instituto de Inv. en Materiales, UNAM
Dra. Sofía Guillermina Burillo Amezcua	Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM
Dr. Juan Manuel Navarrete Tejero	Facultad de Química, UNAM
Dr. Alberto Ruiz Treviño	Universidad Iberoamericana
Dra. Elizabeth Piñón Segundo	FES-Cuautitlán, UNAM

Esta tesis fue desarrollada en el laboratorio de macromoléculas II del Departamento de Química de Radiaciones y Radioquímica del Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM, Ciudad de México. Bajo la dirección del Dr. Emilio Bucio Carrillo.

Publicaciones y contribuciones

Los siguientes artículos fueron producto de la tesis:

- [1] Achieving antimicrobial activity through poly(N-methylvinylimidazolium) iodide brushes on binary-grafted polypropylene suture threads. **Felipe López-Saucedo**, Guadalupe G. Flores-Rojas, Carmen Alvarez-Lorenzo, Angel Concheiro, Oscar González-Antonio, Emilio Bucio. *MRS Commun.* 7, 938-946 (2017).
- [2] Radiation-grafting of vinyl monomers separately onto polypropylene monofilament sutures. **Felipe López-Saucedo**, Carmen Alvarez-Lorenzo, Angel Concheiro, and Emilio Bucio. *Radiat. Phys. Chem.* 132, 1-7 (2017).
- [3] Radiation grafting for the functionalization and development of smart polymeric materials. Víctor H. Pino-Ramos, Alejandro Ramos-Ballesteros, **Felipe López-Saucedo**, Jesús E. López-Barriguete, Gustavo H. C. Varca, and Emilio Bucio. *Top. Curr. Chem.* 374, 63 (2016).

Parte de los resultados se presentaron en los siguientes congresos, con los trabajos intitulados:

- [1] Acrylic polymer grafted onto polypropylene sutures for antimicrobial materials. **Felipe López-Saucedo** and Emilio Bucio. The 12th meeting of the “Ionizing radiations and polymers” symposium. Peninsula of Giens, France, september 25-30, 2016.
- [2] Copolímeros de injerto biocompatibles derivados de un monofilamento de polipropileno: PP-g-PNVIm, (PP-g-PHEMA)-g-PNVIm y (PP-g-PNIPAAm)-g-PNVIm. **Felipe López-Saucedo**, Guadalupe Gabriel Flores-Rojas y Emilio Bucio. VIII Congreso Nacional de Ciencia e Ingeniería en Materiales. Ciudad de Cuernavaca Morelos, México, 8-10 de marzo, 2017.

Agradecimientos

Por parte de Felipe López Saucedo con número de becario **290649** y CVU **409872**, al CONACYT por la beca de doctorado otorgada

Al financiamiento del proyecto DGAPA-UNAM No. **IN201617**

A la asistencia técnica de:

Benjamín Leal de Instituto de Ciencias Nucleares UNAM y Beatriz Magariños de Universidade de Santiago de Compostela

Al personal administrativo del Posgrado de Ciencias Químicas:

María Adriana Martínez, Patricia Vargas, Luis Emilio Orgaz, Ana María Nuñez, Ana Valeria Barrientos, Josefina Tenopala y Jesús Gumaro Viacobo

A los investigadores que formaron parte de este proyecto:

Carmen Álvarez Lorenzo, Universidade de Santiago de Compostela

Angel Concheiro, Universidade de Santiago de Compostela

Sofía Guillermina Burillo, Instituto de Ciencias Nucleares UNAM

Alicia Negrón Mendoza, Instituto de Ciencias Nucleares UNAM

Alberto Ruiz Treviño, Universidad Iberoamericana

Emilio Bucio Carrillo, Instituto de Ciencias Nucleares UNAM

Dedicado a:

María de la Luz Argueta Córdova y José Pedro Felipe Saucedo Chávez

Índice

Abstract	9
Resumen	10
1. Introducción	11
2. Antecedentes	14
2.1 Hilos de sutura.....	15
2.1.1 Breve historia de las suturas	15
2.1.2 Características de los materiales de sutura	16
2.1.3 El uso de suturas no absorbibles	17
2.2 Síntesis de polipropileno: proceso Ziegler-Natta	18
2.3 Características generales de los filamentos de polipropileno	19
2.4 Copolímeros de injerto por radiación ionizante.....	20
2.4.1 Síntesis y mecanismo de copolimerización por radiación ionizante	20
2.4.2 Factores de reacción en injertos por radiación gamma.....	22
2.4.2.1 Concentración de monómero.....	23
2.4.2.2 Disolvente.....	23
2.4.2.3 Temperatura de reacción.....	24
2.4.2.4 Dosis, intensidad de dosis y tiempo de reacción.....	25
2.4.3 Injertos de PP con HEMA, NIPAAm y NVIm	27
2.5 Polímeros estímulo responsivos	28
2.6 Biocompatibilidad y citotoxicidad de materiales	29
2.7 Derivados de imidazol como agentes antimicrobianos	30
2.8 Historia y síntesis de plata como agente antimicrobiano	31
3. Hipótesis	35
4. Objetivos	36
5. Método experimental	37
5.1 Purificación de NIPAAm.....	38
5.2 Purificación de NVIm y HEMA	38
5.3 Reactivos y disolventes	38
5.4 Síntesis de PP- <i>g</i> -NIPAAm y PP- <i>g</i> -HEMA (preirradiación oxidativa).....	39

5.5 Síntesis de PP- <i>g</i> -NVIm (irradiación simultánea o directa)	39
5.6 Síntesis de (PP- <i>g</i> -HEMA)- <i>g</i> -NVIm y (PP- <i>g</i> -HEMA)- <i>g</i> -NVIm	40
5.7 Hinchamiento límite	40
5.8 Hinchamiento en función de la temperatura	40
5.9 Hinchamiento en función del pH	40
5.10 Caracterización: FTIR-ATR, SEM, EDS, TGA, DSC y pruebas mecánicas	41
5.11 Funcionalización con yoduro de metilo	42
5.12 Carga de plata	42
5.13 Ensayo LDH.....	43
5.14 Ensayo AlamarBlue®.....	43
5.15 Ensayo WST-1.....	44
5.16 Inhibición antimicrobiana in vitro	44
5.17 Software utilizado	45
6. Resultados y análisis	46
6.1 Cinéticas de injertos.....	47
6.1.1 Efecto de la dosis	47
6.1.2 Efecto del tiempo de reacción	48
6.1.3 Efecto de la concentración de monómero	49
6.1.4 Efecto de la temperatura	50
6.2 Cinéticas de injertos binarios	51
6.3 Diámetro de las suturas injertadas	54
6.4 Estudios de análisis superficial	56
6.4.1 SEM de injertos	56
6.4.2 SEM de injertos cargados con Ag	56
6.4.3 Análisis superficial EDS	58
6.5 Pruebas mecánicas	59
6.6 Análisis espectroscópico FTIR-ATR	61
6.7 Hinchamiento	64
6.7.1 Hinchamiento límite.....	64
6.7.2 Hinchamiento en función de la temperatura	65
6.7.3 Hinchamiento en función del pH	66

6.8	Análisis térmico.....	68
6.8.1	Caracterización por TGA.....	68
6.8.2	Caracterización por DSC.....	69
6.9	Funcionalización de las suturas injertadas	70
6.9.1	Cuaternización con Mel.....	70
6.9.2	Carga de partículas con Ag.....	71
6.10	Viabilidad celular de los injertos.....	73
6.11	Inhibición antimicrobiana in vitro	75
6.11.1	Inhibición con suturas cuaternizadas con Mel.....	76
6.11.2	Inhibición con suturas cargadas con Ag.....	78
6.12	Viabilidad celular de las suturas cargadas con Ag.....	81
7.	Conclusiones.....	83
8.	Bibliografía.....	84
	Anexo de publicaciones.....	92

Abstract

This work presents the synthesis of copolymers with the acrylic monomers 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA), N-isopropylacrylamide (NIPAAm), and N-vinylimidazole (NVIIm), on polypropylene suture threads, to obtain new materials to be used as biomedical devices. A source of gamma-rays energy from ^{60}Co was employed (dose rate 9.2 kGy h^{-1}), and an extensive, but easy strategy was designed to find the optimal reaction conditions to obtain the grafted suture threads; to achieve this objective, the variables of dose, temperature, monomer concentration, and reaction time were studied. The products were superficially characterized by SEM-EDS microscopy and FTIR-ATR spectroscopy, also these materials were subjected to elongation and tension tests, to calculate Young's modulus. Physicochemical studies included the swelling behavior in water, and in the corresponding cases, the low critical solution temperature and/or critical pH were also obtained. The characterization was completed thermally by DSC and TGA. Subsequently, the materials obtained were derivatized with methyl iodide or treated with silver nitrate. Finally, the obtained sutures were evaluated in cytocompatibility and in vitro inhibition assays against *E. coli* and *S. aureus*.

Resumen

Este trabajo presenta la síntesis de copolímeros de injerto, con los monómeros acrílicos 2-hidroxietil metacrilato (HEMA), *N*-isopropilacrilamida (NIPAAm) y *N*-vinilimidazol (NVIIm) sobre hilos de sutura de polipropileno, con el propósito de obtener nuevos materiales para ser utilizados en dispositivos biomédicos de curación. Se utilizó una fuente de energía de rayos gamma proveniente de ^{60}Co (tasa de dosis promedio 9.2 kGy h^{-1}), donde se diseñó una extensa, pero simple estrategia en la búsqueda de condiciones de reacción óptimas para la formación de los injertos; para ello, se estudiaron las variables de dosis, temperatura, concentración de monómero y tiempo de reacción. Los productos fueron caracterizados superficialmente por microscopia SEM-EDS y espectroscopia de FTIR-ATR, además, fueron sujetos a pruebas mecánicas de elongación y tensión, para calcular el módulo de Young. Se midió el hinchamiento en agua y en los casos correspondientes se obtuvo la temperatura y/o pH crítico. Se completó la caracterización térmicamente por DSC y TGA. Posteriormente, los materiales obtenidos fueron derivatizados con yoduro de metilo o cargados con plata. Finalmente, las suturas obtenidas se evaluaron en ensayos de citocompatibilidad y de inhibición *in vitro* contra *E. coli* y *S. aureus*.

Introducción

Una sutura es un dispositivo biomédico, de origen natural o sintético, absorbible o no absorbible, cuya función es ligar vasos sanguíneos o unir tejidos. Aunque existen otros métodos para cerrar heridas (como grapas, cinta adhesiva o pegamento), las suturas son las más utilizadas en cirugía (Dennis et al., 2016).

Es importante que los materiales de sutura posean entre sus propiedades total biocompatibilidad, esto es, biológicamente inerte y no causar reacción con los tejidos; así como una fácil manipulación por parte del cirujano (doblar, anudar, etc.); fácil esterilización; propiedades hipoalergénicas; no tóxicos; de ser posible la sutura debe ser absorbida después de cumplir su función; además, debe evitar el crecimiento bacteriano. Es en este último punto donde casi todas las suturas actualmente disponibles en el mercado fallan, por lo que las infecciones postoperatorias son recurrentes y responsables de complicaciones en el paciente, por ejemplo: mayor tiempo de estancia en el hospital; una ingesta de antibióticos extra; operaciones adicionales e incluso si la infección no es atendida puede ocurrir el deceso del paciente. Aunque son diversas las causas de infección, la sutura es un factor de relevancia, debido a que el sitio expuesto a la intervención es susceptible de ataques patógenos (Kathju et al., 2009). La contaminación suele producirse en el momento de inserción por contacto con microorganismos oportunistas de la piel, pero también por migración de microorganismos desde focos de infección preexistentes en el paciente. Esta deficiencia antimicrobiana en la mayoría de los materiales comerciales puede convertirse en un atributo a futuro, si se logra una modificación adecuada.

No existe un material que cumpla con todas las propiedades requeridas y el médico debe de elegir entre los tipos de materiales de sutura disponibles para cada tipo de intervención quirúrgica, dado que los tejidos requieren cuidados específicos y tiempo diferente para la adecuada recuperación del paciente. Aunado a esto, las intervenciones quirúrgicas dejan el área de piel expuesta y como consecuencia marcas y/o cicatrices, por lo que la variable estética también está presente.

Con respecto a la composición química de los dispositivos biomédicos, el polipropileno (PP) es un material biocompatible de origen sintético no absorbible utilizado en la fabricación de suturas con diversos propósitos quirúrgicos. Su uso está indicado en el cierre cutáneo y en general para ligar tejidos blandos. Una de las limitaciones del PP es no ser un material biodegradable; sin embargo, eso es también una ventaja ya que ciertos tipos de intervenciones quirúrgicas precisan de suturas no absorbibles. Las características del PP antes mencionadas ayudan a plantear una modificación estructural de tal modo que el hilo de sutura obtenga propiedades antimicrobianas, conservando sus propiedades mecánicas en la medida de lo posible, por lo que una forma viable es la modificación de la superficie. Dado que el PP no presenta reactividad química por métodos de activación de enlace tradicionales, se requiere para su funcionalización una fuente de alta energía, por ejemplo, radiación ionizante gamma o por plasma (Saxena et al., 2011).

Está ampliamente documentado el uso de rayos gamma como iniciadores de radicales libres en una diversa cantidad de materiales, como el PP, para la formación de materiales de injerto utilizando monómeros acrílicos como materia prima (Melendez-Ortiz et al., 2014; Zavala-Lagunes et al., 2016). A lo largo de la década pasada ya se ha investigado y desarrollado las modificaciones en hilos de sutura de PP utilizando irradiación gamma como fuente de energía, un ejemplo es el injerto con acrilonitrilo (AN) sobre PP para formar el material PP-g-AN con la técnica de preirradiación oxidativa, donde se apunta la conservación de las propiedades mecánicas del material original, con un pequeño incremento del 5% en su tenacidad (Jain et al., 2004). Posteriormente el injerto se hidrolizó para obtener el derivado de ácido acrílico (AAc), esto es PP-g-AAc que mostró estabilidad en medios de pH tanto neutro como básico. De esta manera la sutura se logró funcionalizar con grupos carboxílicos para carga y cesión de clorhidrato de tetraciclina. El proceso global dio como resultado una sutura con propiedades antimicrobianas contra cultivos *in vitro* de *Escherichia coli* (*E. coli*), *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) y *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (Gupta et al., 2008, 2004).

Dotar a los hilos de sutura con propiedades antimicrobianas es una idea que ya ha sido realizada en los hilos de tipo absorbible, por ejemplo, en suturas de ácido poliglicólico (comercializadas con el nombre de Vicryl® de Ethicon); se ha probado el recubrimiento con nanopartículas de Ag (antibiótico de amplio espectro) (Ho et al., 2013), así como con el antibiótico comercial triclosán (un bactericida de amplio espectro y fungicida) (Hoshino et al., 2013; Rothenburger et al., 2002), cuya funcionalidad en ambos tipos de modificaciones no queda comprometida sumando las ventajas antimicrobianas.

Actualmente nuestro equipo ha retomado la línea de investigación sobre hilos de sutura y ha desarrollado materiales de injerto con AAc y glicidilmetacrilato (GMA) sobre suturas de PP (Prolene® 4.0 de Ethicon) donde se realizó la inmovilización irreversible del fármaco vancomicina a través de la formación de un enlace covalente con el grupo epoxi del injerto PP-*g*-GMA, además de la carga y cesión del mismo fármaco con la sutura de PP-*g*-AAc, con excelentes resultados en pruebas adhesión e inhibición *in vitro* contra *S. aureus* (García-Vargas et al., 2014).

Estos ejemplos consolidan la idea fundamental de funcionalización química o carga en hilos de sutura con potencial actividad antimicrobiana.

Antecedentes

2.1 Hilos de sutura.....	15
2.1.1 Breve historia de las suturas	15
2.1.2 Características de los materiales de sutura	16
2.1.3 El uso de suturas no absorbibles	17
2.2 Síntesis de polipropileno: proceso Ziegler-Natta	18
2.3 Características generales de los filamentos de polipropileno	19
2.4 Copolímeros de injerto por radiación ionizante.....	20
2.4.1 Síntesis y mecanismo de copolimerización por radiación ionizante	20
2.4.2 Factores de reacción en injertos por radiación gamma.....	22
2.4.2.1 Concentración de monómero.....	23
2.4.2.2 Disolvente.....	23
2.4.2.3 Temperatura de reacción.....	24
2.4.2.4 Dosis, intensidad de dosis y tiempo de reacción.....	25
2.4.3 Injertos de PP con HEMA, NIPAAm y NVIm	27
2.5 Polímeros estímulo responsivos	28
2.6 Biocompatibilidad y citotoxicidad de materiales.....	29
2.7 Derivados de imidazol como agentes antimicrobianos	30
2.8 Historia y síntesis de plata como agente antimicrobiano	31

2.1 Hilos de sutura

2.1.1 Breve historia de las suturas

Desde la antigüedad la humanidad ya utilizaba ataduras de algodón, cabello y cuerpos fibrosos para aproximar tejidos; los egipcios en los albores de su civilización (3000 a. C.) habían probado las ataduras para diversos tratamientos en los procesos de momificación, descubiertos recientemente en los entierros, donde no se puede descartar que también se utilizaran con fines médicos (Snyder, 1976).

En la Arabia, alrededor del 900 d. C., se utilizaban suturas absorbibles de origen animal, equivalentes a las modernas “catgut”. Previamente en la India, alrededor de 600 y 500 a. C., el célebre médico Súsruta recomendaba el uso de diferentes materiales de sutura que incluían algodón, cuero e incluso crin de caballo, así como otras técnicas de sutura que fueron compiladas y descritas dos siglos más tarde en el libro de medicina Samhita (Goel, 2016).

En la edad antigua Galeno de Pérgamo (129-201 d. C.), quien vivió en la región de la actual Turquía, también escribió sobre el uso de suturas en procedimientos quirúrgicos.

Para la edad media se comenzaban a utilizar suturas de seda, una fibra natural formada por un polímero no absorbible. Incluso en la época contemporánea, a principios del siglo XX, se recomendó el uso de suturas de seda por parte del Dr. William Halstead (1852-1922), quien fue un pionero de la cirugía moderna en Estados Unidos, donde ya hacía gala de sofisticados procesos quirúrgicos e incluso llegando a probar el uso de suturas de hilo de plata en cirugías de hernia (Barillo and Marx, 2014). Con el auge derivado de la explotación del petróleo, una gran cantidad de materias primas se comenzaron a probar para el desarrollo de todo tipo de productos.

En Alemania, durante la tercera década del siglo XX, se dio un paso adelante en el diseño de los primeros materiales sintéticos de origen polimérico, por ejemplo, las

poliamidas que son producto de la condensación de un diácido con una diamina o un aminoácido, cuyo integrante más significativo es el nailon; el poliéster creado en el Reino Unido en 1941 por la compañía ICI. Un segundo ejemplo dentro del campo de la química de materiales poliméricos utilizados para la fabricación de filamentos (que fueron probados como suturas) es el PP derivado del propileno (cuyo proceso se trata detalladamente en la sección correspondiente), un material no absorbible y resistente que además se utiliza como componente en una gran cantidad de productos (Maddah, 2016).

2.1.2 Características de los materiales de sutura

Los hilos de sutura se pueden clasificar de acuerdo con varios criterios, pero las formas más sencillas de hacerlo son: según la duración de la sutura (degradación), el origen o por su estructura macroscópica (**Tabla 1**). Idealmente se busca en una sutura que esta sea estéril, multipropósito, no cause daño tisular, de fácil manipulación, anudada fijamente, de alta fuerza de tensión, hipoalérgica y que no sea propensa a infectar el área de sutura (Abhari et al., 2017).

Tabla 1. Clasificación general de las suturas.

Clasificación de suturas		
Degradación	Absorbible	No absorbible
Origen	Natural	Sintética
	Metálica	No metálica (orgánicos)
Estructura	Monofilamento	Multifilamento

La estructura de las suturas de monofilamentos está compuesta por una sola fibra. Esta estructura es adecuada para evitar el crecimiento de biopelículas (microorganismos) ya que presenta una superficie uniforme; mientras que la sutura multifilamento se compone de varios filamentos retorcidos o trenzados entre sí por lo que es más factible que se alojen microorganismos en ella. Los monofilamentos

presentan menos resistencia al paso en comparación con los multifilamentos que tienen un coeficiente de fricción más alto; aunque la sutura multifilamento generalmente posee mayor resistencia a la tracción y mejor flexibilidad que la sutura de monofilamento, por lo que es más fácil de atar que esta última (Dennis et al., 2016; Goel, 2016).

2.1.3 El uso de suturas no absorbibles

Las suturas no absorbibles están diseñadas para permanecer durante largos periodos cuando se trata de suturas internas y cuando el procedimiento requiere que se remuevan los puntos después de cierto tiempo de cicatrización. La resistencia y fuerza de tensión de este tipo de suturas suele ser alto; cuando se usan para cerrar tejido dérmico generalmente se retiran de 10 a 14 días, pero puede variar según la ubicación y la situación. Las suturas permanentes se usan generalmente en el tejido donde incluso cuando puede ocurrir la curación, el nuevo tejido no tiene la fuerza necesaria para mantenerse unido.

Los órganos y tejidos donde se emplean este tipo de suturas involucran partes vitales para el funcionamiento del cuerpo, por ejemplo, el corazón y los vasos sanguíneos, cuyo movimiento rítmico requiere que la sutura permanezca más de tres semanas, para proporcionar a la herida el tiempo suficiente para recuperarse (Abhari et al., 2017). Otros órganos, como la vejiga, contienen fluidos que hacen que las suturas absorbibles se degraden en un tiempo menor al necesario para que la herida se haya cerrado. A su vez algunas veces las proteínas de las suturas absorbibles pueden causar irritación o inflamación en el área intervenida, lo cual retrasa el tiempo de curación e incluso pueden provocar crecimiento de biopelículas y a la postre infección.

2.3 Características generales de los filamentos de polipropileno

El PP, cuya producción mundial es mayor a 50 millones de toneladas, es un termoplástico muy versátil que además se puede mezclar con otros materiales para obtener una amplia variedad de productos como empaques, textiles, estuches rígidos, partes de máquinas e instrumentos, películas, fibras, etc. De hecho, el PP puede emular y superar las propiedades de otros materiales como el cartón, vidrio y metales; hasta el punto de casi sustituirlos y se puede reciclar (se debe medir el consumo de plásticos y promover el uso de materiales reutilizables). Las propiedades del PP en general son: baja densidad (0.9 g cm^{-3}), alto punto de fusión (alrededor de 165°C , cambia con el peso molecular y tacticidad), transparente (amorfo) u opaco (cristalino), rigidez (alto peso molecular) o flexibilidad (bajo peso molecular), impermeabilidad, se puede estirar y formar filamentos como los metales. Es importante destacar su baja reactividad química y excelente resistencia a la humedad, lluvia ácida, rayos UV y otras condiciones ambientales adversas (Maddah, 2016).

Las fibras y filamentos representan una parte muy importante en la industria textil y sanitaria. Para la fabricación de hilos de sutura de PP, se utiliza el polímero isotáctico i-PP de alta densidad, ya que es más resistente que el análogo atáctico a-PP, los hilos se obtienen por extrusión de los pellets. Al ser materiales sanitarios estos se esterilizan con radiación gamma. Las suturas de PP suelen teñirse de azul para una fácil identificación en el tejido y cumplen las especificaciones establecidas por la Farmacopea Americana (USP) para suturas quirúrgicas, que como ya se ha mencionado están indicadas para la aproximación de tejidos internos y suturas de piel, incluyendo su uso en procedimientos cardiovasculares, oftálmicos y neurológicos. La sutura de PP produce una reacción inflamatoria mínima en los tejidos, no es absorbible ni se degrada por acción enzimática y no se adhiere a los tejidos, por lo cual después de cierto tiempo es removida (Sun and Xie, 2013).

2.4 Copolímeros de injerto por radiación ionizante

Un copolímero de injerto se obtiene a partir de un polímero matriz y un monómero que injertado repetidamente produce cadenas sobre el primero; también se obtienen injertos directamente de un polímero sobre otro. De tal forma que las partes que conforman el injerto pueden conservar parcialmente su identidad, aunque el material final puede obtener cualidades diferentes que los polímeros por separado. La síntesis de un copolímero de injerto requiere la formación de grupos reactivos que induzcan la reacción con los monómeros sobre una matriz polimérica.

Los mecanismos pueden proceder a través de la polimerización aniónica, catiónica o radicalaria. Los métodos de iniciación para la polimerización iónica utilizan principalmente reactivos químicos (ácidos o bases); por otra parte, aunque para la polimerización radicalaria, se utilizan iniciadores químicos como peróxidos, compuestos metálicos o azo derivados, también es posible el uso de iniciadores como plasma, radiación UV o gamma.

2.4.1 Síntesis y mecanismo de copolimerización por radiación ionizante

Un método importante en la síntesis de copolímeros de injerto es vía radicalaria y los rayos gamma son una excelente fuente de energía que permite variantes en los métodos de injerto, pues se pueden llevar a cabo las reacciones tanto en sistemas homogéneos como heterogéneos, controlando la temperatura de reacción y dosificando la energía del medio.

Debido a que los copolímeros son el resultado de la combinación química de dos o más moléculas de diferente naturaleza y la irradiación crea sitios activos en los polímeros, nos es posible tener a la mano un abanico de variantes de macromoléculas con propiedades físicas y químicas con diferente utilidad o aplicación.

Los injertos inducidos por radiación son conocidos e investigados desde el siglo XX (Chapiro, 1962). La versatilidad de esta técnica permite utilizar matrices sólidas

como tubos, películas, geles o en este caso en particular: hilos de sutura. Los monómeros pueden utilizarse en fase líquida, vapor o disolución.

Existen cuatro métodos generales para obtener injertos mediante radiación: preirradiación en atmósfera inerte, irradiación directa en fase de vapor, preirradiación oxidativa e irradiación simultánea (o directa). Las dos últimas técnicas, al ser eficaces y de fácil manejo experimental, fueron las utilizadas para los injertos en este trabajo.

Las fuentes de radiación ionizantes más utilizadas son de ^{60}CO , ya que este isótopo además de tener un tiempo de vida de medio de 5.27 años, al decaer produce una emisión beta de 0.31 MeV y luego el núcleo metaestable de ^{60}Ni produce dos rayos gamma de alta energía de 1.17 y 1.33 MeV, que rompen de manera homolítica los enlaces covalentes para producir los radicales.

El mecanismo radicalario de polimerización para la formación de injertos promovida por rayos gamma procede de manera muy similar a la tradicional polimerización con iniciadores químicos, con etapas de iniciación, propagación y terminación (**Figura 2**). La principal diferencia con la iniciación química yace en que los rayos gamma rompen los enlaces de la matriz, para producir especies de radicales que son estabilizadas por resonancia, por electrón libre, hiperconjugación o por grupos donadores adyacentes (Studer and Curran, 2016).

El mecanismo de polimerización en cadena para la formación de injertos se expone a continuación:

- i) Formación de los radicales por ruptura homolítica de hidroperóxidos y peróxidos (preirradiación oxidativa) o por la ruptura homolítica en los enlaces de la matriz (irradiación simultánea).
- ii) Los radicales libres reaccionan con las dobles ligaduras de los monómeros e inicia la reacción.
- iii) Entonces la reacción entre los radicales y monómeros se propaga y da lugar a la reacción en cadena y los injertos propiamente.

- iv) La reacción de polimerización termina con especies neutras, ya sea por el acoplamiento entre cadenas o por la neutralización con alguna molécula del medio.

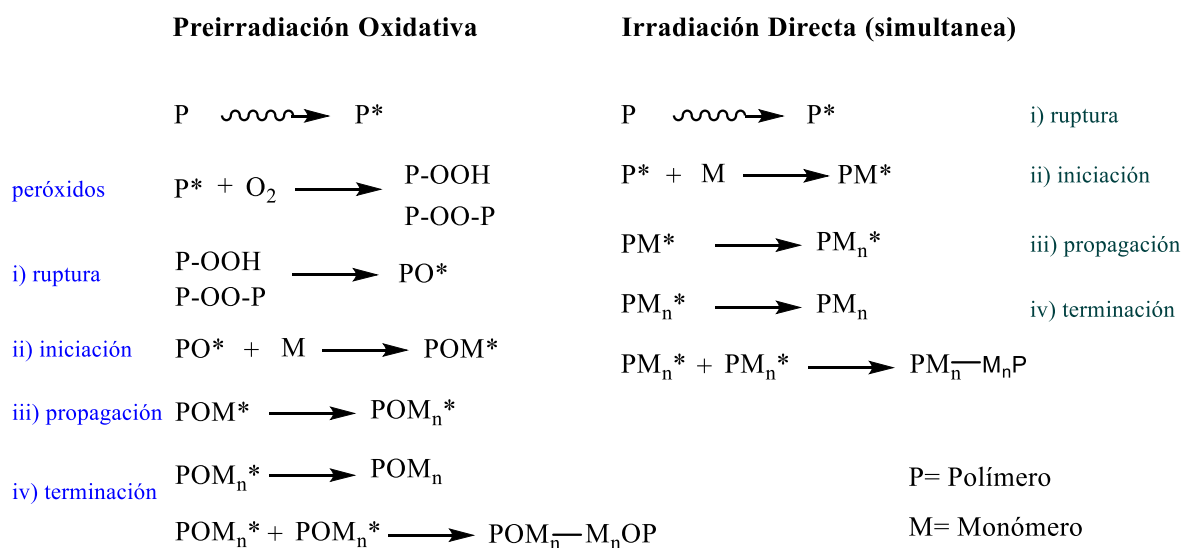


Figura 2. Mecanismo de reacción en la polimerización de injertos.

2.4.2 Factores de reacción en injertos por radiación gamma

Existen factores que determinan la cinética de reacción del injerto, y aunque el mecanismo principal conlleva a obtener el copolímero, este no es el único proceso, ya que además de la reacción principal de polimerización entre la matriz y el monómero, existen otros factores y/o variables que provocan reacciones secundarias o paralelas, cuyos efectos se vuelven importantes puesto que afectan directamente los porcentajes de injerto. Estos efectos son: la concentración de monómero, disolvente, temperatura, tiempo de reacción y dosis (Meléndez-Ortiz et al., 2015).

2.4.2.1 Concentración de monómero

La concentración de monómero se debe mantener en un rango adecuado que permita la formación de los injertos, ya que concentraciones muy bajas producen rendimientos bajos e incluso no cuantificables mientras que concentraciones altas pueden aumentar la viscosidad del medio y dar a lugar el efecto gel, que tiene repercusión en el favorecimiento de formación del homopolímero que disminuye la cinética de injerto (**Figura 3**).

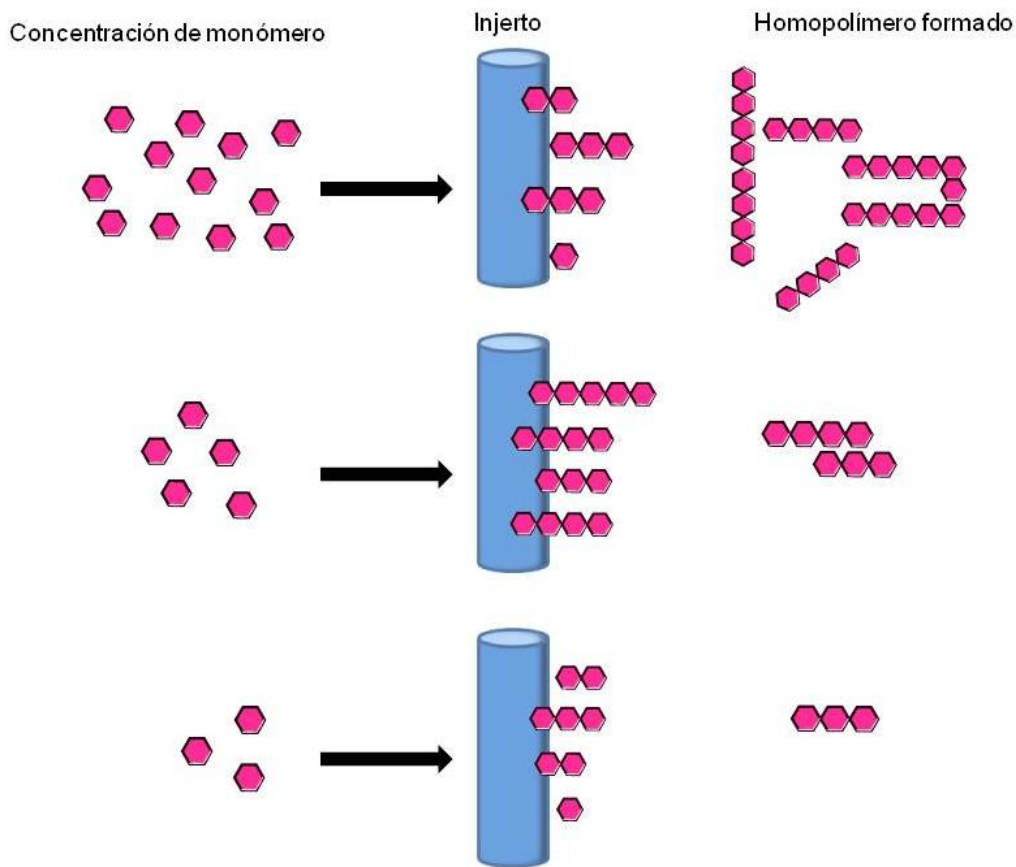


Figura 3. Efecto de la concentración; una mayor concentración aumenta los porcentajes de injerto, pero también se incrementa la cantidad de homopolímero.

2.4.2.2 Disolvente

Íntimamente ligado a la concentración se encuentra el disolvente utilizado para llevar a cabo este proceso y algunos enfoques deben ser tomados en cuenta para

elegir el más adecuado. El disolvente debe ser miscible o capaz de disolver por completo al monómero, pero preferentemente el copolímero debe ser insoluble para que la purificación sea sencilla. Otro factor importante relacionado con el grado de injerto es el hinchamiento de la matriz, debido a que si esta es sólida el disolvente al hinchar la matriz aumenta el área de contacto y produce conversiones mayores.

Por otro lado, la elección del disolvente también debe satisfacer y cumplir con los requerimientos de síntesis de la química actual (posiblemente del futuro también), por lo que de ser posible, el disolvente escogido debe ser amigable con el medio ambiente o lo menos tóxico, esto significa el uso de disolventes biodegradables, biocompatibles, que no produzcan desechos o gases tóxicos, preferentemente no halogenados y cuyo reciclaje o procesamiento sea una opción viable (Anastas and Kirchhoff, 2002).

2.4.2.3 Temperatura de reacción

La temperatura es de especial importancia en la preirradiación oxidativa ya que es necesaria cierta energía cinética para romper los enlaces peróxido R-O-O-R y dar inicio a la reacción de polimerización, además de que se incrementa el número de colisiones efectivas. Este factor no es lineal y la temperatura se debe controlar ya que elevadas temperaturas pueden favorecer la formación del homopolímero y disminuir el injerto; por lo tanto, es importante encontrar el rango óptimo de temperatura en que se lleve a cabo la reacción, el cual oscila regularmente por debajo del punto de ebullición normal del agua (50-100 °C), por lo que las reacciones se pueden realizar en baños de agua para homogeneizar la temperatura y controlar mejor el medio (**Figura 4**).

Las reacciones por el método de irradiación simultánea suelen llevarse a cabo a temperatura ambiente, por lo cual esta es una variable menos a tomar en cuenta, siempre que esta no sea tan diferente en los experimentos realizados.

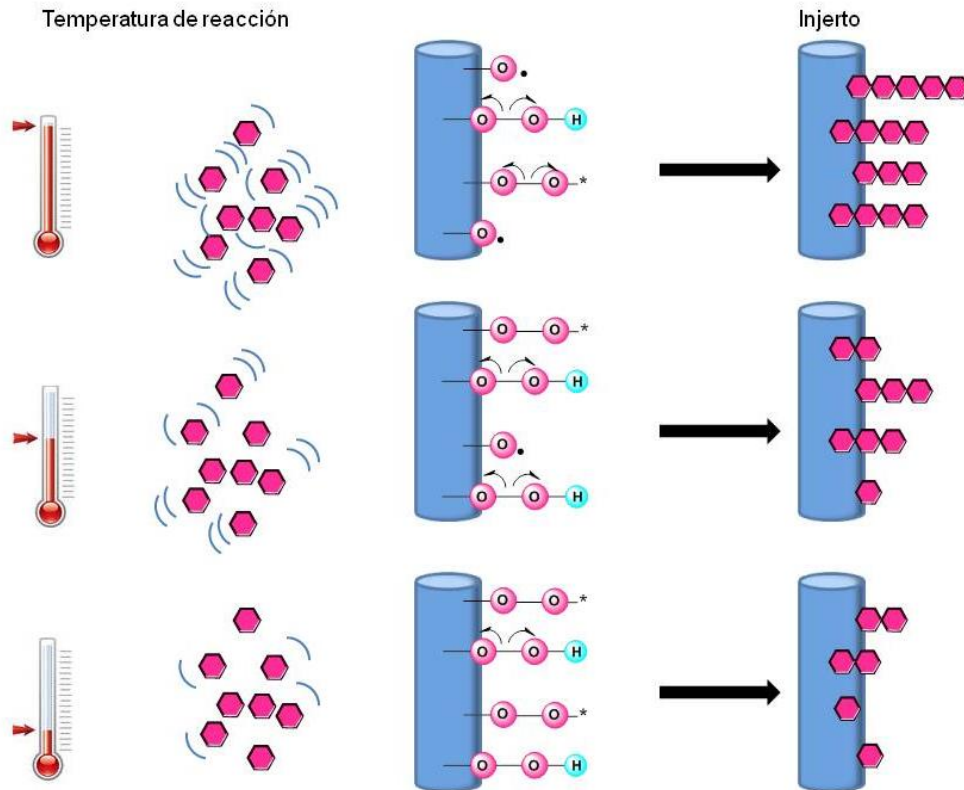


Figura 4. Efecto de la temperatura; el incremento de la energía cinética de las moléculas produce mayor número de colisiones y se forman más radicales por ruptura de los peróxidos.

2.4.2.4 Dosis, intensidad de dosis y tiempo de reacción

El tiempo de reacción y dosis son dos factores relacionados (**Figura 5**), pero con ángulos definidos y particulares según el método de irradiación utilizado. En la irradiación simultánea, el tiempo de reacción es aquel donde la matriz y monómeros son expuestos a la irradiación gamma de manera conjunta para producir radicales suficientemente estables e iniciar la reacción en cadena, esto quiere decir que durante el tiempo de irradiación sucede la polimerización y en cuanto ésta cesa también lo hace la reacción, o sea que tiempo (h) y dosis (kGy) están ligados directamente con los injertos producidos y es la intensidad (tasa) de dosis (kGy h^{-1}) la que determina, en realidad, estas variables. Para una determinada dosis el utilizar intensidades de dosis muy bajas se traduce en tiempos de exposición más largos,

mientras que intensidades muy altas requieren proporcionalmente tiempos más cortos; aunque se infiere que si la dosis es la misma se producirán porcentajes de injerto iguales, lo cierto es que tanto la polimerización de injerto como de homopolimerización siguen cinéticas diferentes que se pueden verse favorecidas o disminuidas según las condiciones en que se lleve a cabo la reacción. Cuando la intensidad es alta, la polimerización vía radicales decrece debido a la recombinación de los radicales producidos. Por todo lo anterior, es recomendable utilizar una tasa de dosis similar en los experimentos para obtener reproducibilidad.

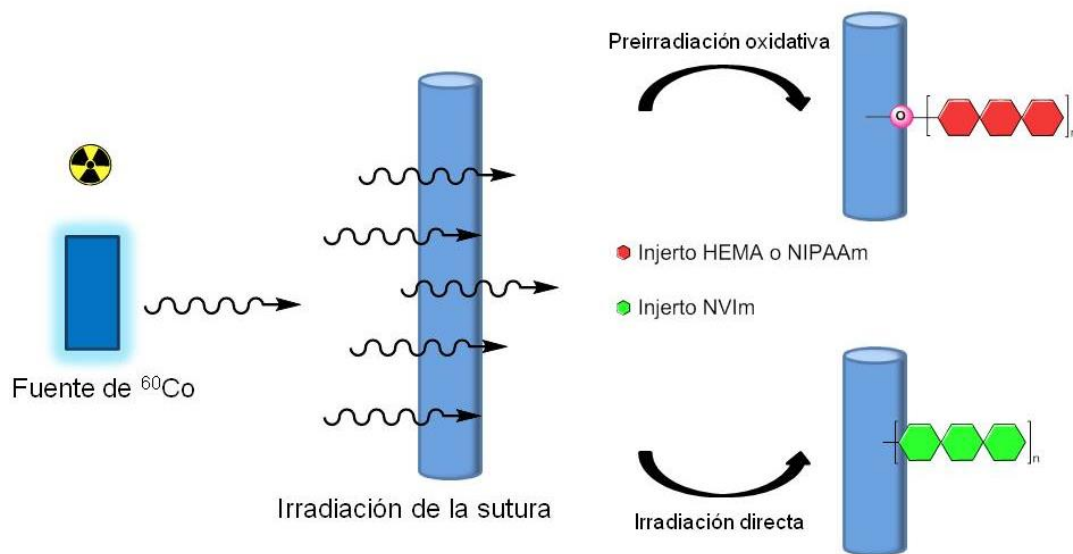


Figura 5. Efecto de la irradiación: mayor exposición a la fuente de radiación genera más radicales y mayores porcentajes de injerto.

Además de la intensidad, en preirradiación oxidativa el tiempo que ocurre entre la exposición a los rayos, la preparación de la muestra y la reacción debe ser constante; ya que, aunque son estables los peróxidos e hidroperóxidos formados después de la exposición a la radiación gamma, la muestra debe ser almacenada a bajas temperaturas, debido a su naturaleza de elevada reactividad. En segundo lugar, el tiempo de preparación de la muestra debe considerarse, como se mencionó en un punto anterior, porque el disolvente puede hinchar a la matriz aumentando el área de contacto. El tiempo de reacción en preirradiación oxidativa es tan determinante en el grado de injerto como el resto de los factores, puesto que

Por último, el PHEMA a pesar de no ser un polímero estímulo responsivo, continua en investigación debido a sus propiedades hidrofílicas por ejemplo, en la formación de hidrogeles o películas biocompatibles (Montheard et al., 1992).

2.5 Polímeros estímulo responsivos

Existen distintos tipos de materiales estímulo responsivos, aunque esta investigación está centrada en los polímeros estímulo responsivos para los cuales no existe una definición única, pero todos los polímeros estímulo responsivos tienen en común que ante un estímulo exterior les ocurre un cambio radical en sus propiedades físicas o químicas.

Incluso para nombrarlos, existe en la literatura más de un término para referirse a los polímeros que responden a estímulos externos: “smart”, “stimuli-responsive” o “intelligent”, cuyo significado literal es: inteligente (listo), estímulo responsivo e inteligente (Guragain et al., 2015). El hecho de que no haya una sistematización u homogeneización en las definiciones no impide la investigación y aprovechamiento de las ventajas que nos brindan estos materiales.

Los polímeros estímulo responsivos pueden clasificarse considerando tres puntos de vista: tipo de material polimérico, estímulo al que responden y respuesta al estímulo. La primera clasificación se refiere a los tipos estructurales de estos polímeros; así, por ejemplo, se encuentran los reticulados (redes inter penetrantes, hidrogeles, copolímeros en general y polímeros con memoria de forma). La segunda clasificación es en función del estímulo al que responden esto es: temperatura, pH, luz, campo eléctrico, campo magnético y reconocimiento molecular. Por último, la tercera clasificación según la respuesta que manifiestan frente a cierto estímulo incluye efectos como hinchamiento/colapso, flexión, cambio de color, cambio de fase (sólido, líquido y gas), luminiscencia, cromoactividad y conductividad.

Entre las aplicaciones para este tipo de materiales se encuentran los retrovisores antideslumbramiento, indicadores electrocrómicos para las baterías y gafas de sol.

Sin embargo, su proyección para futuras aplicaciones son mucho más interesantes y productivas (Stuart et al., 2010), por ejemplo, para carga y cesión controlada de fármacos, biosensores y diversas aplicaciones en ingeniería biomecánica, donde incluso se ha logrado la transición de la etapa de investigación al desarrollo de prototipos (Wei et al., 2017).

2.6 Biocompatibilidad y citotoxicidad de materiales

Las pruebas para determinar la biocompatibilidad de un material se suelen realizar en líneas celulares humanas y de mamíferos, por ejemplo, en células de tejido embrionario de fibroblastos de ratones (*Mus musculus*) BALB 3T3, debido a que se caracterizan por ser extremadamente sensibles e inhiben su crecimiento por contacto con sustancias tóxicas circundantes; estas pruebas son rutinarias para dispositivos médicos y ayudan a discernir si un material es apto para ser utilizado en dispositivos biomédicos.

Para evaluar la citotoxicidad celular están implementados diferentes ensayos que determinan la toxicidad o biocompatibilidad de un material o fármaco, para asegurar que pueden ser utilizados en humanos o seres vivos en general. Uno de estos ensayos para determinar la proliferación celular utiliza el reactivo WST-1 (Roche, Suiza); se trata de un ensayo colorimétrico, que cuantifica espectrofotométricamente la cantidad de sales de tetrazolium que se degradan por las funciones biológicas de la célula a formazán. El nombre del reactivo WST-1 es (4-[3-(4-Iodofenil)-2-(4-nitrofenil)-2H-5-tetrazolio]-1,3-disulfonato de benceno), que es una molécula que se degrada a través de un complejo sistema mitocondrial-succinato-tetrazolio-reductasa, el cual solo está activo en células vivas, pues en las células muertas la mitocondria ya no realiza funciones (Yin et al., 2013).

Otro ensayo utilizado como indicador en ensayos de viabilidad celular basado en la tinción es con el reactivo resazurin (7-Hidroxi-3H-fenoxazin-3-ona 10-óxido), comercializado con el nombre de Alamar Blue® (ThermoFischer USA), que es de color azul y se reduce irreversiblemente al compuesto resofurin que es de color rojo.

Determinar si un material es citotóxico (o citocompatible), convencionalmente, se realiza midiendo el límite de concentración que no altera la morfología o metabolismo celular, denominado máxima concentración no citotóxica; sin embargo, en la mayoría de los casos se utiliza la concentración inhibitoria citotóxica 50% (CI_{50%}) que se define como la concentración del compuesto letal para la mitad de las células respecto al control sin compuesto (Inselman et al., 2013).

2.7 Derivados de imidazol como agentes antimicrobianos

Las estructuras de heterociclos derivadas de imidazol son conocidas por formar parte de estructuras en gran cantidad de fármacos como antivirales, antiinflamatorios, analgésicos, antidepresivos, anticancerígenos, pero principalmente por ser utilizados como antimicrobianos (Gupta and Kant, 2013).

Con respecto a la actividad antimicrobiana, estos compuestos pueden poseer actividad de amplio espectro e incluso con la posibilidad de incrementar la efectividad modificando, estratégicamente, sitios dentro de sus estructuras (Borowiecki et al., 2013). Un ejemplo son los injertos de NVIm sobre quitosano, donde los injertos inferiores al 108% son solubles en agua, lo que les permite la capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano *in vitro* de *P. aeruginosa*, *E. coli*, *B. subtilis* y *S. aureus* (Caner et al., 2007).

Otro ejemplo de funcionalización, son los derivados de sales cuaternarias de imidazolio; butil, hexil y octil alquiladas que presentan actividad *in vitro* contra *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. fluorescens* y *S. cerevisiae* (Docherty and Kulpa, Jr., 2005). Incluso la actividad contra *S. aureus* y *E. coli* se puede ver incrementada al eliminar bacterias en tiempos muy cortos, con oligómeros derivados, también de bromuro de imidazolio (Riduan et al., 2016). Aunque polímeros constituidos con cadenas con sales cuaternarias de imidazolio aún no se utilizan comercialmente en fármacos, existe un profundo interés por desarrollar materiales para dispositivos biomédicos de curación con capacidad antibacteriana pasiva, cuya ventaja radica en no invadir

otros cuerpos y solamente actuar en el área de contacto (Meléndez-Ortiz et al., 2016).

La bioactividad y aplicación terapéutica de esta familia de heterociclos radica en la biocompatibilidad, solubilidad en agua (además de otros disolventes) y rápida eliminación del cuerpo.

2.8 Historia y síntesis de plata como agente antimicrobiano

La plata fue el tercer metal que el hombre logró forjar después del oro y el cobre alrededor del 4000 a. C. (Alexander, 2009); y desde entonces su uso ha sido casi ilimitada e incluso indispensable para la fabricación de ornamentos y aleaciones para la forja de armas y utensilios hasta su uso como moneda corriente. Curiosamente, antes de que se descubriera la existencia de microbios causantes de infecciones, ya se intuía su uso como paliativo o profiláctico en forma de virutas, láminas e incluso suturas; sin dejar de mencionar el uso de compuestos (nitratos, óxidos, bromuros o yoduros) antes de que se conociera su fórmula o estructura de manera precisa; aunque la dosis es un factor para obtener solo los efectos terapéuticos (Chernousova and Epple, 2013). Hoy en día se sabe que tanto iones como nanopartículas presentan bioactividad antimicrobiana, antifúngica e incluso antiviral.

Herodoto (el padre de la historia) mencionaba que los reyes persas solo bebían agua que hubiese sido transportada en recipientes de plata; similarmente los antiguos griegos, romanos y egipcios utilizaban este metal para la conservación de agua y comida (Alexander, 2009). Hasta la primera mitad del siglo XX, antes del uso de antibióticos sintéticos, se utilizó plata coloidal para su consumo vía oral (para la prevención de infecciones) (Klasen, 2000); aunque también existen registros de espasmos gastrointestinales, trastornos e incluso la muerte por sobredosis. Incluso actualmente el uso de plata coloidal aún se observa en la medicina no convencional.

La plata, de símbolo químico Ag, es un metal que se puede encontrar puro en la naturaleza, aunque es más común encontrarlo en minerales como la argentita o en aleaciones con otros metales como plomo, zinc, cobre, oro o níquel. Es un poco más duro que el oro, pero altamente maleable y dúctil. Entre todos los metales posee la conductividad eléctrica y térmica más alta. Presenta tres estados de oxidación +1, +2 y +3, aunque solamente la Ag (0) y (+1) son estados estables (Marx and Barillo, 2014).

La Ag con números de oxidación (I) y (0), ya sea tanto en su forma iónica como elemental, presenta actividad antimicrobiana; de hecho, es uno de los elementos con mayor interés médico debido a su amplia proyección como fármaco, donde por ejemplo el AgNO₃ se utiliza en tratamientos de enfermedades de origen viral (Ebrahimi et al., 2007); la Ag coloidal se ha probado para atenuación y eliminación del crecimiento *in vitro* de colonias de *S. aureus* a partir de concentraciones tan bajas como 50 µL de Ag coloidal en 200 µL de cultivo con 4x10⁶ CFU (unidades de colonias formadas) (Goggin et al., 2014).

La forma más sencilla de obtener sales de Ag (I) es a partir del metal puro con ácido nítrico, ya que con la sal AgNO₃ es posible obtener otras sales, por ejemplo, AgCl por precipitación. El AgNO₃ además de ser un precursor, también puede ser utilizado como antimicrobiano debido a su alta solubilidad y relativa biocompatibilidad, donde los estudios específicos sobre *S. aureus* y *E. coli* revelan que los iones de Ag (I) provocan la muerte bacteriana por daño a la membrana e interferencia en la actividad del metabolismo a nivel intracelular (Jung et al., 2008). De igual forma las nanopartículas de Ag destruyen a la célula objetivo y en general ahora se consensa la posibilidad de que sean múltiples los mecanismos involucrados. Estas propuestas han sido condensadas en la revisión de Gianluigi Franci et al (**Tabla 2**), donde además se estudia la correlación del tamaño de partícula con el daño celular provocado (Franci et al., 2015).

Tabla 2. Propuestas de mecanismos de acción de nanopartículas de Ag sobre diferentes bacterias.

Bacteria	Mecanismo de acción*
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Alteración de la pared celular y citoplasma
<i>Escherichia coli</i>	Alteración de la permeabilidad y respiración celular
<i>Enterococcus faecalis</i>	Alteración de la pared celular y citoplasma
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Alteración de la membrana celular
<i>Listeria monocytogenes</i>	Cambios en la morfología, separación de la membrana de la pared celular y plasmólisis
<i>Micrococcus luteus</i>	Alteración de la membrana celular
Bacterias nitrificantes	Inhibición de la actividad respiratoria
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Daño irreversible en la célula, alteración de la permeabilidad y respiración celular
<i>Proteus mirabilis</i>	Alteración de la pared celular y citoplasma
<i>Staphylococcus aureus</i>	Daño irreversible en la célula, inhibición de la replicación del ADN bacteriano
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Daño en la membrana celular, modificación de los niveles de ATP intracelular, inhibición de la replicación del ADN bacteriano
<i>Salmonella typhi</i>	Daño a citoplasma y membrana celular, modificación de los niveles de ATP intracelular
<i>Vibrio cholerae</i>	Alteración de la permeabilidad de la membrana y respiración celular

* Mecanismos propuestos de acuerdo con la revisión de G. Franci et al; 2015.

La síntesis de nanopartículas de Ag (0) (Abou El-Nour et al., 2010) se puede obtener por una gran cantidad de métodos químicos utilizando reductores como citratos, Na₂S₂O₅ o NaBH₄; con polímeros que sirvan como estabilizantes y agentes

reductores; o en sistemas heterogéneos de microemulsiones con reductores en agua y disolventes orgánicos. Otra aproximación es por métodos físicos entre ellos se encuentran: evaporación-condensación; calentamiento; ablación laser; o por radiación fotolítica (UV-visible) (Zhang et al., 2016).

La reducción química de Ag (I) con NaBH₄ se ha utilizado recientemente sobre perlas porosas del polímero de NVIm para la reducción *in situ* de nanopartículas de Ag (0) en medio acuoso, con capacidad de controlar y eliminar las bacterias *S. aureus* y *E. coli* (Mudassir et al., 2017).

Las sales iónicas de Ag (I) se pueden fotoreducir en medio homogéneo acuoso utilizando complejos intermedios de la Ag (I) con ligantes orgánicos (Hada et al., 1976). La reducción se puede llevar de manera controlada en medios con polímeros, como la polietilendiamina (Tan et al., 2007) permitiendo la formación de nanopartículas de Ag (0). Los métodos con fotoreductores son de especial importancia, ya que se evita la formación de desechos, como en los métodos químicos y no se requieren grandes cantidades de energía, como en otros métodos físicos.

Hipótesis

Los hilos de sutura de polipropileno, injertados con polímeros vinílicos y modificados con plata o yoduro de metilo, formarán biomateriales, para su potencial uso como dispositivos biomédicos que serán capaces de impedir la adhesión o proliferación de microorganismos.

Objetivos

Objetivo principal

Obtener hilos de sutura con propiedades antimicrobianas a partir de monofilamentos de polipropileno injertados con monómeros vinílicos.

Objetivos particulares

- ❖ Desarrollar una metodología para la formación de copolímeros de injerto entre las suturas de polipropileno con los monómeros vinílicos NIPAAm, HEMA y NVIm.
- ❖ Dotar a los materiales mediante funcionalización o carga con compuestos antimicrobianos para uso como dispositivos médicos.
- ❖ Evaluar mediante estudios microbiológicos a los dispositivos biomédicos con capacidad antimicrobiana aceptable.

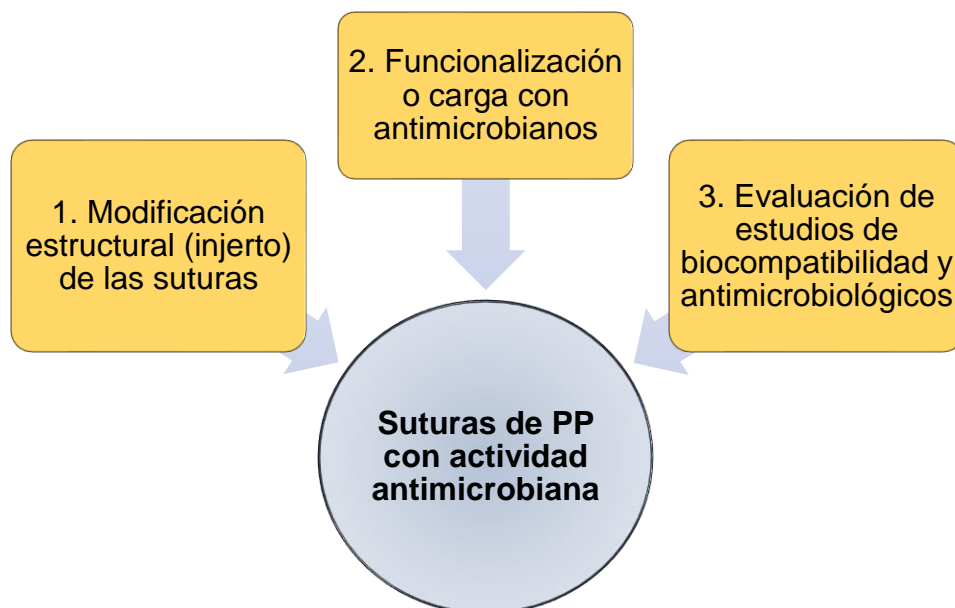


Figura 7. Esquema de desarrollo experimental.

Método experimental

5.1 Purificación de NIPAAm.....	38
5.2 Purificación de NVIm y HEMA	38
5.3 Reactivos y disolventes	38
5.4 Síntesis de PP- <i>g</i> -NIPAAm y PP- <i>g</i> -HEMA (preirradiación oxidativa)	39
5.5 Síntesis de PP- <i>g</i> -NVIm (irradiación simultánea o directa)	39
5.6 Síntesis de (PP- <i>g</i> -HEMA)- <i>g</i> -NVIm y (PP- <i>g</i> -HEMA)- <i>g</i> -NVIm	40
5.7 Hinchamiento límite	40
5.8 Hinchamiento en función de la temperatura	40
5.9 Hinchamiento en función del pH	40
5.10 Caracterización: FTIR-ATR, SEM, EDS, TGA, DSC y pruebas mecánicas	41
5.11 Funcionalización con yoduro de metilo	42
5.12 Carga de plata	42
5.13 Ensayo LDH.....	43
5.14 Ensayo AlamarBlue®.....	43
5.15 Ensayo WST-1.....	44
5.16 Inhibición antimicrobiana in vitro	44
5.17 Software utilizado	45

5.1 Purificación de NIPAAm

NIPAAm (97%) de Sigma-Aldrich. El monómero se cristalizó por par de disolventes. Se pesaron y disolvieron 50 g en un vaso de precipitados con agitación en la mínima cantidad de tolueno, aproximadamente 50 mL. Se agregó *n*-hexano el mismo volumen que el tolueno utilizado para disolver el monómero. La mezcla final se agitó durante 5 minutos y cristalizó en el refrigerador por 24 h. El precipitado se filtró al vacío y recuperó la fase sólida. El sólido se secó en una estufa de vacío a 30 °C por al menos 12 h para ser, finalmente, almacenado en refrigeración.

5.2 Purificación de NVIm y HEMA

HEMA (98%) y NVIm (99%) de Sigma-Aldrich. Los monómeros se purificaron por destilación a presión reducida. Se colocaron 100 mL del monómero en un matraz de fondo redondo dentro de un baño de silicona, se montó el equipo de destilación acoplado a una bomba de vacío. El líquido se mantuvo en agitación y se calentó hasta ebullición a presión reducida. El producto destilado se colectó y almacenó en refrigeración.

5.3 Reactivos y disolventes

Los filamentos de PP se adquirieron de una fuente comercial de suturas Atramat® 1USP de la compañía Internacional Farmacéutica Co (México).

La sal de nitrato de plata (AgNO_3 99.9%) fue adquirida en Sigma-Aldrich. Los disolventes y otros reactivos fueron adquiridos de Baker (México): etanol, tolueno, *n*-hexano, ácido bórico, ácido cítrico y trifosfato de sodio $12 \text{ H}_2\text{O}$.

5.4 Síntesis de PP-g-NIPAAm y PP-g-HEMA (preirradiación oxidativa)

El hilo de sutura de PP se pesó y colocó dentro de una ampolleta de vidrio. La muestra se irradió (rayos gamma) en presencia de oxígeno. Se preparó una disolución del monómero en tolueno como disolvente, a una determinada concentración; posteriormente 6 mL de la mezcla se agregaron dentro de la ampolleta de vidrio con la sutura irradiada. La ampolleta se purgó en línea de vacío congelando y descongelando con nitrógeno líquido. Una vez extraído el oxígeno de la ampolleta, ésta se selló y colocó en un baño de agua a temperatura y tiempo determinado. Después del tiempo de reacción, la ampolleta se abrió y lavó con una mezcla de agua y etanol en agitación durante 24 h, luego se cambió la mezcla de disolventes y se repitió el proceso de lavado dos veces más. El hilo se secó en una estufa de vacío a 60 °C por 24 h. Por último, se pesó y determinó el porcentaje de injerto (**Ecuación 1**).

$$\text{Injerto (\%)} = [(W_f - W_i) / W_i] \times 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

donde W_f and W_i son los pesos de la sutura final e inicial, respectivamente.

5.5 Síntesis de PP-g-NVIm (irradiación simultánea o directa)

El hilo de sutura de PP se pesó y colocó dentro de una ampolleta de vidrio. Se preparó una disolución de NVIm en tolueno a una determinada concentración y se colocaron 6 mL de la mezcla dentro de la ampolleta de vidrio junto con la muestra de PP. Después se eliminó el oxígeno de la ampolleta utilizando la línea de vacío con nitrógeno líquido mediante el congelamiento y descongelamiento. La muestra fue sellada e irradiada a una determinada dosis (kGy). Posteriormente, la ampolleta se abrió, lavó y secó de igual forma que con los materiales del apartado anterior 4.4. Se midió la masa y determinó el porcentaje de injerto con la **Ecuación 1**.

5.6 Síntesis de (PP-g-HEMA)-g-NVIm y (PP-g-HEMA)-g-NVIm

Se realizó en dos pasos siguiendo las metodologías descritas en los apartados 4.4 y 4.5, por preirradiación oxidativa en el primer paso y por irradiación directa en el segundo paso.

5.7 Hinchamiento límite

La muestra seca se pesó e introdujo en un frasco con agua destilada con la tapa cerrada, se sumergió en un baño de agua a temperatura constante (25 °C). Se pesó la masa de la muestra y monitoreó el experimento durante 24 h. En cada medición se retiró el exceso de agua con toallas de papel antes de pesarlas en la balanza para determinar el hinchamiento (%) de acuerdo con la **Ecuación 2**.

$$\text{Hinchamiento (\%)} = [(W_h - W_s) / W_s] \times 100 \quad (\text{Ecuación 2})$$

donde W_h y W_s son los pesos de la sutura hinchada y seca, respectivamente.

5.8 Hinchamiento en función de la temperatura

Se pesó la muestra seca y preparó un baño de agua a una temperatura determinada desde 5 hasta 55 °C. La muestra se introdujo en un frasco con agua destilada, se selló el frasco y sumergió en el baño de agua. Después de 24 h se retiró el exceso de agua de la muestra, se pesó la masa y determinó el porcentaje de injerto (**Ecuación 2**). Para cada subsecuente medición, se reintrodujo el frasco con la muestra dentro del baño a una temperatura diferente hasta completar los puntos requeridos para determinar LCST.

5.9 Hinchamiento en función del pH

Se pesó la muestra seca y se prepararon diferentes soluciones amortiguadoras de fosfatos a diferente pH en un intervalo de 2-12. La solución amortiguadora se vertió

en un frasco junto con la muestra, que una vez sellado se sumergió en un baño de agua a temperatura constante. Después de 24 h se retiró el exceso de líquido de la muestra y se midió la masa (**Ecuación 2**). El proceso anterior se repitió para cada solución amortiguadora para determinar pH crítico, utilizando la misma muestra lavada con agua destilada antes de cambiar la solución amortiguadora entre cada medición.

5.10 Caracterización: FTIR-ATR, SEM, EDS, TGA, DSC y pruebas mecánicas

Los espectros de infrarrojo (FTIR-ATR) de las suturas testigo y modificadas se realizaron utilizando un espectrómetro Perkin-Elmer Spectrum 100 (Perkin Elmer Cetus Instruments, Norwalk, CT) con 16 escaneos.

El análisis superficial por microscopía electrónica de barrido (SEM) se procesó con un equipo JSM-7800 (Shottky Field Emission, Jeol, EE. UU.) acoplado a un detector de energía dispersiva de rayos X (EDS).

La descomposición térmica se determinó mediante análisis termogravimétrico (TGA) en atmósfera de nitrógeno de 25 a 800 °C a una velocidad de calentamiento de 10 °C min⁻¹ con un equipo TGA Q50 (TA Instruments, New Castle, DE).

El análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC) se llevó a cabo en atmósfera de nitrógeno usando un calorímetro DSC 2010 (TA Instruments, New Castle, DE) de 25 a 350 °C a una velocidad de calentamiento de 10 °C min⁻¹.

Las pruebas mecánicas se realizaron a temperatura ambiente utilizando un analizador de textura TA-TX Plus (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, Reino Unido) con mini tensores (código de pieza A/MTG). La carga (30 kg) se calibró previamente. La separación entre las abrazaderas se fijó en 55 mm al comienzo del experimento. A continuación, se registró la curva tensión-deformación (alargamiento) de la sutura mientras se sometió a tensión uniaxial a una velocidad de 0.5 mm s⁻¹ hasta la ruptura. Se calculó el esfuerzo de tracción, el alargamiento en la ruptura y el trabajo

(área bajo la curva hasta ruptura). Los datos de carga se convirtieron en esfuerzo dividiendo la fuerza aplicada (F), por el área de la sección transversal inicial A_0 de la sutura. Los datos de elongación se convirtieron en esfuerzo dividiendo el cambio en la longitud ΔL , por la longitud inicial, L_0 . Se reportó la curva para determinar el módulo de Young, de 0 a 100 MPa de acuerdo con la **Ecuación 3** (Caimmi et al., 2016).

$$E = (F/A_0) / (\Delta L/L_0) \quad \text{(Ecuación 3)}$$

donde E es el módulo de Young ($N\ mm^{-2}$); F es la fuerza ejercida sobre la sutura bajo tensión (N); A_0 es el área de sección transversal inicial (mm^2) de la sutura; ΔL es el cambio de longitud de la sutura (mm); y L_0 es la longitud inicial de la sutura (mm).

5.11 Funcionalización con yoduro de metilo

Se seleccionaron y colocaron los hilos injertados PP-*g*-NVIm, (PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm y (PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm dentro de ampollitas vidrio con disoluciones de MeI (5, 20, 50 y 100 vol.%) en tolueno. Posteriormente, las ampollitas se sellaron y se inició la reacción a 40 °C durante 24 h. A continuación, los monofilamentos se lavaron con tolueno y secaron dentro de la estufa de vacío a 60 °C durante 24 h. Las muestras se almacenaron a temperatura ambiente.

5.12 Carga de plata

Los hilos de sutura fueron lavados con una mezcla de agua y etanol y secados a 60 °C durante 24 h. Se prepararon las disoluciones de diferentes concentraciones 10-10 000 ppm ($mg\ L^{-1}$) en agua con la sal $AgNO_3$. Una vez realizado lo anterior las muestras se sumergieron dentro de las disoluciones por 72 h a temperatura ambiente sin protección a la luz. Las muestras se enjuagaron con agua y secaron a 60 °C durante 24 h, para finalmente ser almacenadas a temperatura ambiente.

5.13 Ensayo LDH

Las suturas se cortaron en fragmentos de 2 cm y remojaron durante 24 h en 5 mL de la disolución PBS y luego se esterilizaron durante 30 min bajo radiación UV. Se cultivaron líneas celulares BALB/3T3 (20 000 células/pocillo) en placas de 24 pocillos durante 12 h en medio de cultivo Eagle modificado por Dulbecco (Sigma-Aldrich, EE. UU.) y se mantuvieron en una atmósfera humidificada con 5% CO₂, 90% RH a 37 °C. Se colocaron trozos de suturas en las placas de 24 pocillos y se incubaron las células durante 24 h en una atmósfera humidificada con CO₂ al 5% a 37 °C. Las células sin suturas se utilizaron como control negativo.

Para el ensayo de LDH, se tomaron alícuotas del medio (100 µL), el control positivo (100 µL de medio de células lisadas con Triton X-100) y el control negativo (100 µL) se mezclaron con el medio de reacción (100 µL) para detección de citotoxicidad con el KitPlus (LDH, Roche). Las placas se incubaron durante 15 minutos entre 15-25 °C protegidas de la luz. Se midió la absorbancia (A) a 490 nm inmediatamente (UV Bio-Rad Modelo 680 lector de microplacas, EE. UU.) y la citotoxicidad se calculó como sigue en la **Ecuación 4**:

$$\text{Citotoxicidad (\%)} = [(A_{\text{exp}} - A_{\text{control (-)}}) / (A_{\text{control (+)}} - A_{\text{control (-)}})] \times 100 \quad (\text{Ecuación 4})$$

Donde A_{exp} , $A_{\text{control (-)}}$ y $A_{\text{control (+)}}$ son la absorbancia experimental y de los controles positivos y negativos, respectivamente.

5.14 Ensayo AlamarBlue®

Este ensayo de supervivencia celular se realizó utilizando el reactivo AlamarBlue® (ThermoFisher, EE. UU.), con líneas celulares de fibroblastos como en el apartado 4.13. En medios de cultivo con una composición de 89% de medio de cultivo Eagle modificado por Dubelcco con la mezcla de nutrientes F12 de Ham, 10% de suero fetal bovino), y 1% penicilina/estreptomicina, colocado por 24 h en una atmósfera humidificada con 5% CO₂, 90% RH a 37 °C. Los pocillos con cultivos celulares y sin sutura fueron utilizados como controles negativos. Una vez transcurrido el tiempo de 24 o 48 h de incubación, el medio fue descartado y se colocaron 100 µL de medio

nuevo en cada pocillo. Entonces se agregó 10 µL de AlamarBlue® a cada pocillo y se incubaron por 4 h a 37 °C en la oscuridad, para finalmente medir la A en 570 nm (UV Bio-Rad Modelo 680 lector de microplacas, EE. UU.). La A del control negativo se utilizó como referencia del 100% de viabilidad, mientras que la A de las muestras con sutura sirvió para determinar la viabilidad celular de cada muestra.

$$\text{Viabilidad celular (\%)} = [A_{\text{exp}}/A_{\text{control (-)}}] \times 100 \quad (\text{Ecuación 5})$$

5.15 Ensayo WST-1

Finalmente, la proliferación celular se evaluó utilizando el reactivo WST-1 (Roche, Suiza). Las células se cultivaron e incubaron a 24 y 48 h con las piezas de sutura como se describió en el apartado 4.13. A continuación, se retiraron las suturas de los pocillos y se llevó a cabo el ensayo de proliferación celular siguiendo las instrucciones del fabricante. La absorbancia se leyó a 450 nm (UV Bio-Rad Modelo 680, EE. UU.). Los experimentos se realizaron por triplicado y los resultados se calcularon de acuerdo con la **Ecuación 5**.

5.16 Inhibición antimicrobiana *in vitro*

Las muestras de PP modificadas con MeI (4.11) o AgNO₃ (4.12), así como las de PP (control) e injertos sin antimicrobiano (control), fueron probados en cultivos bacterianos de *S. aureus* (ATCC 25923) y *E. coli* (ATCC 11229).

Se utilizó 1 cm de sutura colocado dentro de una caja Petri preparada con agar (medio de Müller-Hinton); para posteriormente poner en el medio las colonias bacterianas de *S. aureus* o *E. coli*. El medio con la muestra se cultivó a 37 °C por 24 h. Las zonas de inhibición se determinaron midiendo la distancia (mm) perpendicularmente desde el centro de la muestra hasta la periferia interna de las colonias bacterianas alrededor.

5.17 Software utilizado

El procesamiento de datos se realizó con el software en Origin pro 9, así mismo los puntos de LCST y pH crítico se realizaron utilizando la función de Boltzmann disponible dentro del mismo programa.

Resultados y análisis

6.1 Cinéticas de injertos.....	47
6.1.1 Efecto de la dosis.....	47
6.1.2 Efecto del tiempo de reacción.....	48
6.1.3 Efecto de la concentración de monómero.....	49
6.1.4 Efecto de la temperatura.....	50
6.2 Cinéticas de injertos binarios.....	51
6.3 Diámetro de las suturas injertadas.....	54
6.4 Estudios de análisis superficial.....	56
6.4.1 SEM de injertos.....	56
6.4.2 SEM de injertos cargados con Ag.....	56
6.4.3 Análisis superficial EDS.....	58
6.5 Pruebas mecánicas.....	59
6.6 Análisis espectroscópico FTIR-ATR.....	61
6.7 Hinchamiento.....	64
6.7.1 Hinchamiento límite.....	64
6.7.2 Hinchamiento en función de la temperatura.....	65
6.7.3 Hinchamiento en función del pH.....	66
6.8 Análisis térmico.....	68
6.8.1 Caracterización por TGA.....	68
6.8.2 Caracterización por DSC.....	69
6.9 Funcionalización de las suturas injertadas.....	70
6.9.1 Cuaternización con Mel.....	70
6.9.2 Carga de partículas con Ag.....	71
6.10 Viabilidad celular de los injertos.....	73
6.11 Inhibición antimicrobiana in vitro.....	75
6.11.1 Inhibición con suturas cuaternizadas con Mel.....	76
6.11.2 Inhibición con suturas cargadas con Ag.....	78
6.12 Viabilidad celular de las suturas cargadas con Ag.....	81

6.1 Cinéticas de injertos

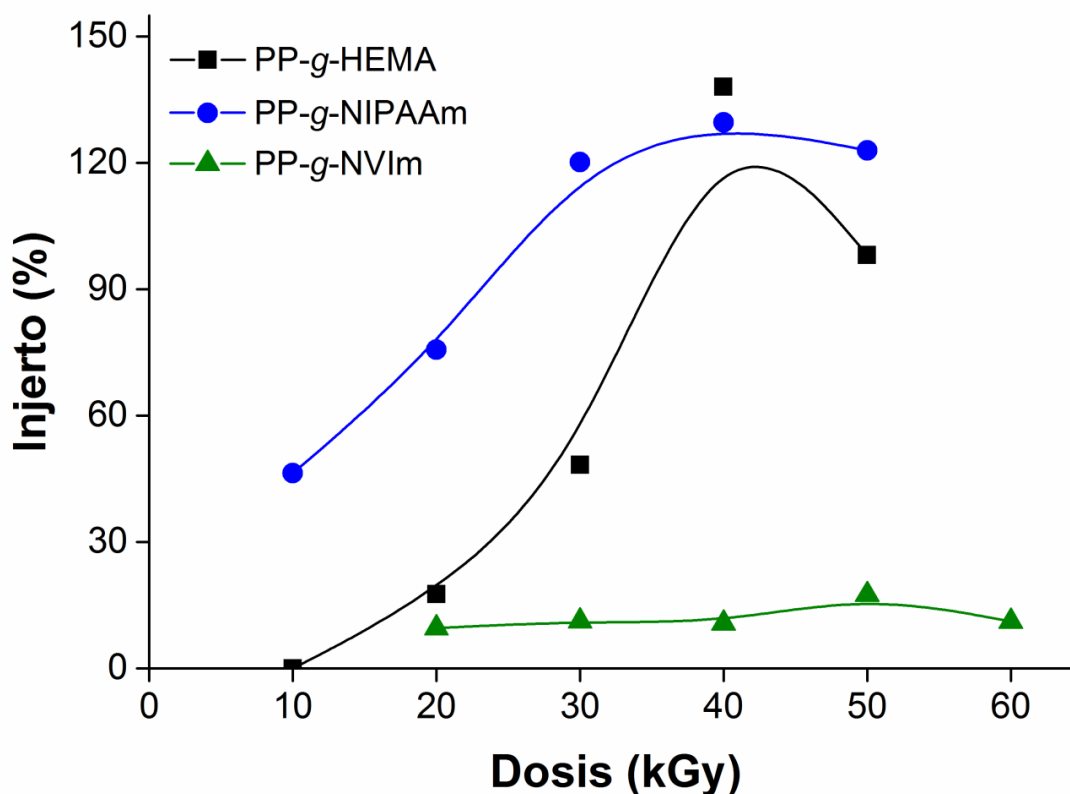
Las cinéticas de injerto se llevaron a cabo en diferentes sistemas de reacción, donde se utilizaron los métodos de irradiación simultánea y preirradiación oxidativa. Con base en los parámetros experimentales y teóricos, se decidió realizar las reacciones en tolueno como disolvente, debido a su elevado punto de ebullición, baja radiólisis y capacidad de hinchar la matriz de PP, lo que permite injertos adecuados y uniformes a través de la superficie. Se describirá más adelante, a detalle, los efectos de dosis de rayos gamma, tiempo de reacción, temperatura de polimerización y concentración de monómero.

6.1.1 Efecto de la dosis

La fuente de energía proveniente de la radiación generada por el decaimiento de ^{60}Co es la que desencadena la reacción de polimerización vía radicales libres, ya sea, directamente o por la formación de intermediarios peróxidos e hidroperóxidos; por lo que en este punto nos encontramos con la primera variable de estudio: la dosis de rayos gamma (**Gráfica 1**); la cual debe considerarse cuidadosamente, pues se sabe produce la degradación del PP (Kawamura, 2004; Williams, 1991) al estar directamente relacionado el daño de las cadenas estructurales del PP con la dosis, por formación de derivados oxidados haciendo al material modificado poco adecuado para el fin diseñado. Además, repercute en los porcentajes de injerto, en este caso los valores máximos se lograron con 40 kGy; por lo tanto, se procuró no irradiar por encima de esa dosis total en experimentos posteriores.

Para injertar NVIm se utilizó irradiación simultánea, ya que por preirradiación oxidativa no se lograron injertos debido a la elevada formación de homopolímero (por efecto del calentamiento térmico). Los porcentajes de injerto para la formación PP-*g*-NVIm estuvieron en el rango de 9-17%, lo cual fue relativamente bajo, comparados con el resto de las cinéticas. Por otra parte, los monómeros de HEMA y NIPAAm se injertaron por preirradiación oxidativa con dosis en el intervalo de 10-

50 kGy. En general, los resultados muestran que con dosis de 40 kGy se obtienen los injertos más altos.

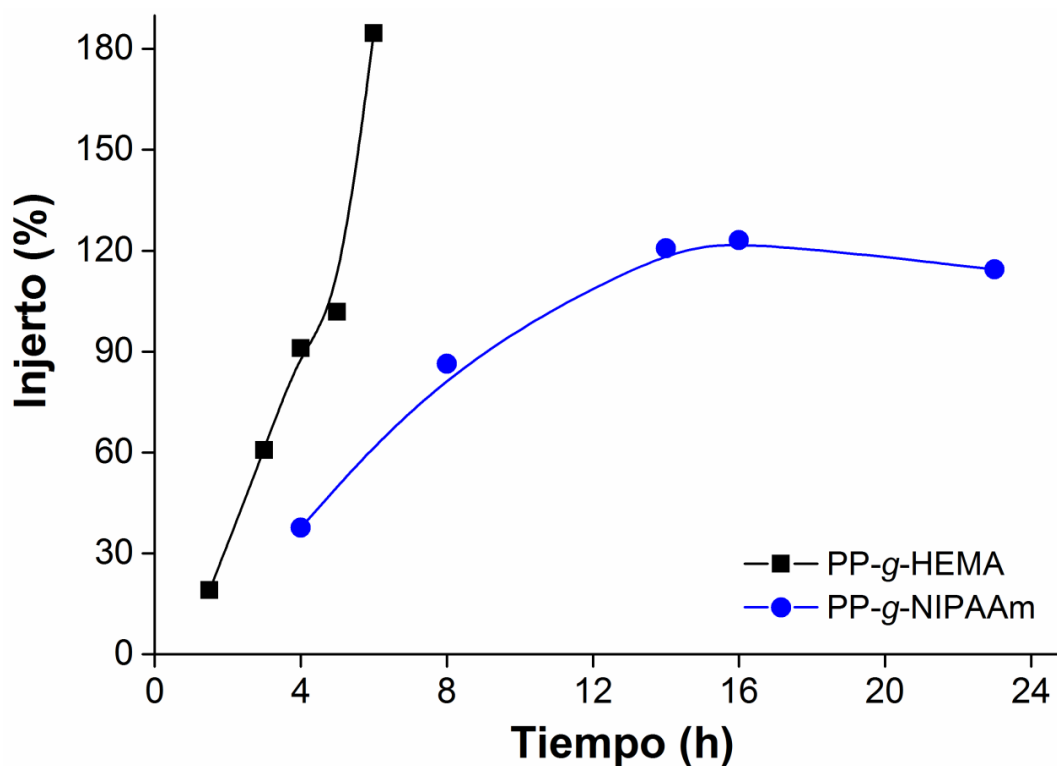


Gráfica 1. PP-g-NIPAAm (16 h, 1.5 M, 80 °C); PP-g-HEMA (3 h, 0.96 M, 70 °C); PP-g-NVIm (5.52 M, 25 °C).

6.1.2 Efecto del tiempo de reacción

En todas las reacciones un factor importante es el tiempo, ya que no todas las moléculas producen colisiones efectivas al instante, por ello un intervalo de tiempo considerable permite un incremento en los porcentajes de reacción (en este caso, en los injertos), donde la relación es directamente proporcional con el tiempo de reacción, aunque los homopolímeros se forman inevitablemente y se detiene la reacción de injerto (**Gráfica 2**). El injerto con NIPAAm requirió tiempos entre 4 y 24 h, pero a partir de 4 se lograron obtener injertos significativos (38%), que son porcentajes dentro del rango adecuado para posteriores pruebas y análisis. El HEMA, al ser un monómero más reactivo, formó injertos rápidamente y alcanzó

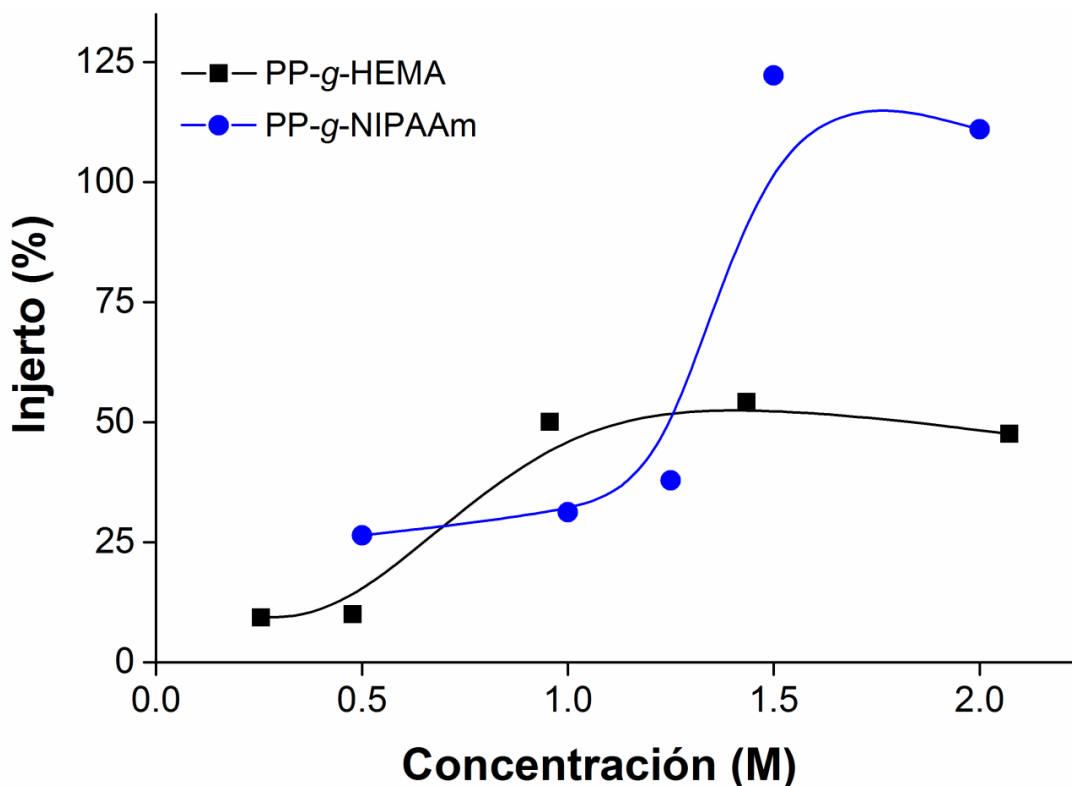
porcentajes más elevados en tiempos más cortos, con resultados óptimos a 3 y 4 h que corresponden a 57 y 86% de injerto, respectivamente.



Gráfica 2. PP-g-NIPAAm (1.5 M, 80 °C, 40 kGy); PP-g-HEMA (0.96 M, 70 °C, 40 kGy).

6.1.3 Efecto de la concentración de monómero

En la cinética de concentración de NIPAAm, fue posible determinar un injerto adecuado del 38% con la concentración 1.25 M. Por encima de 1.5 M los porcentajes de injerto se dispararon por arriba del 100%, por lo que resultó conveniente disminuir la dosis o temperatura para obtener injertos más moderados en experimentos posteriores (**Gráfica 3**).



Gráfica 3. PP-g-NIPAAm (16 h, 80 °C, 40 kGy); PP-g-HEMA (3 h, 70 °C, 40 kGy).

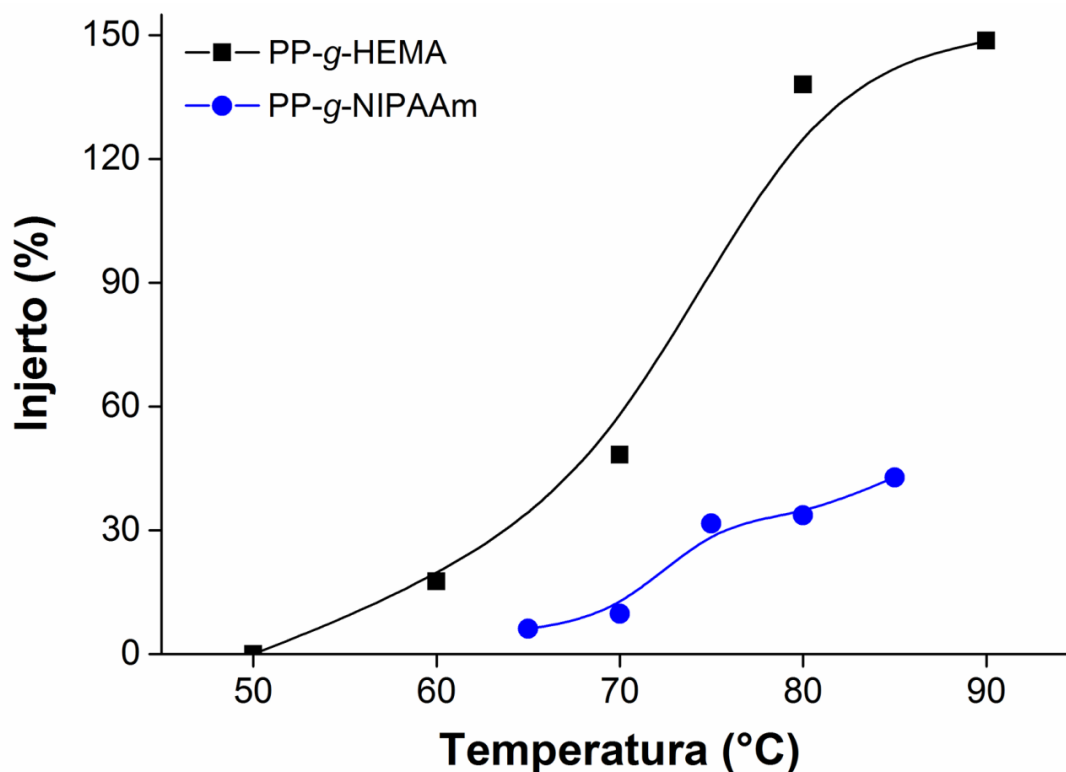
En el caso de los injertos con HEMA, al llegar a la concentración 1 M, se alcanzó el porcentaje de injerto máximo y la tendencia de la curva parece mantenerse constante o disminuir ligeramente. En general los monómeros requieren una concentración óptima, la cual depende de la naturaleza del monómero y del disolvente utilizado, pero además hay que considerar que a partir de una concentración máxima límite se favorece la formación de homopolímero disminuyendo el porcentaje de injerto inevitablemente. Este factor debe estimarse al momento de diseñar el material deseado.

6.1.4 Efecto de la temperatura

El aumento de la temperatura incrementó los porcentajes de los injertos, incluso reduciendo la dosis a 25 kGy, siendo en general aceptable para los injertos con NIPAAm temperaturas superiores a 75 °C. De igual forma, en la síntesis de PP-g-

HEMA, al incrementar la temperatura de reacción por encima de los 60 °C se determinó la formación de injerto, pero calentar a casi el punto de ebullición del agua a 90 °C produjo injertos demasiado altos (149%).

En estos casos una temperatura menor a 50 °C no fue suficiente para activar de manera efectiva la ruptura homolítica de los peróxidos e hidroperóxidos; en contraparte, las temperaturas superiores a los 80 °C generan altos porcentajes de injerto como en el caso del monómero HEMA que es altamente reactivo; no así con NIPAAm que es un monómero poco reactivo para estas condiciones de reacción, ya que apenas se obtuvo un ligero incremento de injerto en el intervalo de 65 a 85 °C (**Gráfica 4**).

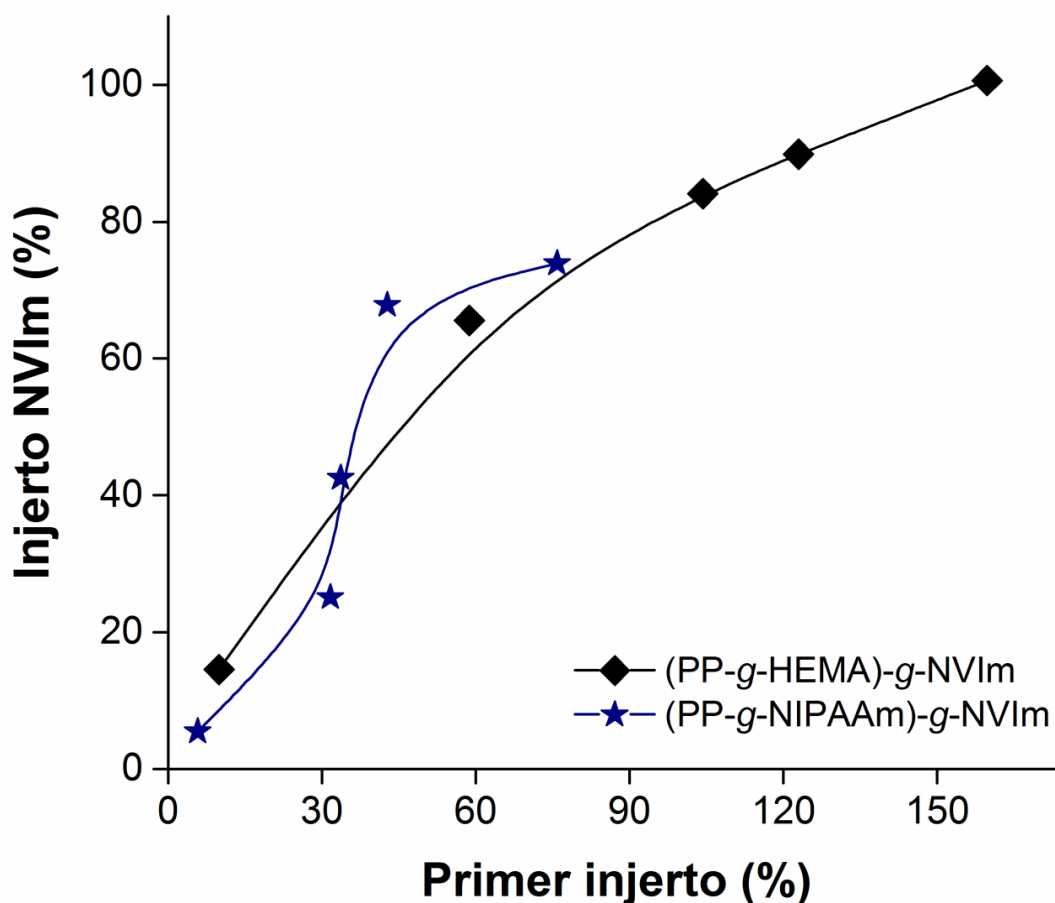


Gráfica 4. PP-g-NIPAAm (7 h, 1.5 M, 25 kGy); PP-g-HEMA (3 h, 0.96 M, 25 kGy).

6.2 Cinéticas de injertos binarios

Debido a los bajos porcentajes de injerto de PP-g-NVIm, se optó por cambiar el enfoque en la síntesis; por lo tanto, con el objetivo de incrementar los grados de

injerto de NVIm se realizó la síntesis en dos pasos para obtener (PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm y (PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm.

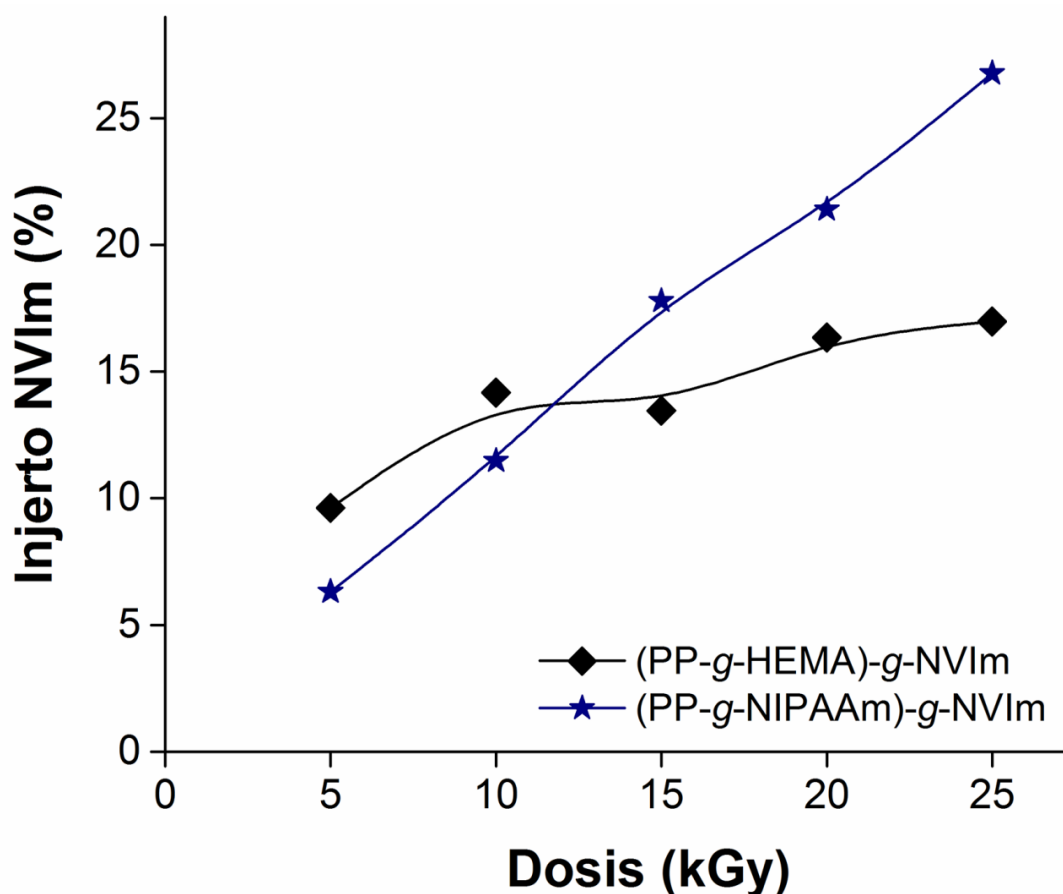


Gráfica 5. (PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm y (PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm, 30 kGy, NVIm/tolueno 50 vol.%.

En el primer paso se injertó HEMA o NIPAAm por preirradiación oxidativa y en el segundo NVIm por irradiación simultánea. Fue posible establecer condiciones de reacción donde los incrementos de dosis y concentración de NVIm fueron directamente proporcionales al grado de injerto (**Gráfica 5**). El efecto del grado del primer injerto en PP-*g*-HEMA y PP-*g*-NIPAAm fue determinante en la cantidad de NVIm injertado, ya que se incrementa la reactividad de polimerización con las cadenas acrílicas.

Con base a los resultados obtenidos, se eligieron condiciones de reacción para alcanzar injertos totales menores al 50% y procurar el funcionamiento de la sutura,

para que así, prevalezcan las propiedades mecánicas originales. Por esta razón para el segundo experimento se utilizaron dosis relativamente bajas en el rango de 5-25 kGy; donde PP-g-HEMA (19%) injertó NVIm del 10 hasta el 17%, mientras que PP-g-NIPAAm (34%) injertó NVIm del 6 hasta el 27% (**Gráfica 6**).

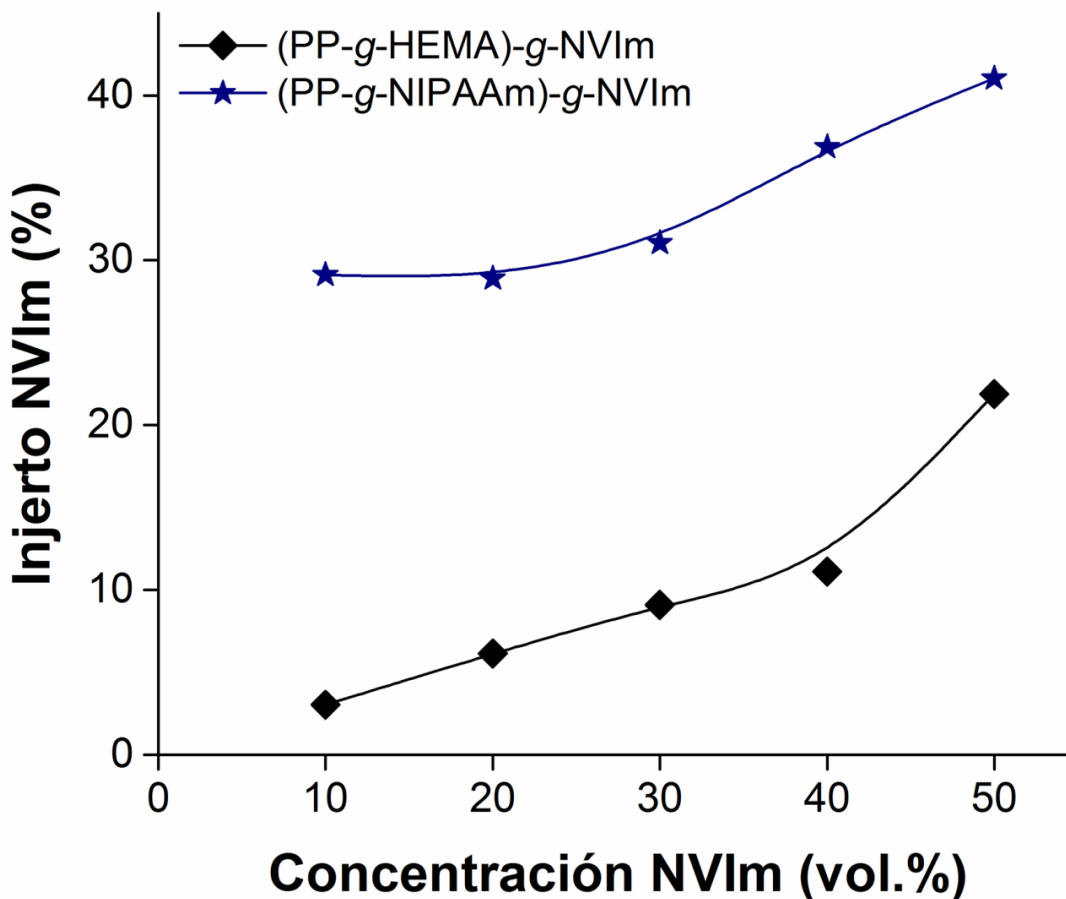


Gráfica 6. (PP-g-HEMA)-g-NVIm y (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm, NVIm/tolueno 50 vol.%.

Para cerrar la parte de síntesis, cabe mencionar que era previsible el efecto del aumento de la concentración de NVIm, se utilizaron concentraciones menores al 50% con el mismo objetivo de obtener injertos binarios moderados, donde PP-g-HEMA (51%) injertó NVIm del 3 al 22% y mientras que el PP-g-NIPAAm (53%) lo hizo del 29 al 41% (**Gráfica 7**).

Los resultados fueron satisfactorios en el sentido de incrementar el porcentaje de injerto de NVIm para posteriores reacciones de funcionalización. En términos

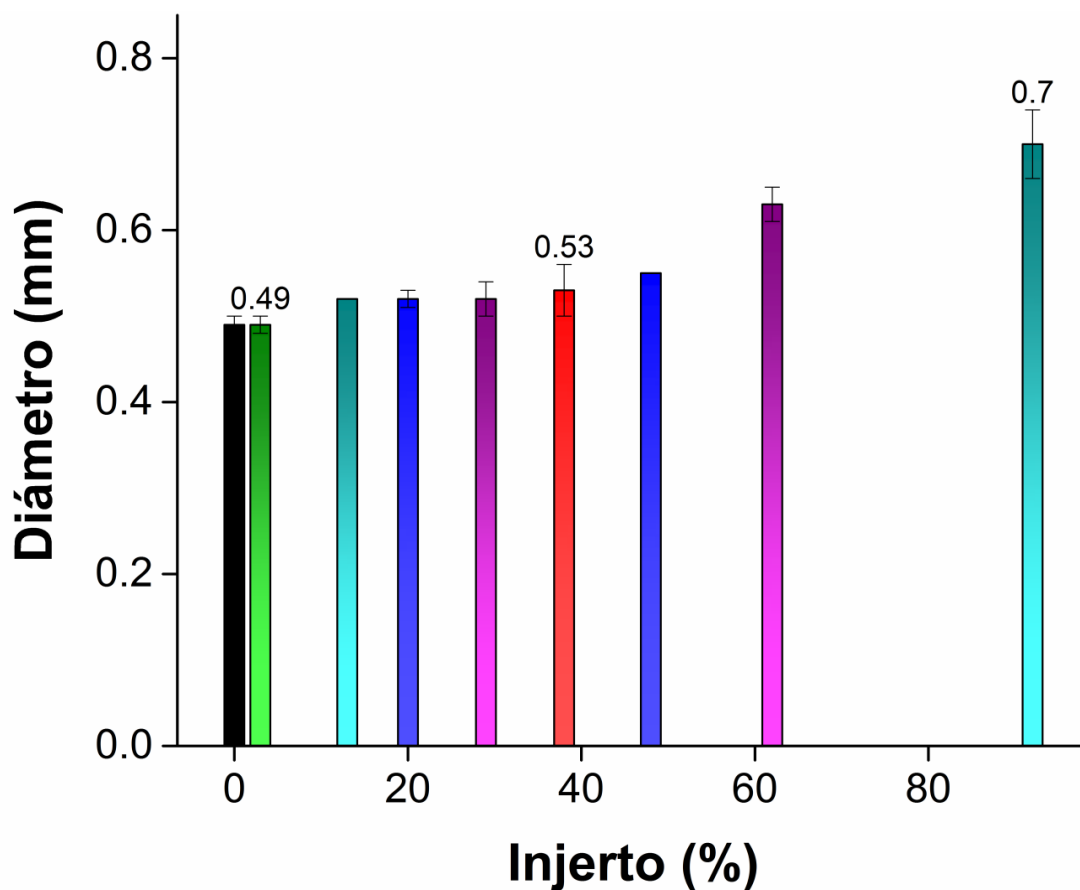
generales, las superficies del PP injertado con HEMA y NIPAAm son mejores para el injerto de NVIm, con resultados similares en ambas moléculas acrílicas.



Gráfica 7. (PP-g-HEMA)-g-NVIm: 20 kGy, etanol; (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm, 20 kGy, tolueno.

6.3 Diámetro de las suturas injertadas

Un experimento sencillo que da certeza sobre el grado de injerto es el cambio del diámetro de las suturas, ya que además de la masa, el volumen de los injertos aumentó en función del peso final de la muestra. Los resultados representativos de diámetro promedio y de superficie en 1 cm de longitud se exponen en la **Tabla 3**; donde es importante señalar que el injerto del 38% tiene apenas un aumento del 8% en el diámetro del hilo, por lo tanto, es preferible utilizar injertos bajos para obtener diámetros más cercanos al del material de partida, para mantener las propiedades físicas lo más parecidas a las originales (**Gráfica 8**).



Gráfica 8. Ejemplos de diámetros de los hilos de sutura, de manera representativa se puede observar el incremento en función del porcentaje de injerto.

Tabla 3. Ejemplos de los diámetros y área superficial promedio (desviación estándar) de los hilos antes y después de ser modificados con diferentes porcentajes de injerto. El área superficial de la sutura refiere a 1 cm de longitud.

Injerto (%)	Diámetro (mm)	Área superficial (mm ²)
PP	0.49 (0.01)	16.1 (0.3)
PP- <i>g</i> -NVIm (3)	0.49 (0.01)	16.1 (0.3)
(PP- <i>g</i> -NIPAAm)- <i>g</i> -NVIm (6/7)	0.52 (0.00)	16.8 (0.0)
PP- <i>g</i> -HEMA (20)	0.52 (0.01)	16.8 (0.3)
(PP- <i>g</i> -HEMA)- <i>g</i> -NVIm (19/10)	0.52 (0.02)	16.8 (0.6)
PP- <i>g</i> -NIPAAm (38)	0.53 (0.03)	17.1 (0.9)
PP- <i>g</i> -HEMA (48)	0.55 (0.00)	17.8 (0.0)
(PP- <i>g</i> -HEMA)- <i>g</i> -NVIm (51/11)	0.63 (0.02)	20.2 (0.6)
(PP- <i>g</i> -NIPAAm)- <i>g</i> -NVIm (53/37)	0.70 (0.04)	22.8 (1.2)

6.4 Estudios de análisis superficial

6.4.1 SEM de injertos

La sutura de PP original muestra una superficie (**Figura 8b**) y sección transversal homogénea (**Figura 8c**). De igual forma, el injerto (PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm (6/5%) (**Figura 8a**) tiene una apariencia similar a la del material de partida, con una estructura uniforme debido a la ligera modificación. Los injertos binarios con porcentajes mayores presentan una superficie uniforme como en el caso de (PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm (104/84%) (**Figura 8d y e**), aunque rugosa como particularmente se observa en la imagen de la muestra (PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm (76/74%) (**Figura 8f y g**). Globalmente se observa la modificación a nivel superficial, hecho que permite la funcionalización en reacciones posteriores.

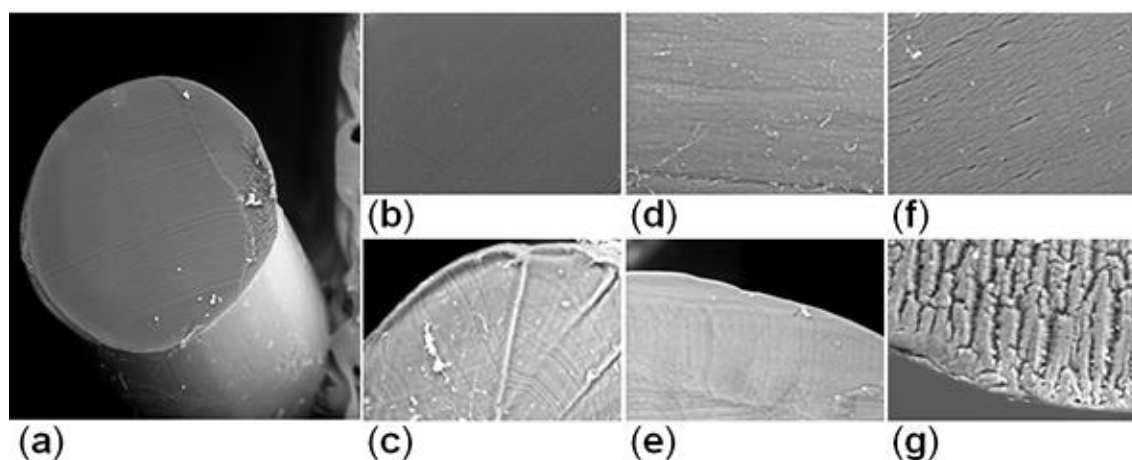


Figura 8. Imágenes SEM: Corte transversal (a) (PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm (6/5%), aumento 200x. Imágenes 1000x de superficie (arriba) y corte transversal (abajo), respectivamente, de: (b, c) PP; (d, e) (PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm (104/84%); (f, g) (PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm (76/74%).

6.4.2 SEM de injertos cargados con Ag

Los hilos cargados con Ag presentan la misma morfología que los injertos, con apariencia homogénea macroscópicamente (**Figura 9a y c**). Pero en la imagen amplificada a 100 000x (**Figura 9b**) se distinguen algunos agregados amorfos de escala nano (100-5 nm), atribuidos a las partículas con Ag y de igual manera se

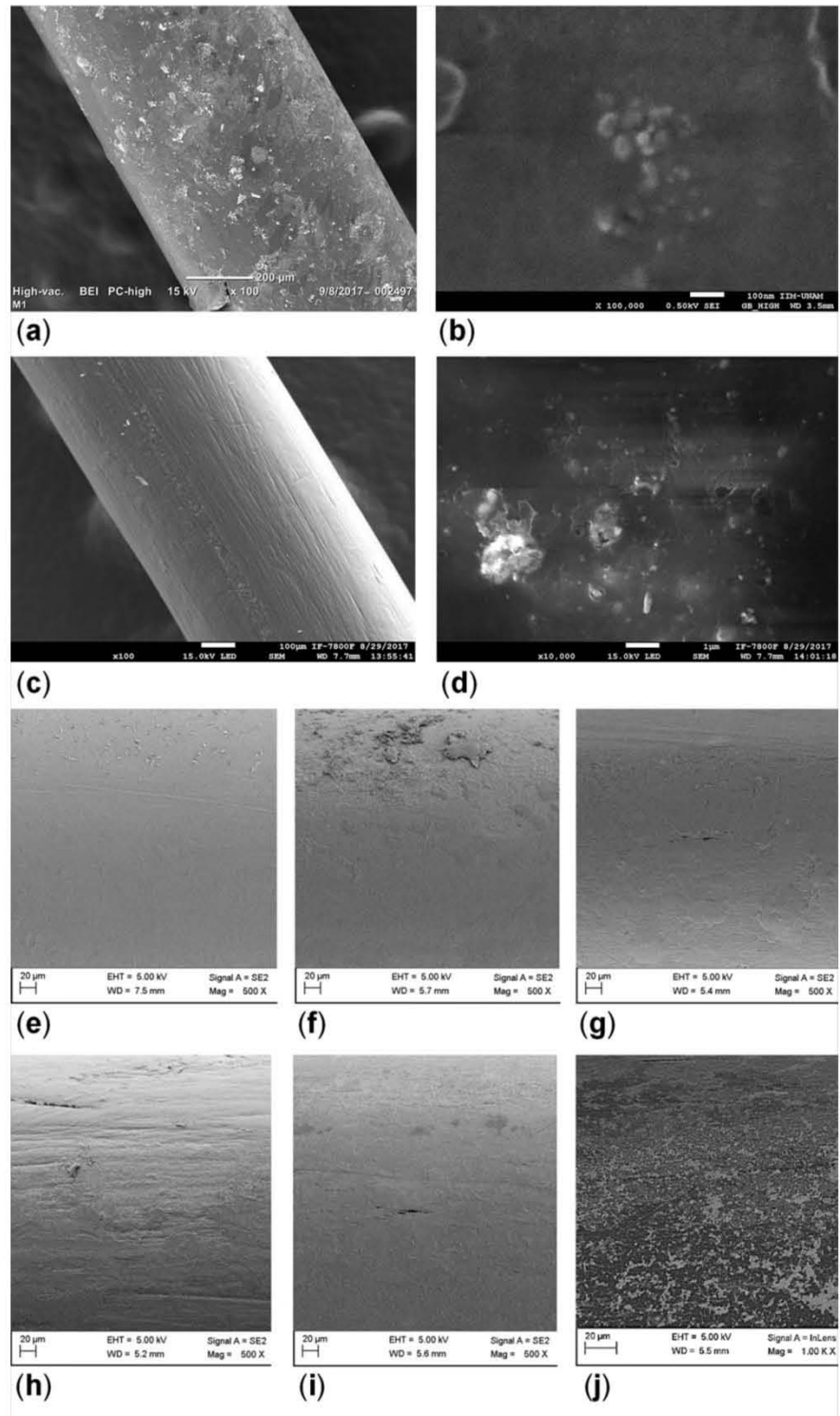


Figura 9. Imágenes SEM de los hilos de sutura cargados con AgNO_3 5000 mg L^{-1} : [PP-*g*-HEMA (118%)]/Ag aumento 100x (a) y 100 000x (b); [(PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm (55/33%)]/Ag aumento 100x (c) y 10 000x (d). Imágenes de las superficies con aumento 500x de: PP no irradiado (e); [PP-*g*-HEMA (36%)]/Ag (f); [PP-*g*-NIPAAm (48%)]/Ag (g); [(PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm (36/22%)]/Ag (h) y [(PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm (20/22%)]/Ag (i). Además, se observan zonas (claras) con Ag en la muestra de [(PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm (20/22%)]/Ag con aumento 1000x (j).

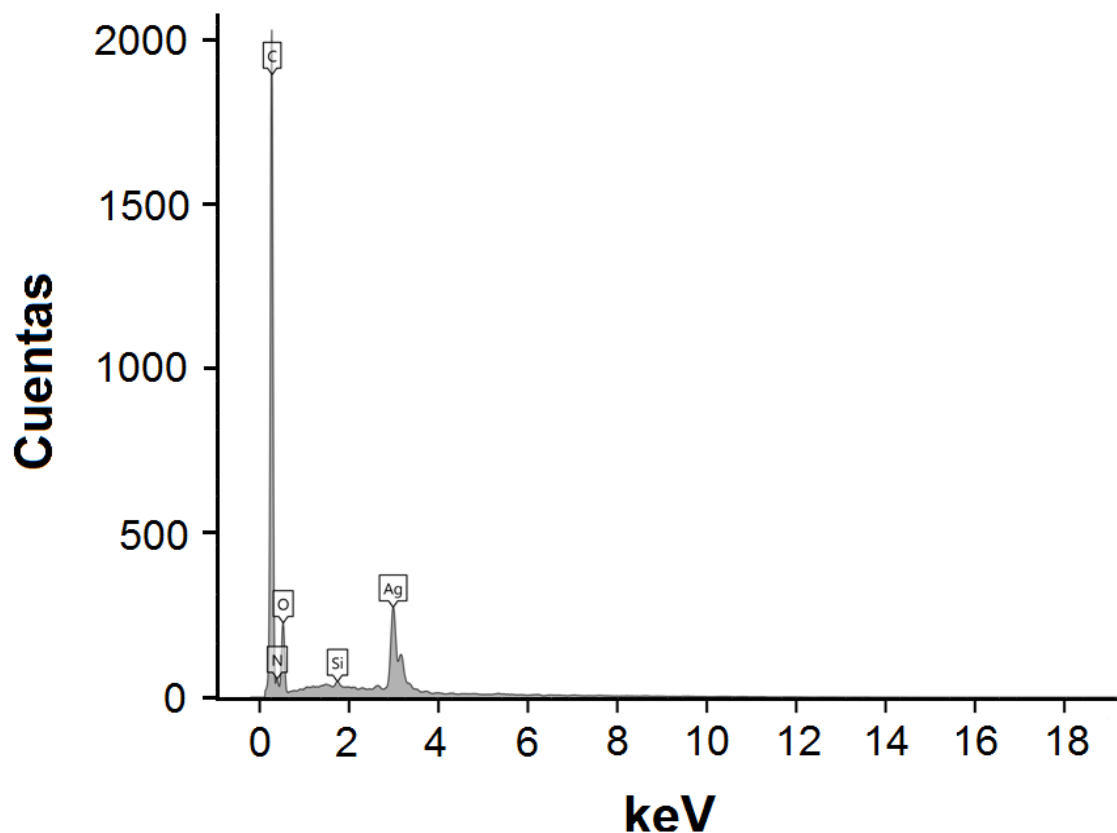
encontraron agregados de mayor tamaño ($\sim 1\mu\text{m}$) (**Figura 9d**). La apariencia de las muestras con diferente composición (**Figuras 9e-i**) y cargadas con Ag 5000 mg L⁻¹ fue similar, no así la cantidad de Ag depositada en la superficie (ver la sección 5.4.3); aunque a partir de la magnificación 1000x ya se distinguen las zonas (claras) con Ag (**Figura 9j**), por lo tanto, en este tipo de materiales compuestos existen dominios orgánicos y otros metálicos.

6.4.3 Análisis superficial EDS

El análisis EDS verificó la composición elemental de los injertos y la presencia de Ag en la superficie después de la etapa de carga con AgNO₃ 5000 mg L⁻¹ (**Tabla 4**), donde a grandes rasgos se infiere la importancia de los grupos hidroxilo e imidazol provenientes de las cadenas de HEMA y NVIm, respectivamente. La información recopilada sostiene la hipótesis sobre la facilidad de carga de Ag en la superficie de las suturas injertadas. A manera de ejemplo se expone un espectro EDS de una de las muestras analizadas, donde claramente se distingue la señal del elemento metálico (**Gráfica 9**).

Tabla 4. Composición elemental EDS de superficies específicas en diferentes muestras tratadas con AgNO₃ 5000 mg L⁻¹.

Muestra	Peso (%)		
	C	O	Ag
PP	90	8.08	0.70
[PP- <i>g</i> -NIPAAm (48%)]/Ag	89.71	9.45	0.45
[PP- <i>g</i> -HEMA (36%)]/Ag	63.59	25.66	8.64
[(PP- <i>g</i> -HEMA)- <i>g</i> -NVIm (36/22%)]/Ag	40.59	25.13	33.83
[(PP- <i>g</i> -HEMA)- <i>g</i> -NVIm (55/33%)]/Ag	58.68	19.94	21.37
[(PP- <i>g</i> -NIPAAm)- <i>g</i> -NVIm (20/22%)]/Ag	69.04	14.98	15.04

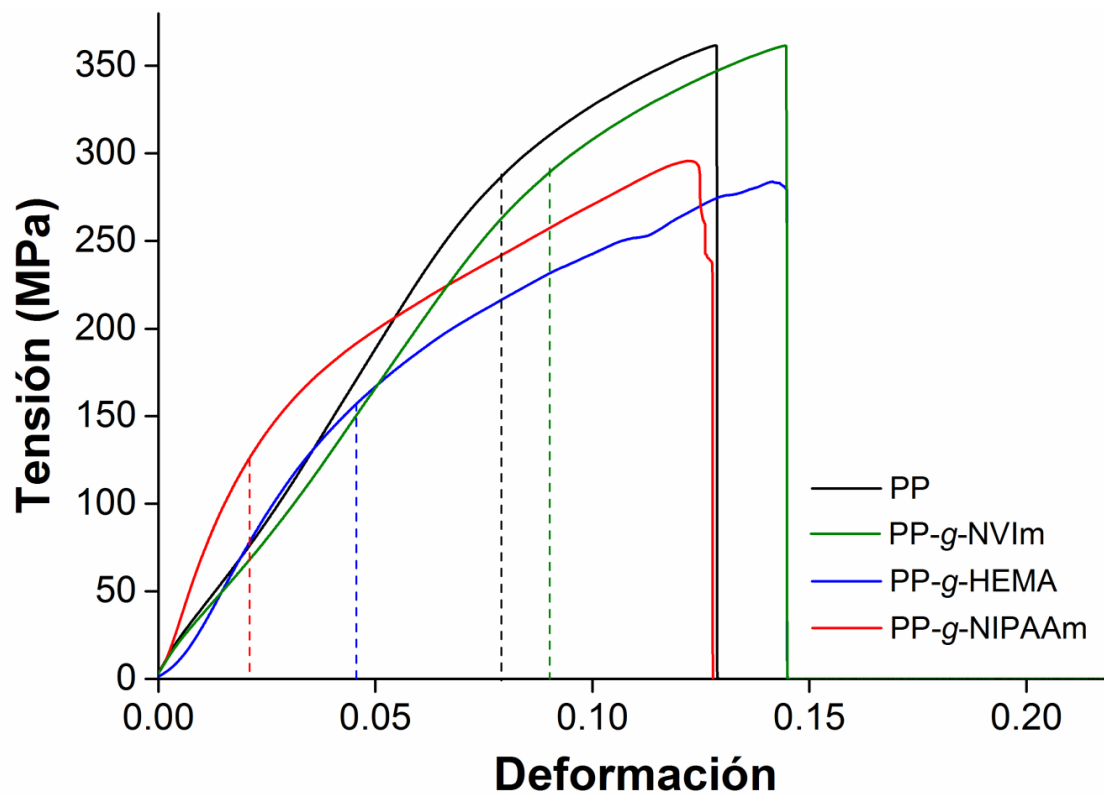


Gráfica 9. Espectro EDS de [(PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm (55/33%)]/Ag preparado a partir de una disolución de AgNO₃ 5000 mg L⁻¹.

6.5 Pruebas mecánicas

Las propiedades mecánicas de los hilos de sutura cambian ligeramente cuando se someten a los rayos gamma, esto se observa con el cambio del módulo de elasticidad. Posiblemente ocurre entrecruzamiento en las cadenas de la matriz en algunos casos, permitiendo que aumente la deformación del material hasta el punto de ruptura; además, se sabe que las propiedades cristalinas y de temperatura de fusión se ven afectadas por la dosis recibida. En general, las propiedades mecánicas y físicas sufren detrimento (Reyes et al., 2001). Con respecto al efecto de la preirradiación oxidativa sobre los materiales de PP, se produce en el material grupos carbonilo e hidroxilo además de los peróxidos e hidroperóxidos (Bernstein et al., 2007).

Aunque los cambios en las propiedades mecánicas de las muestras analizadas no se puedan englobar de manera llana de acuerdo con lo observado en la **Gráfica 10**, se encontró, en primer lugar, la disminución de la etapa elástica y aumento en la etapa plástica en los injertos; en segundo lugar, se encontró que el PP original y el injerto PP-g-NVIm (17%) presentan una tensión mayor en el punto de fractura mientras que para los injertos de HEMA y NIPAAm este parámetro se encuentra por debajo; además se encontraron valores de deformación máxima en las muestras con NVIm y HEMA.



Gráfica 10. Diagrama de propiedades mecánicas: Sutura de PP no irradiado; PP-g-NIPAAm (128%), 40 kGy; PP-g-HEMA (175%), 40 kGy; PP-g-NVIm (17%), 50 kGy.

Los cambios de las propiedades mecánicas estuvieron relacionados directamente con la radiación gamma recibida y con el grado de injerto. La radiación gamma generó la formación de especies oxigenadas, además de promover el entrecruzamiento y al mismo tiempo la ruptura de las cadenas poliméricas del PP;

a su vez que monómeros injertados modificaron directamente la elasticidad y tensión de la sutura. Pero de acuerdo con lo expuesto en la **Gráfica 10** y **Tabla 5** las propiedades mecánicas se mantuvieron, a reserva, con cierto grado de similitud.

Tabla 5. Propiedades mecánicas de los hilos de sutura expuestos en la gráfica 10.

Muestra	Módulo de Young (MPa) [R²]	Punto de fractura (MPa)
PP	3699 [0.9983]	361.6
PP- <i>g</i> -NVI _m (17%)	3330.7 [0.9986]	361.5
PP- <i>g</i> -NIPAA _m (128%)	6743.8 [0.9976]	295.7
PP- <i>g</i> -HEMA (175%)	3926 [0.9963]	283.9

6.6 Análisis espectroscópico FTIR-ATR

Se realizó la asignación de las bandas principales en el espectro infrarrojo (Silverstein et al., 2005), comenzando por el PP original que está conformado exclusivamente por cadenas alifáticas y únicamente presenta señales correspondientes a los movimientos de estiramiento asimétricos (ν_{as}) y simétricos (ν_s) de metilos (CH₃) y metilenos (CH₂) en el rango de 2950-2838 cm⁻¹ cuya señal más intensa ν_{as} se encuentra en 2917 cm⁻¹ y de flexión (δ) de CH₃ y CH₂ en 1455 y 1375 cm⁻¹ respectivamente; las señales alifáticas de estiramiento y flexión aparecen consistentemente en todos los espectros analizados (**Gráfica 11**).

El injerto PP-*g*-NIPAA_m (34%), además de las señales alifáticas, presenta una banda intensa correspondiente al estiramiento del carbonilo (C=O) en 1641 cm⁻¹, cuyo desplazamiento a menor número de onda es característico de las amidas. Además, la amida secundaria presenta dos bandas adicionales; la primera de ellas es una banda fina y de mediana intensidad en 3299 cm⁻¹ que corresponde al ν N-H; la segunda es la banda de δ N-H en 1538 cm⁻¹.

Tabla 6. Asignación de señales de los espectros de FTIR-ATR. Las letras a-f corresponden a los injertos de la gráfica 3. Abreviaturas: ν (estiramiento), ν_{as} (estiramiento asimétrico), ν_s (estiramiento simétrico), δ (flexión), δ_{as} (flexión asimétrica), δ_s (flexión simétrica).

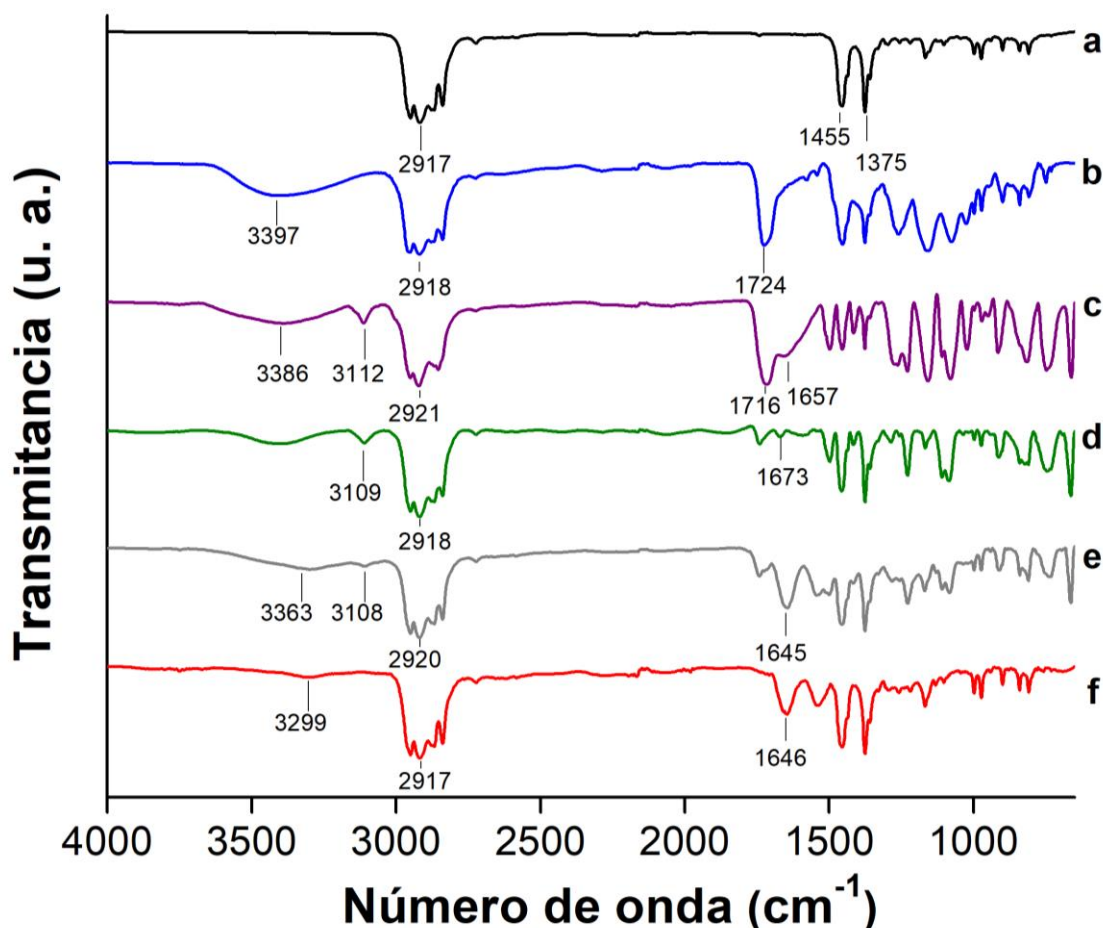
	Número de onda (cm ⁻¹)					
	a	b	c	d	e	f
($\nu_{as}CH_3$)	2949	2951	2950	2949	2951	2949
(ν_sCH_3)	2868	2878	2866	2867	2867	2867
($\nu_{as}CH_2$)	2917	2918	2921	2918	2920	2917
(ν_sCH_2)	2838	2838	2853	2838	2840	2838
($\delta_{as}CH_3$) y (δ_sCH_2)	1455	1454	1455	1456	1455	1455
(δ_sCH_3)	1375	1376	1376	1375	1376	1375
($\nu O-H$)		3397	3386			
($\nu C-O$)		1157, 1077	1157, 1059		1167	1168
($\nu C=O$) éster		1724	1716			
($\nu C=O$) amida					1645	1646
($\nu N-H$) amida					3363	3299
($\delta N-H$) amida					1542	1538
($\nu C_{sp^2}-H$)			3112	3109	3108	
($\nu C=C$) y ($\nu C=N$)			1657	1673		

El grupo hidroxilo (OH) en el injerto PP-*g*-HEMA (19%) aparece como una banda muy característica ancha e intensa que corresponde al ν OH en 3397 cm⁻¹; la segunda señal confirmatoria la proporciona el éster, ν C=O en 1724 cm⁻¹ de intensidad fuerte.

El heterociclo imidazol de PP-*g*-NVIm (3%), presenta una banda muy intensa en 1673 cm⁻¹ que puede atribuirse a los estiramientos de dos tipos de enlaces, ν C=C y C=N; la otra banda que indica la presencia del heterociclo es el ν C_{sp²}H en 3109 cm⁻¹.

Con fines comparativos se analizaron los copolímeros de injerto binarios, donde un compendio de las bandas puede ser verificado en la **Tabla 6**. Las señales

encontradas son parecidas a las ya antes descritas para los injertos simples, donde se observan las bandas ν C=C y C=N del anillo de imidazol en la zona esperada, de igual forma se observa ν CH en 3112 y 3108 cm^{-1} , mientras que la región de huella dactilar (1250-400 cm^{-1}) nos muestra un patrón de señales característico que de manera inequívoca confirma cualitativamente el segundo injerto. En consecuencia, las bandas observadas de (PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm (123/90%) son: C=O 1716 cm^{-1} , OH 3386 cm^{-1} , $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{H}$ 3112 cm^{-1} y enlaces dobles del anillo aromático en 1657 cm^{-1} ; mientras que para (PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm (34/43%) se observan las bandas: C=O 1645 cm^{-1} , NH 3363 cm^{-1} y $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{H}$ 3108 cm^{-1} ; cabe señalar que en los injertos binarios las señales atribuidas al grupo imidazol son más intensas debido a su mayor proporción superficial.



Gráfica 11. Espectros FTIR-ATR: (a) PP, (b) PP-*g*-HEMA (19%), (c) (PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm (123/90%), (d) PP-*g*-NVIm (3%), (e) (PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm (34/43%), (f) PP-*g*-NIPAAm (34%).

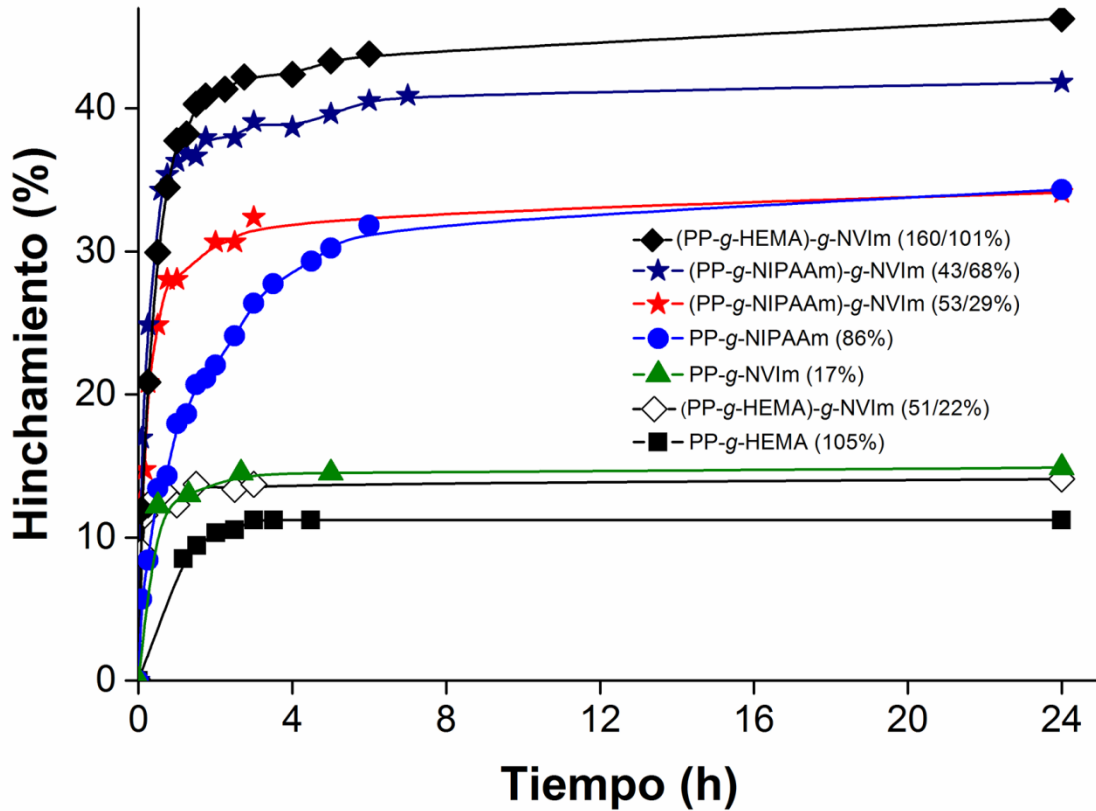
6.7 Hinchamiento

6.7.1 Hinchamiento límite

Cuando los monómeros son injertados sobre el PP, los hilos presentaron afinidad al agua e hincharon. Este fenómeno encuentra respuesta dentro de la estructura de los mismos polímeros, ya que tanto PNIPAAm como PHEMA poseen en sus cadenas grupos hidrofílicos del átomo O del carbonilo; el HEMA, además, contiene un grupo hidroxilo; mientras que el NIPAAm y el NVIm contienen un N de la amida y del heterociclo respectivamente. Estos átomos forman enlaces de hidrógeno y como consecuencia el hinchamiento del material.

En el aspecto cinético, el hinchamiento es más rápido durante las primeras 2 h para todos los injertos. En los casos de las suturas de PP-*g*-HEMA y PP-*g*-NVIm, alcanzaron prácticamente el hinchamiento máximo en 4 h; el injerto PP-*g*-NIPAAm continuó hinchando lentamente y a las 48 h el peso permaneció constante.

Debido a la diferencia en la composición de los materiales, la cantidad de agua absorbida por las suturas fue diferente. El hinchamiento del copolímero derivado del NIPAAm fue más alto; la diferencia en los porcentajes de hinchamiento responde a la triada composición, grado de injerto y condiciones del medio. Desde el punto de vista microscópico, el hinchamiento es atribuido a los enlaces de hidrógeno intermoleculares del polímero con el agua (Miller-Chou and Koenig, 2003), polímero^{δ-}-^{δ+}HOH, estas interacciones dependen de la naturaleza hidrofílica de las cadenas poliméricas. Es importante resaltar que las interacciones intramoleculares muy fuertes conllevan a hinchamientos bajos, como en el caso del PP-*g*-HEMA; por otra parte, cuando la interacción entre las cadenas injertadas y las moléculas de agua son más fuertes, los hinchamientos aumentan, como en el caso de PP-*g*-NIPAAm. Sin embargo, como se pudo comprobar, los injertos binarios incrementaron el hinchamiento límite, lo cual está relacionado con la composición del material, donde posiblemente existe cierto grado de ramificación en las cadenas de (PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm y (PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm, de allí la diferencia en el grado de hinchamiento entre los injertos analizados (**Gráfica 12**).

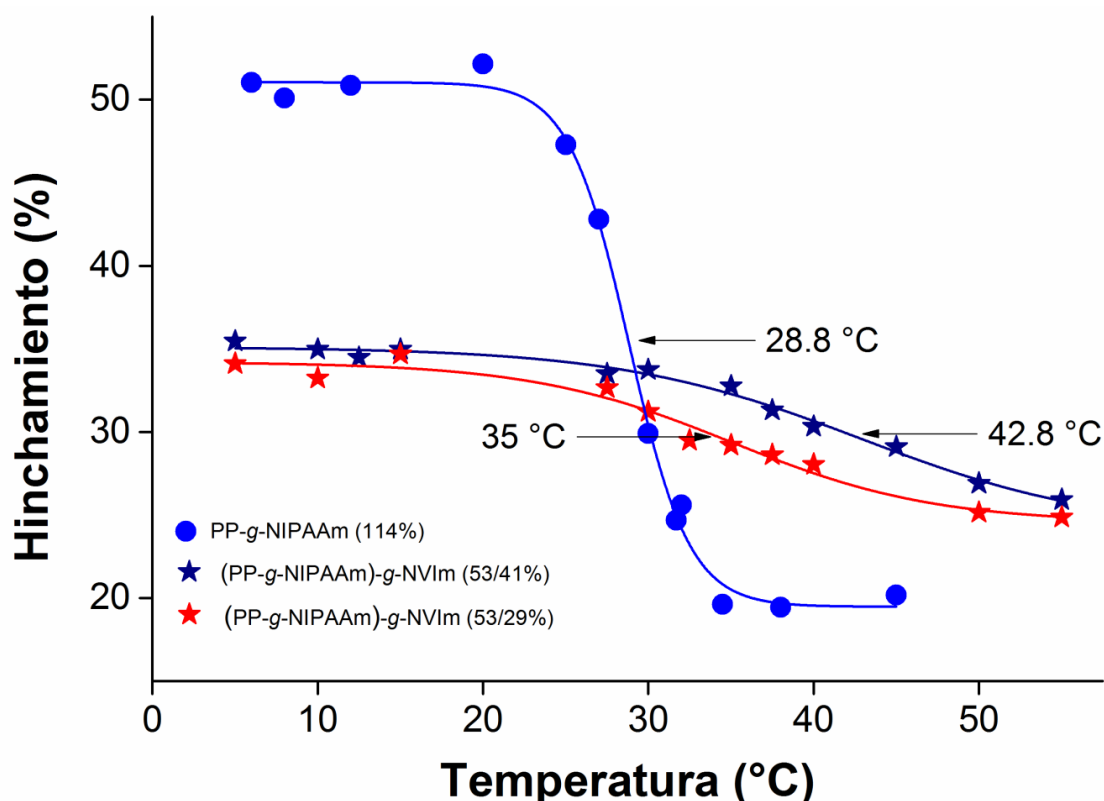


Gráfica 12. Hinchamiento límite de los injertos; 25 °C; agua destilada.

6.7.2 Hinchamiento en función de la temperatura

El PNIPAAm es un polímero que en disolución responde drásticamente a los cambios de temperatura (Almeida et al., 2012) y presentó LCST alrededor de los 28 °C; a su vez el copolímero PP-g-NIPAAm (114%), retuvo agua hasta 50% a temperaturas menores de 20 °C, el punto de inflexión máximo en 28.8 °C corresponde a la LCST (temperatura inferior a la promedio del ser humano) cuyo comportamiento cambia de hidrofílico a hidrofóbico al incrementarse la temperatura, hasta observarse un valor mínimo constante a partir de 35 °C, donde las cadenas poliméricas de NIPAAm colapsan y el hinchamiento disminuye alrededor del 20% (Gráfica 13). Pero en los injertos binarios se observó un cambio en los valores de la LCST, donde de manera representativa un ligero cambio en la composición de los injertos afectó las temperaturas críticas, para el caso del (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm (53/29%) tuvo una LCST de 35 °C, mientras que el (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm

(53/41%) la LCST se recorrió hasta 42.8 °C, sin embargo en ambos casos los elevados hinchamientos vuelven inviable este tipo de suturas para su uso como dispositivos biomédicos, tomando como fundamento que el hinchamiento (que implica incremento de volumen) es una propiedad no deseable, ya que es importante que la sutura permanezca fija para la zona destinada.

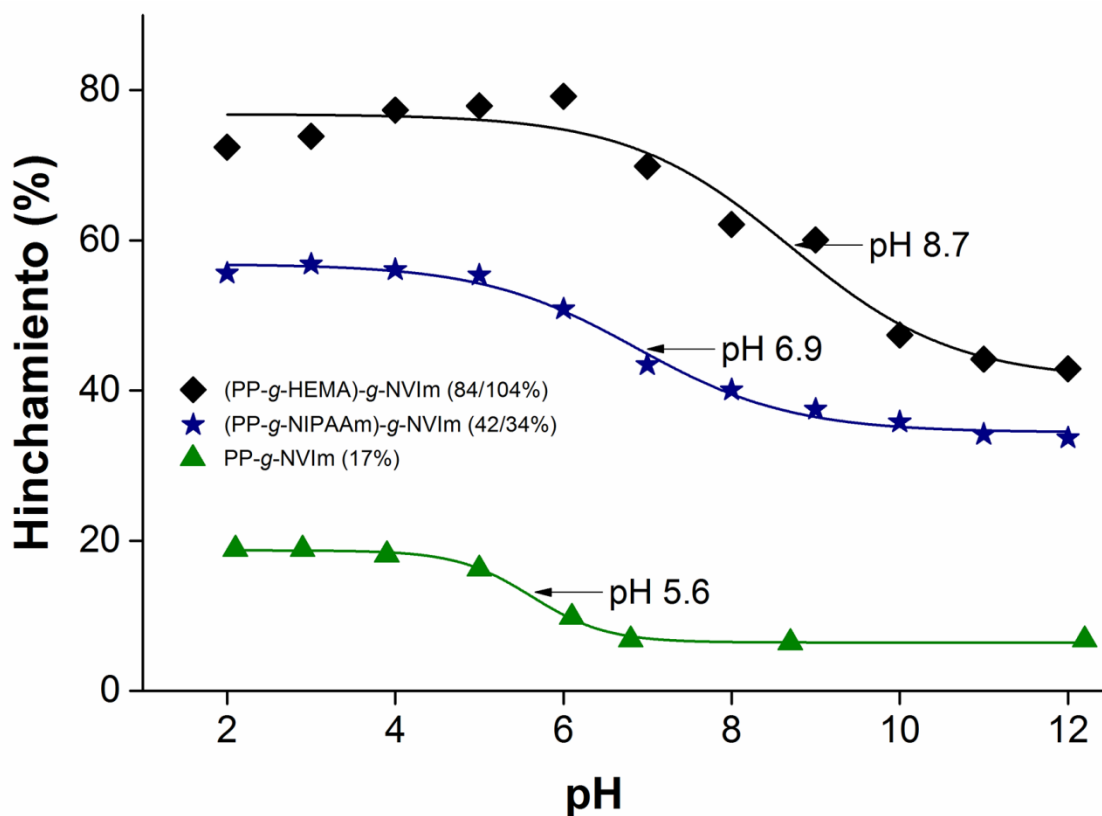


Gráfica 13. Hinchamiento y LCST de los copolímeros termoresponsivos, agua destilada.

6.7.3 Hinchamiento en función del pH

El hilo de sutura PP-g-NVIm (17%) es de naturaleza alcalina, sensible a los cambios de pH y cuyo punto crítico se encontró en pH 5.6 (**Gráfica 14**). En medio amortiguador básico el material presentó un carácter poco hidrofílico, mientras que en medio ácido el imizado protonado retuvo una cantidad ligeramente superior de agua, pero sin superar el 20%, en este caso el pH 5.6 crítico fue ligeramente ácido, similar al pH de la piel humana. Posteriormente, con el fin de conocer el comportamiento de los materiales en disolución, se sometieron a pruebas de

hinchamiento en función del pH las suturas (PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm (84/104%) y (PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm (42/34%) que también presentaron propiedades pH-responsivas. Debido a que los porcentajes de NVIm son mayores en los injertos binarios también lo fueron los hinchamientos, lo cual es congruente debido a que la interacción NVIm^{δ-}-^{δ+}H₃PO₄, NaH₂PO₄, Na₂HPO₄ es fuerte y se refleja en los porcentajes medidos, pero hubo modificación del pH crítico hacia valores neutro (pH 6.9) y alcalino (pH 8.7) respectivamente, lo cual sugiere el aumento de las interacciones entre las cadenas de NVIm con las sales de fosfatos.



Gráfica 14. Hinchamiento en función de pH; 25 °C; amortiguadores de fosfatos.

6.8 Análisis térmico

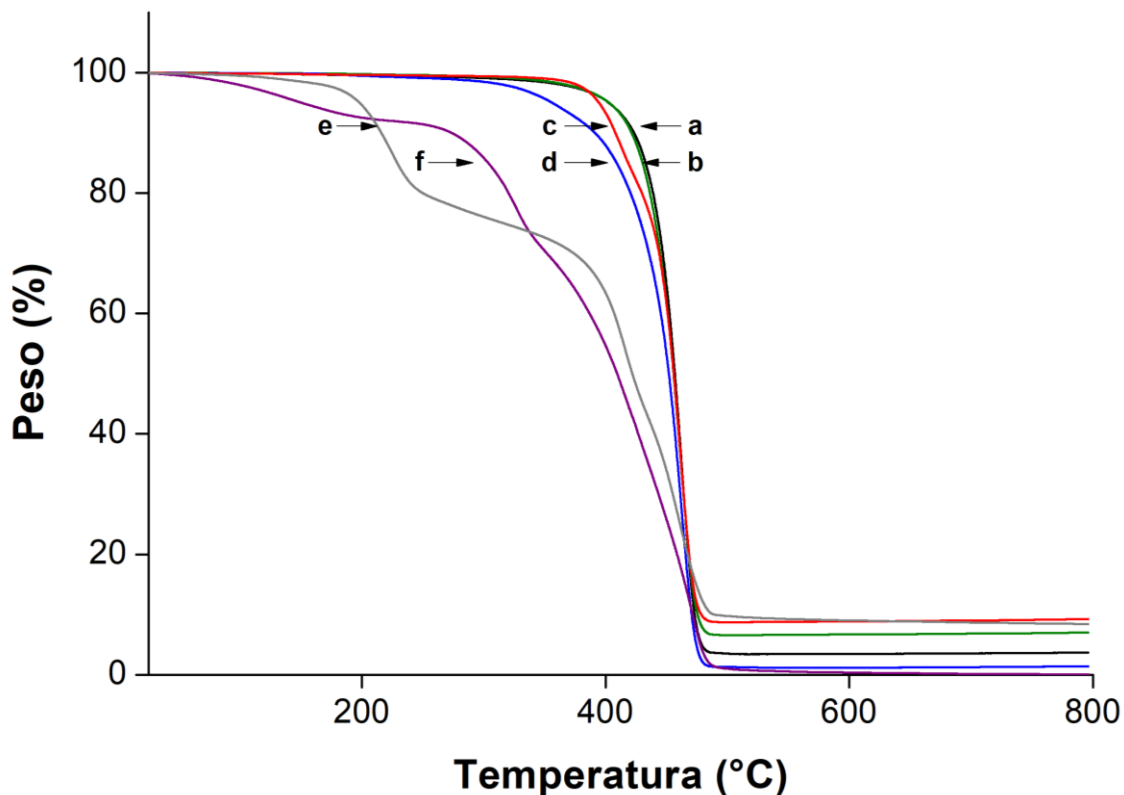
6.8.1 Caracterización por TGA

El análisis termogravimétrico (TGA) fue una herramienta indispensable para comparar la estabilidad y comportamiento de los injertos a diferente temperatura con respecto del PP original. Como se puede observar en los termogramas (**Gráfica 15**) existe una temperatura de descomposición (Td) principal, el análisis de las suturas fue realizado hasta el residuo a 800 °C.

Los valores de Td y peso (%) a 450 °C disminuyen considerablemente cuanto mayor es el grado de injerto. El PP pierde el 10% de su peso a la temperatura de 423.3 °C; mientras que a 450 °C permanece el 64.7% del peso y descompone a los 462.5 °C, los valores completos están en la **Tabla 7**. Las Td de los injertos simples son parecidas a la del material sin modificar, mientras que los injertos binarios presentaron más de una etapa de descomposición. Estos resultados sugieren que las cadenas poliméricas se encuentran injertadas en regiones definidas de acuerdo con su composición, donde los polímeros injertados se encuentran en la superficie.

Tabla 7. Análisis térmico TGA de las suturas.

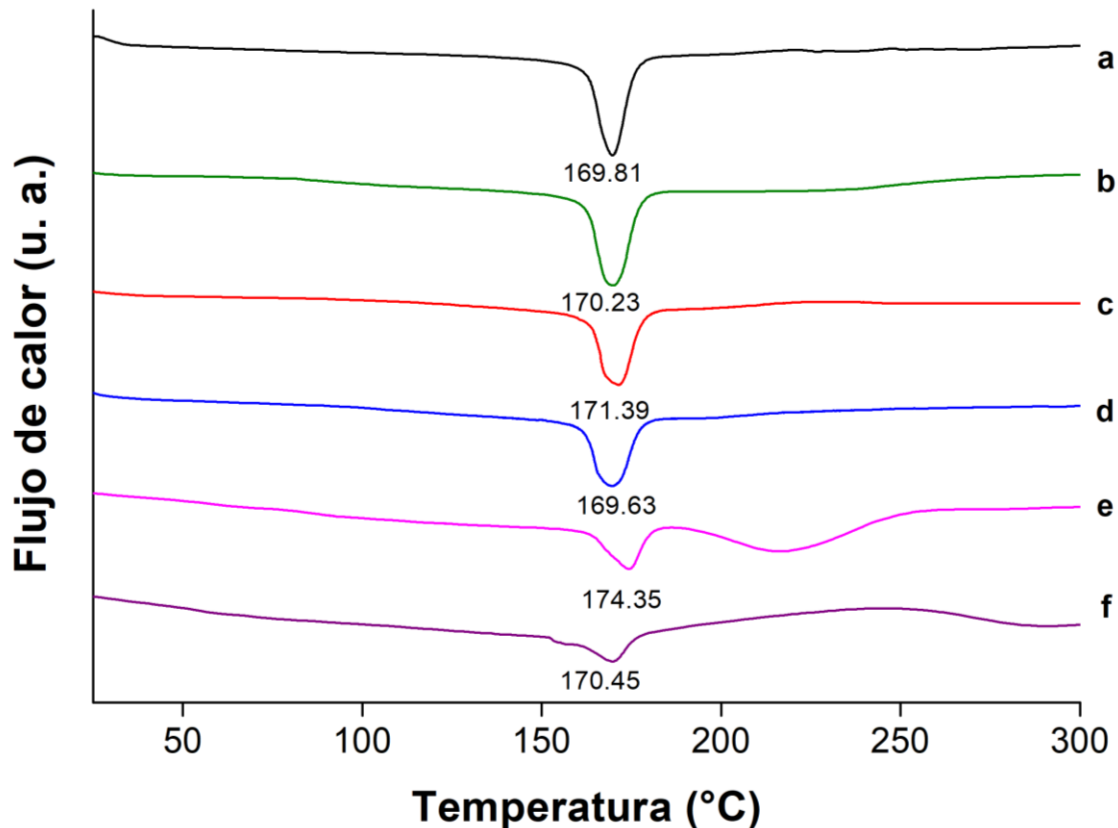
Injerto (%)	Peso 90% (°C)	Td (°C)	Peso a 450°C (%)
PP	423.33	462.49	64.73
PP-g-NVIm (3)	421.32	461.59	61.70
PP-g-NIPAAm (34)	408.01	461.70	61.41
PP-g-HEMA (19)	391.28	461.93	53.18
(PP-g-NIPAAm)-g-NVIm (34/43)	215.93	224.7, 416.4, 458.91	33.86
(PP-g-HEMA)-g-NVIm (123/90)	273.65	141.9, 326.6, 472.59	25.72



Gráfica 15. Termograma TGA, 800 °C, N₂. (a) PP, (b) PP-*g*-NVIm (3%), (c) PP-*g*-NIPAAm (34%), (d) PP-*g*-HEMA (19%), (e) (PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm (34/43%) (f) (PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm (123/90%).

6.8.2 Caracterización por DSC

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) es una técnica que nos permitió determinar la energía que absorbe el hilo de sutura durante el proceso de fusión (**Gráfica 16**). La temperatura de fusión (T_m) 169.81 °C del PP original se impuso como referente para el resto de los injertos derivados; y no se observaron cambios significativos con respecto a ésta. Dicha información confirma la estabilidad térmica de los materiales, así como su naturaleza cristalina, al menos en el núcleo de PP que es isotáctico.



Gráfica 16. Termograma DSC, 350 °C, N₂. (a) PP, (b) PP-g-NVIm (3%), (c) PP-g-NIPAAm (34%), (d) PP-g-HEMA (19%), (e) (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm (34/43%) (f) (PP-g-HEMA)-g-NVIm (123/90%).

Más allá de las ligeras diferencias en la T_m, es interesante señalar que los polímeros de injerto binarios presentaron descomposición por encima de los 240 °C y aunque la T_d (en TGA) de los injertos fue menor, en el general todos los materiales se comportaron de manera casi idéntica a la temperatura para la cual han sido diseñados, es decir 37 °C, la temperatura promedio del cuerpo humano.

6.9 Funcionalización de las suturas injertadas

6.9.1 Cuaternización con Mel

El Mel reaccionó fácilmente con los grupos imidazol injertados (**Figura 10**), usando tolueno como disolvente a 40 °C. Se formó el derivado yoduro de imidazolio que

potencializa la actividad antimicrobiana en los monofilamentos injertados con NVIm. En estudios previos se había injertado NVIm en tubos de PVC de grado médico con el objetivo de cuaternizar la superficie y obtener así actividad bacteriostática (Meléndez-Ortiz et al., 2016). Por lo que era conocida tanto la ruta como la bondad de esta reacción sobre las cadenas lineales de NVIm. El curso de la reacción se pudo seguir visualmente por el oscurecimiento de la sutura, pero el grado de cuaternización fue indeterminado gravimétricamente debido al bajo el peso de la muestra y la sensibilidad de la balanza utilizada que no permitió medir claramente la diferencia de peso (menor a 1 mg) antes y después de la reacción. Aunque, la prueba del grado de cuaternización radica en la actividad antimicrobiana que se evaluó en los ensayos correspondientes.

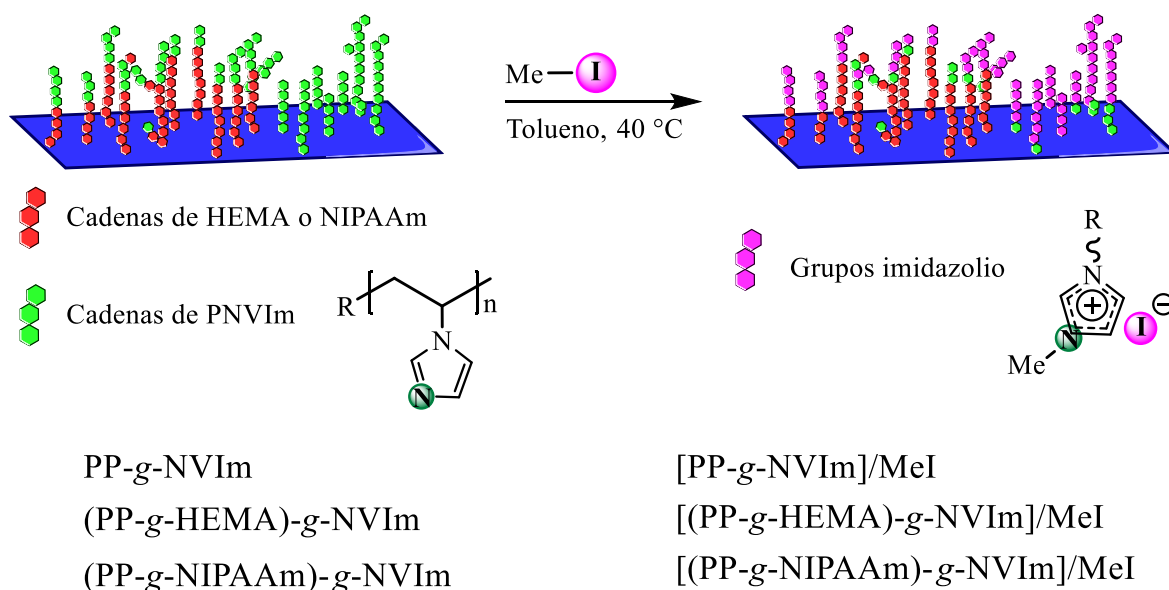


Figura 10. Cuaternización de las cadenas injertadas con NVIm en los hilos de sutura.

6.9.2 Carga de partículas con Ag

Las modificaciones realizadas sobre los hilos de sutura prepararon la superficie para la funcionalización final con Ag. Para ello se utilizaron disoluciones acuosas de diferente concentración de AgNO_3 ($10\text{-}10\ 000\ \text{mg L}^{-1}$) y en condiciones ambientales alrededor de los $25\ ^\circ\text{C}$, lo cual significó un avance en la metodología, ya que se

evitó el calentamiento y uso de reductores como el citrato o tiosulfito de sodio. Es así como de una manera eco-amigable (Manikandan et al., 2017), fácil y sostenible (Anastas and Kirchhoff, 2002) se obtuvieron los materiales compuestos con las partículas Ag. Se requiere alcanzar el hinchamiento límite durante la reacción, porque el medio acuoso con los iones Ag garantiza la máxima impregnación entre las cadenas donde se propicia a la postre la carga de partículas; el hinchamiento ocurre dentro de las primeras 4 h llegando prácticamente al límite después de 24 h de reacción. Por principio de equilibrio, las disoluciones más concentradas cargaron más Ag y, por consiguiente, las de mayor porcentaje de injerto también lo hicieron. El mecanismo de reacción posiblemente procede a través de la complejación de la sal de Ag con los heteroátomos de los grupos carbonilo (Siddiqui et al., 2016), hidroxilo, amida o imidazol (McCann et al., 2013). Dichos intermedios se forman en la parte injertada entre las cadenas o superficialmente; para en un segundo paso, ya sea por acción de la luz solar, del secado a 60 °C o una combinación de ambas, formar las partículas de Ag reducidas que permanecieron adheridas sobre o entre las cadenas poliméricas cuyas interacciones entre el metal y polímero son lo suficientemente fuertes para mantenerse como unidad en el filamento (**Figura 11**).

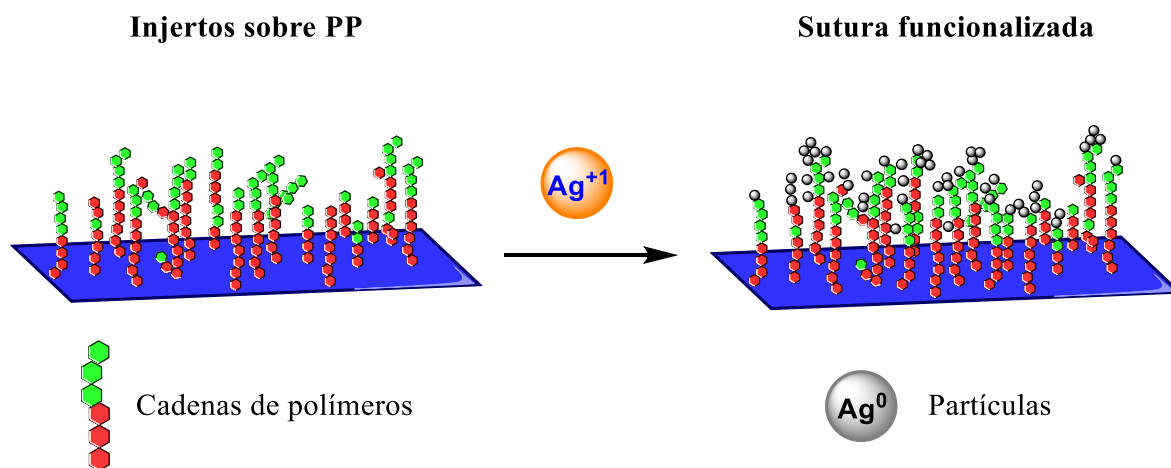
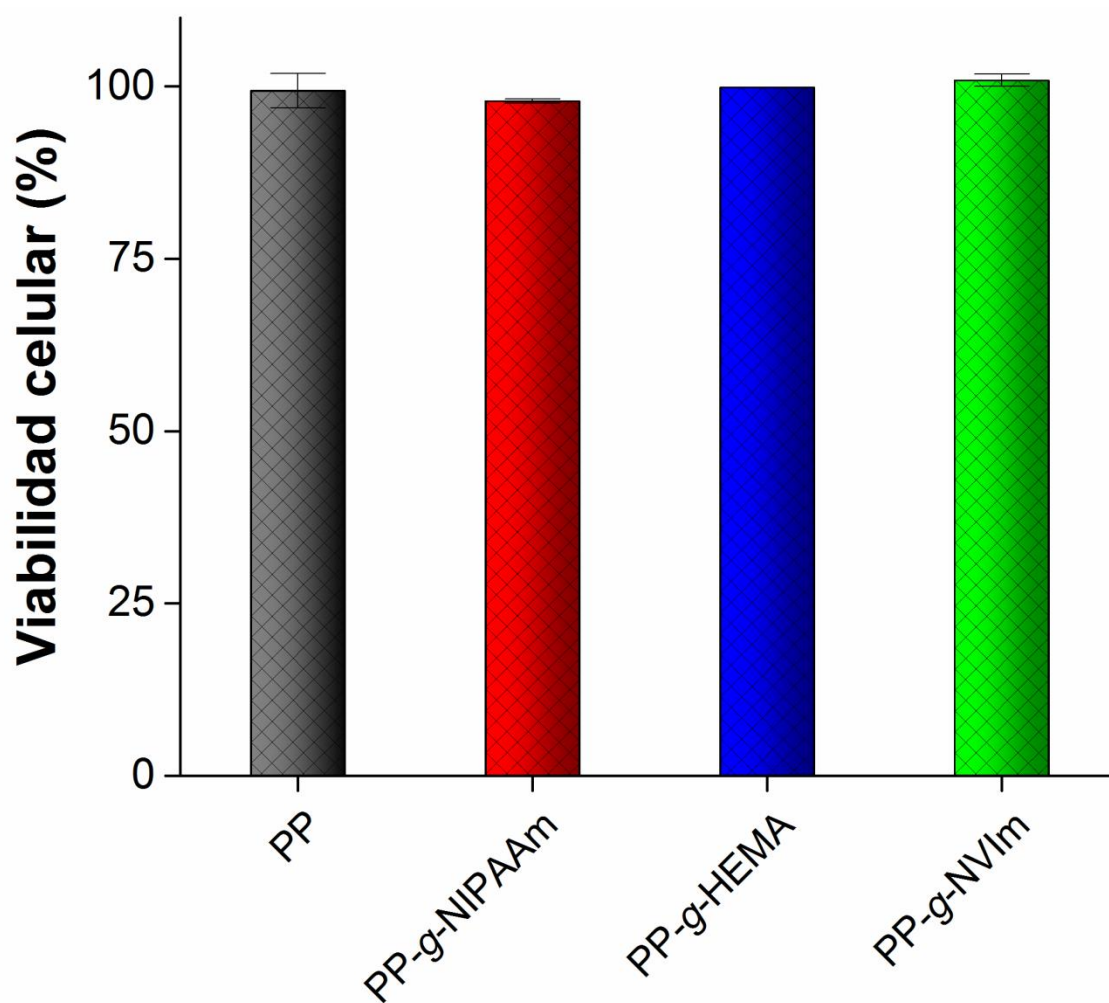


Figura 11. Los iones Ag^+ forman complejos intermedios que se descomponen para generar las partículas de Ag^0 .

6.10 Viabilidad celular de los injertos

La investigación *in vitro* de cualquier actividad biológica de un material requiere antes conocer el nivel de toxicidad en células, por lo que el paso siguiente a la caracterización de los injertos fue el estudio de citotoxicidad para verificar los cambios de citocompatibilidad con respecto a los hilos de PP originales.

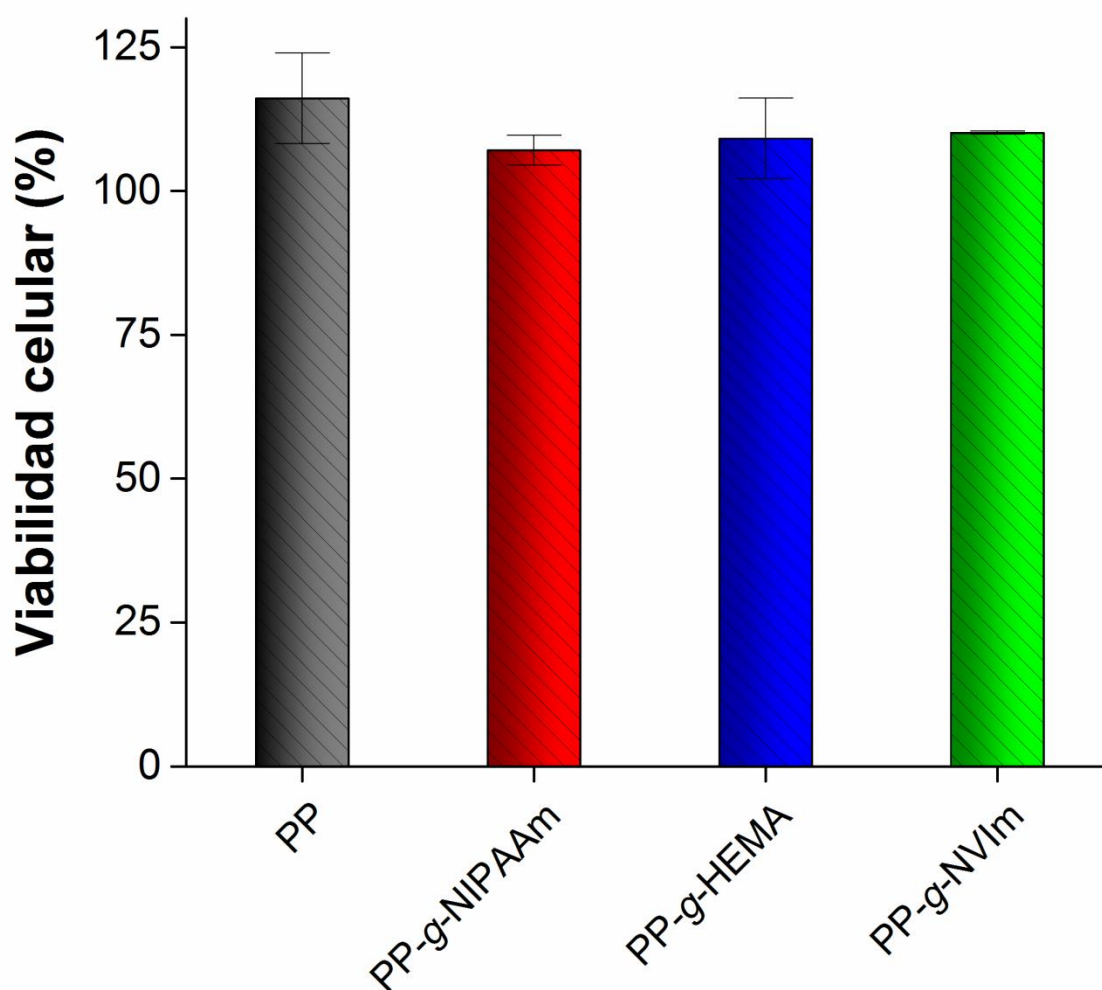


Gráfica 17. Ensayo de viabilidad celular LDH en cultivos BALB/3T3 a 24 h de incubación: PP; PP-g-NIPAAm (128%); PP-g-HEMA (175%); PP-g-NVIm (17%).

Estos experimentos fueron realizados con células de tejido embrionario de fibroblastos de ratones (*Mus musculus*), BALB 3T3, cuya cuantificación se realizó con el ensayo lactato deshidrogenasa (LDH) y se midió por espectrofotometría UV-visible a 490 nm. Las suturas utilizadas para los ensayos se escogieron de acuerdo

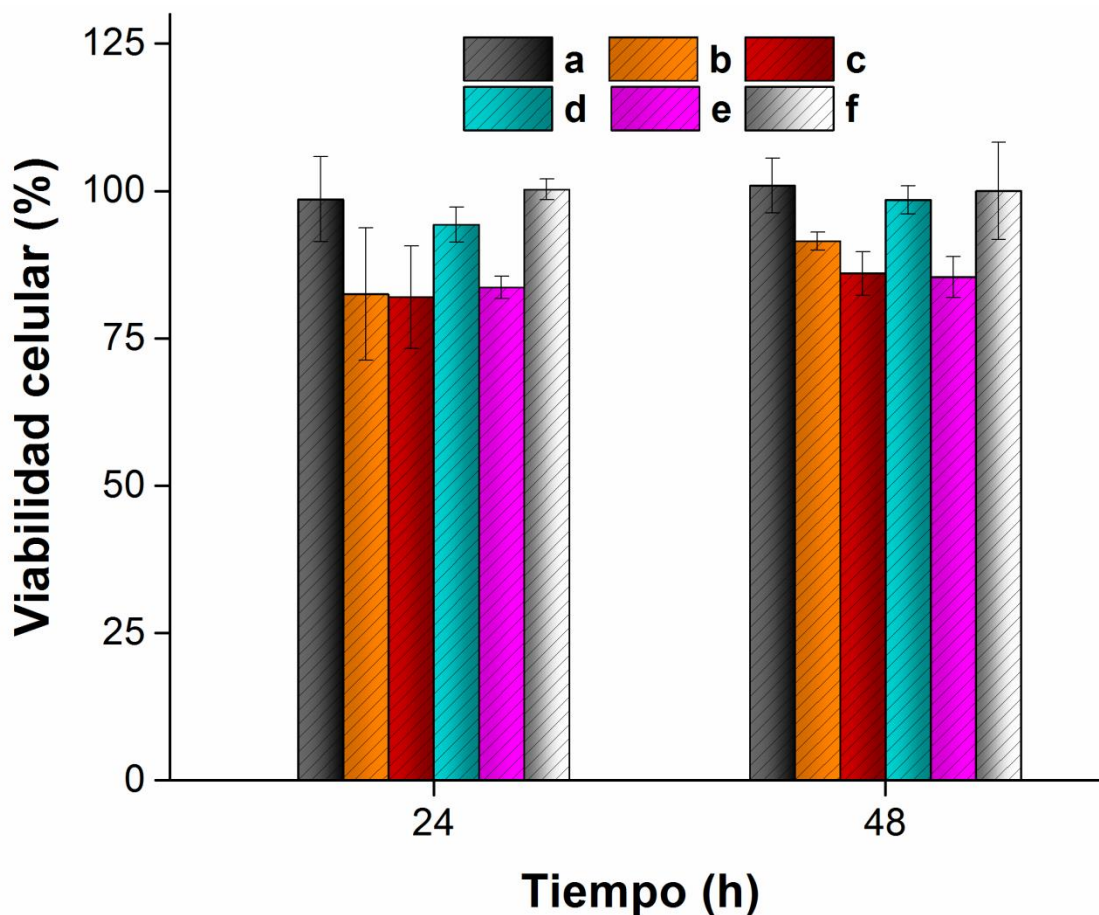
con un amplio rango con respecto al grado de injerto. Donde los resultados indican que los copolímeros de injerto simples muestran una viabilidad celular similar al PP control independientemente del tipo de monómero injertado (**Gráfica 17**).

Adicionalmente, se evaluó la citocompatibilidad de los injertos midiendo la proliferación celular utilizando el reactivo WST-1 y se cuantificó por espectrofotometría en UV-visible a 450 nm a las 24 h de cultivo, cuyo resultado está directamente relacionado con el número de células viables. En este caso las muestras analizadas mantuvieron porcentajes de proliferación por encima del 100% estos resultados indican que los materiales tienen viabilidad celular (**Gráfica 18**).



Gráfica 18. Ensayo de viabilidad celular WST-1 con células BALB/3T3 a 24 h de incubación: PP; PP-g-NIPAAm (128%); PP-g-HEMA (175%); PP-g-NVIm (17%).

Por último, para evaluar la citocompatibilidad se utilizó un ensayo con el reactivo AlamarBlue® (rezaruzin) y se leyó la absorbancia a 570 nm; al igual que los ensayos anteriores la cuantificación está basada en la tinción redox del reactivo indicador causada por las células supervivientes. De acuerdo con los resultados, la viabilidad celular disminuye ligeramente, pero estos valores se mantuvieron constantes por encima del 80%, incluso después de 48 h, lo cual indica que los materiales pueden ser biocompatibles (**Gráfica 19**).



Gráfica 19. Ensayo de viabilidad celular AlamarBlue® con cultivos BALB/3T3 a 24 y 48 h de incubación: (a) PP, (b) (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm (6/5%), (c) (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm (76/74%), (d) (PP-g-HEMA)-g-NVIm (10/14%), (e) (PP-g-HEMA)-g-NVIm (104/84%), (f) Control negativo.

6.11 Inhibición antimicrobiana *in vitro*

Las muestras de PP original junto con los monofilamentos injertados, antes y después del tratamiento con Mel, fueron dispuestas para pruebas de bioactividad

contra cepas de *S. aureus* y *E. coli*. Los controles positivos de PP no inhibieron el crecimiento de las bacterias, como se esperaba; además los monofilamentos injertados tampoco causaron zona de inhibición, aunque la actividad anti-adhesión no se puede descartar.

6.11.1 Inhibición con suturas cuaternizadas con Mel

Después del tratamiento con Mel, todos los injertos binarios mostraron una notable capacidad de inhibición cuya potencia se midió en función del halo creado (**Figura 12**).

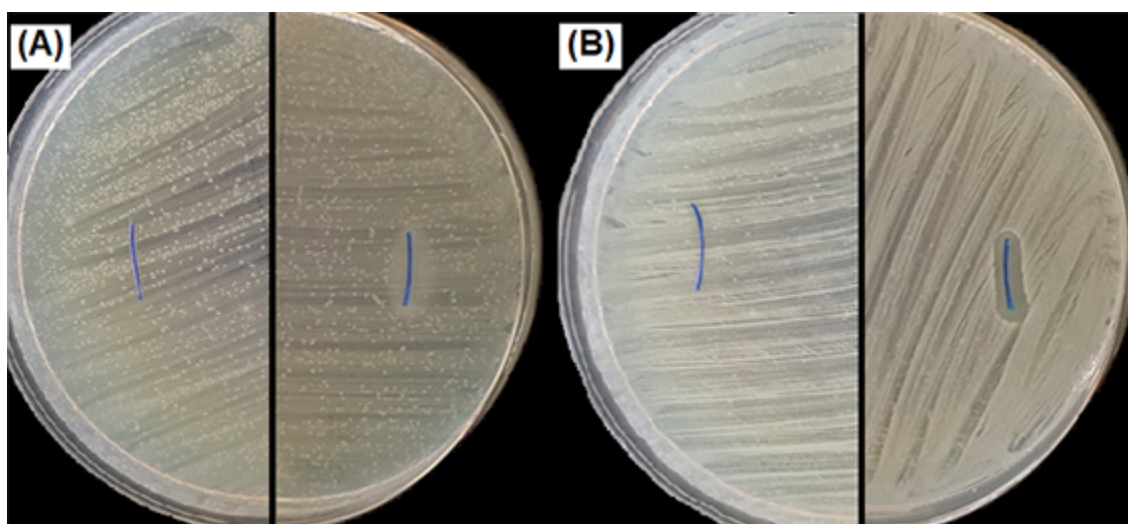
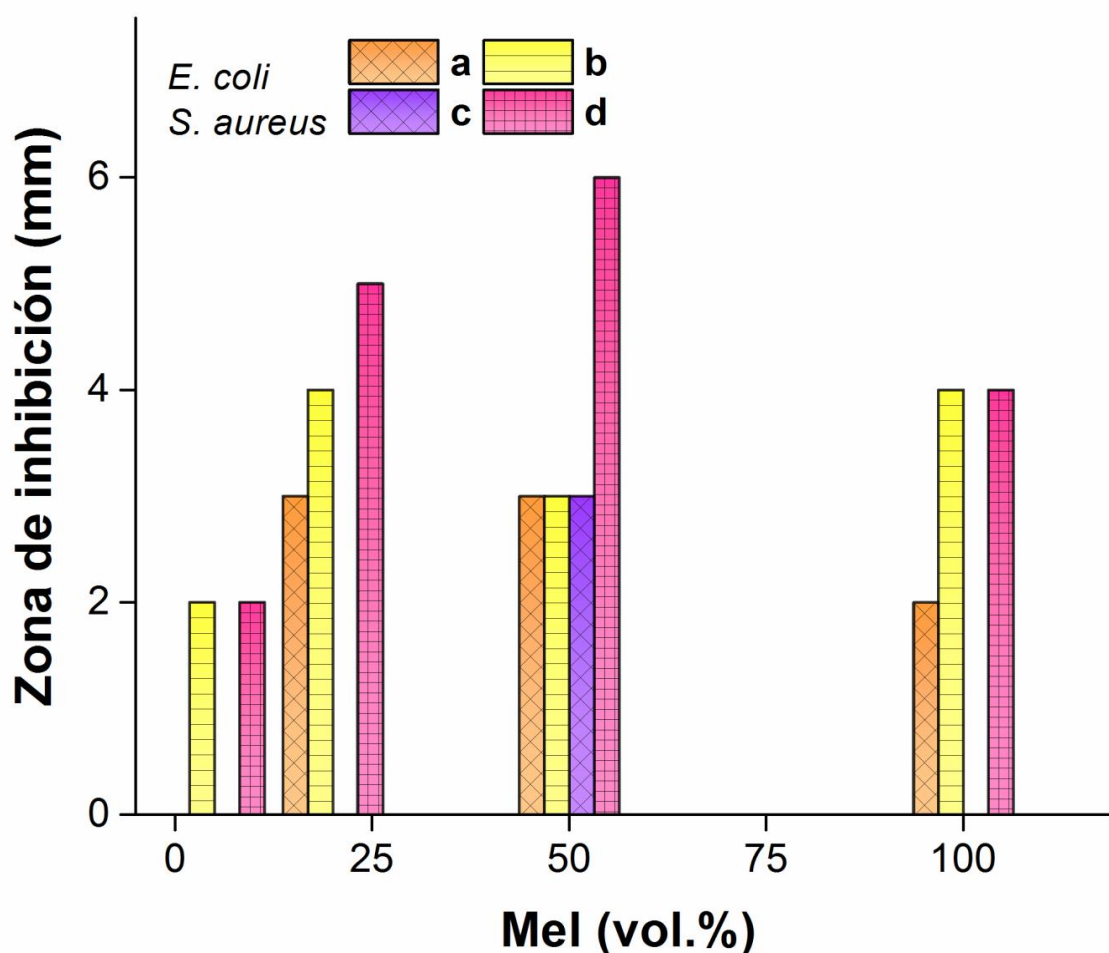


Figura 12. Cultivos de (A) *E. coli* y (B) *S. aureus* con la sutura de PP control en el lado izquierdo de cada plato y en el derecho la sutura [(PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm (36/22%)]/Mel alquilada con Mel 20%.

La zona de inhibición causada por [(PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm (36/22%)]/Mel se incrementó progresivamente en función a la concentración a la que se llevó a cabo la reacción con Mel utilizado en la cuaternización (5 a 100 vol.%); propiamente, la zona de inhibición creada por [(PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm (36/22%)]/Mel en el cultivo de *S. aureus* alcanzó un halo máximo de 6 mm y en *E. coli* hasta 4 mm después de 24 h. En el caso de [(PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm (20/22%)]/Mel, se observaron mayores zonas de inhibición con 25 vol.% de Mel, aunque también se observó actividad a partir de 5 vol.% (**Gráfica 20**).

La diferencia en la actividad antimicrobiana se puede explicar mejor en términos de grado de cuaternización. La reacción procede mejor cuando la matriz se hincha. Por lo tanto, se deduce que los monofilamentos injertados y cuaternizados con Mel 100 vol.% (sin disolvente) se halogenó en menor grado, al solo existir un contacto superficial entre el Mel con la sutura; de igual forma, cuando la reacción se llevó a cabo usando 5 vol.% la cuaternización fue incompleta ya que se obtuvieron zonas de inhibición mínimas o nulas. Estos hallazgos indican que la formación del imidazolio requiere un equilibrio fino de la relación del disolvente usado para hinchar la matriz, el Mel y las condiciones de reacción óptimas para completar la reacción de cuaternización con los heterociclos del imidazol.



Gráfica 20. Inhibición celular *in vitro* de las suturas con injertos poliméricos con grupos yoduro de imidazolio. *E. coli* (ATCC 25922) 3.4×10^8 CFU mL⁻¹: (a) (PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm (20/22%), (b) (PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm (36/22%); *S. aureus* (ATCC 25923) 2.8×10^8 CFU mL⁻¹: (c) (PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm (20/22%); (d) (PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm (36/22%).

6.11.2 Inhibición con suturas cargadas con Ag

Las suturas de PP original junto con los monofilamentos injertados, antes y después del tratamiento con AgNO_3 , fueron dispuestas para las pruebas *in vitro* de bioactividad contra cepas de *S. aureus* y *E. coli*. Los controles positivos de PP original no inhibieron el crecimiento de las bacterias, como se esperaba, ya que las cadenas alifáticas de PP prácticamente no tienen reactividad química y no fueron capaces de cargar Ag; mientras que los hilos de sutura injertados después del tratamiento con AgNO_3 mostraron una destacada capacidad de inhibir el crecimiento microbiológico alrededor de la zona del hilo en el cultivo microbiano después de 24 h (**Figura 13**).

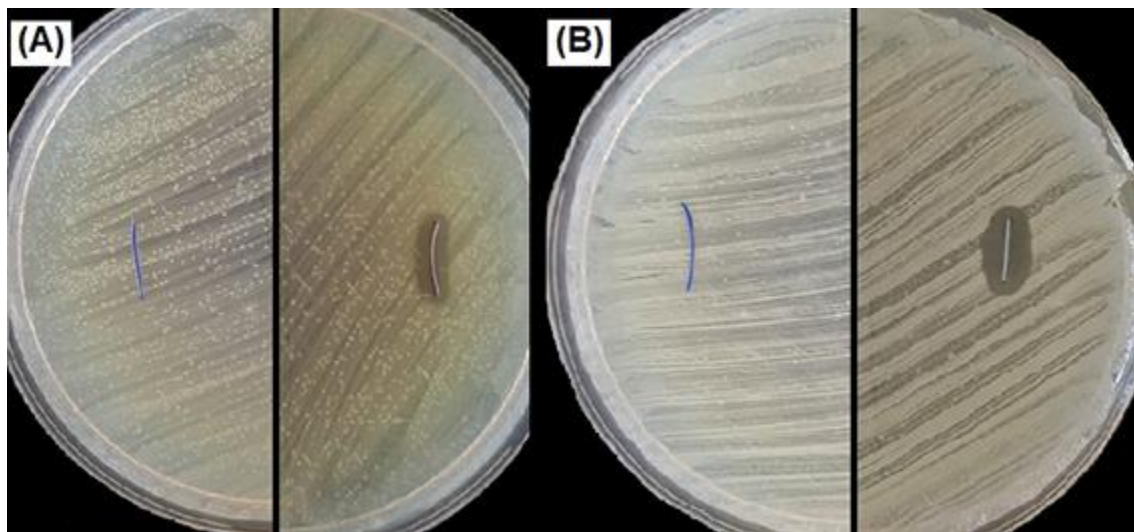
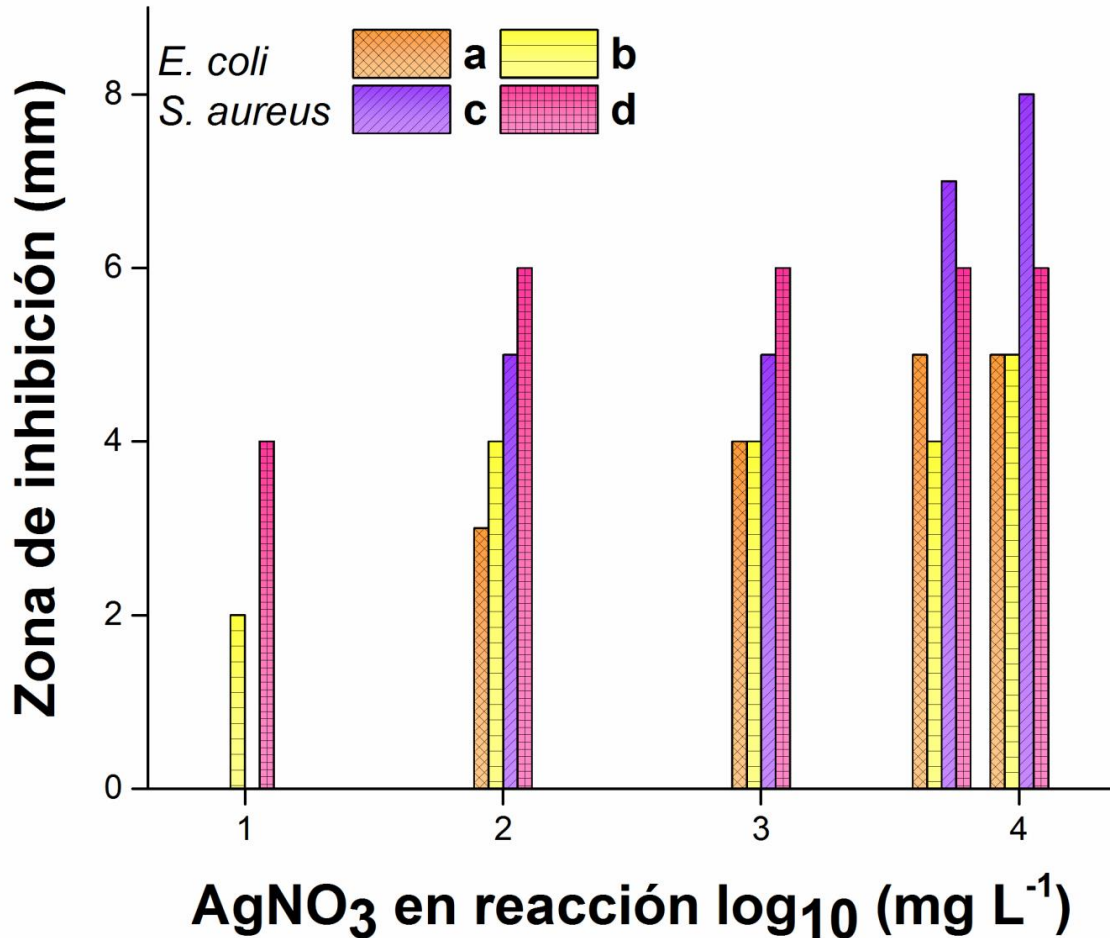


Figura 13. Cultivos de (A) *E. coli* y (B) *S. aureus* con la sutura de PP control en el lado izquierdo de la imagen de cada plato y en el derecho la sutura [(PP-g-NIPAAm)-g-NVIm (36/22%)]/Ag cargada con AgNO_3 10 000 mg L⁻¹.

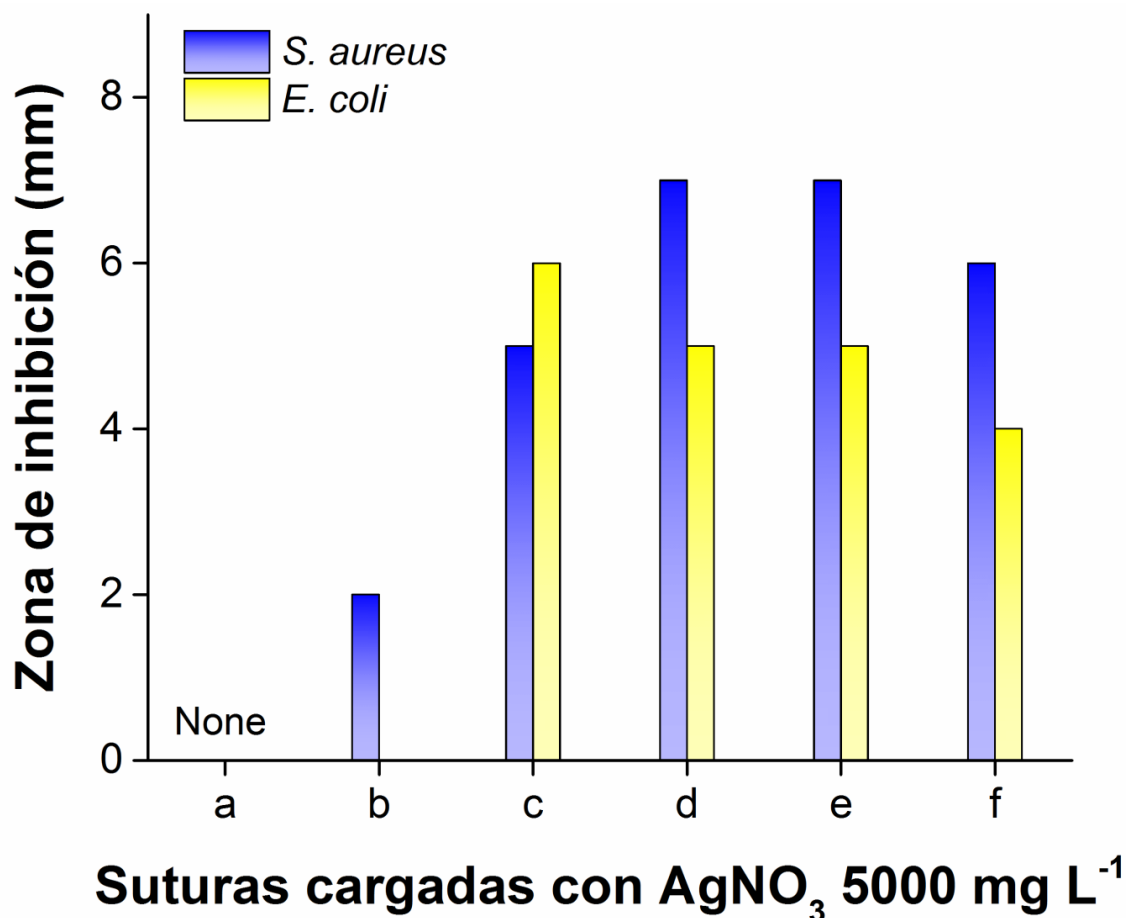
Aunque cabe referir que la capacidad inhibitoria de las muestras depende directamente de la cantidad de Ag depositada, que a su vez está delimitada por el tipo de injerto y la concentración de AgNO_3 a la cual se lleva a cabo la reacción. Un punto importante de mencionar es que la inhibición fue diferente para *S. aureus* y *E. coli*.



Gráfica 21. Inhibición celular *in vitro* en función del log₁₀ concentración de AgNO₃ a la que se realizó la reacción. *E. coli* (ATCC 25922) 3.4x10⁸ CFU mL⁻¹: (a) (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm (20/22%), (b) (PP-g-HEMA)-g-NVIm (36/22%); *S. aureus* (ATCC 25923) 2.8x10⁸ CFU mL⁻¹: (c) (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm (20/22%); (d) (PP-g-HEMA)-g-NVIm (36/22%).

En lo que respecta al tipo de injerto y la concentración de carga de Ag, se encontró que [(PP-g-HEMA)-g-NVIm (36/22%)]/Ag produjo halos de inhibición a partir de la concentración más baja, es decir, 10 mg L⁻¹ (o 1 en escala logarítmica), aumentó la zona de inhibición consistentemente hasta 1000 mg L⁻¹ para después mantenerse constante hasta 10 000 mg L⁻¹ (4 en escala logarítmica); por otra parte la muestra [(PP-g-NIPAAm)-g-NVIm (20/22%)]/Ag creó una zona de inhibición a partir de 100 mg L⁻¹ que se mantuvo constante a 1000 mg L⁻¹ para aumentar nuevamente en 5000 y 10 000 mg L⁻¹ (**Gráfica 21**).

El tipo de bacteria también influyó de manera considerable, ya que las cepas de *S. aureus* fueron más sensibles a bajas cantidades de Ag para los dos injertos analizados, al observarse un aumento en el halo de inhibición consistentemente hasta los 10 000 mg L⁻¹ con 8 mm; mientras que en los cultivos con *E. coli* solamente se obtuvo el máximo de zona de inhibición de 5 mm (**Gráfica 22**).



Gráfica 22. Zonas de inhibición celular *in vitro* después de 24 h de incubación con diferentes suturas cargadas con AgNO₃ 5000 mg L⁻¹. *S. aureus* (ATCC 25923) 2.8x10⁸ CFU ml⁻¹ y *E. coli* (ATCC 25922) 3.4x10⁸ CFU mL⁻¹. (a) PP; (b) [PP-*g*-NIPAAm (48%)]/Ag; (c) [PP-*g*-HEMA (36%)]/Ag; (d) [PP-*g*-NVIm (3%)]/Ag; (e) [(PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm (20/22%)]/Ag; (f) [(PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm (36/22%)]/Ag.

Los resultados indican que la actividad de las partículas de Ag está sujeta tanto a los porcentajes y tipo de injerto como a la cantidad del metal adherido en la reacción durante el proceso de hinchamiento. Otro hallazgo importante fue que, aunque las partículas de Ag presentan actividad antimicrobiana de amplio espectro, en este

caso se inhibió con mayor eficacia a los cultivos de *S. aureus* (Grampositivo) y fue de manera moderada la inhibición de los cultivos *E. coli* (Gramnegativo).

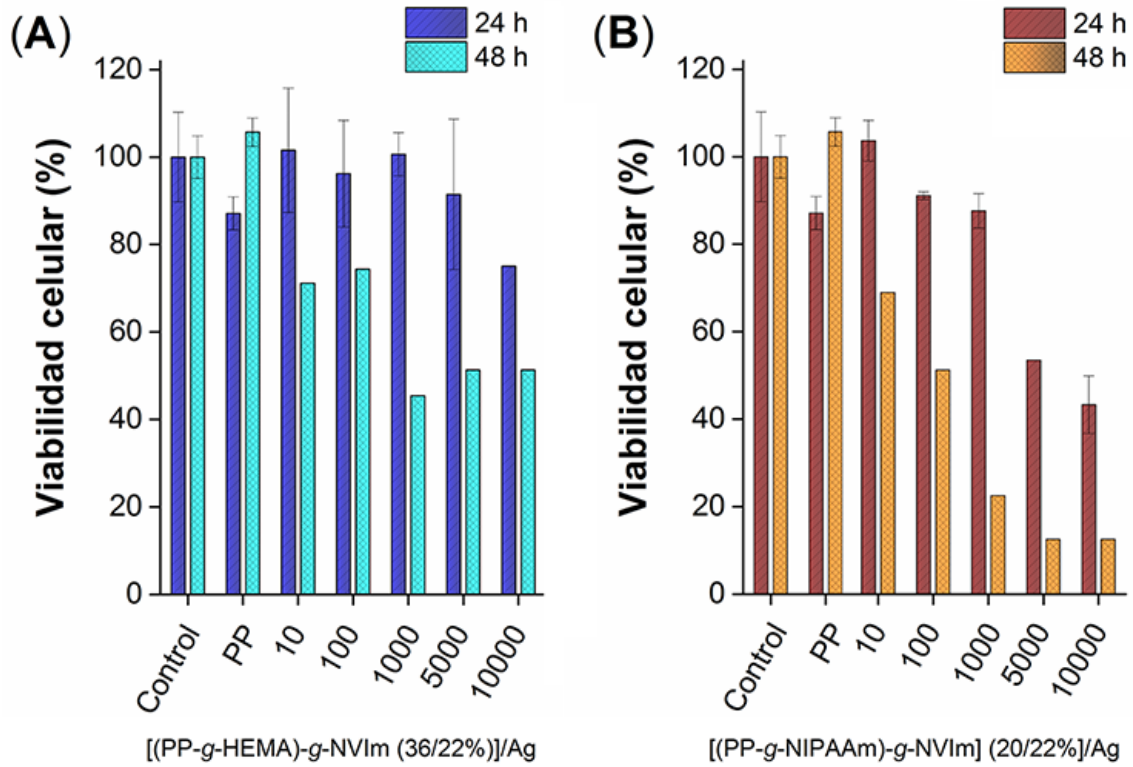
6.12 Viabilidad celular de las suturas cargadas con Ag

Una vez obtenidos los estudios de viabilidad celular de los injertos y halo de inhibición con los materiales derivados con Mel y Ag, se realizó un ensayo final para evaluar la viabilidad celular de las suturas cargas con Ag, ya que estas produjeron los mejores resultados de inhibición.

Los experimentos se realizaron con la Ag cargada a diferentes concentraciones de AgNO_3 (10-10 000 mg L⁻¹). Sobre las mismas líneas celulares BALB/3T3 que en los experimentos de citocompatibilidad anteriores. Con las mismas suturas utilizadas para determinar la capacidad inhibitoria, esto es con [(PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm (36/22%)]/Ag y [(PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm (20/22%)]/Ag. Estas suturas se escogieron porque poseen una composición porcentual por polímero similar, además de ser injertos moderados y funcionales, que es el objetivo ulterior de este trabajo.

Se realizó el ensayo WST-1 a 24 y 48 h de incubación; cuyos resultados mostraron una citocompatibilidad aceptable a las 24 h de incubación que disminuyó en todos los casos a las 48 h. El parámetro de viabilidad celular disminuyó en todas las muestras cargadas a mayor concentración de AgNO_3 . Por último, se observó mayor supervivencia celular con el copolímero de injerto [(PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm (36/22%)]/Ag lo cual implica mayor biocompatibilidad donde se suman los efectos de inhibición antimicrobiana combinados (**Gráfica 23**).

Estos resultados correlacionan la viabilidad de los hilos con Ag para ser utilizadas en especial para el injerto [(PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm (36/22%)]/Ag y similares, ya que engloba funcionalidad, actividad antimicrobiana y moderada biocompatibilidad.



Gráfica 23. Ensayo de viabilidad celular WST-1 con cultivos BALB/3T3 a 24 y 48 h de incubación. Con los hilos de sutura cargados con AgNO₃ 5000 mg L⁻¹.

Conclusiones

Los rayos gamma, como fuente de energía generadora de radicales libres, son una alternativa limpia, confiable, segura e invaluable para la síntesis de copolímeros de injerto con monómeros vinílicos, en este caso, sobre monofilamentos de PP.

Se estudiaron los procesos y las condiciones de reacción para la obtención de injertos adecuados, donde además de conservar las propiedades térmicas y mecánicas del PP original se adicionaron los grupos funcionales de los polímeros vinílicos; posteriormente, a los hilos se les añadieron propiedades antimicrobianas, a través de la carga o funcionalización.

Las suturas injertadas con NVIm y derivatizadas con Mel tuvieron resultados de inhibición moderados, mientras que el grupo de suturas cargadas con partículas de Ag, presentaron actividad antimicrobiana excepcional, mostrando mayores zonas de inhibición *in vitro* en cultivos de *E. coli* y *S. aureus*, principalmente las suturas de [(PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm (36/22%)]/Ag al obtener el mejor perfil de biocompatibilidad con una viabilidad celular por arriba del 50%.

Por lo tanto, es factible la modificación de hilos de sutura de PP para dotarlos con antimicrobianos y de esta manera volver más seguro el dispositivo durante el proceso de curación postoperatorio. Finalmente, las expectativas establecidas al inicio de la investigación, durante el planteamiento, experimentación y condensadas en el objetivo principal, han quedado cumplidas.

Bibliografía

- Abhari, R.E., Martins, J.A., Morris, H.L., Mouthuy, P.-A., Carr, A., 2017. Synthetic sutures: clinical evaluation and future developments. *J. Biomater. Appl.* 32, 410–421. doi:10.1177/0885328217720641
- Abou El-Nour, K.M.M., Eftaiha, A., Al-Warthan, A., Ammar, R.A.A., 2010. Synthesis and applications of silver nanoparticles. *Arab. J. Chem.* 3, 135–140. doi:10.1016/j.arabjc.2010.04.008
- Alexander, J.W., 2009. History of the medical use of silver. *Surg. Infect. (Larchmt)*. 10, 289–292. doi:10.1089/sur.2008.9941
- Almeida, H., Amaral, M.H., Lobão, P., 2012. Temperature and pH stimuli-responsive polymers and their applications in controlled and selfregulated drug delivery. *J. Appl. Pharm. Sci.* 2, 01–10. doi:10.7324/JAPS.2012.2609
- Anastas, P.T., Kirchhoff, M.M., 2002. Origins, current status, and future challenges of green chemistry. *Acc. Chem. Res.* 35, 686–694. doi:10.1021/ar010065m
- Anderson, E.B., Long, T.E., 2010. Imidazole- and imidazolium-containing polymers for biology and material science applications. *Polymer (Guildf)*. 51, 2447–2454. doi:10.1016/j.polymer.2010.02.006
- Barillo, D.J., Marx, D.E., 2014. Silver in medicine: a brief history BC 335 to present. *Burns* 40, S3–S8. doi:10.1016/j.burns.2014.09.009
- Bernstein, R., Thornberg, S.M., Assink, R.A., Mowery, D.M., Kathleen Alam, M., Irwin, A.N., Hochrein, J.M., Derzon, D.K., Klamo, S.B., Clough, R.L., 2007. Insights into oxidation mechanisms in gamma-irradiated polypropylene, utilizing selective isotopic labeling with analysis by GC/MS, NMR and FTIR. *Nucl. Instruments Methods Phys. Res. Sect. B Beam Interact. with Mater. Atoms* 265, 8–17. doi:10.1016/j.nimb.2007.08.100
- Borowiecki, P., Milner-Krawczyk, M., Brzezińska, D., Wielechowska, M.,

- Plenkiewicz, J., 2013. Synthesis and antimicrobial activity of imidazolium and triazolium chiral ionic liquids. *European J. Org. Chem.* 712–720. doi:10.1002/ejoc.201201245
- Caimmi, P.P., Sabbatini, M., Fusaro, L., Borrone, A., Cannas, M., 2016. A study of the mechanical properties of ePTFE suture used as artificial mitral chordae. *J. Card. Surg.* 31, 498–502. doi:10.1111/jocs.12799
- Caner, H., Yilmaz, E., Yilmaz, O., 2007. Synthesis, characterization and antibacterial activity of poly(N-vinylimidazole) grafted chitosan. *Carbohydr. Polym.* 69, 318–325. doi:10.1016/j.carbpol.2006.10.008
- Chapiro, A., 1962. Radiation chemistry of polymeric systems, 1st ed, *Journal of Polymer Science Part A: General Papers*. John Wiley & Sons, Inc., New York. doi:10.1002/pol.1963.100010646
- Chernousova, S., Epple, M., 2013. Silver as antibacterial agent: ion, nanoparticle, and metal. *Angew. Chemie Int. Ed.* 52, 1636–1653. doi:10.1002/anie.201205923
- Dennis, C., Sethu, S., Nayak, S., Mohan, L., Morsi, Y., Manivasagam, G., 2016. Suture materials — Current and emerging trends. *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 104, 1544–1559. doi:10.1002/jbm.a.35683
- Docherty, K.M., Kulpa, Jr., C.F., 2005. Toxicity and antimicrobial activity of imidazolium and pyridinium ionic liquids. *Green Chem.* 7, 185–189. doi:10.1039/b419172b
- Ebrahimi, S., Dabiri, N., Jamshidnejad, E., Sarkari, B., 2007. Efficacy of 10% silver nitrate solution in the treatment of common warts: a placebo-controlled, randomized, clinical trial. *Int. J. Dermatol.* 46, 215–217. doi:10.1111/j.1365-4632.2007.02955.x
- Eisch, J.J., 2012. Fifty Years of Ziegler–Natta polymerization: from serendipity to science. A personal account. *Organometallics* 31, 4917–4932.

doi:10.1021/om300728h

Franci, G., Falanga, A., Galdiero, S., Palomba, L., Rai, M., Morelli, G., Galdiero, M., 2015. Silver nanoparticles as potential antibacterial agents. *Molecules* 20, 8856–8874. doi:10.3390/molecules20058856

García-Vargas, M., González-Chomón, C., Magariños, B., Concheiro, A., Alvarez-Lorenzo, C., Bucio, E., 2014. Acrylic polymer-grafted polypropylene sutures for covalent immobilization or reversible adsorption of vancomycin. *Int. J. Pharm.* 461, 286–295. doi:10.1016/j.ijpharm.2013.11.060

Goel, A., 2016. Surgical sutures - A review. *Delhi J. Ophthalmol.* 159–162. doi:10.7869/djo.161

Goggin, R., Jardeleza, C., Wormald, P.-J., Vreugde, S., 2014. Colloidal silver: a novel treatment for *Staphylococcus aureus* biofilms? *Int. Forum Allergy Rhinol.* 4, 171–175. doi:10.1002/alr.21259

Gupta, B., Jain, R., Anjum, N., Singh, H., 2004. Preparation of antimicrobial sutures by preirradiation grafting of acrylonitrile onto polypropylene monofilament. III. Hydrolysis of the grafted suture. *J. Appl. Polym. Sci.* 94, 2509–2516. doi:10.1002/app.21211

Gupta, B., Jain, R., Singh, H., 2008. Preparation of antimicrobial sutures by preirradiation grafting onto polypropylene monofilament. *Polym. Adv. Technol.* 19, 1698–1703. doi:10.1002/pat.1146

Gupta, V., Kant, V., 2013. A Review on biological activity of imidazole and thiazole moieties and their derivatives. *Sci. Int.* 1, 253–260. doi:10.17311/sciintl.2013.253.260

Guragain, S., Bastakoti, B.P., Malgras, V., Nakashima, K., Yamauchi, Y., 2015. Multi-stimuli-responsive polymeric materials. *Chem. - A Eur. J.* 21, 13164–13174. doi:10.1002/chem.201501101

Hada, H., Yonezawa, Y., Yoshida, A., Kurakake, A., 1976. Photoreduction of silver

- ion in aqueous and alcoholic solutions. *J. Phys. Chem.* 80, 2728–2731. doi:10.1021/j100566a003
- Ho, C.H., Odermatt, E.K., Berndt, I., Tiller, J.C., 2013. Long-term active antimicrobial coatings for surgical sutures based on silver nanoparticles and hyperbranched polylysine. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 24, 1589–1600. doi:10.1080/09205063.2013.782803
- Hoshino, S., Yoshida, Y., Tanimura, S., Yamauchi, Y., Noritomi, T., Yamashita, Y., 2013. A study of the efficacy of antibacterial sutures for surgical site infection: a retrospective controlled trial. *Int. Surg.* 98, 129–132. doi:10.9738/CC179
- Inselman, A.L., Nolen, G.T., Chang, C., Harrouk, W., Fisher, E., Tassinari, M.S., Hansen, D.K., 2013. Reevaluation of the embryonic stem cell test. *Int. J. Regul. Sci.* 1, 32–49.
- Jain, R., Gupta, B., Anjum, N., Revagade, N., Singh, H., 2004. Preparation of antimicrobial sutures by preirradiation grafting of acrylonitrile onto polypropylene monofilament. II. Mechanical, physical, and thermal characteristics. *J. Appl. Polym. Sci.* 93, 1224–1229. doi:10.1002/app.20543
- Jung, W.K., Koo, H.C., Kim, K.W., Shin, S., Kim, S.H., Park, Y.H., 2008. Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 2171–2178. doi:10.1128/AEM.02001-07
- Kathju, S., Nistico, L., Hall-Stoodley, L., Post, J.C., Ehrlich, G.D., Stoodley, P., 2009. Chronic surgical site infection due to suture-associated polymicrobial biofilm. *Surg. Infect. (Larchmt)*. 10, 457–461. doi:10.1089/sur.2008.062
- Kawamura, Y., 2004. Effects of gamma irradiation on polyethylene, polypropylene, and polystyrene, in: Komolprasert, V., Morehouse, K.M. (Eds.), *Irradiation of Food and Packaging*, ACS Symposium Series. American Chemical Society, Washington DC, pp. 262–276. doi:10.1021/bk-2004-0875.ch016

- Klasen, H.J., 2000. Historical review of the use of silver in the treatment of burns. I. Early uses. *Burns* 26, 117–130. doi:10.1016/S0305-4179(99)00108-4
- Kumari, M., Gupta, B., Ikram, S., 2012. Characterization of N-isopropyl acrylamide/acrylic acid grafted polypropylene nonwoven fabric developed by radiation-induced graft polymerization. *Radiat. Phys. Chem.* 81, 1729–1735. doi:10.1016/j.radphyschem.2012.05.018
- Li, X., Shamsi-Jazeyi, H., Pesek, S.L., Agrawal, A., Hammouda, B., Verduzco, R., 2014. Thermoresponsive PNIPAAm bottlebrush polymers with tailored side-chain length and end-group structure. *Soft Matter* 10, 2008–15. doi:10.1039/c3sm52614c
- Maddah, H.A., 2016. Polypropylene as a promising plastic : a review. *Am. J. Polym. Sci.* 6, 1–11. doi:10.5923/j.ajps.20160601.01
- Manikandan, V., Velmurugan, P., Park, J.-H., Chang, W.-S., Park, Y.-J., Palaniyappan, J., Cho, M., Oh, B.-T., 2017. Green synthesis of silver oxide nanoparticles and its antibacterial activity against dental pathogens. *3 Biotech.* 7, 72–80. doi:10.1007/s13205-017-0670-4
- Marx, D.E., Barillo, D.J., 2014. Silver in medicine: the basic science. *Burns* 40, S9–S18. doi:10.1016/j.burns.2014.09.010
- McCann, M., Curran, R., Ben-Shoshan, M., McKee, V., Devereux, M., Kavanagh, K., Kellett, A., 2013. Synthesis, structure and biological activity of silver(I) complexes of substituted imidazoles. *Polyhedron* 56, 180–188. doi:10.1016/j.poly.2013.03.057
- Meléndez-Ortiz, H.I., Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., Jiménez-Páez, V.M., Bucio, E., 2016. Modification of medical grade PVC with N-vinylimidazole to obtain bactericidal surface. *Radiat. Phys. Chem.* 119, 37–43. doi:10.1016/j.radphyschem.2015.09.014
- Meléndez-Ortiz, H.I., Burillo, G., Bucio, E., 2015. Aplicaciones de radiación gamma

y UV para el injerto molecular y el diseño de matrices para aplicaciones terapéuticas, in: de Sousa, H., Braga, M.E.M., Sosnik, A. (Eds.), *Biomateriales Aplicados Al Diseño de Sistemas Terapéuticos Avanzados*. Imprensa da Universidade de Coimbra, Coimbra, pp. 453–484. doi:10.14195/978-989-26-0881-5_11

Melendez-Ortiz, H.I., Díaz-Rodríguez, P., Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., Bucio, E., 2014. Binary graft modification of polypropylene for anti-inflammatory drug-device combo products. *J. Pharm. Sci.* 103, 1269–1277. doi:10.1002/jps.23903

Miller-Chou, B.A., Koenig, J.L., 2003. A review of polymer dissolution. *Prog. Polym. Sci.* 28, 1223–1270. doi:10.1016/S0079-6700(03)00045-5

Montheard, J.-P., Chatzopoulos, M., Chappard, D., 1992. 2-Hydroxyethyl methacrylate (HEMA): chemical properties and applications in biomedical fields. *J. Macromol. Sci. Part C* 32, 1–34. doi:10.1080/15321799208018377

Mudassir, M.A., Hussain, S.Z., Rehman, A., Zaheer, W., Asma, S.T., Jilani, A., Aslam, M., Zhang, H., Ansari, T.M., Hussain, I., 2017. Development of silver-nanoparticle-decorated emulsion-templated hierarchically porous poly(1-vinylimidazole) beads for water treatment. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 9, 24190–24197. doi:10.1021/acsami.7b05311

Ramírez-Jiménez, A., Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., Bucio, E., 2012. Radiation-grafting of 2-hydroxyethylmethacrylate and oligo (ethylene glycol) methyl ether methacrylate onto polypropylene films by one step method. *Radiat. Phys. Chem.* 81, 27–32. doi:10.1016/j.radphyschem.2011.09.002

Reyes, J., Albano, C., Davidson, E., Poleo, R., González, J., Ichazo, M., Chipara, M., 2001. Effects of gamma irradiation on polypropylene, polypropylene + high density polyethylene and polypropylene + high density polyethylene + wood flour. *Mater. Res. Innov.* 4, 294–300. doi:10.1007/s100190000104

Riduan, S.N., Yuan, Y., Zhou, F., Leong, J., Su, H., Zhang, Y., 2016. Ultrafast killing and self-gelling antimicrobial imidazolium oligomers. *Small* 12, 1928–1934.

doi:10.1002/sml.201600006

- Rothenburger, S., Spangler, D., Bhende, S., Burkley, D., 2002. In vitro antimicrobial evaluation of coated VICRYL* plus antibacterial suture (coated polyglactin 910 with triclosan) using zone of inhibition assays. *Surg. Infect. (Larchmt)*. 3, s79–s87. doi:10.1089/sur.2002.3.s1-79
- Saxena, S., Ray, A.R., Kapil, A., Pavon-Djavid, G., Letourneur, D., Gupta, B., Meddahi-Pellé, A., 2011. Development of a new polypropylene-based suture: plasma grafting, surface treatment, characterization, and biocompatibility studies. *Macromol. Biosci*. 11, 373–382. doi:10.1002/mabi.201000298
- Siddiqui, M.N., Redhwi, H.H., Tsagakias, I., Softas, C., Ioannidou, M.D., Achilias, D.S., 2016. Synthesis and characterization of poly(2-hydroxyethyl methacrylate)/silver hydrogel nanocomposites prepared via in situ radical polymerization. *Thermochim. Acta* 643, 53–64. doi:10.1016/j.tca.2016.09.017
- Silverstein, R.M., Webster, F.X., Kiemle, D.J., 2005. Spectrometric identification of organic compounds, 7th ed. John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey. doi:10.1016/0022-2860(76)87024-X
- Snyder, C.C., 1976. On the history of the suture. *Plast. Reconstr. Surg.* 58, 401–406. doi:10.1097/00006534-197610000-00001
- Stuart, M.A.C., Huck, W.T.S., Genzer, J., Muller, M., Ober, C., Stamm, M., Sukhorukov, G.B., Szleifer, I., Tsukruk, V. V, Urban, M., Winnik, F., Zauscher, S., Luzinov, I., Minko, S., 2010. Emerging applications of stimuli-responsive polymer materials. *Nat. Mater.* 9, 101–113. doi:10.1038/nmat2614
- Studer, A., Curran, D.P., 2016. Catalysis of radical reactions: a radical chemistry perspective. *Angew. Chemie Int. Ed.* 55, 58–102. doi:10.1002/anie.201505090
- Sun, H., Xie, L., 2013. An introduction of structure, synthesis and safety concerning polypropylene application, in: Silva, L.P., Barbosa E. F. (Eds.), *Polypropylene*. Nova Sciences Publishers, Inc., New York, pp. 1–10.

- Takafuji, M., Ide, S., Ihara, H., Xu, Z., 2004. Preparation of poly(1-vinylimidazole)-grafted magnetic nanoparticles and their application for removal of metal ions. *Chem. Mater.* 16, 1977–1983. doi:10.1021/cm030334y
- Tan, S., Erol, M., Attygalle, A., Du, H., Sukhishvili, S., 2007. Synthesis of positively charged silver nanoparticles via photoreduction of AgNO₃ in branched polyethyleneimine/HEPES solutions. *Langmuir* 23, 9836–9843. doi:10.1021/la701236v
- Wei, M., Gao, Y., Li, X., Serpe, M.J., 2017. Stimuli-responsive polymers and their applications. *Polym. Chem.* 8, 127–143. doi:10.1039/C6PY01585A
- Williams, J.L., 1991. Stability of polypropylene to gamma irradiation, in: Clough, R.L., Shalaby, S.W. (Eds.), *Radiation Effects on Polymers*, ACS Symposium Series. American Chemical Society, Washington DC, pp. 554–568. doi:10.1021/bk-1991-0475.ch035
- Yin, L., Wei, Y., Wang, Y., Xu, Y., Yang, Y., 2013. Long term and standard incubations of WST-1 reagent reflect the same inhibitory trend of cell viability in rat airway smooth muscle cells. *Int. J. Med. Sci.* 10, 68–72. doi:10.7150/ijms.5256
- Zavala-Lagunes, E., Ruiz, J.C., Varca, G.H.C., Bucio, E., 2016. Synthesis and characterization of stimuli-responsive polypropylene containing N-vinylcaprolactam and N-vinylimidazole obtained by ionizing radiation. *Mater. Sci. Eng. C* 67, 353–361. doi:10.1016/j.msec.2016.05.044
- Zhang, X.-F., Liu, Z.-G., Shen, W., Gurunathan, S., 2016. Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. *Int. J. Mol. Sci.* 17, 1534–1567. doi:10.3390/ijms17091534

Anexo de publicaciones

Achieving antimicrobial activity through poly(*N*-methylvinylimidazolium) iodide brushes on binary-grafted polypropylene suture threads

F. López-Saucedo, G.G. Flores-Rojas, and E. Bucio, Department of Radiation Chemistry and Radiochemistry, Instituto de Ciencias Nucleares, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, CDMX 04510, México
C. Alvarez-Lorenzo and A. Concheiro, Department of Pharmacology, Pharmacy, and Pharmaceutical Technology, R+DPharma Group (GI-1645), Facultad de Farmacia, Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela 15782, España
O. González-Antonio, Department of Organic Chemistry, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, CDMX 04510, México

Address all correspondence to F. López-Saucedo and E. Bucio at felipelopezsaucedo@gmail.mx; ebucio@nucleares.unam.mx

(Received 29 September 2017; accepted 16 October 2017)

Abstract

Harnessing the properties of imidazolium species, antimicrobial activity against Gram-negative and Gram-positive bacteria was attained by binary-grafting 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) or *N*-isopropylacrylamide, followed by *N*-vinylimidazole onto polypropylene (PP) monofilaments (sutures) using ^{60}Co γ -rays. Ulterior functionalization with methyl iodide was carried out to endow brushes with antimicrobial activity on the PP surface. The PP-grafted sutures were characterized by means of Fourier-transform infrared spectroscopy attenuated total reflection, scanning electron microscopy, differential scanning calorimetry, and thermogravimetric analysis, and regarding the mechanical properties and the responsiveness to pH and temperature. Tests were performed on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* achieving large inhibition zones.

Introduction

There are currently a wide variety of polymers that exhibit specific characteristics of thermal and chemical stability, ductility, hardness, strength, elasticity, etc., which makes them useful in the manufacture of many products from daily use to highly specialized applications.^[1] In this regard, materials that modify their behavior in response to a small change of their environment, e.g. temperature, pH, light, electricity, or magnetism are receiving increasing interest.^[2] To achieve multi-responsiveness grafting, blends, or composites that combine two or more different polymer blocks are usually required.^[3] Stimuli-responsive materials already find a variety of applications and quite different examples can be found in the literature.^[4,5]

In the biomedical field, stimuli-responsive materials have open the possibility of developing: (a) biosensors that monitor in real time the health conditions of the patients for a more accurate diagnosis; (b) drug dosage forms and nanocarriers that can precisely regulate the release as a function of tiny changes in the cells environment; and (c) theranostic devices that perform diagnosis, therapy and monitoring functions in a single entity.^[6,7] Additionally, implantable medical devices that typically exhibit inert behavior (e.g. prosthesis, sutures, catheters, etc.) may strongly benefit from responsive polymers that may pave the way for the design of personalized delivery systems and medical devices, which regulate the adhesion control of host cells and microorganisms or allow for a prolonged site-specific release of therapeutic agents.

In the case of medical devices, grafting of responsive polymers onto the surface is a suitable option to communicate novel performances.^[8,9] The growth of the polymer chain can occur “from” the surface of the device, or a preformed polymer can be grafted “to” the device. In either case, the grafting may be triggered using chemical initiators or radiation [i.e. γ ^[10] or ultraviolet^[11]], and it can occur at selected portions or regions of the device^[12] generating materials with tailored surface or bulk. Polypropylene (PP) is a common component of medical devices,^[13] particularly in suture threads, as well as of other wide variety of products for industrial processes and final consumers. Polyvinylimidazole (PNVIm) is a pH-responsive polymer with bacteriostatic properties, which may help to prevent health-care-associated infections.^[14] Attempts to graft *N*-vinyl imidazole (NVIm) onto an aliphatic substrate, such as PP, usually leads to low yields,^[15] hindering the full development of NVIm properties. Indeed, to provide antimicrobial features, PNVIm at low-grafting levels has been exploited to endow PP sutures with reversible binding points for a variety of antimicrobial drugs.^[16] Antimicrobial surfaces that rely on hybrid materials and avoid the use of antibiotic molecules are receiving increasing attention as a way of minimizing the risk of triggering resistances.^[17,18] Compared with other techniques for surface functionalization, radiation chemistry has the advantage of endowing the material surface with covalently bonded contact-killing polymers under milder conditions that can be easily scaled-up.^[10]

The aim of this work was to implement a grafting approach that can improve the yield of PNVIIm onto PP monofilaments. To do that, first γ -ray exposed PP monofilaments were treated with acrylic monomers to create brushes of hydrophilic 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) or temperature-responsive *N*-isopropylacrylamide (NIPAAm).^[19] The brushes served in a second step as support for the grafting of NVIm. Computational studies were carried out to gain an insight into the radical species that are thermodynamically favored and involved into the mechanism of grafting polymerization. Computational studies have been applied to screen functional monomers regarding their interactions with drugs,^[20] to predict the properties of biomaterials and the biologic responses,^[21] or to simulate radiation transport through biomaterial mimicking human tissues.^[22] There is an increasing interest in applying computational modeling to the study of the thermodynamics and kinetics of different radical species as a tool to predict polymerization mechanisms and architecture of the resultant polymers.^[23] However, the studies on binary grafting are still scarce,^[24] and thus one of our aims is to shed light on the energy of formation of radicals that may be involved in the propagation reaction during NVIm grafting onto PP-g-HEMA and PP-g-NIPAAm.

Responsiveness to pH and temperature was measured as an index of the success of the grafting process. Series of the two binary grafted copolymers (PP-g-HEMA)-g-NVIIm and (PP-g-NIPAAm)-g-NVIIm were characterized using Fourier-transform infrared spectroscopy attenuated total reflection (FTIR-ATR), scanning electron microscopy (SEM), differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetric analysis (TGA), and recording the mechanical properties. Additional studies were cytocompatibility and antimicrobial against both Gram-negative (*Escherichia coli*) and Gram-positive (*Staphylococcus aureus*) bacteria, using the samples with and without quaternization of imidazole groups with methyl iodide (MeI) as an enhancer of antimicrobial activity without compromising cytocompatibility.

Experimental

Materials

Reagents methyl iodide (99%), NIPAAm (97%), HEMA (98%), and NVIm (99%) were purchased from Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). NIPAAm was purified by crystallization with toluene/hexane 50/50 vol%. Monomers HEMA and NVIm were purified by vacuum distillation. PP monofilaments (Atramat 1 USP suture threads) were supplied by Internacional Farmacéutica Co (Mexico). Ethanol, toluene, *n*-hexane, boric acid, citric acid, trisodium orthophosphate 12 H₂O, and phosphate buffer solution (PBS) were from Baker (Mexico City, Mexico). Fibroblast cells (BALB/3T3; ATCC CCI-163TM), *S. aureus* (ATCC 25923) and *E. coli* (ATCC 25922) were from the American Type Culture Collection (Manassas, VA, USA). Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DME)/Ham's Nutrient Mixture F-12 (DMEM F12 HAM), fetal bovine serum (FBS) and Müller-Hinton agar were purchased from Aldrich Chemical Co. (St. Louis MO, USA).

Synthesis of PP-g-HEMA and PP-g-NIPAAm

PP monofilaments (10 cm length) were weighed, and placed into glass ampoules, and exposed to γ -rays using a ⁶⁰Co source (Gammabeam 651-PT) in the presence of oxygen from air with different irradiation doses.

After the pre-irradiation, 6 mL of NIPAAm or HEMA solution in toluene with a concentration 1.5 and 1 mol L⁻¹ was added to the ampoules, which were then degassed by repeated freeze-thaw cycles (three times per 10 min), sealed at vacuum and placed in a water bath at a given temperature and time (Table S1). Once the reaction time was completed, the copolymers PP-g-HEMA and PP-g-NIPAAm were washed in a mixture of water/ethanol 50/50 vol%, under stirring for 24 h. The product was dried in a vacuum oven at 60 °C for 24 h. Toluene was chosen because it is a good solvent for the monomers, swells PP without dissolution and could be easily removed with ethanol.

Grafting percentage was calculated from the weight of pristine (W_0) and grafted (W_g) monofilament as follows in Eq. (1):

$$\text{Grafting (\%)} = 100 [(W_g - W_0)/W_0]. \quad (1)$$

Synthesis of binary grafting with NVIm

The second grafting with NVIm was carried out using pieces of pristine PP, and PP-g-HEMA and PP-g-NIPAAm with different grafting degree. The monofilaments were weighed and placed into glass ampoules with NVIm solutions (6 mL) with different concentrations of toluene. The ampoules were degassed by repeated freeze-thaw cycles (three times per 10 min), sealed at vacuum and irradiated at different doses. Afterwards the glass ampoules were opened, and the grafted monofilaments were washed and dried using the procedure described above. Grafting degree was calculated according to Eq. (1). Reaction conditions of NVIm grafting are specified in Table S2.

Computational methods

All computational calculations were carried out on the Gaussian 09 software and consisted of the following:

- I. An oligomeric portion of the graft was calculated inferring the electronic and chemical structure remain considerably constant along the polymeric graft as the spectroscopic analysis evidenced, given linear polymeric chains in the grafting polymerization;^[25] this helps considering an oligomeric portion to be representative of a macromolecular section.
- II. PM6 and PM3 semiempirical methods were applied to perform the calculations for NIPAAm and HEMA, respectively, knowing previous evidence of this kind of computational approach have been used for such systems.^[26]
- III. Based on the importance of including in a theoretical study the solvent for the polymerization reaction as reported by De Sterck et al.,^[27] the PCM (Polarizable Continuum Model) was used.

IV. Through a chemically intuitive criterion, the four most likely radical species for each system were considered and their total energies were calculated, establishing thus what species would be thermodynamically favored and more probable to start the reaction with the imidazole derivative.

Swelling tests

Pieces (10 cm) of grafted sutures were placed in flasks containing distilled water. The swelling test was carried out at 25 °C and the degree of swelling was monitored weighting the suture pieces at different time intervals up to 24 h. Additionally, swelling of PP-g-NIPAAm copolymers was measured at different temperatures from 6 to 55 °C for determination of lower critical solution temperature (LCST). Critical pH of (PP-HEMA)-g-NVIm and (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm was determined to record the swelling in phosphate buffers covering from pH 2 to 12. The degree of swelling was calculated as follows in Eq. (2):

$$\text{Swelling (\%)} = 100 [(W_s - W_d)/W_d], \quad (2)$$

where W_s and W_d represent the weights of the swelled and the dried grafted suture, respectively.

The data were processed to calculate LCST and pH critical point using Boltzmann function in Origin Pro 9 software.

Characterization of grafted sutures

FTIR-ATR spectra of pristine and modified sutures were recorded on a Perkin-Elmer Spectrum 100 spectrometer (Perkin Elmer Cetus Instruments, Norwalk, CT) with 16 scans. Thermal decomposition was monitored by TGA under a nitrogen atmosphere from 25 to 800 °C at a heating rate of 10 °C min⁻¹ in a TGA Q50 (TA Instruments, New Castle, DE). DSC analysis were carried out under nitrogen atmosphere using a DSC 2010 calorimeter (TA Instruments, New Castle, DE) from 25 to 350 °C at a heating rate of 10 °C min⁻¹. SEM images of the surface and transversal cut of the filaments after being swollen in water and freeze-dried were recorded using Zeiss EVO LS15 (Germany) apparatus.

Tensile stress-strain plots and force at failure

Tests were carried out as described previously using a computer-controlled TA-TX Plus Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, UK) and 30 kg load cell.^[15] In each test, a piece of suture was firmly fixed in the lower and the upper grips (initial gap 55 mm). Then, the stress-strain (elongation) curve of the suture was recorded while subjected to uniaxial tension at a rate of 0.5 mm s⁻¹ until failure. The tensile stress and elongation at rupture and the work of resilience (area under the curve until rupture) were calculated.^[28]

Quaternization: formation of methylimidazolium iodide

Pieces of PP and the grafted monofilaments (PP-g-HEMA)-g-NVIm and (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm were placed inside

ampoules containing MeI solutions (5, 20, 50, and 100 vol%) in toluene. The ampoules were sealed and incubated at 40 °C for 24 h. Then, the monofilaments were soaked in toluene and dried in a vacuum oven at 60 °C for 24 h. Samples were stored at room temperature.

Cytocompatibility

Sutures were cut in 5 mm length pieces and immersed in PBS overnight. Then, they were sterilized under UV light for 30 min. Balb/3T3 were seeded in 96-well plates (20000 cells/well in 200 µL of complete culture medium containing 89% DMEM F12 HAM, 10% FBS and 1% penicillin/streptomycin) and allowed to attach for 24 h in a humidified atmosphere with 5% CO₂, 90% RH at 37 °C. Then, suture pieces were placed individually in the wells and cultured for 48 h. Cells cultured in complete culture medium without suture were used as negative control. At 24 and 48 h of culture, the medium was discarded and 100 µL of fresh medium was placed in each well. Then, 10 µL of 10× AlamarBlue[®] cell viability reagent (ThermoFisher, USA) were added to each well and incubated in darkness at 37 °C for 4 h. Finally, the absorbance was read at 570 nm in a microplate reader (BioRad model 680, USA). Absorbance of the negative control was referred as 100% viability and the cell viability recorded in the presence of the suture pieces was referred to that value.

Microbiological tests

Petri plates containing Müller-Hinton agar were seeded with *S. aureus* ATCC 25923 (2.8·10⁸ CFU mL⁻¹) or *E. coli* ATCC 25922 (3.4·10⁸ CFU mL⁻¹). Pieces (1 cm) of pristine PP and all grafted monofilaments, as such and after treatment with MeI were soaked overnight in sterile PBS, dried and then placed in the plates. Then, the plates were incubated at 37 °C for 24 h and the zones of inhibition were measured (perpendicularly to the monofilament).

Results and discussion

Modification of PP by means of grafting of HEMA, NIPAAm, or NVIm in separate has been previously reported.^[15] The present work is focused on binary grafting in which PP was first grafted with either HEMA or NIPAAm in order that the grafted chains facilitated the grafting of NVIm in a subsequent step. The obtained (PP-HEMA)-g-NVIm and (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm were then characterized in detail.

Grafting

PP-g-HEMA and PP-g-NIPAAm were prepared covering a wide range of grafting percentages, these intermediates are important because the direct grafting of NVIm onto PP is difficult and the NVIm grafting ratio is decisive in the antibacterial activity. After simultaneous γ irradiation of NVIm in the second step (direct method) some tendencies were found, firstly the amount of NVIm grafted was positively correlated with the degree of HEMA or NIPAAm in the first step [Fig. 1(a)]. The reaction conditions were tuned at low-dose exposure and

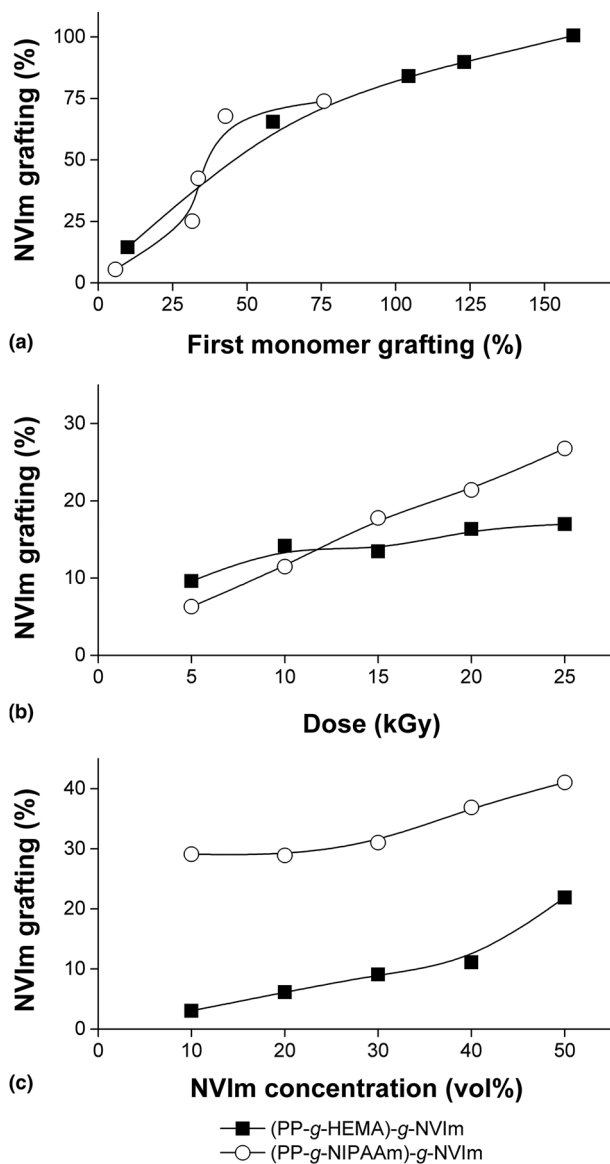


Figure 1. Grafting studies of NVIm: PP-g-HEMA and PP-g-NIPAAm. (a) Influence of the initial grafting percentage, total dose of 25/30 kGy and 50 vol% NVIm in toluene; (b) effect of absorbed dose during NVIm grafting onto PP-g-HEMA (19%) and PP-g-NIPAAm (34%) (first step grafting dose was 15 kGy) using 50 vol% NVIm in toluene; (c) effect of NVIm concentration during grafting onto (PP-g-HEMA) (51%) and PP-g-NIPAAm (53%) for total dose of 20/20 kGy for each grafting.

a total percentage of grafting below 100% to keep mechanical properties like pristine PP. Otherwise, monofilament structure and the mechanical properties became altered and its functionality spoilt. For this reason, PP-g-HEMA and PP-g-NIPAAm monofilaments were exposed to absorbed doses in the range of 5–25 kGy [Fig. 1(b)]. Under these conditions, the grafting of NVIm from PP-g-HEMA (19%) attained values of 10–17%, while from PP-g-NIPAAm (34%) varied between 6% and 27%. For a fix dose of 20 kGy, the effect of NVIm/toluene vol/vol ratio of the grafting percentage was evaluated, as the

NVIm concentration increased from 10 to 50 vol% the percentage of grafting increased from 3% to 22% for PP-g-HEMA (51%) and from 29% to 41% for PP-g-NIPAAm (53%) [Fig. 1(c)]. Thus, a positive correlation of the grafting percentage on the NVIm concentration was also found.

Overall, these findings indicate that the first grafting of PP with HEMA and NIPAAm chains notably favors the subsequent grafting of NVIm, and it is possible to prepare monofilaments having similar percentages in both grafted polymers. Also, a small increment in the diameter of the monofilaments functionalized with higher grafting percentages was observed (Table S3), which suggests that the grafting mainly occurred on the surface. To gain an insight into this point, SEM images of the surface and transversal cut of the threads were recorded. The images of binary grafts with low percentages of grafting [Fig. 2(a)] maintained the smooth surface of pristine PP monofilaments [Figs. 2(b) and 2(c)]. Differently, highly grafted monofilaments showed deposits on the surface, in the case of (PP-g-HEMA)-g-NVIm (104/84%) [Figs. 2(d) and 2(e)], and grafting in bulk was observed for (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm (76/74%) [Figs. 2(f) and 2(g)].

Computational study

Computational studies were carried out to identify the most likely radical species that could be formed on PP-g-HEMA and PP-g-NIPAAm and to compare their total energies. Computed energy values and structure of the different studied molecules are compared in Fig. 3. In the case of PP-g-NIPAAm, the radical species that would result in higher thermodynamic stability and, therefore, more plausible formation, was the one that has the radical located on the “isopropyl” portion of the terminal NIPAAm. Alpha and beta positions relative to the amide carbonyl (iii and ii, respectively) are 11.2 and 12.7 kcal mol⁻¹ above the minimum-energy radical, rendering them too distant to be favored during the radical formation. The radical formed on the amidic nitrogen (i) would be the least probable entity to reach formation, since it requires 28.8 kcal mol⁻¹ above the minimum. Molecular orbital contour plot shows that the lowest energy radical is stabilized via π -delocalization from the isopropyl through the amide, which is well known to be also π -delocalized, which yields the low-energy state as a result.

On the other hand, for PP-g-HEMA, the energetic of formation of radical species is quite different, showing a relative minimum when the radical is formed on the α position of the ester carbonyl. Nonetheless, it could not be ruled out that the α position from the ester oxygen and the alpha position from the hydroxyl group, with only 3.5 kcal mol⁻¹ above the minimum, are also formed during the reaction (v and vi, respectively). The stabilization of the lowest energy radical species comes from the heavy contribution of the π -delocalization of the radical-bearing carbon and the two oxygen atoms from the ester system (see molecular orbital contour plot; Figure 3). An equally stabilizing delocalization would be expected in the other two near states. However, a non-negligible delocalization component is set by the hyperconjugation with the adjacent carbon-carbon

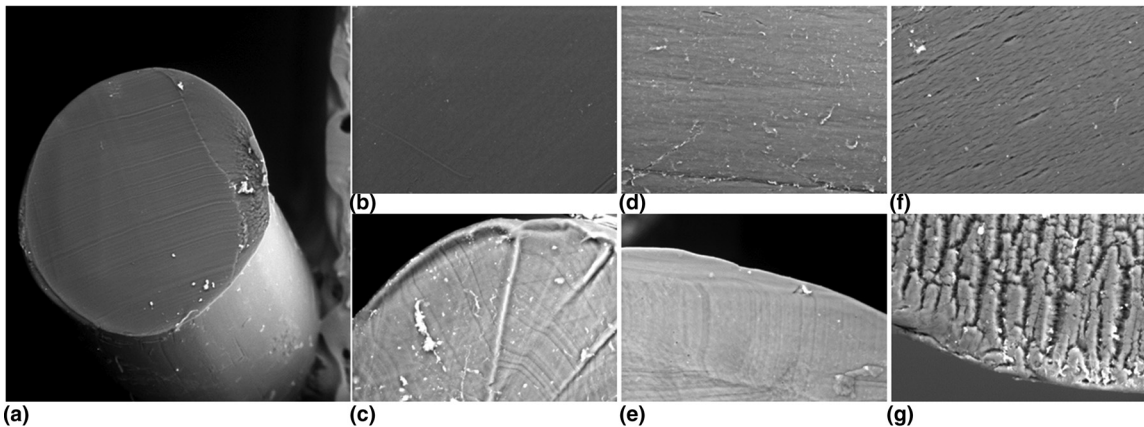


Figure 2. SEM images of (a) (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm (6/5%) augmented 200x; surface (up) and transversal cut (down) respectively of: (b, c) pristine PP; (d, e) (PP-g-HEMA)-g-NVIm (104/84%); (f, g) (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm (76/74%) augmented 1000x.

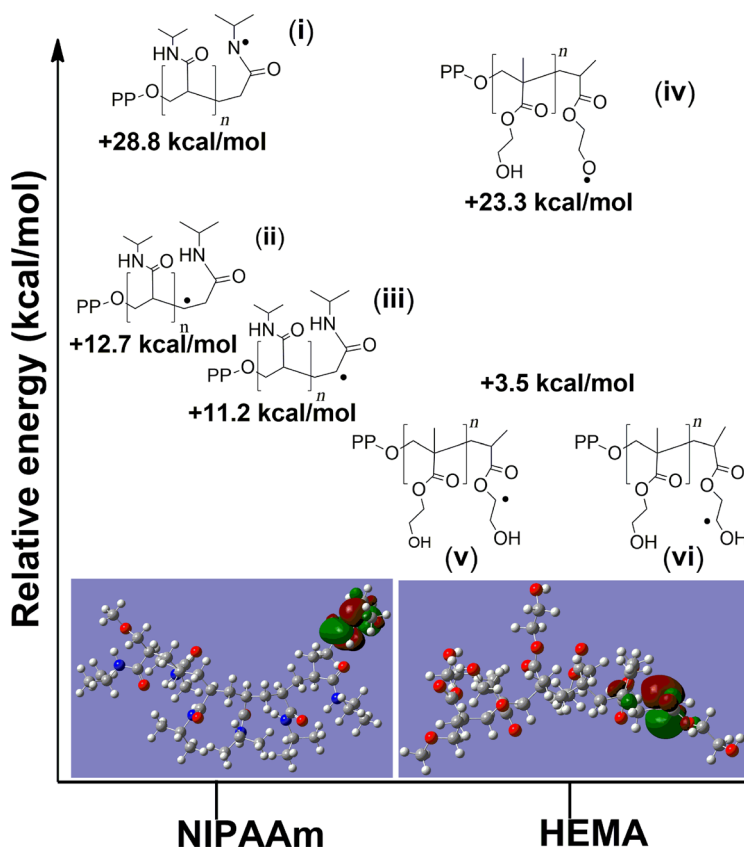


Figure 3. Calculated relative total energy for the most plausible radical species for both grafts and molecular orbital contour plots for the found minima; proposed NIPAAm (i, ii, iii), and HEMA (iv, v, vi) radical fragments.

bond (beta methylene from the ester and the quaternary carbon joining two monomers). This effect could be the chief selection rule to determine the favored position for the polymerization reaction, which differentiates the plausibility of formation for the two

near species. The hydroxy-terminal radical (iv) in the HEMA graft is the one with the highest energy, $23.3 \text{ kcal mol}^{-1}$ above the minimum, and thus the growth of PNVIIm chain from this radical is not expected to occur.

Infrared spectroscopy

FTIR-ATR analysis of the single and binary grafted PP monofilaments allowed the identification of the characteristics bands of each polymer (Fig. 4). PP-g-HEMA had CO carbonyl bands at 1724 cm^{-1} and OH alcohol at 3397 cm^{-1} . The PP-g-NIPAAm spectrum showed the amide bands of CO carbonyl at 1646 cm^{-1} and the weak band of stretching NH at 3299 cm^{-1} . For comparison purposes, the spectrum of PP-g-NVIm was also recorded, and exhibited the bands of stretching of double

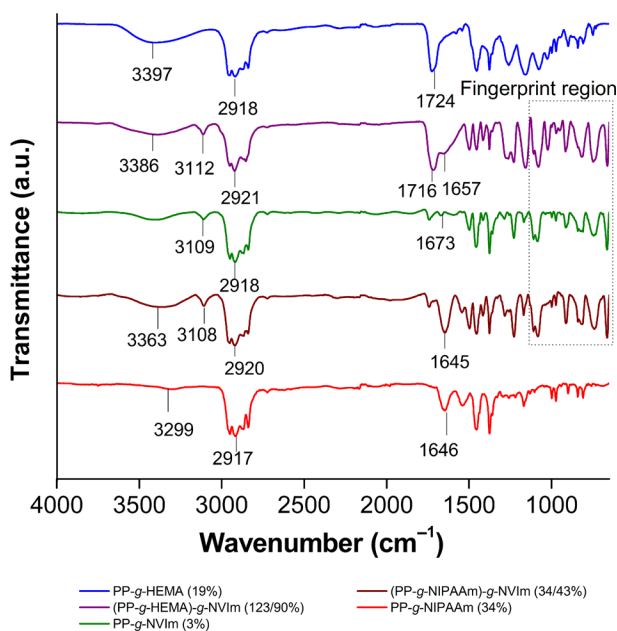


Figure 4. FTIR-ATR spectra. Functional groups are identified in each grafting.

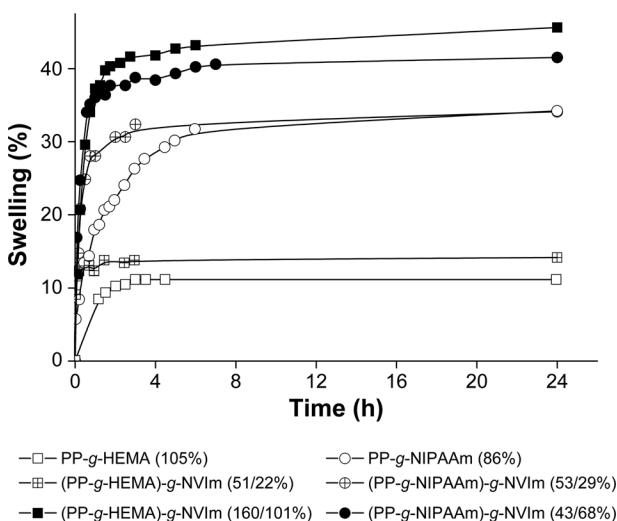


Figure 5. Swelling of PP-g-HEMA and PP-g-NIPAAm single grafts and the corresponding binary grafts in water at $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

bound CC and CN of imidazole ring at 1673 cm^{-1} , the aromatic CH stretching at 3109 cm^{-1} , and the characteristic pattern in the fingerprint region ($1250\text{--}400\text{ cm}^{-1}$).

The binary graft copolymers also showed similar fingerprint region, plus the bands typical of each polymer. Namely, in the spectrum of (PP-g-HEMA)-g-NVIm (123/90%) the main bands corresponded to CO at 1716 cm^{-1} , OH at 3386 cm^{-1} , aromatic CH at 3112 cm^{-1} , and aromatic ring at 1657 cm^{-1} . In the case of (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm (34/43%), the main bands were due to CO at 1645 cm^{-1} , NH at 3363 cm^{-1} , and aromatic CH at 3108 cm^{-1} . The signals of NVIm were relatively more intense, which confirmed the predominance of the imidazole chains at the surface.

Swelling

Compared with pristine PP monofilament that does not sorb water, grafted copolymers showed swelling in an aqueous

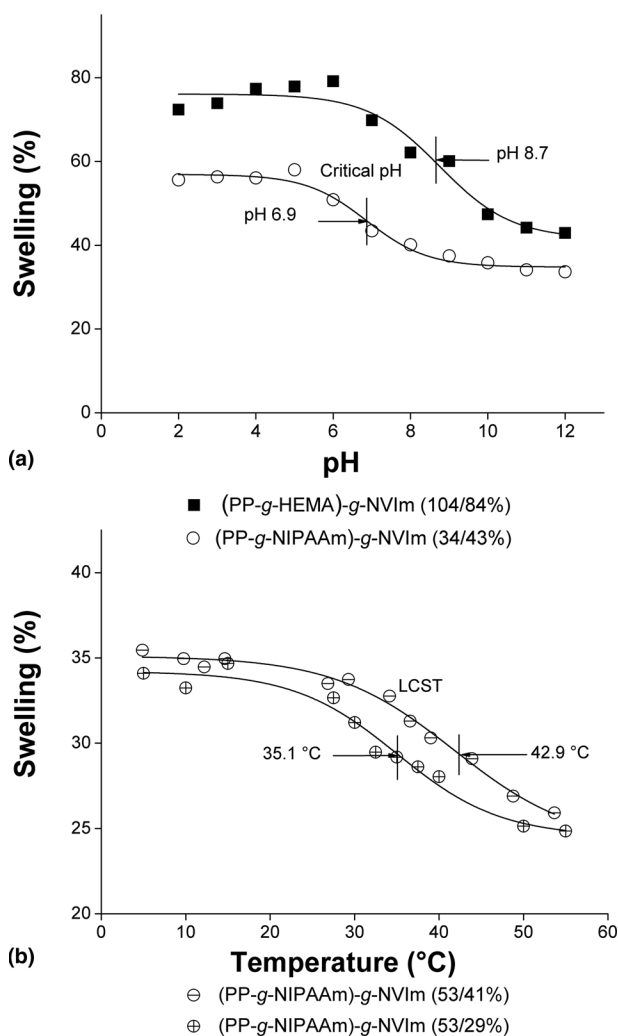


Figure 6. (a) Effect of pH on the swelling of binary grafts in phosphate buffers at $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 24 h. (b) Effect of temperature on the swelling of (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm in water.

Table I. TGA values (weight loss, decomposition temperature, and char yield) and DSC (melting temperature) of monofilaments before and after single and binary grafting.

Monofilament	10 wt% loss (°C)	T_d (°C)	Char yield % (at 450 °C)	DSC T_m (°C)
Pristine PP	423.3	462.5	64.7	169.8
PP- <i>g</i> -NVIm (3%)	421.3	461.6	61.7	170.2
PP- <i>g</i> -NIPAAm (34%)	408.0	461.7	61.4	171.4
PP- <i>g</i> -HEMA (19%)	391.3	461.9	53.2	169.6
(PP- <i>g</i> -NIPAAm)- <i>g</i> -NVIm (34/43%)	215.9	224.7, 416.4, 458.9	33.9	174.4
(PP- <i>g</i> -HEMA)- <i>g</i> -NVIm (123/90%)	273.6	141.9, 326.6, 472.6	25.7	170.5

Td, Thermal decomposition.

medium (Fig. 5). The three grafted polymers evaluated possess hydrophilic groups in their structure,^[29] and the interaction with water may depend on the linear/branched architecture of the chains and the environmental conditions (which may act as specific stimuli). All grafted monofilaments showed a quite rapid swelling and attained the equilibrium in less than 6 h at room temperature, corroborating the hypothesis that the grafting mainly took place at the surface.

PP-*g*-HEMA with a grafting percent as high as 104% only swelled 11%. Differently, after grafting of NVIm chains, the swelling of (PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm (51/22 and 160/101%) increased up to 15% and 45%, respectively. Similar behavior was found with PP-*g*-NIPAAm (86%) which swelled 31%, while (PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm (43/68%) did it above 40%.

Regarding temperature responsiveness, second grafting with NVIm shifted to higher values of the typical LCST of PNIPAAm (close to 30 °C) [Fig. 6(a)], as observed for other PNIPAAm networks.^[19] As the content in NVIm increased the shift was more evident. For example, (PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm (53/29%) had a LCST of 35.1 °C, whereas for (PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm (53/41%) the LCST increased up to 42.9 °C.

All binary grafts (PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm and (PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm exhibited pH-responsiveness [Fig. 6(b)]. This property is endowed by the heteroaromatic ring of the imidazole group, which has a pKa of about 6.79.^[30] In acid medium, this group is protonated and the polymer is highly hydrated; oppositely, the change to an alkaline environment caused the polymer loses its charge and thus the chain-collapse; consequently, a decrease in swelling occurs. The critical pH was shifted to higher values as the content in NVIm increased.

Thermal analysis and mechanical properties

In the DSC runs, all single and binary grafted sutures showed the typical melting band of PP with minor changes in melting temperature compared to pristine suture (Fig. S1). This finding suggests that the thermal stability of PP was not significantly altered. The TGA analysis revealed that the binary grafted copolymers started decomposition at lower temperature compared with pristine and singly grafted sutures (Fig. S2). The

thermogram scan of binary grafts revealed multiple stages of decomposition for (PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm (123/90%) and (PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm (34/43%). These results (Table I) suggested different polymer composition per zone, this means PP is in the core, HEMA, or NIPAAm mainly are inner, and NVIm chains are at the surface.

Pristine PP monofilaments had tensile stress of 5.0 kg and the work of resilience was 24.7 kg-mm. Binary grafted monofilaments with low graft percentage (less than 50%) became brittle and the tensile stress decreased to 2.7–3.2 kg and the work of resilience to 5.0–10.0 kg mm. Differently, (PP-*g*-HEMA)-*g*-NVIm (104/84%) and (PP-*g*-NIPAAm)-*g*-NVIm (76/74%) monofilaments broke at shorter elongation, but the stress required was higher 6.0 and 5.2 kg, respectively, as well as the tensile stress 38.0 and 30.6 kg-mm.

Cytocompatibility and antimicrobial activity

The next step was to confirm that the binary grafting did not alter the excellent cytocompatibility of the starting monofilaments (probed by their long use as sutures). The experiments were carried out with fibroblast cells (Balb 3T3 cells) which are particularly sensitive to leaching substances from medical devices that might be toxic. Sutures with extreme contents in grafted copolymers were tested. As shown in Fig. 7(a), cell viability was above 80% after direct contact with any of the binary grafted sutures either for 24 or 48 h. This finding indicates that the binary grafted sutures are cytocompatible disregarding the grafting percentage. Importantly, treatment with MeI for PNVIIm quaternization followed by intense washing to remove unreacted species did not alter the cytocompatibility of the monofilaments. This result is in good agreement with previous studies.^[31]

MeI readily reacted with the imidazole groups of the grafted NVIm forming methylimidazolium iodide derivative that reinforce the antimicrobial activity of the monofilaments. Pieces of pristine PP and all grafted monofilaments, as such and after treatment with MeI, were challenged against *S. aureus* and *E. coli* strains. The pristine PP sutures exposed or not to MeI did not inhibit bacteria growth neither the binary grafted

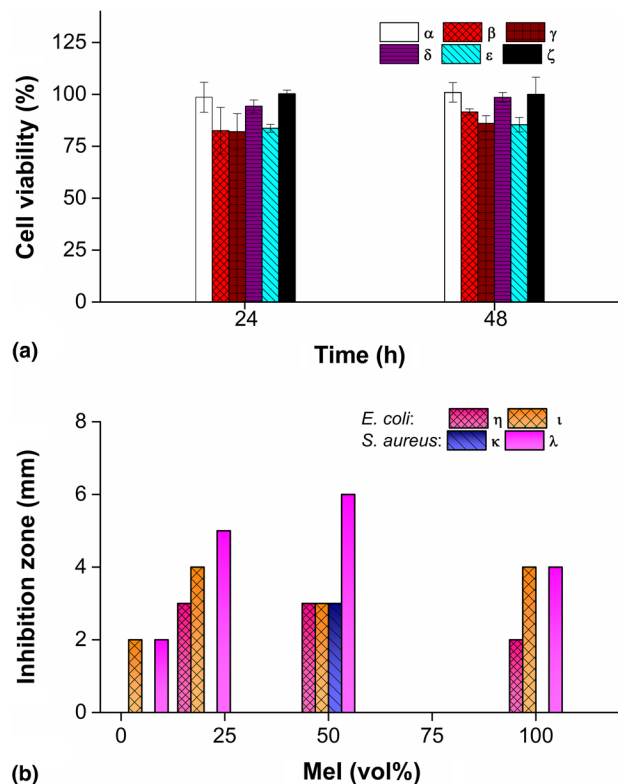


Figure 7. (a) Cell viability: (α) PP, (β) (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm (6/5%), (γ) (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm (76/74%), (δ) (PP-g-HEMA)-g-NVIm (10/14%), (ϵ) (PP-g-HEMA)-g-NVIm (104/84%), (ζ) negative control. (b) Inhibition zone. *E. coli*: (η) (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm (20/22%), (ι) (PP-g-HEMA)-g-NVIm (36/22%); *S. aureus*: (κ) (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm (20/22%), (λ) (PP-g-HEMA)-g-NVIm (36/22%).

monofilaments (PP-g-HEMA)-g-NVIm and (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm, which clearly indicate that none antimicrobial substance was released to the agar, although anti-adhesion activity could not be discarded. Differently, after treatment with MeI all binary grafts showed remarkable ability to cause inhibition zones [Fig. 7(b)]. The inhibition zone caused by quaternary methylimidazolium (PP-g-HEMA)-g-NVIm (36/22%) became progressively greater as the concentration of MeI increased from 5 to 50 vol%; the inhibition zone in *S. aureus* augmented from 2 to 6 mm and in *E. coli* from 2 to 4 mm. Exposure to higher MeI concentration did not improve further the antimicrobial effect. In the case of quaternary methylvinylimidazolium (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm (20/22%), the greater inhibition zones (3 mm) were observed in *S. aureus* and *E. coli* after treatment with 50 vol% MeI in toluene.

The differences in antimicrobial activity can be explained in terms of quaternization degree. Under mild conditions (40 °C) the reaction proceeds best when the matrix swells and this occurs using toluene as solvent. Therefore, exposition of the binary grafted monofilaments to MeI 100vol% (i.e., in the absence of toluene) only caused superficial derivatization. Oppositely, when the reaction was carried out using 5 vol%

MeI, the quaternization was incomplete. These findings indicate that the formation of imidazolium iodide requires a fine balance of the ratio of the solvent used to swell the matrix and the MeI required for the reaction with imidazole groups.

Conclusions

Grafting of NVIm onto PP can be notably improved when PP-g-HEMA and PP-g-NIPAAm are used as intermediates, compared with the direct grafting onto the pristine PP. The computational modeling indicates that the grafting of NVIm from PP-g-NIPAAm is likely to occur through the *isopropyl* terminal fragment of the polymer, while in PP-g-HEMA the path is less clear, although stereoelectronic calculations suggest that the grafting initiates from the alpha position of the carbonyl ester group. Functionalization with NVIm endows PP monofilaments with pH-responsiveness; (PP-g-NIPAAm)-g-NVIm exhibiting both pH- and temperature-responsiveness. Relevantly, an adequate balance of MeI concentration is required to attain sufficient quaternary derivative. All binary grafted monofilaments show good cytocompatibility and can inhibit the growth of both Gram-negative (maximum inhibition zone 4 mm) and Gram-positive (maximum inhibition zone 6 mm) bacteria after quaternization. Overall, the designed antibacterial biomaterial may be useful for the development of new non-absorbable sutures.

Supplementary material

The supplementary material for this article can be found at <https://doi.org/10.1557/mrc.2017.121>

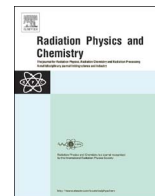
Acknowledgments

This work was supported by DGAPA-UNAM under Grant IN201617 (Mexico); MICINN under Grant SAF2014-52632-R (Spain); FEDER. F.L.S. thanks CONACyT for the doctoral scholarship 409872/ 290649 (CVU/ scholarship holder). The authors thank B. Leal and M. Cruz from ICN-UNAM for technical assistance and B. Magariños from USC for help with microbiological tests.

References

- P.-F. Cao, J.D. Mangadlao, and R.C. Advincula: Stimuli-responsive polymers and their potential applications in oil-gas industry. *Polym. Rev.* **55**, 706 (2015).
- S. Guragain, B.P. Bastakoti, V. Malgras, K. Nakashima, and Y. Yamauchi: Multi-stimuli-responsive polymeric materials. *Chem. A, Eur. J.* **21**, 13164 (2015).
- Z.Q. Cao and G.J. Wang: Multi-stimuli-responsive polymer materials: particles, films, and bulk gels. *Chem. Rec.* **16**, 1398 (2016).
- J. Akimoto, M. Nakayama, K. Sakai, M. Yamato, and T. Okano: Synthesis of terminal-functionalized thermoresponsive diblock copolymers using biodegradable macro-RAFT agents. *Polym. J.* **45**, 233 (2012).
- O. Sedláček, P. Černoch, J. Kučka, R. Konefal, P. Štěpánek, M. Vetrík, T. P. Lodge, and M. Hrubý: Thermoresponsive polymers for nuclear medicine: which polymer is the best? *Langmuir* **32**, 6115 (2016).
- S. Liu, R. Maheshwari, and K.L. Kiick: Polymer-based therapeutics. *Macromolecules* **42**, 3 (2009).
- C. Alvarez-Lorenzo and A. Concheiro: Smart drug delivery systems: from fundamentals to the clinic. *Chem. Commun.* **50**, 7743 (2014).

8. C. Feng, Y. Li, D. Yang, and J. Hu: Well-defined graft copolymers: from controlled synthesis to multipurpose applications. *Chem. Soc. Rev.* **40**, 1282 (2011).
9. M.A.C. Stuart, W.T.S. Huck, J. Genzer, M. Muller, C. Ober, M. Stamm, G. B. Sukhorukov, I. Szleifer, V.V. Tsukruk, M. Urban, F. Winnik, S. Zauscher, I. Luzinov, and S. Minko: Emerging applications of stimuli-responsive polymer materials. *Nat. Mater.* **9**, 101 (2010).
10. C. Alvarez-Lorenzo, E. Bucio, G. Burillo, and A. Concheiro: Medical devices modified at the surface by g-ray grafting for drug loading and delivery. *Expert Opin. Drug Deliv.* **7**, 173 (2010).
11. C. Decker: The use of UV irradiation in polymerization. *Polym. Int.* **45**, 133 (1998).
12. S. Minko: Chapter 93 Grafting on solid surfaces: "grafting to" and "grafting from" methods. In *Polymer Surfaces and Interfaces: Characterization, Modification and Applications*, edited by M. Stamm (Springer, Berlin, 2008), p. 215.
13. M.F. Maitz: Applications of synthetic polymers in clinical medicine. *Biosurf, Biotribol.* **1**, 161 (2015).
14. H. Caner, E. Yilmaz, and O. Yilmaz: Synthesis, characterization and anti-bacterial activity of poly(N-vinylimidazole) grafted chitosan. *Carbohydr. Polym.* **69**, 318 (2007).
15. F. López-Saucedo, C. Alvarez-Lorenzo, A. Concheiro, and E. Bucio: Radiation-grafting of vinyl monomers separately onto polypropylene monofilament sutures. *Radiat. Phys. Chem.* **132**, 1 (2017).
16. B. Gupta, N. Anjum, S.K.H. Gulrez, and H. Singh: Development of antimicrobial polypropylene sutures by graft copolymerization. II. Evaluation of physical properties, drug release, and antimicrobial activity. *J. Appl. Polym. Sci.* **103**, 3534 (2007).
17. T. Modjinou, H. Rodríguez-Tobías, G. Morales, D.-L. Versace, V. Langlois, D. Grande, and E. Renard: UV-cured thiol-ene eugenol/ZnO composite materials with antibacterial properties. *RSC Adv.* **6**, 88135 (2016).
18. H. Rodríguez-Tobías, G. Morales, A. Ledezma, J. Romero, R. Saldívar, V. Langlois, E. Renard, and D. Grande: Electrospinning and electrospraying techniques for designing novel antibacterial poly(3-hydroxybutyrate)/zinc oxide nanofibrous composites. *J. Mater. Sci.* **51**, 8593 (2016).
19. B.A. Humphreys, J.D. Willott, T.J. Murdoch, G.B. Webber, and E.J. Wanless: Specific ion modulated thermoresponse of poly(N-isopropylacrylamide) brushes. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **18**, 6037 (2016).
20. C. Lei, L.Y. Kee, M. Yanawut, T.K. Soo, L.V. Sanghiran, and R.N. Abd: Synthesis, characterization, and theoretical study of an acrylamide-based magnetic molecularly imprinted polymer for the recognition of sulfonamide drugs. *e-Polymers* **15**, 141 (2015).
21. A.D. Costache, J. Ghosh, D.D. Knight, and J. Kohn: Computational methods for the development of polymeric biomaterials. *Adv. Eng. Mater.* **12**, B3 (2010).
22. C. Wojnecki and S. Green: A computational study into the use of polyacrylamide gel and A-150 plastic as brain tissue substitutes for boron neutron capture therapy. *Phys. Med. Biol.* **46**, 1399 (2001).
23. E. Mavroudakis, D. Cuccato, and D. Moscatelli: On the use of quantum chemistry for the determination of propagation, copolymerization, and secondary reaction kinetics in free radical polymerization. *Polymers* **7**, 1789 (2015).
24. Y.A. Anisimov, M.A. Danilenko, and Y.N. Anisimov: Copolymerization of modified oligoesteracrylates with oligomeric butadiene rubber. *Russ. J. Appl. Chem.* **86**, 289 (2013).
25. E.A. Morales-Wiemer, J. Macossay, and E. Bucio: Radiation grafting of N,N'-dimethylacrylamide and 2-hydroxyethylmethacrylate onto polypropylene films by one step method. *Radiat. Phys. Chem.* **84**, 166 (2013).
26. L.D. Marestoni, A. Wong, G.T. Feliciano, M.R.R. Marchi, C.R.T. Tarley, and M.D.P.T. Sotomayor: Semi-empirical quantum chemistry method for pre-polymerization rational design of ciprofloxacin imprinted polymer and adsorption studies. *J. Braz. Chem. Soc.* **27**, 109 (2016).
27. B. De Sterck, R. Vaneerdegew, F. Du Prez, M. Waroquier, and V. Van Speybroeck: Solvent effects on free radical polymerization reactions: the influence of water on the propagation rate of acrylamide and methacrylamide. *Macromolecules* **43**, 827 (2010).
28. P.P. Caimmi, M. Sabbatini, L. Fusaro, A. Borrone, and M. Cannas: A study of the mechanical properties of ePTFE suture used as artificial mitral chordate. *J. Card. Surg.* **31**, 498 (2016).
29. K.S. Oh, S.K. Han, Y.W. Choi, J.H. Lee, J.Y. Lee, and S.H. Yuk: Hydrogen-bonded polymer gel and its application as a temperature-sensitive drug delivery system, *Biomaterials.* *Biomaterials* **25**, 2393 (2004).
30. A. Horta, M.J. Molina, M.R. Gómez-Antón, and I.F. Piérola: The pH inside a swollen polyelectrolyte gel: poly(N-vinylimidazole). *J. Phys. Chem. B* **112**, 10123 (2008).
31. H.I. Meléndez-Ortiz, C. Alvarez-Lorenzo, A. Concheiro, V.M. Jiménez-Páez, and E. Bucio: Modification of medical grade PVC with N-vinylimidazole to obtain bactericidal surface. *Radiat. Phys. Chem.* **119**, 37 (2016).



Radiation-grafting of vinyl monomers separately onto polypropylene monofilament sutures

Felipe López-Saucedo^{a,*}, Carmen Alvarez-Lorenzo^b, Angel Concheiro^b, Emilio Bucio^{a,*}

^a Departamento de Química de Radiaciones y Radioquímica, Instituto de Ciencias Nucleares, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Ciudad de México 04510, México

^b Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, R+DPharma Group (GI-1645), Facultad de Farmacia, Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain

ARTICLE INFO

Keywords:

Radiation-grafting
PP suture
HEMA
NIPAAm
NVIm
Stimuli-responsive polymers

ABSTRACT

N-isopropylacrylamide (NIPAAm), 2-hydroxyethylmethacrylate (HEMA) and N-vinylimidazole (NVIm) were grafted separately onto polypropylene (PP) monofilament sutures. These grafted copolymers have properties with potential application in the synthesis of new medical devices. Co-60 gamma radiation was employed with dose rate of 9.2 kGy h^{-1} in synthesis of copolymers with different grafting percentages: PP-*g*-PNIPAAm from 11% to 175%, PP-*g*-PHEMA from 6% to 130%, and PP-*g*-PNVIm from 10% to 17%. Both NIPAAm and HEMA were grafted applying the pre-irradiation method under different reaction conditions: dose, temperature, monomer concentration and reaction time; NVIm was grafted by simultaneous method with doses from 20 up to 60 kGy. Grafted polymers were characterized by FTIR-ATR, TGA and DSC; and their swelling in water was recorded. Modified suture PP-*g*-PNIPAAm had thermo-responsive properties while PP-*g*-PNVIm exhibited pH-sensitive swelling. Overall, the implemented grafting strategies provided a hydrophilic surface layer that did not cause detrimental effects on mechanical properties and cytocompatibility of the sutures.

1. Introduction

Sutures are medical devices consisting of a fiber structure attached to metallic needle mainly employed to close surgical wounds. PP monofilaments are extensively used in manufacturing of non-absorbable sutures (Saxena et al., 2011). Modification of PP with different kinds and ratios of monomers has been shown suitable for endowing PP with novel physical, chemical and biological properties, particularly responsiveness to physiological stimuli. Grafted copolymers of PP have been investigated for a wide range of applications, not only in the form of fibers (Jain et al., 2004; Plessier et al., 1998), but also as films (Kwon et al., 2003) and nonwoven fabrics (Zeng et al., 2015).

In spite of lack of reactivity of PP, different methods have been tried for bond activation in grafting, from traditional using chemical initiators or oxygen in plasma to those that require a source of electromagnetic radiation such as UV or gamma rays. In all cases generation of free radicals and/or peroxides and hydroperoxides is involved. High energy source as gamma radiation has been employed for decades, and security controls have increased to a level that currently it is considered safe. Treatment with gamma radiation is nowadays common in processes that require sterilization, especially packing materials and biomedical devices (Haji-Saeid et al., 2007;

Zimek, and Kaluska, 2002). Compared to other grafting methods, gamma radiation has the advantage of that no waste is generated and avoids the introduction of additional reagents (Alvarez-Lorenzo et al., 2010).

Synthesis of PP-*g*-PNIPAAm (Kumari et al., 2012; Contreras-García, et al., 2010) and PP-*g*-PHEMA (Ramírez-Jiménez et al., 2012; Rattan and Sehgal, 2012) by pre-irradiation method, and PP-*g*-PNVIm (Zavala-Lagunes et al., 2016; Mostafa, 2009; Naguib et al., 2003) by simultaneous radiation has been previously accomplished. Poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAAm) is a particularly attractive thermo-responsive polymer because its low critical solution temperature (LCST) is close to 32 °C in water, near to 37 °C of human temperature. Therefore, it has been broadly investigated in the form of homopolymers (Li et al., 2014) and copolymers in the synthesis of hydrogels, films and drug carriers (Hu et al., 2014; Schmaljohann et al., 2003). Poly(N-vinylimidazole) (PNVIm) is a versatile, multipurpose polymer (Fares and Al-Shboul, 2012; Hakamatani et al., 2008) showing wide range of interesting features in the biomedical field: biocompatibility, pH sensitiveness, antimicrobial activity, and chelating agent of metal ions (Takafuji et al., 2004). On the other hand, poly(2-hydroxyethylmethacrylate) (PHEMA) is a hydrophilic polymer widely used as component of hydrogels due to its biocompatibility and capability to

* Corresponding authors.

E-mail addresses: felipelopezsaucedo@gmail.com (F. López-Saucedo), ebucio@nucleares.unam.mx (E. Bucio).

host water (El-Salmawi and Ibrahim, 2005; Shukla and Athayle, 1993; Montheard et al., 1992). Additionally, PNIPAAm, PHEMA and PNVIIm exhibit affinity for a variety of drugs and may endow grafted medical devices with ability to act as drug eluting platforms (Gupta et al., 2007).

This article presents the synthesis separately in one step of grafting of NIPAAm, HEMA and NVIm onto high density isotactic PP monofilaments with potential biomedical purposes. Grafting of these polymers should endow the sutures with a variety of chemical groups available for tuning the interaction with other molecules, without altering the cytocompatibility. Oppositely, it is known that gel-like coatings improve the tolerance of the fiber by the organism and prevent adhesions (Emans et al., 2009; Tollar et al., 1969). Responsiveness of the swelling of PP-g-PNIPAAm and PP-g-PNVIIm to temperature and pH, respectively, was evaluated in detail as well as the effects of grafting on the mechanical properties of the sutures.

2. Materials

NIPAAm (97%), HEMA (98%) and NVIm (99%) were from Aldrich Chemical Co. (St. Louis MO, USA). NIPAAm was purified by crystallization with toluene/hexane 50/50 vol. Monomers HEMA and NVIm were purified by vacuum distillation. Monofilament polypropylene, non-absorbable suture (Atramat 1 USP) was from Internacional Farmacéutica Co (Mexico). Ethanol, toluene, hexane, boric acid, citric acid and trisodium orthophosphate 12 H₂O were from Baker (Mexico City, Mexico).

3. Experimental

3.1. Synthesis of PP-g-PNIPAAm and PP-g-PHEMA by pre-irradiation oxidative grafting method

PP monofilament pieces were weighed and placed into glass ampoules. Then the samples were exposed to Co-60 Gammabeam 651-PT at dose rate of 9.2 kGy h⁻¹, in presence of oxygen from air. Solutions of each monomer in toluene were prepared; and 6 mL of solution was added into each glass ampoule containing the irradiated PP. Each glass ampoule was frozen with liquid nitrogen and then purged in vacuum line. Once oxygen was removed, the glass ampoule was sealed and placed in a water bath at a given temperature and time. After the reaction time was completed, the glass ampoule was opened and the grafted suture was washed in a mixture of water/ethanol 50/50 vol, under stirring for 24 h. Then, the solvent mixture was changed and washing process repeated by twice. The grafted suture was dried in a vacuum oven at 60 °C for 24 h. The grafting percentage (Y_g) was calculated employing Eq. (1).

$$Y_g (\%) = 100 [(W_g - W_o)/W_o] \quad (1)$$

where W_o and W_g are the weights of the pristine and the dried grafted suture, respectively.

3.2. Synthesis of PP-g-PNVIIm by simultaneous grafting method

PP monofilament was weighed and placed into a glass ampoule. NVIm 5.5 M solution was prepared in toluene and then 6 mL of the solution was placed inside the glass ampoule together with the pristine suture. Oxygen was removed from glass ampoule using liquid nitrogen and vacuum line. The ampoule was sealed and irradiated at a given dose from 20 to 60 kGy. Afterwards the glass ampoule was opened, and the grafted suture was washed and dried using the treatment described above. Total weight was measured and the Y_g calculated.

3.3. Swelling

Distilled water was poured into flasks and pieces of weighed grafted sutures were then placed within. The swelling test was carried out at

25 °C and the degree of swelling was monitored by weighting the suture pieces at different time intervals up to 24 h. Additionally, swelling of copolymer PP-g-PNIPAAm was investigated under different temperatures in the 6–45 °C range in order to identify the lower critical solution temperature (LCST). The pH critical point of PP-g-PNVIIm was determined recording the swelling in different pH phosphate buffers (pH=2–12) for 24 h. Swellings were calculated using the Eq. (2). LCST and pH critical point were calculated with Origin Pro 8 software.

$$Swelling (\%) = 100 [(W_s - W_d)/W_d] \quad (2)$$

where W_s and W_d represent the weights of the swelled and the dried grafted suture, respectively.

3.4. FTIR spectra and thermal analysis

Infrared spectroscopy attenuated total reflection (FTIR-ATR) spectra of pristine and modified sutures were analyzed using a Perkin-Elmer Spectrum 100 spectrometer (Perkin Elmer Cetus Instruments, Norwalk, CT) with 16 scans. Thermal decomposition was determined by thermogravimetric analysis (TGA) under nitrogen atmosphere from 25 to 800 °C at a heating rate of 10 °C min⁻¹ in a TGA Q50 (TA Instruments, New Castle, DE). Differential scanning calorimetry (DSC) analysis was carried out under nitrogen atmosphere using a DSC 2010 calorimeter (TA Instruments, New Castle, DE) from 25 to 350 °C at a heating rate of 10 °C min⁻¹.

3.5. Tensile stress-strain plots and force at failure

Mechanical testing of pristine and grafted sutures was carried out at room temperature using a computer-controlled TA-TX Plus Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, UK) with mini tensile grips (part code A/MTG). The load cell (30 kg) was previously calibrated. In each test, a piece of suture was firmly fixed in the lower and the upper grips. Gap between the clamps was set at 55 mm at the beginning of the experiment. Then, the stress-strain (elongation) curve of the suture was recorded while subjected to uniaxial tension at a rate of 0.5 mm/s until failure. The tensile stress and elongation at rupture and the work of resilience (area under the curve until rupture) were calculated.

The load data was converted to engineering stress by dividing the applied force, F , by the initial cross-sectional area, A_0 , of the suture. Also, elongation data was converted to engineering strain by dividing the change in active length ΔL , by the original length, L_0 . The mean Young modulus of the curve, from 0 to 100 MPa, was calculated as follows (Caimmi et al., 2016):

$$E = \frac{F/A_0}{\Delta L/L_0} \quad (3)$$

where E is the Young modulus (N/mm²); F is the force exerted on the suture under tension (N); A_0 is the original cross-sectional area (mm²) of the suture; ΔL is the amount by which the length of the suture changes (mm), and L_0 is the original length of the suture (mm).

3.6. Cytocompatibility

Sutures were cut in pieces of 2 cm, soaked for 24 h in 5 mL of PBS, and then sterilized during 30 min under UV radiation. Balb/3T3 (20,000 cells/well) were cultured in 24 wells-plate during 12 h in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)/F12Ham nutrient mixture (Sigma-Aldrich, USA) and kept in a humidified atmosphere with 5% CO₂, 90% RH at 37 °C. Pieces of sutures were placed in the 24-well plates and the cells incubated for 24 h in a humidified atmosphere with 5% CO₂ at 37 °C. Cells without sutures were used as negative control. For LDH assay, aliquots of medium (100 µL), positive control (100 µL of medium of lysated cells with Triton X-100) and negative control (100 µL) were taken and mixed with the reaction medium (100 µL)

provided with the Cytotoxicity Detection KitPlus (LDH, Roche). The plates were incubated for 15 min at 15–25 °C protected from light. The absorbance at 490 nm was immediately measured (UV Bio-Rad Model 680 microplate reader, USA). The cytotoxicity was calculated as follows:

$$\text{Cytotoxicity (\%)} = \frac{Abs_{\text{exp}} - Abs_{\text{negative control}}}{Abs_{\text{positive control}} - Abs_{\text{negative control}}} \quad (4)$$

Cell proliferation was evaluated using the cell proliferation reagent WST-1 (Roche, Switzerland). Cells were cultured and incubated with the suture pieces as described above. Then, sutures were removed from wells and cell proliferation assay was carried out following manufacturer instructions. Absorbance was read at 450 nm (UV Bio-Rad Model 680 microplate reader, USA). The experiments were carried out in triplicate and cell viability (%) was calculated using the following equation:

$$\text{Cell viability (\%)} = \frac{Abs_{\text{exp}}}{Abs_{\text{negative control}}} \times 100 \quad (5)$$

4. Results and discussion

4.1. Grafting studies

Different reaction systems for direct and pre-irradiation oxidative methods were employed. Reactions were carried out in toluene as solvent due to its high boiling point and capability for swelling PP matrix. Effect of reaction variables (dose, time, temperature, monomer concentration) on grafting percentage are described in detail below and showed in Fig. 1 A-D.

Exposure to gamma radiation of PP in air from 10 to 50 kGy generated peroxides and hydroperoxides, reaction intermediates and free radical precursors in the polymerization with vinyl monomers by pre-irradiation method; doses up to 60 kGy were used in simultaneous method (Fig. 1A). Pre-irradiation method was employed for HEMA and NIPAAm grafting in separate. It is noteworthy that HEMA reacted under mild reaction conditions of 70 °C for 3 h; while NIPAAm grafting required 80 °C for 16 h. Simultaneous irradiation was used in the grafting of NVIm due the high reactivity of the monomer in the homopolymerization reaction, with grafts of 9–17% that were the lowest obtained.

Grafting percentage positively correlated with the reaction time (Fig. 1B), although homopolymers were formed inevitably and the grafting reaction finally stopped. Copolymer PP-*g*-PNIPAAm showed over 100% grafting percentage for reaction time of 14–24 h. Grafting percentages of 37.6% and 86% were achieved with times of 4 and 8 h, respectively. HEMA was more reactive and grafts of 18–175% were achieved in a range of time from 1.5 to 6 h; grafting of 57% was obtained in 3 h. Adequate graftings of vinyl monomers between 41–130% for immobilization or reversible adsorption of drug vancomycin have been previously reported (García-Vargas et al., 2014).

Monomer concentration in the reaction medium notably determined the grafting percentage (Fig. 1C). PP-*g*-PNIPAAm with grafts ranging from 12% to 122% were obtained for NIPAAm concentrations in a range of 0.25–2.0 M, under reaction conditions of 80 °C, 40 kGy and 16 h. HEMA concentration above 1 M favored the homopolymer formation, therefore, the synthesis that was carried out with concentrations of 0.96 and 1.5 M led to similar graftings; namely, 57.4% and 62% respectively, under conditions of 70 °C, 40 kGy and 3 h.

Increase of temperature produced elevated grafting percentage (Fig. 1D). For example, PP-*g*-PNIPAAm with a grafting of 43% was achieved at 85 °C, which was quite remarkable considering the mild reaction conditions (dose 25 kGy, 7 h and 1.5 M). Similarly, for PP-*g*-PHEMA no grafting was observed at 50 °C, whereas grafts of 17.6–

149% were obtained with reaction temperatures in the 60–90 °C range. Strong dependence on temperature of the grafting percentage of HEMA on other substrates has been previously reported; in general, an increase in temperature leads to short induction period and faster grafting rate (Yue-e et al., 1999).

4.2. Swelling measurement

PNIPAAm and PHEMA chains contain carbonyl hydrophilic groups. PHEMA possess aliphatic hydroxyl group, while PNIPAAm and PNVIm contain nitrogen atoms in amide and heterocyclic ring respectively. Such atoms and groups can readily interact through hydrogen bonding with water favoring the swelling of the grafted suture (Fig. 2).

Swelling was faster during the first 2 h for all copolymers. Sutures PP-*g*-PHEMA and PP-*g*-PNVIm reached the maximum swelling in 4 h; PP-*g*-PNIPAAm continued swelling after 24 h, though slowly up to 48 h. Amount of water absorbed by materials was different. PP-*g*-PHEMA (38% graft) showed a limited water uptake of around 10%, and PP-*g*-PNVIm (17% graft) up to 15%. PP-*g*-PNIPAAm (86% graft) swelled up to 35% at room temperature. Favorable grafting of PNIPAAm under mild conditions yielded longer chains with less cross-linking points, which in turn favored the hosting of water. Oppositely, many polymer networks have been reported to show a decrease in swelling when the degree of crosslinking increases (Wong et al., 2015; Mahkam and Doostie, 2005; Kim et al., 1993).

Copolymer PP-*g*-PNIPAAm (114% graft) presented thermo-responsive properties and LCST in water (Fig. 3); its swelling was tested in water at different temperatures with results around of 50% swelling below 25 °C and drastic change to hydrophobic behavior when temperature was over 30 °C. Above this temperature, PNIPAAm chains collapse and swelling decreases around 20%. Inflection point was observed at 28.6 °C, corresponding to the LCST of grafted suture. It should be noted that at 37 °C the swelling of any of the three types of grafted sutures led to minor increase in the diameter of the sutures; the diameter was ca. 0.48 mm for sutures with the higher grafting percentage compared to 0.45 mm for pristine PP suture.

Copolymer PP-*g*-PNVIm was sensitive to pH and a critical point was observed at pH 5.6 (Fig. 4). In alkaline medium the copolymer material presented hydrophobic behavior, while the protonated imidazole in acid medium was able to retain more water. Critical pH was slightly acid, close to the pH of human skin (Fig. 5).

4.3. FTIR-ATR spectroscopy

Pristine PP with aliphatic chains solely presents bands corresponding to the asymmetric stretching (ν_{as}) and symmetric (ν_{s}) of methyl (CH_3) and methylene (CH_2) groups in the range of 2949–2838 cm^{-1} and bending (δ) of CH_3 and CH_2 at 1455 and 1375 cm^{-1} respectively; all bands of stretching and bending appeared consistently in grafted sutures. The FTIR-ATR spectrum of PP-*g*-PNIPAAm showed a carbonyl bond C=O stretching in 1641 cm^{-1} which is typical of amides. Two additional bands were observed: one band due to stretching of N-H at 3292 cm^{-1} and the second one related to the bending band of N-H at 1537 cm^{-1} . The hydroxyl group in PP-*g*-PHEMA appeared as a very intense and wide band that is characteristic of stretching O-H at 3374 cm^{-1} ; another band of stretching absorption of C=O at 1713 cm^{-1} was also observed. Imidazole in PP-*g*-PNVIm had a very strong band that can be assigned to the ring stretching absorptions of C=C and C=N at 1654 cm^{-1} ; second confirmatory band was the stretching absorption of $\text{C}_{\text{SP}^2}\text{-H}$ at 3110 cm^{-1} . All absorption bands are displayed in Table 1.

4.4. Thermal analysis: TGA and DSC

TGA was performed on pristine and grafted sutures (Fig. 6). Pristine PP had initial decomposition (10% weigh loss) at a tempera-

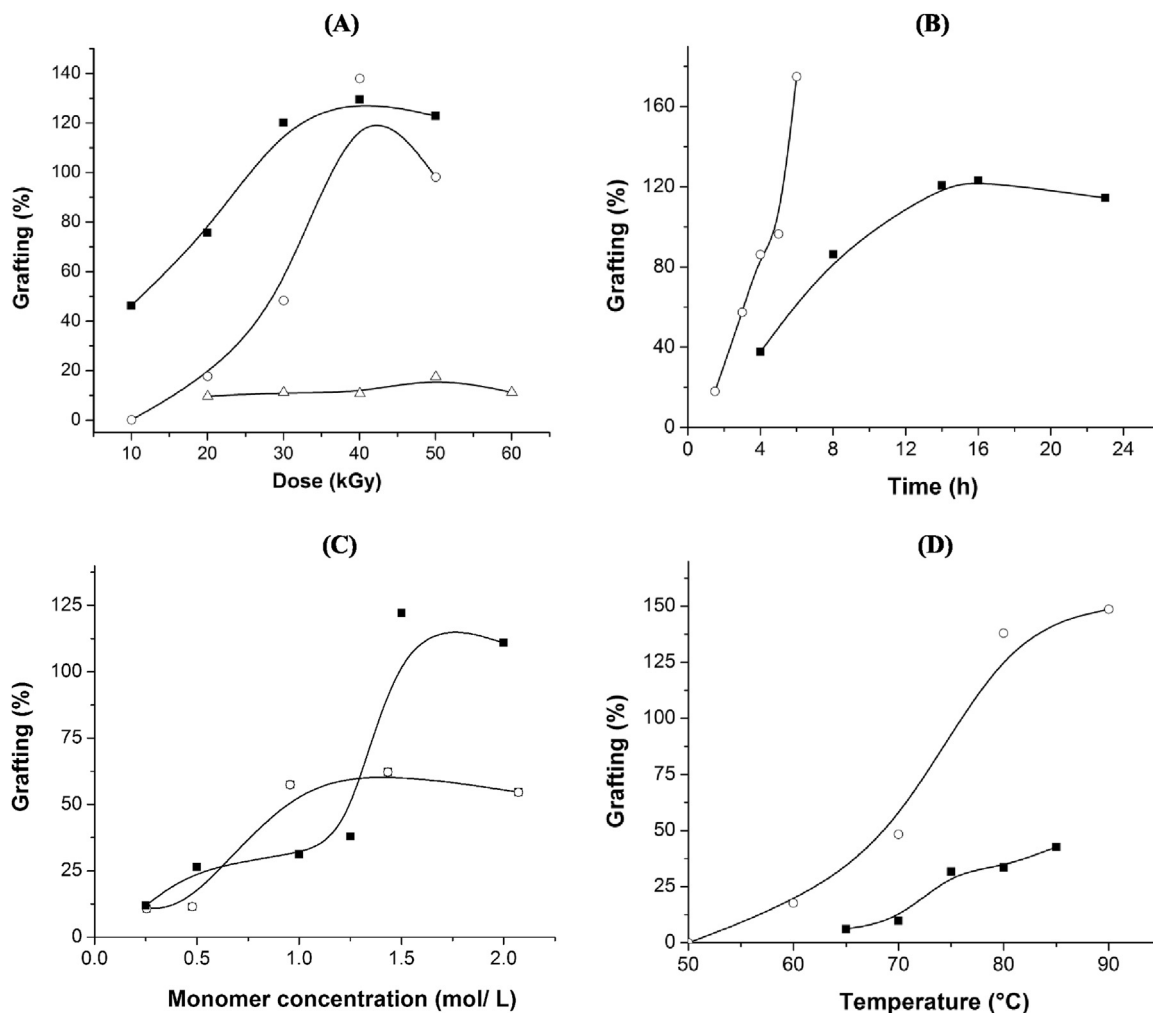


Fig. 1. A: Effect of dose on grafting percentage for PP-*g*-PNIPAAm ■ (16 h, 1.5 M, 80 °C), PP-*g*-PHEMA ○ (3 h, 0.96 M, 70 °C), and PP-*g*-PNVIm △ (5.52 M, RT). B: Effect of reaction time on grafting percentage for PP-*g*-PNIPAAm ■ (1.5 M, 80 °C, 40 kGy), and PP-*g*-PHEMA ○ (0.96 M, 70 °C, 40 kGy). C: Effect of HEMA concentration on grafting percentage for two different processing conditions ■ (16 h, 80 °C, 40 kGy); ○ (3 h, 70 °C, 40 kGy). D: Effect of temperature on grafting percentage for PP-*g*-PNIPAAm ■ (7 h, 1.5 M, 25 kGy) and PP-*g*-PHEMA ○ (3 h, 0.96 M, 25 kGy).

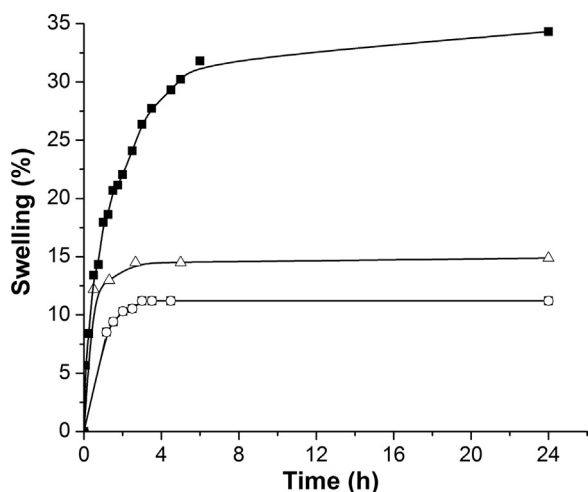


Fig. 2. Swelling of PP-*g*-PNIPAAm (86%) ■; PP-*g*-PHEMA (38%) ○, PP-*g*-PNVIm (17%) △. 25 °C; distilled water.

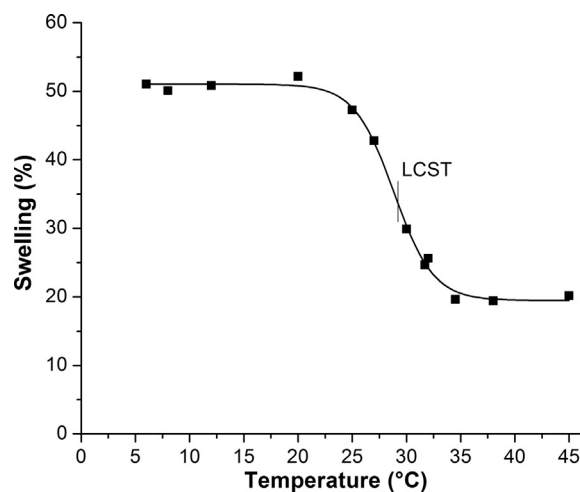


Fig. 3. Effect of temperature on the swelling of PP-*g*-PNIPAAm (114%); 24 h; distilled water.

ture of 423.3 °C; grafted copolymers showed significant difference in their initial decomposition (10% weigh loss) with temperatures of 384.5, 366.8 and 412.8 °C for PP-*g*-PNIPAAm, PP-*g*-PHEMA and PP-*g*-PNVIm, respectively. Nevertheless, no significant differences in

decomposition temperature (T_d) were observable (less than 3 °C) between copolymers and pristine suture ($T_d=462.5$ °C).

DSC scan of pristine PP suture exhibited a melting peak at $T_m=169.81$ °C (Fig. 7). The melting temperature of modified sutures

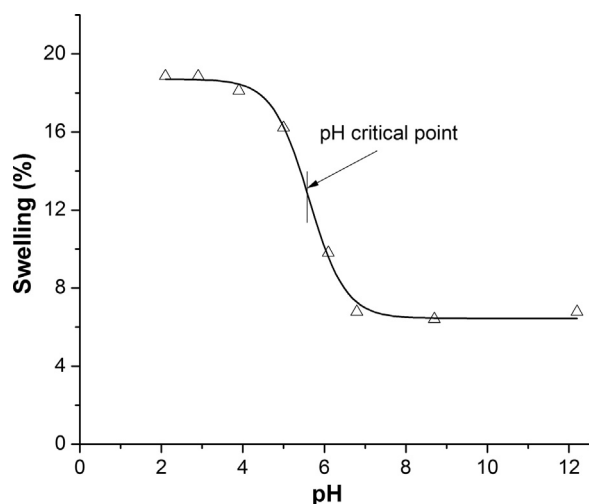


Fig. 4. Effect of pH on the swelling of PP-g-PNVIm (17%); 25 °C; 24 h; phosphate buffers.

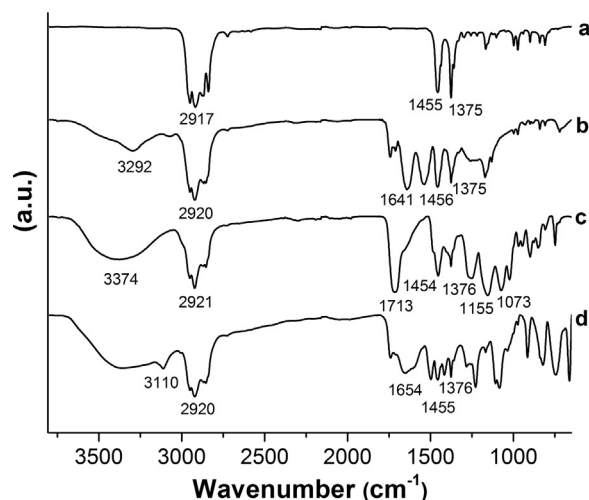


Fig. 5. FT-IR spectra of PP(a); PP-g-PNIPAAm (b); PP-g-PHEMA(c); and PP-g-PNVIm(d).

Table 1
Assignment of FTIR-ATR bands.

	Pristine PP (cm ⁻¹)	PP-g-NIPAAm (cm ⁻¹)	PP-g-PHEMA (cm ⁻¹)	PP-g-PNVIm (cm ⁻¹)
(<i>v</i> _{as} CH ₃)	2949	2950	2950	2949
(<i>v</i> _s CH ₃)	2868	2866	2868	2866
(<i>v</i> _{as} CH ₂)	2917	2920	2921	2920
(<i>v</i> _s CH ₂)	2838	2854	2853	2853
(δ CH ₃) _y	1455	1456	1454	1455
(δ CH ₂)				
(δ CH ₃)	1375	1375	1376	1376
(<i>v</i> O-H)			3374	
(<i>v</i> C-O)			1155, 1073	
(<i>v</i> C=O) ester			1713	
(<i>v</i> C=O) amide		1641		
(<i>v</i> N-H) amide		3292		
(δ N-H) amide		1537		
(<i>v</i> C _{sp2} -H)				3110
(<i>v</i> C=C) and (<i>v</i> C=N)				1654

Abbreviations: *v* (stretching), *v*_{as}, *v*_s (asymmetric and symmetric stretching), δ (bending).

was slightly shifted to lower values (Table 2). All together these results suggest that grafting occurred mainly at the surface of the suture with minor changes in the bulk structure.

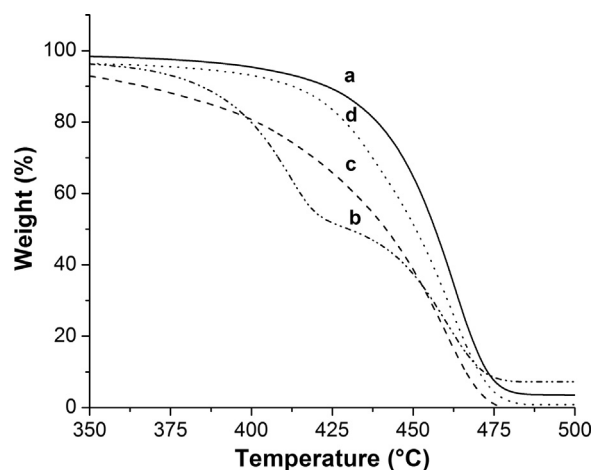


Fig. 6. Thermogram TGA, 800 °C, He. PP (a); PP-g-PNIPAAm (114%) (b), PP-g-PHEMA (38%) (c); PP-g-PNVIm (11%) (d).

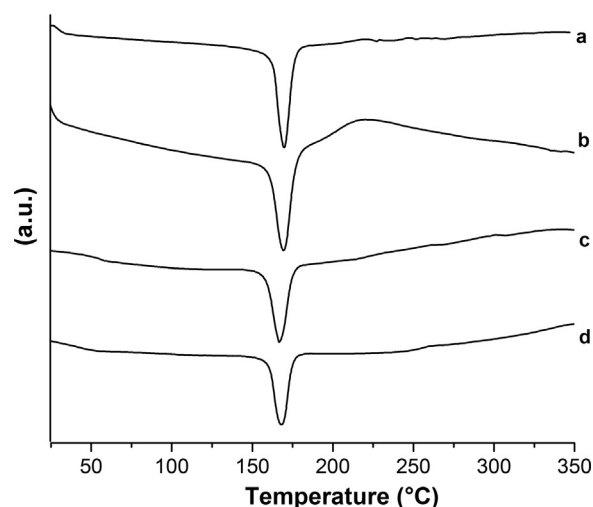


Fig. 7. Thermogram DSC, 350 °C, He. PP (a); PP-g-PNIPAAm (114%) (b); PP-g-PHEMA (38%) (c); PP-g-PNVIm (11%) (d).

Table 2

Thermal behavior of pristine and grafted sutures recorded using TGA (decomposition temperature, *T*_d) and DSC (melting temperature, *T*_m) at.

Suture (% grafting)	10 wt% loss (°C)	<i>T</i> _d (°C)	% Char yield (450 °C)	<i>T</i> _m (°C)
Pristine PP	423.3	462.5	64.7	169.81
PP-g-PNIPAAm (114.3)	384.5	460.7	37.5	169.69
PP-g-PHEMA (37.7)	366.8	459.8	38.7	166.85
PP-g-PNVIm (11.2)	412.8	461.6	51.5	168.31

4.5. Mechanical properties

Grafting of a given polymer on a suture filament may dramatically modify its tensile stress-strain profile if the grafting alters the bulk structure of the suture. Interestingly, pristine and grafted sutures showed quite similar mechanical profiles although some changes were observed for sutures with remarkably high grafting percentages (Fig. 8). Strain at maximum stress ranged between 0.13 and 0.14, and maximum stress was 360 MPa for pristine PP suture or those sutures with less than 30% grafting (disregarding the copolymer grafted), and decreased to 280–300 MPa for those with grafting percentages above 100%. The mean Young modulus values of pristine and low-grafted PP sutures were in the 2900–3300 MPa range, which

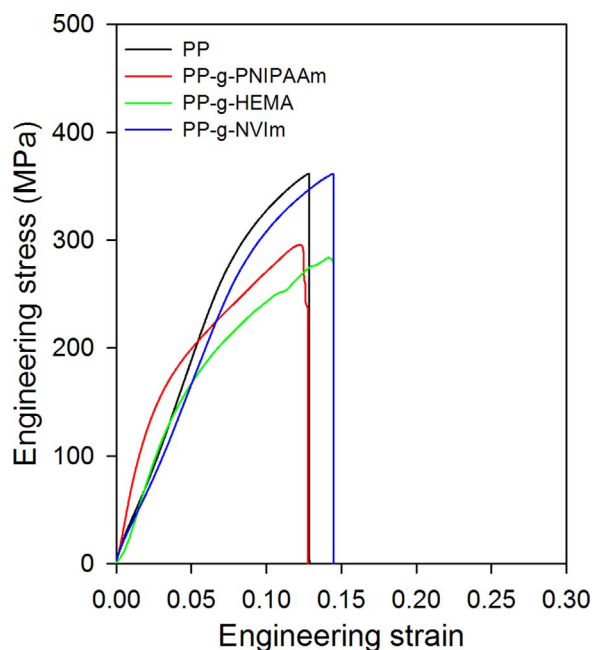


Fig. 8. Stress-strain profiles of pristine PP suture, PP-g-PNIPAAm (128%), PP-g-PHEMA (175%), and PP-g-PNVIm (18%).

is in good agreement with previously reported values for PP sutures (Deng and Zhou, 2006). Highly-grafted PP-g-PNIPAAm and PP-g-PHEMA sutures showed increased Young modulus, with values in the 4000–5700 MPa range, which means that the grafting causes the stiffness of the suture probably because PNIPAAm and PHEMA are in glassy state at room temperature when the suture is dried (Mayo-Pedrosa et al., 2004). Maintenance of the mechanical properties for sutures with less than 30% grafting can be related to the fact that the melting point of the suture was not significantly modified after grafting (Table 2) and that there is a low density of glassy polymers located at the surface; namely, the grafting did not alter the bulk of the suture.

4.6. Cytocompatibility

Finally, the same sutures tested for mechanical properties were evaluated regarding cell compatibility according to the direct contact test ISO standard 10993-5:2009. Compared to cells grown in the absence of suture, those cultured with pristine PP, PP-g-PNIPAAm, PP-g-PHEMA and PP-g-PNVIm showed 99.4 (s.d. 2.5), 97.9 (s.d. 0.3), 99.9 (s.d. 0.0) and 100.9 (s.d. 0.9) percentage of cell viability using LDH kit. These same sutures led to 116.1 (s.d. 7.9), 107.1 (s.d. 2.6), 109.1 (s.d. 7.0), and 110.1 (s.d. 0.3) percentage of cell proliferation using the WST1 assay. These results prove that grafting of the chosen polymers did not compromise biocompatibility of PP sutures.

5. Conclusion

Gamma radiation as source of free radicals proved to be a valuable tool for the grafting of vinyl/acrylic monomers onto the surface of PP monofilaments. Thermal behavior of grafted sutures resembled that of pristine PP, with slightly lower T_d in TGA and T_m in DSC. Grafted sutures showed affinity for water molecules, ranking in the order: PP-g-PHEMA & $\$2lt$; PP-g-PNVIm & $\$2lt$; PP-g-PNIPAAm at room temperature. Grafting of PNIPAAm endowed the sutures with temperature-responsiveness (LCST 28.6 °C), whereas grafting of PNVIm conferred pH responsiveness (critical point at pH=5.6). Overall, modified sutures with less than 30% grafting (disregarding the copolymer grafted) have similar physical and mechanical properties than pristine PP, but the grafted chains add, positively, functional groups that

enhance water affinity and provide stimuli-responsiveness, without compromising cell viability.

Conflict of interest

The authors have no conflict of interest.

Acknowledgement

This work was supported by DGAPA-UNAM under Grant IN201617 (Mexico); MICINN under Grant SAF2014-52632-R (Spain); FEDER. FLS thanks CONACyT for the doctoral scholarship 409872/290649 (CVU/ scholarship holder). The authors thank B. Leal, E. Palacios, and M Cruz from ICN-UNAM for technical assistance, and F. Alvarez-Rivera for help with cytocompatibility tests.

References

- Alvarez-Lorenzo, C., Bucio, E., Burillo, G., Concheiro, A., 2010. Medical devices modified at the surface by g-ray grafting for drug loading and delivery. *Expert Opin. Drug Deliv.* 7, 173–185.
- Caimmi, P.P., Sabbatini, M., Fusaro, L., Borrone, A., Cannas, M., 2016. A study of the mechanical properties of ePTFE suture used as artificial mitral chordae. *J. Card. Surg.* 9999, 1–5.
- Conteras-García, A., Bucio, E., Concheiro, A., Alvarez-Lorenzo, C., 2010. Polypropylene grafted with NIPAAm and APMA for creating hemocompatible surfaces that load/elute nalidixic acid. *React. Funct. Polym.* 70, 836–842.
- Deng, M., Zhou, J., 2006. Effects of temperature and strain level on stress relaxation behaviors of polypropylene sutures. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 17, 365–369.
- El-Salmawi, K.M., Ibrahim, S.M., 2005. Radiation grafting of 2-hydroxy ethyl methacrylate (HEMA)/glycidyl methacrylate (GMA) onto polyethylene-coated polypropylene non-woven fabric. *Polym. Plast. Technol. Eng.* 44, 1671–1687.
- Emans, P.J., Schreinemacher, M.H.F., Gijbels, M.J.J., Beets, G.L., Greve, J.W.M., Koole, L.H., Bouvy, N.D., 2009. Polypropylene meshes to prevent abdominal herniation. *Can. stable Coat. Prev. Adhes. Long. Term. Ann. Biomed. Eng.* 37, 410–418.
- Fares, M.M., Al-Shboul, A.M., 2012. Stimuli pH-responsive (N-vinyl imidazole-co-acryloylmorpholine) hydrogels; mesoporous and nanoporous scaffolds. *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 100A, 863–871.
- García-Vargas, M., González-Chomón, C., Magariños, B., Concheiro, A., Alvarez-Lorenzo, C., Bucio, E., 2014. Acrylic polymer-grafted polypropylene sutures for covalent immobilization or reversible adsorption of vancomycin. *Int. J. Pharm.* 461, 286–295.
- Gupta, B., Anjum, N., Gulrez, S.K.H., Singh, H., 2007. Development of antimicrobial polypropylene sutures by graft copolymerization. II. Evaluation of physical properties, drug release, and antimicrobial activity. *J. Appl. Polym. Sci.* 103, 3534–3538.
- Haji-Saeid, M., Sampa, M.H.O., Chmielewski, A.G., 2007. Radiation treatment for sterilization of packaging materials. *Radiat. Phys. Chem.* 76, 1535–1541.
- Hakamatani, T., Asayama, S., Kawakami, H., 2008. Synthesis of alkylated poly(1-vinylimidazole) for a new pH-sensitive DNA carrier. *Nucleic Acids Symp. Ser.* 52, 677–678.
- Hu, Y., Darcos, V., Monge, S., Li, S., Zhou, Y., Feng Su, F., 2014. Tunable thermo-responsive P(NIPAAm-co-DMAAm)-b-PLLA-b-P(NIPAAm-co-DMAAm) triblock copolymer micelles as drug carriers. *J. Mater. Chem. B* 2, 2738–2748.
- Jain, R., Gupta, B., Anjum, N., Revagade, N., Singh, H., 2004. Preparation of antimicrobial sutures by preirradiation grafting of acrylonitrile onto polypropylene monofilament. II. mechanical, physical, and thermal characteristics. *J. Appl. Polym. Sci.* 93, 1224–1229.
- Kim, K.J., Lee, S.B., Han, N.W., 1993. Effects of the degree of crosslinking on properties of poly(vinyl alcohol) membranes. *Polym. J.* 25, 1295–1302.
- Kumari, M., Gupta, B., Ikram, S., 2012. Characterization of N-isopropyl acrylamide/acrylic acid grafted polypropylene nonwoven fabric developed by radiation-induced graft polymerization. *Radiat. Phys. Chem.* 81, 1729–1735.
- Kwon, O.H., Nho, Y.C., Chen, J., 2003. Surface modification of polypropylene film by radiation-induced grafting and its blood compatibility. *J. Appl. Polym. Sci.* 88, 1726–1736.
- Li, X., ShamsiJazeyi, H., Pesek, S.L., Agrawal, A., Hammouda, B., Verduzco, R., 2014. Thermoresponsive PNIPAAm bottlebrush polymers with tailored side-chain length and end-group structure. *Soft Matter* 10, 2008–2015.
- Mahkam, M., Doostie, L., 2005. The relation between swelling properties and cross-linking of hydrogels designed for colon-specific drug delivery. *Drug Deliv.* 12, 343–347.
- Mayo-Pedrosa, M., Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., 2004. Thermorheological and glass transition properties of pNIPAAm/poly(vinylpyrrolidone) and pNIPAAm/carbopol blends. *J. Therm. Anal. Calorim.* 77, 681–693.
- Monthear, J.P., Chatzopoulos, M., Chappard, D., 1992. 2-Hydroxyethyl methacrylate (HEMA): chemical properties and applications in biomedical fields. *J. Macromol. Sci.* 32, 1–34.
- Mostafa, T.B., 2009. Chemical modification of polypropylene fibers rafted vinyl imidazole/acrylonitrile copolymer prepared by gamma radiation and its possible use for the removal of some heavy metal ions. *J. Appl. Polym. Sci.* 111, 11–18.

- Plessier, C., Gupta, B., Chapiro, A., 1998. Modification of polypropylene fiber by radiation-induced graft copolymerization of acrylonitrile monomer. *J. Appl. Polym. Sci.* 69, 1343–1348.
- Ramírez-Jiménez, A., Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., Bucio, E., 2012. Radiation-grafting of 2-hydroxyethylmethacrylate and oligo (ethylene glycol) methyl ether methacrylate onto polypropylene films by one step method. *Radiat. Phys. Chem.* 81, 27–32.
- Rattan, S., Sehgal, T., 2012. Stimuli-responsive membranes through peroxidation radiation induced grafting of 2-hydroxyethyl methacrylate (2-HEMA) onto isotactic polypropylene film (IPP). *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 293, 107–118.
- Saxena, S., Ray, A.R., Kapil, A., Pavon-Djavid, G., Letourneur, D., Gupta, B., Meddahi-Pelle, A., 2011. Development of a new polypropylene-based suture: plasma grafting, surface treatment, characterization, and biocompatibility studies. *Macromol. Biosci.* 11, 373–382.
- Schmaljohann, D., Oswald, J., Jørgensen, B., Nitschke, M., Beyerlein, D., Werner, C., 2003. Thermo-responsive PNIPAAm-g-PEG films for controlled cell detachment. *Biomacromolecules* 4, 1733–1739.
- Shukla, S.R., Athayle, R., 1993. Thermal properties of 2-hydroxyethyl methacrylate grafted polypropylene. *J. Appl. Polym. Sci.* 49, 2019–2024.
- Takafuji, M., Ide, S., Ihara, H., Xu, Z., 2004. Preparation of poly(1-vinylimidazole)-grafted magnetic nanoparticles and their application for removal of metal ions. *Chem. Mater.* 16, 1977–1983.
- Tollar, M., Stol, M., Kliment, K., 1969. Surgical suture materials coated with a layer of hydrophilic Hydron gel. *J. Biomed. Mater. Res. A* 3, 305–313.
- Wong, R.S.H., Ashton, M., Dodou, K., 2015. Effect of crosslinking agent concentration on the properties of unmedicated hydrogels. *Pharmaceutics* 7, 305–319.
- Yue-e, F., Jun, J., Xiaohua, C., Li, S., 1999. Kinetics of radiation-induced grafting of 2-hydroxyethyl methacrylate onto chloroprene rubber membrane and computer verification. *Polym. Int.* 48, 1129–1132.
- Zavala-Lagunes, E., Ruiz, J.C., Varca, G.H.C., Bucio, E., 2016. Synthesis and characterization of stimuli-responsive polypropylene containing N-vinylcaprolactam and N-vinylimidazole obtained by ionizing radiation. *Mater. Sci. Eng. C* 67, 353–361.
- Zeng, Z., Wei, Y., Shen, L., Hua, D., 2015. Cationically charged poly(amidoxime)-grafted polypropylene nonwoven fabric for potential uranium extraction from seawater. *Ind. Eng. Chem. Res.* 54, 8699–8705.
- Zimek, Z., Kaluska, I., 2002. Sterilization dose auditing for various types of medical products. *Radiat. Phys. Chem.* 63, 673–674.

Radiation Grafting for the Functionalization and Development of Smart Polymeric Materials

Víctor H. Pino-Ramos¹ · Alejandro Ramos-Ballesteros¹ ·
Felipe López-Saucedo¹ · Jesús E. López-Barriguete¹ ·
Gustavo H. C. Varca² · Emilio Bucio¹

Received: 19 April 2016 / Accepted: 3 August 2016
© Springer International Publishing Switzerland 2016

Abstract Gamma radiation has been shown particularly useful for the functionalization of surfaces with stimuli-responsive polymers. This method involves the formation of active sites (free radicals) onto the polymeric backbone as a result of the high-energy radiation exposition over the polymeric material. Thus, a microenvironment suitable for the reaction among monomer and/or polymer and the active sites is formed and then leading to propagation to form side-chain grafts. The modification of polymers using high-energy irradiation can be performed by the following methods: direct or simultaneous, pre-irradiation oxidative, and pre-irradiation. The most frequently used ones correspond to the pre-irradiation oxidative method as well as the direct one. Radiation-grafting has many advantages over other conventional methods because it does not require the use of catalyst nor additives to initiate the reaction and usually no changes on the mechanical properties with respect to the pristine polymeric matrix are observed. This chapter is focused on the synthesis of smart polymers and coatings obtained by the use of gamma radiation. In addition, the diverse applications of these materials in the biomedical area are also reported, with focus in drug delivery, sutures, and biosensors.

This article is part of the Topical Collection “Applications of Radiation Chemistry”; edited by Margherita Venturi, Mila D’Angelantonio.

✉ Alejandro Ramos-Ballesteros
alejandro.ramos@correo.nucleares.unam.mx

✉ Emilio Bucio
ebucio@nucleares.unam.mx

¹ Departamento de Química de Radiaciones y Radioquímica, Instituto de Ciencias Nucleares, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, 04510 México, DF, Mexico

² Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN-SP), Av. Prof. Lineu Prestes, 2242, Cidade Universitária, São Paulo, SP 05508-000, Brazil

Keywords Radiation-grafting · Smart polymers · Sutures · Drug delivery · Biosensors · Polymer functionalization

1 Introduction

Since the synthesis of PVC obtained by Henri Victor Regnault in 1838, a large number of polymeric synthetic materials with chemical–mechanical–thermal properties of the most diverse have been developed [1]. There are a high number of degrees of freedom for the synthesis conditions; and consequently, the properties of the resulting material can be as varied. Polymer chemistry has advanced to the point where it is often possible to tailor-make a variety of different types of polymers with specified molecular weights and structures [2]. However, sometimes a small change in the synthesis conditions or concentrations of reagents generates undesirable changes in the final properties of the material. Surface modification of polymeric materials has come to represent an interesting and useful alternative for generation of polymers with specific physical–chemical properties, coupled with the properties conferred by surface modifications.

There are several means to modify polymers properties, viz. blending, grafting, and curing. ‘Blending’ is the physical mixture of two (or more) polymers to obtain the requisite properties. ‘Grafting’ is a method wherein monomers are covalently bonded (modified) onto the polymer chain, whereas in curing, the polymerization of an oligomer mixture forms a coating which adheres to the substrate by physical forces [3].

Among the methods for polymer modification, “grafting” is a promising technique for the introduction of special functional groups in order to modify their original properties and broad its applications [4].

2 Grafting Techniques

A graft copolymer is a polymer that is composed of two or more chemically different polymeric parts [5]. Generally, graft copolymers are polymers composed of a main polymer chain (backbone) to which one or more side chains (branches) are chemically connected through covalent bonds [6]. On a random, statistical, or alternate copolymerization processes, the different monomers compete with each other to add to propagating centers (radical or ionic), unlike grafting processes wherein synthesis is carried out not simultaneously; instead, a sequence of separate noncompetitive polymerizations is used to incorporate the different monomers into one polymer chain [7].

Graft copolymers have very different properties to raw materials and that has gained great interest in recent years because it is possible to obtain new materials from already available ones. The main purposes of a surface modification are improving the wettability, biocompatibility, and mechanical properties, etc., of a surface polymer. Grafting copolymers can be obtained mainly by two mechanisms known as grafting from and grafting to [8]. There are several parameters that control

the brush properties, such as grafting density, chain length, and chemical composition of the chains [9].

The processes of “grafting to” and “grafting from” are two different ways to change the chemical and physical properties of a polymeric surface (Fig. 1). “Grafting to” allows a preformed polymer to adhere to either polymeric surface through covalent bonds. Due to the larger volume of the coiled polymer to graft and the steric hindrance this causes, the grafting density obtained by this technique is low [10]. On the other hand, the “grafting from” process requires the activation of a backbone polymer previously, which can be carried out by chemical (chemical initiators) or physics methods (ionizing radiations), initiating the polymerization process with monomer units around it. With the “grafting from” mechanism, it is possible to obtain high grafting densities, since there is more access to the chain ends [11].

Grafting a polymer can be achieved by several techniques, such as chemical, radiation, photochemical, plasma-induced, and enzymatic means. The different types of initiators give their name to each grafting technique. Chemical grafting involves free-radical or ionic initiators; radiation induces graft copolymerization that uses high-energy radiation (generally gamma, UV, and electrons); photochemical techniques include photo-sensitive reagents as initiators [12] and plasma-induced grafting implies electron-induced excitation, ionization, and dissociation attained by slow discharge conditions. Then the accelerated electrons from the plasma have sufficient energy to induce cleavage of the chemical bonds in the polymeric structure to form macromolecule radicals, which subsequently initiate graft copolymerization [3].

Among the grafting techniques, radiation processing is presented as an alternative with interesting features over other conventional synthesis and

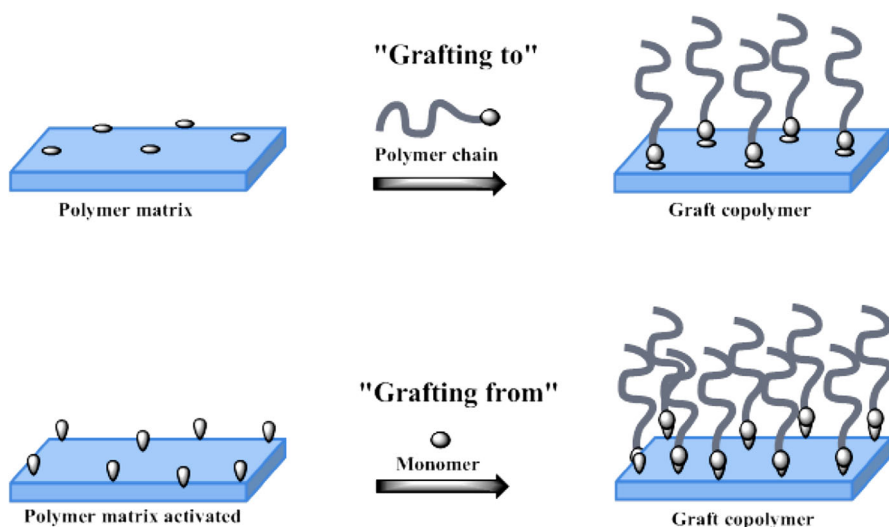


Fig. 1 Synthesis of polymer brushes using “grafting to” and “grafting from” approaches

modification of polymer matrices methods. The lack of catalysts or additives in order to initiate the reaction as well as its simplicity are issues to consider [13]. Polymer modification by radiation grafting techniques has been extensively applied to prepare novel materials (including adsorbents for environmental and industrial applications) and it is of particular interest to achieve specific chemical properties as well as excellent mechanical properties [14].

3 Radiation-Induced Grafting

The process of radiation-induced grafting is based on the deposition of energy from the radiation in the material to be modified. From this energy, highly reactive free radicals, which give rise to secondary reactions with molecules present in the medium, will be generated. These radicals easily react with appropriate functional monomers to form covalent bonds and, as a consequence, growth of macromolecular chains [15], and all of this without the use of chemical initiators.

Each type of ionizing radiation produces the same effect by interacting with matter (ionization and excitation) [16], but according to their specific nature (charge, penetrating power (range), linear energy transfer (LET) and stopping power of the material), highly concentrated free radical areas or homogeneous radical production along the material can be produced. In the case of electrons, ions, and protons; due to its high LET, charge and particle size; each particle delivers its entire energy in a few millimeters and almost without path deviations). For gamma radiation, an homogeneous delivery of energy will occur, both surface and bulk due to the high penetration of gamma rays [17]. In some cases, the types of radiation are combined to generate uniform changes in the material [18], so the type and energy of ionizing radiation used will determine the changes in structure of the resulting material.

Due to the inclusion of “new” molecules in the material, the polymer properties change. Graft copolymerization has been commonly used to modify properties in polymer structures like poly(ethylene terephthalate) (PET), cellulose, polypropylene (PP), and polyethylene (PE), with a wide variety of monomers [19].

Another advantage presented by radiation-induced graft copolymerization is that it enables imparting tailored modifications ranging from surface to bulk of backbone polymers unlike photo- and plasma initiation, which impart surface modification only [20].

The degree of grafting in the copolymer may be adjusted by selection of irradiation and reaction parameters to develop specially designed selective copolymers for specific applications. Radiation-induced graft copolymerization may also be initiated over a wide range of temperatures, including sub-ambient temperatures for monomers available in bulk, solution, or emulsion [20].

There are two basic methods for radiation-induced grafting; including the pre-irradiation, as well as the mutual or the simultaneous method; with an energy source being either gamma ray, UV, or electrons [21–23].

3.1 Methods of Synthesis

Since graft copolymers result from the chemical combination of two macromolecules of different chemical nature, and since radiation is known to create “active sites” in polymeric matrix, it is logical to think that various chemical routes can be followed for the combination of these macromolecules. Among the various methods that can be envisaged for this purpose, four have received special attention; these include direct radiation grafting and grafting on radiation-peroxidized polymers. When polymers are exposed to ionizing radiation under aerated conditions, trapped radicals and peroxides (or hydroperoxides) are formed and remain ready to initiate grafting copolymerization reactions [24].

3.1.1 Direct Radiation Grafting Method

In the direct or simultaneous method (Fig. 2), the simple radiation-chemical method for producing graft copolymers is directly derived from the study of radiation polymerizations. Most radiation-initiated polymerizations proceed via free-radical mechanisms, initiated by the free radicals produced from the radiolysis of the monomer. Nevertheless, since the action of ionizing radiation on matter is unselective, any substance that is added to the monomer also undergoes radiolysis and consequently contributes to the initiation of polymerization [5].

In this method, the polymer substrate is immersed in a monomer-solvent mixture, which may be liquid or vapor and may contain additives. Irradiation produces active sites in the polymer matrix, mainly macroradicals, which can initiate the graft polymerization but also the interaction of radiation with monomer can generate homopolymerization. The latter is an untoward side reaction. As polymer degradation requires higher absorbed doses than the grafting process, it is possible to perform direct grafting under controlled conditions without significant damage to the substrate [21].

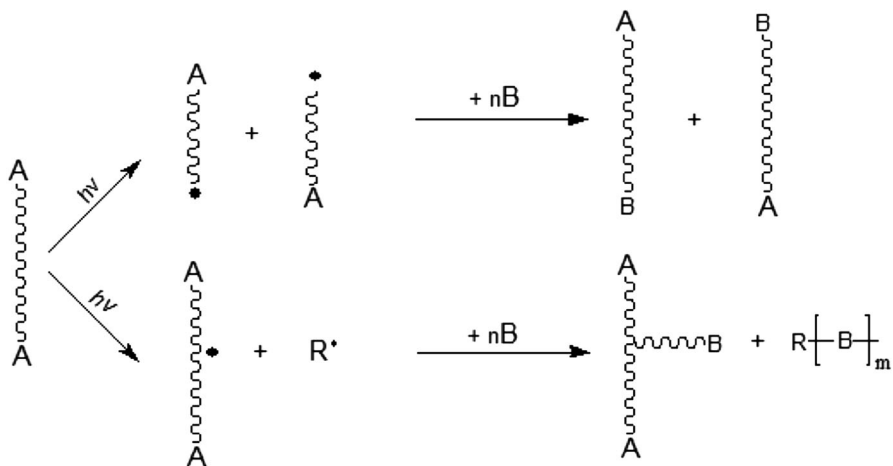


Fig. 2 Grafting by γ -irradiation applying a direct method

3.1.2 Pre-Irradiation Grafting Method

The polymer matrix is irradiated in the absence of air (in vacuo or under an inert atmosphere). Grafting is initiated by macroradicals trapped in the irradiated polymer and homopolymerization is avoided. A disadvantage of this method is the possible degradation of the polymer matrix due to the need of higher doses than the direct method. Besides, there's a significant dependence on the reaction temperature and crystallinity of the polymer because the concentration of trapped macroradicals is higher in a crystalline than in an amorphous polymer, and a comparatively low degree of grafting is obtained [5, 21].

3.1.3 Pre-Irradiation Oxidative Grafting Method

This method involves pre-irradiation of the polymer, but in the presence of air or oxygen. In this way, the macroradicals formed are converted to peroxides and/or hydroperoxides, and when the irradiated polymer is heated in the presence of monomer (in the absence of air), the peroxides decompose to give the macroradicals, which are the active sites for graft polymerization (Fig. 3).

An advantage of the peroxide method is the possibility of storing the irradiated polymer some time before grafting. Some disadvantages are that the hydroxyl radical ($\text{OH}\cdot$) produced by the homolytic cleavage of the hydroperoxide group

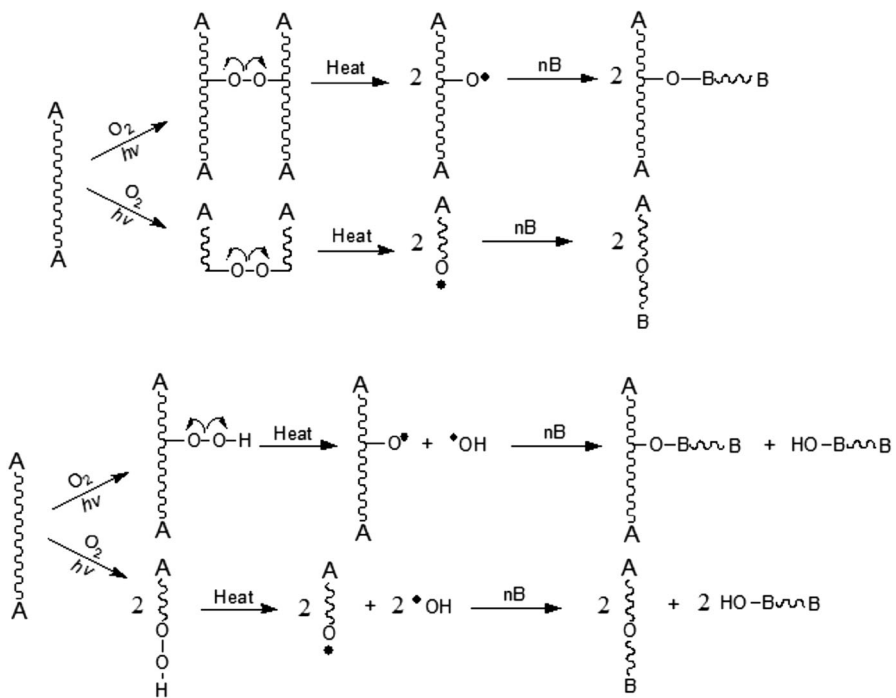


Fig. 3 Grafting by γ -irradiation applying a pre-irradiation method

induces homopolymerization and the pre-irradiation method requires a higher dose of radiation than the direct method [5, 21].

The pre-irradiation technique is a clean and effective method for modification of PP, PE, poly(tetrafluoroethylene) (PTFE), etc. Some reports on grafting polar monomers onto pre-irradiated films have been published [25].

3.2 Modifying Properties by Grafting

Irradiation produces active sites in the polymer matrix, mainly macroradicals, which can initiate the graft polymerization and homopolymerization of the monomer. If the polymer has the tendency to crosslinking [e.g., PP, PE, polystyrene (PS), poly(vinyl chloride) (PVC), etc.] a grafted copolymer is formed. On the other hand, when a polymer has the tendency to chain cleavage [e.g., PTFE, poly(isobutylene), cellulose, poly(methyl methacrylate) (PMMA), and polymers containing tetrasubstituted carbon atoms in the main chain] the process can result in a block copolymer formation. Because degradation of polymers requires higher absorbed doses than the grafting process, it is possible to perform grafting on these polymers [5, 26].

As mentioned before, the type of monomer grafted into the polymer matrix will determine the resulting properties, and of course, the properties of the monomers are dictated by the functional groups' content. Grafting hydrophilic or hydrophobic monomers can improve the hydrophilicity or hydrophobicity of the material respectively; with pH-sensitive monomers we can electrically charge the surface of a material, or modify its swelling properties at different pH's; grafting self-repairing materials can improve the mechanical resistance to scratches, etc. Thermosensitive polymers are a special category of polymers which have in their structure a hydrophobic and a hydrophilic functional groups [e.g., poly(N-isopropylacrylamide), PNIPAAm] [27]; pH-sensitive polymers has ionizable functional groups [e.g., poly(acrylic acid), PAAc]. Monomers with amines affect the swelling behavior of the polymer, because amine protonation results in swelling under acid conditions due to the formation of the ammonium polyelectrolyte, similarly carboxylic acid substituents form ionized salts at basic pH resulting in increased network swelling [28]. Polymers that form complexes may associate due to Van der Waals interactions, ionic bonds, hydrogen bonds, coordination interactions, or salt bridges formed by polyvalent metal ions [29].

3.3 Grafting Quantification and Characterization Techniques

Innumerable techniques are currently available for polymer characterization in terms of the assessment of polymer properties. Of those, thermal [30], mechanical [31], optical [32], and rheological [33] approaches might be determined and used for further comparison with the grafted material.

Characterization methods used to confirm or track down the grafting process include Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) [34], nuclear magnetic resonance (NMR) [35], and X-ray diffraction analysis (XRD) [36]. Considering that these analyses may detail with precision the grafting process as well as the novel chemical linkages, such techniques are currently in the spotlight.

In addition to the above-mentioned techniques, surface studies may also play a key role in the characterization of grafted copolymers due to their ability to reveal important information in terms of microstructure and overall morphology of the grafted polymer [32, 37]. For instance, scanning electron microscopy corresponds to a very usual technique of choice [38]. Other approaches may be used to evidence the graft copolymerization, including differential scanning calorimetry [30, 39] and water contact angle [40, 41], among other techniques.

On the other hand, regarding approaches to quantify grafting, the determination of grafting yields and grafting efficiency are perhaps the most representative ones. Both estimations can be performed based on weight of the samples, as represented in Eqs. (1) and (2) for grafting yields and grafting efficiency, respectively, whereas W_a stands as the initial weight of the sample, W_b corresponds to the dried weight of the grafted sample before the extraction, and W_c represents the dried weight of the grafted sample after extraction [42–44].

$$\text{Grafting yield (\%)} = \frac{W_c - W_a}{W_a} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Grafting efficiency (\%)} = \frac{W_c - W_a}{W_b - W_a} \times 100. \quad (2)$$

When it comes to functionalized materials aside from the careful and precise characterization to assure and provide experimental evidence of the functionalization itself, the tailored function or modification shall be assessed in order to demonstrate and detail the acquired properties, e.g., thermo-responsiveness is well demonstrated by LCST measurements [45, 46], while pH-responsivity is commonly evaluated by determining the pH critical point [47]. In practical means, the characterization and experimental evaluation of the functionality should be carefully designed and performed on a responsiveness or “functionality”-based approach.

4 Smart Polymers

Stimuli-responsive polymers are polymers that respond sharply to small changes in physical or chemical conditions with relatively large phase or property changes [48]. The stimuli in which smart polymers respond to are commonly classified into three categories: physical, chemical, or biological [49]. Temperature and pH stimuli-responsive macromolecular materials have attracted great attention due to their obvious applications in biomedicine and biotechnology [50].

4.1 Smart Polymeric Materials Obtained by Ionizing Radiation

Responsive behavior of polymeric materials could be formally considered as a combination or sequence of several events: (a) reception of an external signal (physical or chemical), (b) chemical change of the material and/or changes in the material properties, and finally (c) transduction of the changes into a macro/

microscopically significant event such as aggregation-deaggregation (commonly referred to as *response*). For example, microgel particles from a crosslinked weak polyelectrolyte (polybase) dispersed in water are sensitive to variations in pH of the medium. Changes (decreases) in pH cause changes in the ionization degree of the polyelectrolyte, and with the change in the ionization degree of the polyelectrolyte comes a molecular conformational modification [51, 52]. One of the smart polymers most studied is probably PNIPAAm, which exhibits a lower critical solution temperature (LCST) between 30 and 35 °C [53]. Acrylic acid (AAc) is one of the important monomers grafted on the matrix of different polymers, where their chains act as reaction sites to introduce various functions through carboxyl groups, and because of its pH-sensitive response [54].

4.1.1 Temperature-Responsive Polymers

Temperature-sensitive polymers exhibit LCST behavior where phase separation is induced at a certain temperature threshold. Polymers of this type undergo thermally induced reversible phase transition. They are soluble in aqueous solutions at low temperatures but become insoluble as the temperature rises above the LCST. It is possible to increase the functionality of microgel particles by finding the right balance of hydrophobic and hydrophilic co-monomers or by tuning to a desired temperature range by copolymerization using more hydrophilic (which raises the LCST) or more hydrophobic (which lowers the LCST) co-monomers [55, 56].

Heskins and Gillet were the first to report an endotherm observed at the LCST upon heating an aqueous solution of PNIPAAm [57]. Grinberg [58] have studied the volume phase transition in responsive polymers using high-sensitivity differential scanning calorimetry (DSC) and as well as the swelling behavior of the polymers at different scanning rates. It was possible to measure the dependence of the transition parameters on the heating rate. The DSC measurements, by heating at different rates (from 1 to 10 °C/min), provided results nearly approximating equilibrium and LCST or UCST. The transition temperature, enthalpy, and entropy of this thermosensitive behavior as well as the transition LCST are parameters that may be estimated.

4.1.2 pH-Responsive Polymers

pH-responsive polymers consist of ionizable pendants capable of accepting and donating protons in response to environmental changes in pH such as carboxylic acids and basic amino alkyl moieties [59]. The change in the charge of pendant groups causes an alteration of the hydrodynamic volume of the polymer chains [60]. Then, the transition from collapsed state to swollen state is caused by the osmotic pressure generated by mobile counterions which neutralize the charges [61]. The phase transition of pH-sensitive polymers is nominated critical pH. In the human body, pH variations are present along the gastrointestinal tract and in problematic sectors like tumor areas and surrounding tissues [62]. Drug delivery in these specific areas make relevant the need for the development of pH-sensitive systems with fast response to changes in environmental stimuli. A fast response of a polymer and a repetitive function of another polymer may be combined using different

functionalization techniques such as γ -irradiation. Most grafting reactions, which take place on the surface or in the bulk polymeric matrix, allow the design of clinically effective controlled drug-delivery systems, supported by the concept of achieving optimized combinations between monomer and the polymer itself.

5 Applications

Applications of functionalized materials by grafting abound in the literature, as such modifications brought to light novel applications and perspectives in terms of their usage, considering the possibility to tailor the materials as desired or required [63]. Examples of materials based on functionalized polymers include smart membranes for separation science [3], conducting polymers [63] for energy and wire technology, responsive materials, including pH- [4], thermo-responsive polymers [64], as well as light- [65] and magnetic-responsive polymers [66], for a wide variety of biomedical and technological applications.

In terms of biomedical applications, functionalized polymers are currently applied for tissue engineering and cell cultivation, biotechnology, biomedicine, and pharmaceutical technology, among others areas that may directly benefit from the advancement of material sciences. A highlighted application is related to cell and tissue cultivation as the grafting of biological substances or other bioactive ones onto polymer substrates has been proven effective towards controlling important parameters for cell growth and tissue development, which may somehow modulate cell affinity, and therefore provide control over the process. However, this work debates the biomedical applications of grafted functionalized polymers by means of sensors, drug delivery, and sutures specifically.

As reviewed earlier, grafting different functional groups in polymer matrices allows us to modify the original properties of the irradiated material, but if we graft molecules with stimuli-responsive properties, we can obtain materials with unique properties that change their behavior according to the environment in which they are. Researchers around the world have found various application fields of intelligent polymers grafted on polymeric surfaces in the areas of development of medical devices for drug delivery, biosensors, and implant development.

5.1 Surface Modification Polymers for Medical Purposes

Gamma-ray irradiation enables the grafting of medical devices with polymers containing functional groups capable of interacting with drug molecules. Depending on the chemical structure of the substrate and the monomers to be grafted, different levels of performance can be achieved [67].

The synthesis of new polymeric materials for biomedical applications are of great interest. However, they should pass exhaustive testing to demonstrate their non-toxicity, biocompatibility, and industrial feasibility; so a lot of time will pass before these kinds of materials have real application and then most of them will be discarded [68]. Instead of synthesis of new materials, biomaterial modifications seem to be the short-term solution for improvement of medical devices to some

extent, as biological safety will have to be determined as a brand new system. Applying surface modification on materials already approved for medical use, we could enhance their properties as biocompatibility, resistance to degradation, mechanical properties, and thermal stability providing perhaps a shorter way for novel alternatives for most.

Device-related infections are among the most serious complications in medical procedures. Its importance arises from the high occurrence and the consequences that it implies in terms of morbidity and mortality. As a result, the presence of these two factors increases hospital costs significantly. If scientists get to synthesize drug-coated biomaterials, it will be possible to reduce device-related infections contracted at surgery during the early post-insertion period, and most infections identified in patients that have been treated with polymeric implants should be delayed, even infections caused by microorganisms from the skin flora and nosocomial environment.

Surface modification of materials used on medical device manufacturing to obtain drug impregnated polymers takes relevance when we talk about microbial resistance to antibiotics. Research has recently been published that accounts for the existence of antimicrobial-resistant strains. Many of them indicate the existence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli* cells. The direct treatment of microbial infections with drug-impregnated medical devices suggests a simple method that releases the drug at a specific site, decreases costs [69], avoids or reduces invasive dosage forms, and minimizes the antimicrobial-resistance effect by not unnecessarily exposing other bacteria to antibiotics [70, 71]. Another area of opportunity for surface modification includes body-contacting materials [72]. Surgical devices and biomedical materials could incorporate drug-delivery systems through insertion of hydrophilic groups with hosting drugs capability through ionic interactions, van de Waals, and hydrogen bond.

The effort should focus mainly on three aspects. First of all, improving the treatment of the complication (treatment and administration routes); secondly, enhancing the hydrophilicity (obtaining lubricity) of biomedical devices, improving biocompatibility [73], and reducing protein adhesion [74]; and finally, increasing preventive measures. This latter point may be the most interesting of all because it focuses on prevention [68].

Medical devices used in vivo should satisfy requirements for performance, bio-interaction, and biocompatibility. The understanding of structure-properties relationships in polymers is advanced, so the desired mechanical properties, durability, and functionality can be achieved [75]. Bio-integration is the ideal outcome expected of an artificial implant. This implies that the phenomena that occur at the interface between the implant and host tissues do not induce any deleterious effects such as chronic inflammatory response or formation of unusual tissues [76].

The most interesting methods to modify a polymer for biomedical purposes are plasma and high energies, (Fig. 4) due to simultaneous sterilization of the material provided by the method [75] and no need of chemical initiators that could represent a biocompatibility problem. It is possible to change many properties with this kind of method (Table 1). Surface treatments can be broadly categorized as functionalization, derivatization, polymerization, and mechanical or surface architecture modification.

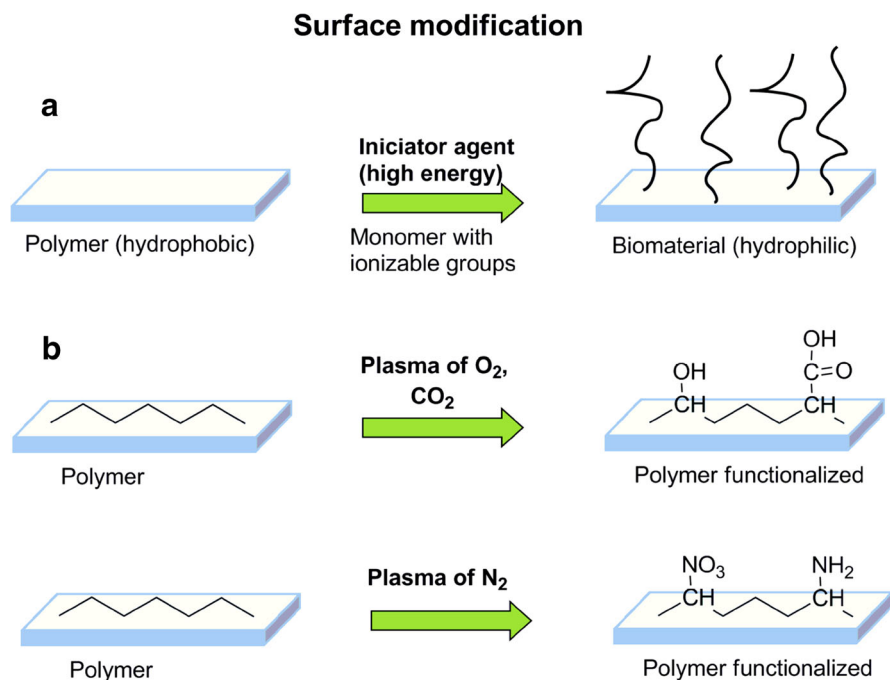


Fig. 4 Surface modification of polymers using ionizing radiation: gamma rays, UV, and electrons (a). Functionalization using plasma with different agents (b)

Table 1 Surface modification of polymer materials

Physically	Physical adsorption; Langmuir–Blodgett films
Chemically	Alkaline or acid-etching oxidation, e.g., through ozone; other chemical transformations
Physico-chemically	Photo activation (UV); corona treatment; treatment with electron or ion irradiation; laser treatment, gamma irradiation; plasma treatment

Dozens of review articles have been reported about surface-modified materials trying to provide a possible solution to biocompatibility and drug release [77]. Materials such as poly (acrylonitrile butadiene styrene) (ABS), silicone rubber (SR), PE [78], PP, and polyurethanes (PU) [79, 80] have been functionalized grafting organic compounds with ionizable groups [e.g., poly(carboxylic acids), poly(*N,N*-diakyl aminoethyl methacrylate) [81], chitosan, etc.] in order to host anti-inflammatory drugs or antimicrobials such as ibuprofen, sodium diclofenac (bacteriostatic), naproxen, vancomycin, or for biomolecule immobilization (enzymes) [82, 83]. Several reports mention that inclusion of poly(ethylene oxide) or poly(ethylene oxide)-acrylic acid mix on catheters surface [84] present a reduction in bacterial adhesion caused for negatively charged surface [85]. On the other hand, fabrication of surfaces with positive charge results in broad-spectrum antimicrobial

Infections catheter-associated

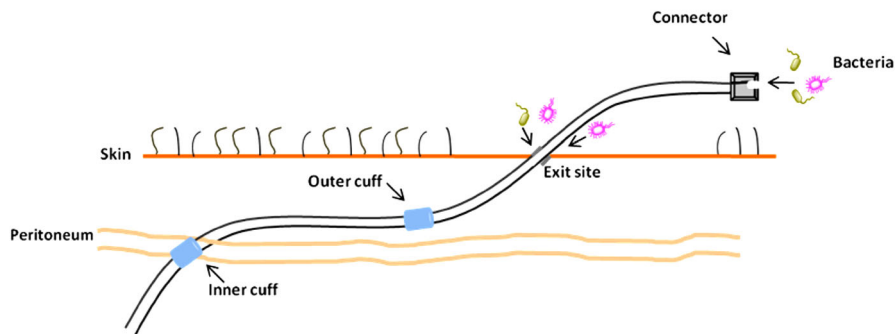


Fig. 5 Infection sites in an implanted urinary catheter. Bacteria can gain access to the peritoneal cavity either by contaminating the connector and the catheter lumen, or by migration from the skin exit site down the catheter track through the tissue

activity [86, 87]. Although the mechanism of action is still subject of debate, the general consensus is that the positive charge disrupts the lipid membrane of microbes. Polysaccharides such as chitosan and poly(4-vinylpyridine) show this activity due to the high nitrogen content of the polymer creating a cationic surface.

5.1.1 Catheters

A polymeric implant is another type of application (probes, prosthetic valves, and catheters). The infection process starts in the implant site; there, the bacteria slowly grow and the antimicrobial hardly gets there, mainly when drugs are intravenously administered or by pills. The cell-adhesion profiles depend of surface architecture and roughness of implants [88]. There are studies that indicate the existence between cell adhesion and polymer surface; the bacteria adhesion occurs mainly when the polymer has a hydrophobic surface [89, 90]. Complications associated with catheters are very common around the world (450,000 cases per year in the USA alone) and the direct costs amount to over a billion dollars [91]. The main reason for the infection is due to adhesion of (Fig. 5) *Escherichia coli*, *Candida spp.*, *Enterococcus spp.*, *Pseudomona aeruginosa*, *Enterobacter spp.*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, and *Staphylococcus aureus* [92, 93]. Avoiding and solving this problem when it occurs is very important in preventing complications that could cause a patient's death.

5.1.2 Coating with Shape-Memory Polymers

Temperature-sensitive polymers, and more specifically shape-memory polymers, have been used in the preparation of minimally invasive surgery medical devices. The unique properties of these materials allow the introduction of the medical device in a compressed form followed by expansion once it is located in the desired place by minimally invasive surgery procedures [68]. Materials such as guidewires,

stents, and others biomedical metallic materials have been surface-modified using an exterior coating method with poly(tetrafluoroethylene) (PTFE) or a hydrophilic polymer to reduce friction and simultaneously provide the necessary properties for a guidewire to negotiate a tortuous ureter path [94].

The chemical and physical characterization of biomaterials generally focus on the structure and properties of the polymer matrix, however, in the case of surface-modification polymers, the characterization techniques focuses mainly on surface functional groups, functional layer thickness, roughness, etc. Roughness is a very important factor to analyze in biomaterials because it is intrinsically related to bacterial adhesion [88].

The three most commonly used surface composition characterization techniques are ATR-FTIR, XPS, and SEM (Table 2); each with different penetration depths. Cell adhesion and toxicity tests with some cell (biocompatibility) are necessary to know if materials have toxic effects [95].

5.1.3 Graft Sutures

Suture is a fiber or fibrous structure attached to a metallic needle [96], mainly employed in surgery procedures as biomaterial device, used to ligate blood vessels and hold tissues together [97]. They can be classified according to the origin of the materials which they are made of (natural or synthetic), the permanence of the material in the body (absorbable or non-absorbable) and the construction process (braided, monofilament) [98, 99]. Suture materials should satisfy specific requirements: easy to handle, elicit minimal tissue reaction, do not support bacterial growth, possess high tensile strength, easy to sterilize, hypoallergenic properties, and do not induce carcinogenic action [97].

Table 2 Biomedical-related surface properties with corresponding measuring methods

Surface characteristics	Methods
Geometry: roughness, topography, specific surface, layer thickness	Profilometry, field emission, REM, AFM, interface microscopy-adsorption isotherms, BET surface area, pore radius distribution
Surface energy: wettability (specially; hydrophilicity)	Contact angle geometry; for biomaterials, mainly the captive bubble method is used
Physical characteristics: adsorption, scratch resistance, other mechanical, electric and optical characteristics, adhesion	Adhesion test after cross-hatch cut, and/or thermo test, permeation measurements, elastic characteristics; for diagnostic purposes; refractive index and fluorescence background radiation
Chemical composition: surfaces and thin layer, chemical functionality of surfaces	FTIR-ATR, IR microscopy and spectroscopy, ESCA-imaging, AES/SAM, fluorescence spectrometry, MALDI-TOF-SIMS
Biological characteristics: biocompatibility, cell adhesion, specific/non-specific, protein adsorption	Growth and toxicity tests with various cells, protein adsorption with IR and fluorescence labeling

In general terms the most important requirements of sutures materials are physical and mechanical properties, biocompatibility and antimicrobial nature [96]; in this sense, some materials currently marketed may become fallible and, as a result, multiple side-infections related to suturing procedures occur in a certain percentage of the patients [100]. This raises the need to develop or modify the existing suture devices in order to make them able to acquire antimicrobial activity analogous to the drug design, either by coating [101] or grafting pristine sutures with antimicrobial polymers and/or containing functional groups capable to load or adhere antimicrobial drugs onto the surface of the modified suture (Fig. 6).

Most commonly, reports for grafting sutures employs ^{60}Co as γ -radiation source (Fig. 7). Radiation grafting has proved to be a very effective technique to get desirable properties onto a polymeric material without any consideration of the shape of the material [102].

The irradiated materials may retain most of their original characteristics and also acquire additional properties of the grafted moiety; the structure, in some cases, changes during the modification process, depending on the nature and the amount of monomer grafted [103, 104]. It is true that the radiation-grafting technique may have limitations to generate biomedical devices because it produces changes not only in the biomaterial surface but throughout the polymer matrix, which can lead to undesirable changes in the structure and properties of the device [105]. In other cases, the use of ionizing radiation provides the energy required for activation of molecules in the material that under other conditions cannot be achieved by the lack of reactive groups.

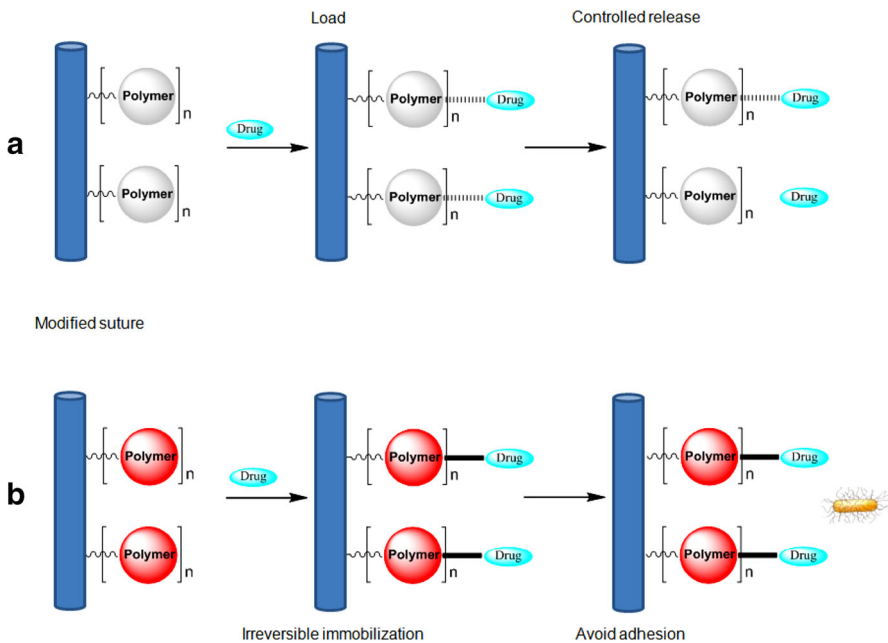


Fig. 6 Electrostatic load-release (a) and covalent immobilization (b) of drugs on modified sutures

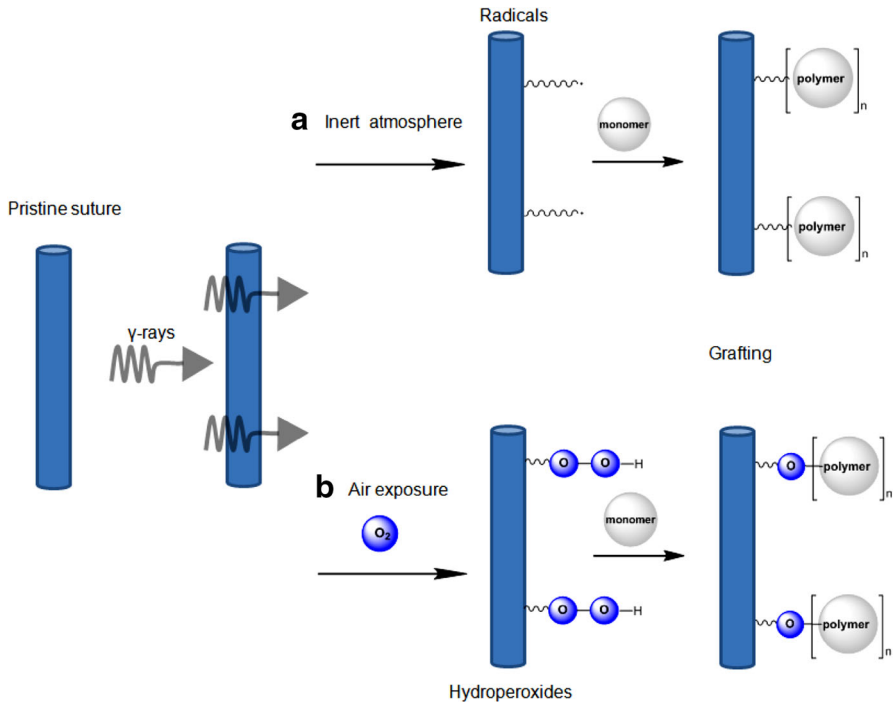


Fig. 7 Suture γ -radiation grafting: **a** direct irradiation and **b** pre-irradiation grafting method

Some examples of PP grafting matrix are described below [102, 104, 106]:

PP-*g*-PAN and PP-*g*-PAAc: Acrylic acid is one of the most popular monomers that have been grafted onto different polymeric matrices and its polymer or copolymers with pH-sensitive response have the capability to undergo further chemical reaction to produce new functional groups [4]. The grafting percentage of AAc onto PP films by pre-irradiation method was increased as a function of reaction time and reaction temperature [14].

Due to the inherent reactivity of the acrylic acid, homopolymer formation is the main polymerization reaction when radiation-grafting technique is used. Efforts have been made to obtain carboxylic acids' high-content surfaces without compromising the sutures' physical properties.

The grafting polymerization using pre-irradiation technique of acrylonitrile (AN) onto PP monofilament leads to an increase in tenacity up to a graft level of 5 % [104]. Subsequent hydrolysis is an effective way to introduce carboxylic groups into the monofilament. The transformation of nitrile groups into carboxylic groups proceeds under sodium hydroxide conditions to achieve PP-*g*-AAc, as this reaction is necessary for loading the drug; the hydrolysis leads to a considerable loss of mechanical strength in the grafted suture. This approach produces a suture with carboxyl functionality PP-*g*-AAc of 62 % or about 0.25 mmol/g, which is enough for subsequent antimicrobial drug immobilization [102, 106].

PP-g-PVIm: Here, sutures were prepared by the simultaneous radiation grafting of 1-vinylimidazole (VIm) onto PP monofilament with results around 5–20 %. The tenacity slightly decreases, whereas the elongation augments with the increment in the degree of grafting.

The grafted suture has reasonably good water uptake. The PP-g-PVIm grafting was immobilized with an antimicrobial drug, ciprofloxacin. The modified suture releases the drug over a period of 4–5 days, the same period of time that the material showed antimicrobial activity in vitro against *Escherichia coli* [107].

PP-g-PAAc and PP-g-PGMA: Recently, our investigation group developed separately grafting AAc and glycidyl methacrylate, GMA onto PP sutures applying γ -ray pre-irradiation oxidative method under various experimental conditions, therefore a different range of grafting was obtained (GMA: 25–800 %, AAc: 9–454 %). Synthesis and antimicrobial activity from this study was: (a) with PP-g-AAc load and release of vancomycin drug, here only ionic interactions are involved and (b) the irreversible covalent immobilization of the drug onto PP-g-GMA via the opening ring of the epoxy groups, then, the alcohol oxidation to the aldehyde, which reacts with the amino groups of the vancomycin and finally to the reductive amination of the copolymer. In both cases, antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* was corroborated [103].

5.2 Biosensors

Sensors are transducers that detect changes or events in the environment to produce an outcome, i.e., have the feature to convert one sort of energy (signal) to another, generally into an electrical signal. The advantage of sensors against chemical analysis techniques results from the fact that they are specialized, small size, portable, and inexpensive devices that are suitable for in situ analysis and real-time monitoring of chemical and physical parameters [108].

Within the different types of sensors used today, biosensors have gained importance and interest in the scientific community due to their performance and application possibilities for knowledge and monitoring of biological processes. Biomedical sensors acquire signals thanks to a bioreceptor (biological recognition element), representing biomedical variables or phenomena and transform them into electrical signals. These kinds of sensors have an interface between a biologic part and an electronic system; thus both parts must function in such a way that do not change or affect adversely the systems. Table 3 shows different types of sensors according to its interface. In the last years, these sort of sensors have been defined as biosensors.

A variety of sensors can be applied for biomedical purposes; it is possible to classify them into two wide groups according to the transduction principles involved. Table 4 shows the two groups of sensors.

The sensors with physical structure can measure the changes in electrical and optical phenomena inside the human body, e.g., quantify pressure, blood flow, corporal temperature, muscular stretching, and bone growth [108]. On the other hand, although chemical sensors can be applied to measure these changes too, they are particularly useful for detecting, quantifying, and monitoring the presence of

Table 3 Types of sensors (interface)

Non-contacting (non-invasive)
Skin surface (contacting)
Indwelling (minimally invasive)
Implantable (invasive)

Table 4 General classification of sensors (biomedical application)

Physical structure	Chemical structure
Mechanical	Electrochemical
Electric	Photometric
Thermal	Bioanalytic
Optical	Gas
Geometric	Physical chemical methods
Hydraulic	

different elements or compounds in specific concentrations, as well as for determining the activity and interaction with other elements inside a determined biological process to generate a possible diagnosis and therapy [109].

The materials to design and develop biosensors have been changing over time. One of the main problems faced by the biosensor technology is the rejection of the device by biological systems [110]. Thus, efforts have been focused to provide different materials that permit the correct integration between systems (biocompatibility). Moreover, it is well known that sensor performance can be modified by the interaction with biological systems. The degradation due to the exposition to biological matter is related to the type of sensor. In the case of internal sensors (inside the body) degradation degree is faster and, as a consequence, the performance would be decreased and the structure-design will be compromised. Biomedical sensors should have a flexible base structure capable of deforming and adapting to body form. The latest research has been testing and developing biocompatible polymers with excellent mechanical properties. The principal biomedical applications are generating wound-relief membranes with drug delivery [111], adhesives for biological implants, sensor skin support [112], cartilage and artificial meniscus [113], and eye-drop lubricant and fibers [114].

Radiation-induced grafting is presented as an alternative method for functionalization of polymer surfaces to improve biocompatibility of biosensors. Not only can they improve biocompatibility, molecules or polymers sensitive to electrical, magnetic, or chemical changes can be grafted, meaning a higher sensitivity, resistance, and specificity to certain biological processes. Poly(vinyl alcohol) (PVA) is one of the polymers used for this purpose. It is both water-soluble and flexible, characteristics that increase biocompatibility and mechanical resistance, respectively. Another polymer is PS, which excellent biocompatibility, low permeability, non toxicity, has good adsorption, mechanical, and chemical resistance. All of these features make polystyrene a candidate for use as a base for immobilizing enzymes [115] and drug delivery [116]. PMMA is another biomedical material that is

resistant to inorganic solvents, has good optical capacity (92 % transparency), a high rate of refraction and biocompatibility. A common application is for intra-ocular lenses, dental prosthesis [114], thin films, electronic skin devices, and support [112].

Other materials with the possibility of being grafted for sensor applications are conductive polymers (CP). Unless the knowledge about the amorphous structure on polymers and classified like electrical isolators, the CP have conducting properties achieved by incorporation of small concentrations of conducting materials (doping) or by inclusion of conjugated π electrons systems [117]. In some cases, CP let a good flow of electrons closing to conductivity values of some metals ($>10^3$ S/cm). Polymeric materials with conductive properties gather structural physical–chemical characteristics inherent to polymers with electrical conductivity of metals [118]. One of the most used conductive polymers is polypyrrole (PPy) due to its characteristics of high conductivity, biocompatibility, oxide-reduction activity, ductility, possibility of surface modification [119], capability to form thin films [120], and corrosion protection [121]. Grafting polypyrrole molecules onto different substrates generates materials with applications in organic electronic devices [121], rechargeable batteries, light emission diodes (LED) [118], electrochemical sensors [121], thin films [119], synthetic fibers, and protection shields on semiconductors [120]. Another CP is the polyaniline (PANI). Chemical and thermal stability, controllable conductivity, high conductivity in terms of frequency, electromagnetic shield interference and microwave absorption [122] are their common characteristics, and are usually used to fabricate low-cost photovoltaic panels, high-performance batteries [119], organic volatile compound detectors [123], and organic electronic circuits [124]. Another material is the polythiophene (PT), with properties like biocompatibility, possibility of chemical modification, high conductivity, and stability, being one of the early organic materials used in the electronic industry, like FET transistors [125] and semiconductor films [126]. All of these materials modify their conductive properties through increasing or decreasing the electrical resistance based upon reactions of oxide-reduction.

5.3 Grafting Polymer Matrixes for Cell and Tissue Cultivation

Another important application for radiation grafting technique is the modification of biomaterials to enhance or lighten-up interactions with living tissues. The surface of the biomaterial comes in contact with the living tissues, thus the initial response of the body towards a biomaterial depends on its characteristics. Hence, proper designing and/or modification of the surface is of considerable importance for enhanced compatibility of the biomaterial. In the tissue compatibility case, two types of reactions can occur: inflammation and immunogenicity, but in the blood compatibility the fastest reaction is often thrombogenicity. The inevitable inflammation in the tissue compatibility occurs around the implanted material and its function is to allow elimination of dead cell debris and further tissue repair. A material of optimal biocompatibility should not increase the intensity and duration to the basic response, nor prevent the tissue repair. The interactions between blood and a polymer surface depend on various parameters determined by the structure

(e.g., crystallinity, molecular conformation, roughness, rigidity, and degradation), composition (e.g., chemical group associated with the hydrophilic/hydrophobic balance, type of electrical charge, ionizable groups, and micro-domains), and dimensions (e.g., surface area and size) of the material. Grafting several molecules on the biomaterial surface allows us to modify these parameters and characteristics in order to promote tissue growth and, as a consequence, the acceptance of the polymeric material by living tissue and biocompatibility. These reactions are generally different for each material, but at the design and synthesis of a polymer for biomedical use, these parameters must be taken into account [127, 128].

Current approaches are giving considerable efforts in providing niche theories and solid bases considering a pore-size perspective ranging from nano to micrometer range, trying to establish a direct connection with cell growth. In this context, several works are being carried out considering the development of scaffolds with well-defined pore size and distribution [129, 130]. Apart from a size perspective, grafting of biomolecules of biomedical interest may also be directed towards functionalization of surfaces and polymers that were seek for site specific delivery, provide biological affinity, among other properties. From a developmental point of view, several modifications may be carried out on a surface or backbone level for improving biological affinity [131–133]. Within this perspective, several potential biomolecules may be grafted onto polymeric matrixes, also along polymer structure, including proteins [131–134], growth factors [135], among other biomolecules of interest.

A highlighted and renowned application for grafted polymer and grafted polymer matrices is related to cell and tissue cultivation, whereas grafting of biological substances or other bioactive compounds onto polymer substrates has been proven effective towards controlling important parameters for cell growth and tissue development, which may somehow modulate cell affinity and therefore provide control over the process. Thus, when it comes to tissue engineering or cell cultivation, lots of attention has been driven towards the development of smart matrices capable of promoting cell attachment and adhesion and cell growth [136–139].

Advanced systems comprise stimuli-responsive materials, e.g., thermoresponsive matrices [135], which may modulate cell affinity as a function of temperature. In practical terms, these systems allow cell cultivation with adequate adherence by providing a suitable microenvironment for cell and tissue growth, and when appropriate, changes in temperature lead to complete cell detachment, which is adequate for quick tissue removal, without requiring direct handling.

6 Conclusions and Remarks

In terms of relevance, the contribution of polymer grafting to the advancement of materials science is well established, as it unraveled novel applications for conventional materials as a result of the responsive or tunable properties added to the products through the grafting process. Within this context, this chapter detailed the state of the art of polymer grafting, by means of high-energy irradiation,

including fundamental aspects of synthesis and characterization, with focus on the functionalization of surfaces for biomedical applications.

Three techniques are currently available for the development of grafted polymers or functionalization of surfaces with stimuli-responsive polymers by the use of high-energy irradiation, known as the pre-irradiation method, pre-irradiation oxidative method, and the direct method. Such techniques lead to distinct grafting and homopolymer formation yields and require different experimental parameters or conditions to be applied. Thus, the selection of the method should rely on the characteristics of the monomer or functional group, and the polymer itself, as well as the desired properties to be achieved.

Radiation-grafting has advantages over conventional methods, including the lack of a needed catalyst or additives to initiate the reaction, and usually, no changes of the mechanical properties with respect to the pristine polymeric matrix are observed. In addition to these characteristics, irradiation may allow simultaneous sterilization of the systems, depending upon the irradiation dose.

Finally, some applications of grafted polymers and grafted polymer-based materials were described including the development of graft biomaterials for drug delivery, graft sutures, and for use as biosensors. The main advancement provided by the technique towards biomaterial development concerns the possibility to originate materials capable of responding to biological or microenvironmental changes, without the need for an external interference. In terms of drug delivery as an example, the benefits arise as low doses of medicines may be administered in longer periods of time with less toxicity as a consequence. On this account, future perspectives abound as novel possibilities and functionalized materials are created continuously in the search to solve issues regarding drawbacks of polymers or polymer-based materials.

Acknowledgments The authors thank M. L. Escamilla, A. A. Ramírez, M. Cruz, and B. Leal from ICN-UNAM for their technical assistance. This work was supported by DGAPA-UNAM Grant IN200714.

References

1. Mulder K, Knot M (2001) A history of systems development and entrenchment. *Technol Soc* 23:265–286. doi:[10.1016/S0160-791X\(01\)00013-6](https://doi.org/10.1016/S0160-791X(01)00013-6)
2. Odian G (2004) *Principles of polymerization*, 4th edn. Wiley, New Jersey. ISBN 0-471-27400-3
3. Bhattacharya A, Misra BN (2004) Grafting: a versatile means to modify polymers: techniques, factors and applications. *Prog Polym Sci* 29:767–814. doi:[10.1016/j.progpolymsci.2004.05.002](https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2004.05.002)
4. Bucio E, Burillo G (2009) Radiation-induced grafting of sensitive polymers. *J Radioanal Nucl Chem* 280:239–243. doi:[10.1007/s10967-009-0505-9](https://doi.org/10.1007/s10967-009-0505-9)
5. Chapiro A (1962) *Radiation chemistry of polymeric systems*. Interscience Publishers, New York
6. Hadjichristidis N, Pispas S, Pitsikalis M, Iatrou H, Lohse DJ (2002) *Encyclopedia of polymer science and technology*. Graft Copolymers chapter. Wiley, New York. doi:[10.1002/0471440264.pst150](https://doi.org/10.1002/0471440264.pst150)
7. Stevens M (1999) *Polymer chemistry. An Introduction*, 3rd edn. Oxford University Press, New York. ISBN 0-19-512444-8
8. Zdyrko B, Luzinov I (2011) Polymer brushes by the “grafting to” method. *Macromol Rapid Commun* 32:859–869. doi:[10.1002/marc.201100162](https://doi.org/10.1002/marc.201100162)

9. Berger S, Synytska A, Ionov L, Eichhorn KJ, Stamm M (2008) Stimuli-responsive bicomponent polymer Janus particles by “grafting from”/“grafting to” approaches. *Macromolecules* 41:9669–9676. doi:[10.1021/ma802089h](https://doi.org/10.1021/ma802089h)
10. El-Sayed AH, Ishigaki I, Okamoto J (1981) Radiation grafting of acrylic acid onto fluorine-containing polymers. I. Kinetic study of preirradiation grafting onto poly(tetrafluoroethylene). *J Appl Polym Sci* 26:3117–3124. doi:[10.1002/pol.1984.170220309](https://doi.org/10.1002/pol.1984.170220309)
11. Fijiki K, Tsubokawa N, Sone Y (1990) Radical grafting from carbon black. Graft copolymerization of vinyl monomers initiated by azo groups introduced onto carbon black surface. *Polym J* 22:661–670. doi:[10.1295/polymj.22.661](https://doi.org/10.1295/polymj.22.661)
12. Kato K, Uchida E, Kang E-T, Uyama Y, Ikada Y (2003) Polymer surface with graft chains. *Prog Polym Sci* 28:209–259. doi:[10.1016/S0079-6700\(02\)00032-1](https://doi.org/10.1016/S0079-6700(02)00032-1)
13. Chapiro A (1964) Radiation chemistry of polymers, basic mechanisms in the radiation chemistry of aqueous media. *Radiat Res Suppl.* 4:179–191
14. Ramírez-Fuentes YS, Bucio E, Burillo G (2007) Radiation-induced grafting of *N*-isopropylacrylamide and acrylic acid onto polypropylene films by two step method. *Nucl Instrum Methods B* 265:183–186. doi:[10.1016/j.nimb.2007.08.046](https://doi.org/10.1016/j.nimb.2007.08.046)
15. Hanh TT, Huy HT, Hien NQ (2015) Pre-irradiation grafting of acrylonitrile onto chitin for adsorption of arsenic in water. *Radiat Phys Chem* 106:235–241. doi:[10.1016/j.radphyschem.2014.08.004](https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2014.08.004)
16. Tsoufanidis N (1995) Measurement and detection of radiation, 2nd edn. Taylor & Francis, Missouri. ISBN 1-56032-317-5
17. Leroy C, Rancoita P-G (2009) Principles of radiation interaction in matter and detection, 2nd edn. World Scientific Publishing, Massachusetts. ISBN 9789812818270
18. Kimura Y, Chen J, Asano M, Maekawa Y, Katakai R, Yoshida M (2007) *Nucl Instrum Methods B* 263:463–467. doi:[10.1016/j.nimb.2007.07.010](https://doi.org/10.1016/j.nimb.2007.07.010)
19. Mandal DK, Bhunia H, Bajpai PK, Chaudharib CV, Dubeyb KA, Varshney L (2016) Radiation-induced grafting of acrylic acid onto polypropylene film and its biodegradability. *Radiat Phys Chem* 123:37–45. doi:[10.1016/j.radphyschem.2016.02.011](https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2016.02.011)
20. Nasef MM, Güven O (2012) Radiation-grafted copolymers for separation and purification purposes: status, challenges and future directions. *Prog Polym Sci* 37:1597–1656. doi:[10.1016/j.progpolymsci.2012.07.004](https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2012.07.004)
21. Alvarez-Lorenzo C, Bucio E, Burillo G, Concheiro A (2010) Medical devices modified at the surface by Gamma-ray grafting for drug loading and delivery. *Expert Opin Drug Deliv* 7:173–185. doi:[10.1517/17425240903483174](https://doi.org/10.1517/17425240903483174)
22. Dennis GR, Garnett JL, Zilic E (2003) Cure grafting—a complementary technique to preirradiation and simultaneous processes? *Radiat Phys Chem* 67:391–395. doi:[10.1016/S0969-806X\(03\)00073-2](https://doi.org/10.1016/S0969-806X(03)00073-2)
23. Desmet G, Takács E, Wojnárovits L, Borsa J (2011) Cellulose functionalization via high-energy irradiation-initiated grafting of glycidyl methacrylate and cyclodextrin immobilization. *Radiat Phys Chem* 80:1358–1362. doi:[10.1016/j.radphyschem.2011.07.009](https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2011.07.009)
24. Magaña H, Palomino K, Cornejo-Bravo JM, Alvarez-Lorenzo C, Concheiro A, Bucio E (2015) Radiation-grafting of acrylamide onto silicone rubber films for diclofenac delivery. *Radiat Phys Chem* 107:164–170. doi:[10.1016/j.radphyschem.2014.10.011](https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2014.10.011)
25. Gupta B, Jain R, Anjum N, Singh H (2006) Preirradiation grafting of acrylonitrile onto polypropylene monofilament for biomedical applications: I. Influence of synthesis conditions. *Radiat Phys Chem* 75:161–167. doi:[10.1016/j.radphyschem.2005.04.003](https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2005.04.003)
26. Meléndez-Ortiz HI, Varca GHC, Lugão AB, Bucio E (2015) Smart polymers and coatings obtained by ionizing radiation: synthesis and biomedical applications. *OJP Chem* 5:17–33. doi:[10.4236/ojpchem.2015.53003](https://doi.org/10.4236/ojpchem.2015.53003)
27. Hoffman AS, Stayton PS, Bulmus V, Chen G, Chen J, Cheung C (2000) Really smart bioconjugates of smart polymers and receptor proteins. *J Biomed Mater Res* 52:577–586. doi:[10.1002/1097-4636\(20001215\)](https://doi.org/10.1002/1097-4636(20001215))
28. Klier J, Scranton AB, Peppas NA (1990) Self-associating networks of poly(methacrylic acid-glycol). *Macromolecules* 23:4944–4949. doi:[10.1021/ma00225a011](https://doi.org/10.1021/ma00225a011)
29. Osada Y (1987) Conversion of chemical into mechanical energy by synthetic polymers (chemomechanical systems). *Adv Polym Sci* 82:1–46. doi:[10.1007/BFb0024041](https://doi.org/10.1007/BFb0024041)
30. Richardson MJ (1989) Thermal analysis. In: Allen G, Bevington JC (eds) *Comprehensive polymer science and supplements*. Pergamon, Amsterdam, pp 867–901. doi:[10.1016/B978-0-08-096701-1.00036-7](https://doi.org/10.1016/B978-0-08-096701-1.00036-7)

31. Li Z, Tang M, Dai J, Wang T, Bai R (2016) Effect of multiwalled carbon nanotube-grafted polymer brushes on the mechanical and swelling properties of polyacrylamide composite hydrogels. *Polymer* 85:67–76. doi:[10.1016/j.polymer.2016.01.025](https://doi.org/10.1016/j.polymer.2016.01.025)
32. Meléndez-Ortiz HI, Bucio E, Isoshima T, Hara M (2010) Surface characterization of binary graft copolymers (PP-g-DMAEMA)-g-NIPAAm and (PP-g-4VP)-g-NIPAAm by using SEM and AFM. *Smart Coat Book Ref Am Chem Soc Publ* 1050:107–120. doi:[10.1021/bk-2010-1050.ch008](https://doi.org/10.1021/bk-2010-1050.ch008)
33. Wu F, Zhang S, Chen Z, Zhang B, Yang W, Liu Z, Yang M (2016) Interfacial relaxation mechanisms in polymer nanocomposites through the rheological study on polymer/grafted nanoparticles. *Polymer* 90:264–275. doi:[10.1016/j.polymer.2016.03.034](https://doi.org/10.1016/j.polymer.2016.03.034)
34. Percot A, Zhu XX, Lafleur M (2000) A simple FTIR spectroscopic method for the determination of the lower critical solution temperature of *N*-isopropylacrylamide copolymers and related hydrogels. *J Polym Sci Part B: Polym Phys* 38:907–915. doi:[10.1002/\(SICI\)1099-0488\(20000401\)38:7<907:AID-POLB1>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0488(20000401)38:7<907:AID-POLB1>3.0.CO;2-5)
35. Kwan S, Marić M (2016) Thermoresponsive polymers with tunable cloud point temperatures grafted from chitosan via nitroxide mediated polymerization. *Polymer* 86:69–82. doi:[10.1016/j.polymer.2016.01.039](https://doi.org/10.1016/j.polymer.2016.01.039)
36. Mutalik S, Suthar NA, Managuli RS, Shetty PK, Avadhani K, Kalthur G, Kulkarni RV, Thomas R (2016) Development and performance evaluation of novel nanoparticles of a grafted copolymer loaded with curcumin. *Int J Biol Macromol* 86:709–720. doi:[10.1016/j.ijbiomac.2015.11.092](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.11.092)
37. Wyart Y, Georges G, Deumié C, Amra C, Moulin P (2008) Membrane characterization by optical methods: ellipsometry of the scattered field. *J Membr Sci* 318:145–153. doi:[10.1016/j.memsci.2008.02.039](https://doi.org/10.1016/j.memsci.2008.02.039)
38. Wu Q, Wu B (1995) Study of membrane morphology by image analysis of electron micrographs. *J Membr Sci* 105:113–120. doi:[10.1016/0376-7388\(95\)00055-H](https://doi.org/10.1016/0376-7388(95)00055-H)
39. Rieger J (2001) The glass transition temperature T_g of polymers—comparison of the values from differential thermal analysis (DTA, DSC) and dynamic mechanical measurements (torsion pendulum). *Polym Test* 20:199–204. doi:[10.1016/S0142-9418\(00\)00023-4](https://doi.org/10.1016/S0142-9418(00)00023-4)
40. Gu H, Wang C, Gong S, Mei Y, Li H, Ma W (2016) Investigation on contact angle measurement methods and wettability transition of porous surfaces. *Surf Coat Technol* 292:72–77. doi:[10.1016/j.surfcoat.2016.03.014](https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2016.03.014)
41. Letellier P, Mayaffre A, Turmine M (2007) Drop size effect on contact angle explained by nonextensive thermodynamics. Young's equation revisited. *J Colloid Interface Sci* 314:604–614. doi:[10.1016/j.jcis.2007.05.085](https://doi.org/10.1016/j.jcis.2007.05.085)
42. Kalia S, Sabaa MW (2013) Polysaccharide based graft copolymers. Springer, Berlin, Heidelberg. doi:[10.1007/978-3-642-36566-9_2](https://doi.org/10.1007/978-3-642-36566-9_2)
43. Ferraz CC, Varca GHC, Ruiz JC, Lopes PS, Mathor MB, Lugão AB, Bucio E (2014) Radiation-grafting of thermo- and pH-responsive poly(*N*-vinylcaprolactam-co-acrylic acid) onto silicone rubber and polypropylene films for biomedical purposes. *Radiat Phys Chem* 97:298–303. doi:[10.1016/j.radphyschem.2013.12.027](https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2013.12.027)
44. Pathania D, Sharma R (2012) Synthesis and characterization of graft copolymers of methacrylic acid onto gelatinized potato starch using chromic acid initiator in presence of air. *Adv Mater Lett* 3:136–142. doi:[10.5185/amlett.2011.829](https://doi.org/10.5185/amlett.2011.829)
45. Zhang J, Peppas NA (2000) Synthesis and characterization of pH- and temperature-sensitive poly (methacrylic acid)/poly(*N*-isopropylacrylamide) interpenetrating polymeric networks. *Macromolecules* 33:102–107. doi:[10.1021/ma991398q](https://doi.org/10.1021/ma991398q)
46. Tsukasa S, Kazutaka K, Takaki S, Tomoo S (1998) UCST and LCST behavior in polymer blends containing poly (methyl methacrylate-stat-styrene). *Polymer* 39:773–780. doi:[10.1016/S0032-3861\(97\)00339-X](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(97)00339-X)
47. Bucio E, Burillo G (2007) Radiation grafting of pH and thermosensitive *N*-isopropylacrylamide and acrylic acid onto PTFE films by two-steps process. *Radiat Phys Chem* 76:1724–1727. doi:[10.1016/j.radphyschem.2007.02.109](https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2007.02.109)
48. Hoffman AS (2013) Stimuli-responsive polymers: biomedical applications and challenges for clinical translation. *Adv Drug Deliv Rev* 65:10–16. doi:[10.1016/j.addr.2012.11.004](https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.11.004)
49. Peppas NA, Hilt JZ, Khademhosseini A, Langer R (2006) Hydrogels in biology and medicine: from molecular principles to bionanotechnology. *Adv Mater* 18:1345–1360. doi:[10.1002/adma.200501612](https://doi.org/10.1002/adma.200501612)
50. Zhou L, Yuan W, Yuan J, Hong X (2008) Preparation of double-responsive SiO₂-g-DMAEMA nanoparticles via ATRP. *Mater Lett* 62:1372–1375. doi:[10.1016/j.matlet.2007.08.057](https://doi.org/10.1016/j.matlet.2007.08.057)

51. Bignotti F, Penco M, Sartore L, Peroni I, Mendichi R, Casolaro M, D'Amore A (2000) Synthesis, characterization and solution behavior of thermo- and pH-responsive polymers bearing L-leucine residues in the side chains. *Polymer* 41:8247–8256. doi:[10.1016/S0032-3861\(00\)00177-4](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(00)00177-4)
52. Burillo G, Bucio E, Arenas E, Lopez GP (2007) Temperature and pH sensitive swelling behavior of binary DMAEMA/4VP grafts on polypropylene films. *Macromol Mater Eng* 292:214–219. doi:[10.1002/mame.200600394](https://doi.org/10.1002/mame.200600394)
53. Bucio E, Burillo G, Adem E, Coqueret X (2005) Temperature sensitive behavior of poly(*N*-isopropylacrylamide) grafted onto EB-irradiated polypropylene. *Macromol Mater Eng* 290:745–752. doi:[10.1002/mame.200500074](https://doi.org/10.1002/mame.200500074)
54. Adem E, Avalos-Borja M, Bucio E, Burillo G, Castellon FF, Cota L (2005) Surface characterization of binary grafting of AAC/NIPAAm onto poly(tetrafluoroethylene) (PTFE). *Nucl Instrum Methods B* 234:471–476. doi:[10.1016/j.nimb.2005.02.009](https://doi.org/10.1016/j.nimb.2005.02.009)
55. Yan L, Zhu Q, Kenkare PU (2000) Lower critical solution temperature of linear PNIPA obtained from a Yukawa potential of polymer chains. *J Appl Polym Sci* 78:1971–1976. doi:[10.1002/1097-4628\(20001209\)78:11<1971:AID-APP170>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/1097-4628(20001209)78:11<1971:AID-APP170>3.0.CO;2-P)
56. Feil H, Bae YH, Feijen J, Kim SW (1993) Effect of comonomer hydrophilicity and ionization on the lower critical solution temperature of *N*-isopropylacrylamide copolymers. *Macromolecules* 26:2496–2500. doi:[10.1021/ma00062a016](https://doi.org/10.1021/ma00062a016)
57. Heskins M, Guillet JE (1969) Solution properties of poly(*N*-isopropylacrylamide). *J Macromol Sci Chem* 2:1441–1455. doi:[10.1007/s00396-012-2694-y](https://doi.org/10.1007/s00396-012-2694-y)
58. Grinberg VY, Dubovik AS, Kuznetsov DV, Grinberg NV, Grosberg AY, Tanaka T (2000) Studies of the thermal volume transition of poly(*N*-isopropylacrylamide) hydrogels by high-sensitivity differential scanning microcalorimetry. 2. Thermodynamic functions. *Macromolecules* 33:8685–8692. doi:[10.1021/ma000527w](https://doi.org/10.1021/ma000527w)
59. Gil ES, Hudson SM (2004) Stimuli-responsive polymers and their bioconjugates. *Prog Polym Sci* 29:1173–1222. doi:[10.1016/j.progpolymsci.2004.08.003](https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2004.08.003)
60. Siegel RA (1993) Hydrophobic weak polyelectrolyte gels: studies of swelling equilibria and kinetics. *Adv Polym Sci* 109:233–267. doi:[10.1007/3-540-56791-7_6](https://doi.org/10.1007/3-540-56791-7_6)
61. Tonge SR, Tighe BJ (2001) Responsive hydrophobically associating polymers: a review of structure and properties. *Adv Drug Deliv Rev* 53:109–122. doi:[10.1016/S0169-409X\(01\)00223-X](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(01)00223-X)
62. Stubbs M, McSheehy PMJ, Griffiths JR (1999) Causes and consequences of acidic pH in tumors: a magnetic resonance study. *Adv Enzyme Regul* 39:13–30. doi:[10.1016/S0065-2571\(98\)00018-1](https://doi.org/10.1016/S0065-2571(98)00018-1)
63. Bhattacharya A (2000) Radiation and industrial polymers. *Prog Polym Sci* 25:371–401. doi:[10.1016/S0079-6700\(00\)00009-5](https://doi.org/10.1016/S0079-6700(00)00009-5)
64. Ward MA, Georgiou TK (2011) Thermoresponsive polymers for biomedical application. *Polymers* 3:1215–1242. doi:[10.3390/polym3031215](https://doi.org/10.3390/polym3031215)
65. Yager KG, Barrett CJ (2008) Azobenzene polymers for photonic applications. Wiley, Hoboken. doi:[10.1002/9780470439098.ch1](https://doi.org/10.1002/9780470439098.ch1)
66. Andrade A, Ferreira R, Fabris J, Domingues R (2011) Coating nanomagnetic particles for biomedical applications. In: Fazel-Rezai R (ed) *Biomedical engineering—frontiers and challenges*. InTech, Rijeka. doi:[10.5772/19519](https://doi.org/10.5772/19519)
67. Contreras-García A, Alvarez-Lorenzo C, Taboada C, Concheiro A, Bucio E (2011) Stimuli-responsive networks grafted onto polypropylene for the sustained delivery of NSAIDs. *Acta Biomater* 7:996–1008. doi:[10.1016/j.actbio.2010.10.001](https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.10.001)
68. Gagliardi M (2012) In vitro haematic proteins adsorption and cytocompatibility study on acrylic copolymer to realize coatings for drug-eluting stents. *Mater Sci Eng C* 32:2445–2451. doi:[10.1016/j.msec.2012.07.020](https://doi.org/10.1016/j.msec.2012.07.020)
69. Li X, Li P, Saravanan R, Basu A, Mishra B, Lim SH, Su X, Tambyah PA, Leong SS (2014) Antimicrobial functionalization of silicone surfaces with engineered short peptides having broad spectrum antimicrobial and salt-resistant properties. *Acta Biomater* 10:258–266. doi:[10.1016/j.actbio.2013.09.009](https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.09.009)
70. Costa F, Carvalho IF, Montelaro RC, Gomes P, Martins MCL (2011) Covalent immobilization of antimicrobial peptides (AMPs) onto biomaterial surfaces. *Acta Biomater* 7:1431–1440. doi:[10.1016/j.actbio.2010.11.005](https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.11.005)
71. Kho K, Cheow WS, Lie RH, Hadinoto K (2010) Aqueous re-dispersibility of spray-dried antibiotic-loaded polycaprolactone nanoparticle aggregates for inhaled antibiofilm therapy. *Powder Technol* 203:432–439. doi:[10.1016/j.powtec.2010.06.003](https://doi.org/10.1016/j.powtec.2010.06.003)

72. Adal KA, Farr BM (1996) Central venous catheter-related infections: a review. *Nutrition* 12:208–213. doi:[10.1016/S0899-9007\(96\)91126-0](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(96)91126-0)
73. Ma Z, Mao Z, Gao C (2007) Surface modification and property analysis of biomedical polymers used for tissue engineering. *Colloids Surf B* 60:137–157. doi:[10.1016/j.colsurfb.2007.06.019](https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.06.019)
74. Takashima K, Shimomura R, Kitou T, Terada H, Yoshinaka K, Ikeuchi K (2007) Contact and friction between catheter and blood vessel. *Tribol Int* 40:319–328. doi:[10.1016/j.colsurfb.2007.06.019](https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.06.019)
75. Oehr C (2003) Plasma surface modification of polymers for biomedical use. *Nucl Instrum Methods B* 208:40–47. doi:[10.1016/S0168-583X\(03\)00650-5](https://doi.org/10.1016/S0168-583X(03)00650-5)
76. Bilek MMM (2014) Biofunctionalization of surfaces by energetic ion implantation: review of progress on applications in implantable biomedical devices and antibody microarrays. *Appl Surf Sci* 310:3–10. doi:[10.1016/j.apsusc.2014.03.097](https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2014.03.097)
77. Fadeeva E, Truong VK, Stiesch M, Chichkov BN, Crawford RJ, Wang J, Ivanova EP (2011) Bacterial retention on superhydrophobic titanium surfaces fabricated by femtosecond laser ablation. *Langmuir* 27:3012–3019. doi:[10.1021/la104607g](https://doi.org/10.1021/la104607g)
78. Melendez-Ortiz HI, Díaz-Rodríguez P, Alvarez-Lorenzo C, Concheiro A, Bucio E (2014) Binary graft modification of polypropylene for anti-inflammatory drug-device combo products. *J Pharm Sci* 103:1269–1277. doi:[10.1021/la104607g](https://doi.org/10.1021/la104607g)
79. Buddy D (1995) Polymers: chemical, biological and surface analytical challenges. *Biosens Bioelectron* 10:797–804. doi:[10.1016/0956-5663\(95\)99218-A](https://doi.org/10.1016/0956-5663(95)99218-A)
80. Nowatzki PJ, Koepsel RR, Stoodley P, Min K, Harper A, Murata H, Donfack J, Hortelano ER, Ehrlich GD, Russell AJ (2012) Salicylic acid-releasing polyurethane acrylate polymers as anti-biofilm urological catheter coatings. *Acta Biomater* 8:1869–1880. doi:[10.1016/j.actbio.2012.01.032](https://doi.org/10.1016/j.actbio.2012.01.032)
81. Aguilar MR, San Román J (2014) Introduction to smart polymers and their applications. *Smart Polym Appl*. doi:[10.1533/9780857097026.1](https://doi.org/10.1533/9780857097026.1) (chapter 1)
82. Primo GA, Alvarez-Igarzabal CI, Pino GA, Ferrero JC, Rossa M (2016) Surface morphological modification of crosslinked hydrophilic co-polymers by nanosecond pulsed laser irradiation. *Appl Surf Sci* 369:422–429. doi:[10.1016/j.apsusc.2016.02.047](https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.02.047)
83. Kingshott P, Wei J, Bagge-Ravn D, Gadegaard N, Gram L (2003) Covalent attachment of poly(ethylene glycol) to surfaces, critical for reducing bacterial adhesion. *Langmuir* 19:6912. doi:[10.1021/la034032m](https://doi.org/10.1021/la034032m)
84. Desai NP, Hossainy SFA, Hubell JA (1992) Surface-immobilized polyethylene oxide for bacterial repellence. *Biomaterials* 13:417–420. doi:[10.1016/0142-9612\(92\)90160-P](https://doi.org/10.1016/0142-9612(92)90160-P)
85. Kohnen W, Jansen B, Ruiten D, Steinhäuser H (1994) Novel antiinfective biomaterials by polymer modification. In: Gebelein CG, Carraher CE (eds) *Biotechnology and Bioactive Polymers*. Springer US, Boston, MA, pp 317–325. doi:[10.1007/978-1-4757-9519-6_31](https://doi.org/10.1007/978-1-4757-9519-6_31)
86. Moore LE, Ledder RG, Gilbert P, McBain AJ (2008) In vitro study of the effect of cationic biocides on bacterial population dynamics and susceptibility. *Appl Environ Microbiol*. doi:[10.1128/AEM.00573-08](https://doi.org/10.1128/AEM.00573-08)
87. Murata H, Koepsel RR, Matyjaszewski K, Russell AJ (2007) Permanent non-leaching antibacterial surfaces-2: how high density cationics surfaces kill bacterial cells. *Biomaterials* 28:4870–4879. doi:[10.1016/j.biomaterials.2007.06.012](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.06.012)
88. Crawford RJ, Webb HK, Truong VK, Hasan J, Ivanova EP (2012) Surface topographical factors influencing bacterial attachment. *Adv Colloid Interface Sci* 179–182:142–149. doi:[10.1016/j.cis.2012.06.015](https://doi.org/10.1016/j.cis.2012.06.015)
89. Ma Z, Mao Z, Gao C (2007) Surface modification and property analysis of biomedical polymers used for tissue engineering. *Colloids Surf B* 60:137–157. doi:[10.1016/j.colsurfb.2007.06.019](https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.06.019)
90. Seeday N, Kalthapure RS, Mocktar C, Vepuri S, Jadhav M, Soliman M, Govender T (2016) Co-encapsulation of multi-lipids and polymers enhances the performance of vancomycin in lipid-polymer hybrid nanoparticles: in vitro and in silico studies. *Mater Sci Eng C* 61:616–630. doi:[10.1016/j.msec.2015.12.053](https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.12.053)
91. Glinel K, Thebault P, Humblot V, Pradier CM, Jouenne T (2012) Antibacterial surfaces developed from bio-inspired approaches. *Acta Biomater* 8:1670–1684. doi:[10.1016/j.actbio.2012.01.011](https://doi.org/10.1016/j.actbio.2012.01.011)
92. Maki DG, Tambyah PA (2001) Engineering out the risk of infection with urinary catheters. *Emerg Infect Dis* 7:342–347. doi:[10.3201/eid0702.700342](https://doi.org/10.3201/eid0702.700342)
93. Hasan J, Crawford RJ, Ivanova EP (2013) Antibacterial surfaces: the quest for a new generation of biomaterials. *Trends Biotechnol* 31:295–304. doi:[10.1016/j.tibtech.2013.01.017](https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.01.017)

94. Patriciu A, Mazilu D, Bagga HS, Petrisor D, Kavoussi L, Stoianovici D (2007) An evaluation method for the mechanical performance of guide-wires and catheters in accessing the upper urinary tract. *Med Eng Phys* 29:918–922. doi:10.1016/j.medengphy.2006.09.002
95. Tanaka N, Bohnenberger S, Kunkelmann T, Munaro B, Ponti J, Poth A, Sabbioni E, Sakai A, Salovaara S, Sasaki K, Thomas BC, Umeda M (2012) Prevalidation study of the BALB/c 3T3 cell transformation assay for assessment of carcinogenic potential of chemicals. *Mutat Res/Genet Toxicol Environ Mutagen* 744:20–29. doi:10.1016/j.mrgentox.2011.12.008
96. Saxena S, Ray AR, Kapil A, Pavon-Djavid G, Letourneur D, Gupta B, Meddahi-Pelle A (2011) Development of a new polypropylene-based suture: plasma grafting, surface treatment, characterization, and biocompatibility studies. *Macromol Biosci* 11:373–382. doi:10.1002/mabi.201000298
97. Pillai CKS, Sharma CP (2010) Review paper: absorbable polymeric surgical sutures: chemistry, production, properties, biodegradability, and performance. *J Biomater Appl* 25:291–366. doi:10.1177/0885328210384890
98. Viju S, Thilagavathi G (2011) Effect of chitosan coating on the characteristics of silk-braided sutures. *J Ind Text* 42:256–268. doi:10.1177/1528083711435713
99. Chu CC, von Fraunhofer JA, Greisler HP (1996) Wound closure biomaterials and devices. CRC Press, Florida
100. National Institute for Health and Clinical Excellence (2008) Rozzelle and collection. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11822/>. Accessed April 2016
101. Li Y, Kumar KN, Dabkowski JM, Corrigan M, Scott RW, Nüsslein K, Tew GN (2012) New bactericidal surgical suture coating. *Langmuir* 28:12134–12139. doi:10.1021/la302732w
102. Gupta B, Jain R, Singh H (2008) Preparation of antimicrobial sutures by preirradiation grafting onto polypropylene monofilament. *Polym Adv Technol* 19:1698–1703. doi:10.1002/pat.1146
103. García-Vargas M, González-Chomón C, Magariños B, Concheiro A, Alvarez-Lorenzo C, Bucio E (2014) Acrylic polymer-grafted polypropylene sutures for covalent immobilization or reversible adsorption of vancomycin. *Int J Pharm* 461:286–295. doi:10.1016/j.ijpharm.2013.11.060
104. Jain R, Gupta B, Anjum N, Revagade N, Singh H (2004) Preparation of antimicrobial sutures by preirradiation grafting of acrylonitrile onto polypropylene monofilament. II. mechanical, physical, and thermal characteristics. *J Appl Polym Sci* 93:1224–1229. doi:10.1002/app.20543
105. Saxena S, Ray AR, Gupta B (2010) Graft polymerization of acrylic acid onto polypropylene monofilament by RF plasma. *J Appl Polym Sci* 116:2884–2892. doi:10.1002/app.31823
106. Gupta B, Jain R, Nishat Anjum N, Singh H (2004) Preparation of antimicrobial sutures by preirradiation grafting of acrylonitrile onto polypropylene monofilament. III. hydrolysis of the grafted suture. *J Appl Polym Sci* 94:2509–2516. doi:10.1002/app.21211
107. Gupta B, Anjum N, Gulrez SKH, Singh H (2007) Development of antimicrobial polypropylene sutures by graft copolymerization. II. Evaluation of physical properties, drug release, and antimicrobial activity. *J Appl Polym Sci* 103:3534–3538. doi:10.1002/app.24360
108. Bronzino J, Peterson D (2008) The biomedical engineering handbook. 3rd Edition. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, Florida. ISBN 9781439825334
109. Turner APF, Karube I, Wilson GS (1987) Biosensors: fundamentals and applications. Oxford University Press, Oxford. ISBN 0-19-854724-2. doi:10.1016/S0003-2670(00)85361-1
110. Ponmzhi J, Torres-Marques CF, Frazão O (2012) Smart sensors/actuators for biomedical applications: review. *Measurement* 45:1675–1688. doi:10.1016/j.measurement.2012.02.006
111. Razzak M, Darwis D, Zainuddin Sukirno (2001) Irradiation of PVA and PVP blended hydrogel for wound dressing. *Radiat Phys Chem* 62:107–113. doi:10.1016/S0969-806X(01)00427-3
112. Webb RC, Bonifas AP, Behnaz A, Zhang Y, Yu KJ, Cheng H, Shi M, Bian Z, Liu Z, Kim YS, Yeo WH, Park JS, Song J, Li Y, Huang Y, Gorbach AM, Rogers JA (2013) Ultrathin conformal devices for precise and continuous thermal characterization of human skin. *Nat Mater* 12:938–944. doi:10.1038/nmat3755
113. Kobayashi M, Chang Y, Oka M (2005) In vivo study of PVA hydrogel artificial meniscus. *Biomaterials* 26(16):3243–3248. doi:10.1016/j.biomaterials.2004.08.028
114. Ottenbrite RM, Park K, Okano T (2010) Biomedical applications of hydrogels handbook. Springer, New York. ISBN 978-1-4419-5918-8. doi:10.1007/978-1-4419-5919-5
115. Carretta N, Tricoli V, Pichionni F (2000) Ionomeric membranes based on partially sulfonated PS: synthesis, proton conduction and methanol permeation. *J Membr Sci* 166:189–197. doi:10.1016/S0376-7388(99)00258-6

116. Ouyang J, Chu C, Chen F, Xu Q, Yang Y (2005) High conductivity poly(3,4-ethylenedioxythiophene): poly(styrene sulfonate) film and its application in polymer optoelectronic devices. *Adv Funct Mater* 15:203–208. doi:[10.1002/adfm.200400016](https://doi.org/10.1002/adfm.200400016)
117. Balint R, Cassidy NJ, Cartmell SH (2014) Conductive polymers: towards a smart biomaterial for tissue engineering. *Acta Biomater* 10:2341–2353. doi:[10.1016/j.actbio.2014.02.015](https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.02.015)
118. Wang X, Uchiyama S (2013) Polymers for biosensors construction. In: Rinken T (eds) State of the art in biosensors – general aspects. InTech. doi:[10.5772/54428](https://doi.org/10.5772/54428) (**chapter 3**)
119. Guimard N, Gomez N, Schmidt C (2007) Conduction polymers in biomedical engineering. *Prog Polym Sci* 32:876–921. doi:[10.1016/j.progpolymsci.2007.05.012](https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2007.05.012)
120. Ramanavicius A, Ramanaviciene A, Malinauskas A (2006) Electrochemical sensors based on conducting polymer-polypyrrole. *Electrochim Acta* 51:6025–6037. doi:[10.1016/j.electacta.2005.11.052](https://doi.org/10.1016/j.electacta.2005.11.052)
121. Vernitskaya TV, Efimov ON (1997) Polypyrrole: a conducting polymer; its synthesis, properties and applications. *Russ Chem Rev* 66(5):443–457. doi:[10.1070/RC1997v066n05ABEH000261](https://doi.org/10.1070/RC1997v066n05ABEH000261)
122. Sun Y, Gou G, Yang B, He M, Tian Y, Cheng J, Liu Y (2012) Simple synthesis of polyaniline microtubes for the application on silver microrods preparation. *J Mater Res* 27(2):457–462. doi:[10.1557/jmr.2011.408](https://doi.org/10.1557/jmr.2011.408)
123. Weerakoon K, Shu J, Park M, Chin B (2012) Polyaniline sensors for Early detection of insect infestation. *J Solid State Sci Technol* 1:100–105. doi:[10.1149/2.014205jss](https://doi.org/10.1149/2.014205jss)
124. Loo Y, Yoo J, Cross J, Bucholz T, Lee K, Espe M (2007) Improving the electrical conductivity of polymer acid-doped polyaniline by controlling the template molecular weight. *J Mater Chem* 17:1268–1275. doi:[10.1039/b618521e](https://doi.org/10.1039/b618521e)
125. Tsumura A, Koezuka H, Ando T (1986) Macromolecular electronic device: field-effect transistor with a polythiophene thin film. *Appl Phys Lett* 49:1210. doi:[10.1063/1.97417](https://doi.org/10.1063/1.97417)
126. Clark J, Silva C, Friend R, Spano F (2007) Role of intermolecular coupling on the photophysics of disordered organic semiconductors: aggregate emission in regioregular polythiophene. *Phys Rev Lett* 98:206406. doi:[10.1103/PhysRevLett.98.206406](https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.98.206406)
127. Muñoz-Muñoz FD, Bucio E (2013) Surface modification and functionalization of polymer materials by gamma irradiation for biomedical applications. *Radiat Synth Mater Compd* 10:265–301. ISBN:9781466505223
128. Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT (2008) Foreign body reaction to biomaterials. *Semin Immunol* 20:86–100. doi:[10.1016/j.smim.2007.11.004](https://doi.org/10.1016/j.smim.2007.11.004)
129. Fukano Y, Usul ML, Underwood RA, Isenhat S, Marshall AJ, Hauch KD, Ratner BD, Olerud JE, Fleckman P (2010) Epidermal and dermal integration into sphere-templated porous poly(2-hydroxyethyl methacrylate) implants in mice. *J Biomed Mater Res* 94:1172–1186. doi:[10.1002/jbm.a.32798](https://doi.org/10.1002/jbm.a.32798)
130. Marshall AJ, Ratner BD (2005) Quantitative characterization of sphere-templated porous biomaterials. *AIChE* 51(4):1221–1232. doi:[10.1002/aic.10390](https://doi.org/10.1002/aic.10390)
131. Kasálková NS, Slepíčka P, Kolská Z, Hodačová P, Kučková S, Švorčík V (2014) Grafting of bovine serum albumin proteins on plasma-modified polymers for potential application in tissue engineering. *Nanoscale Res Lett* 9:161. doi:[10.1186/1556-276X-9-161](https://doi.org/10.1186/1556-276X-9-161)
132. Halstenberg V, Panitch A, Rizzi S, Hall H, Hubbell JA (2002) Biologically engineered protein-graft-poly(ethylene glycol) hydrogels: a cell adhesive and plasmin-degradable biosynthetic material for tissue repair. *Biomacromolecules* 3(4):710–723. doi:[10.1021/bm015629o](https://doi.org/10.1021/bm015629o)
133. Akiyama Y, Kikuchi A, Yamato M, Okano T (2004) Ultrathin poly(*N*-isopropylacrylamide) grafted layer on polystyrene surfaces for cell adhesion/detachment control. *Langmuir* 20(13):5506–5511. doi:[10.1021/la036139f](https://doi.org/10.1021/la036139f)
134. Hobzova R, Pradny M, Zhunusbekova NM, Sirc J, Guryca V, Michalek J (2011) Bioactive support for cell cultivation and potential grafting. Part 1: surface modification of 2-hydroxyethyl methacrylate hydrogels for avidin immobilization. *E Polymers* 11(1):474–490. doi:[10.1515/epoly.2011.11.1.474](https://doi.org/10.1515/epoly.2011.11.1.474)
135. von Recum H, Okano T, Wan Kim S (1998) Growth factor release from thermally reversible tissue culture substrates. *J Control Release* 55(2–3):121–130. doi:[10.1016/s0168-3659\(98\)00042-x](https://doi.org/10.1016/s0168-3659(98)00042-x)
136. Bhat RR, Chaney BN, Rowley J, Liebmann-Vinson A, Genzer J (2005) Tailoring cell adhesion using surface-grafted polymer gradient assemblies. *Adv Mater* 17(23):2802–2807
137. Ohya S, Nakayama Y, Matsuda T (2001) Material design for an artificial extracellular matrix: cell entrapment in poly (*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAM)-grafted gelatin hydrogel. *J. Artif. Organs* 4(4):308–314. doi:[10.1007/BF02480023](https://doi.org/10.1007/BF02480023)

138. Ross AM, Nandivada H, Ryan AL, Lahann J (2012) Synthetic substrates for long-term stem cell culture. *Polymer* 53(13):2533–2539. doi:[10.1016/j.polymer.2012.03.064](https://doi.org/10.1016/j.polymer.2012.03.064)
139. Fonseca KB, Bidarra SJ, Oliveira MJ, Granja PL, Barrias CC (2011) Molecularly designed alginate hydrogels susceptible to local proteolysis as three-dimensional cellular microenvironments. *Acta Biomater* 7:1674–1682. doi:[10.1016/j.actbio.2010.12.029](https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.12.029)