



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**SÍNTESIS DE CATÉTERES ESTIMULO SENSIBLES
DE POLIURETANO CON 1-VINILIMIDAZOL Y
N-ISOPROPILACRILAMIDA MEDIANTE RADIACIÓN GAMMA**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERA QUÍMICA**

PRESENTA

JESSICA CECILIA AUDIFRED AGUILAR



CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX.

2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: DR. JUAN MANUEL NAVARRETE TEJERO
VOCAL: DRA. SOFIA GUILLERMINA BURILLO AMEZCUA
SECRETARIO: DR. EMILIO BUCIO CARRILLO
1° SUPLENTE: DRA. BRENDA LIZETTE RUIZ HERRERA
2° SUPLENTE: DR. ALEXIS GONZALEZ DULZAIDEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**LABORATORIO DE QUÍMICA DE RADIACIONES EN MACROMOLÉCULAS,
INSTITUTO DE CIENCIAS NUCLEARES, UNAM**

ASESOR DEL TEMA:

DR. EMILIO BUCIO CARRILLO

SUPERVISOR TÉCNICO:

DR. VICTOR HUGO PINO RAMOS

SUSTENTANTE:

JESSICA CECILIA AUDIFRED AGUILAR

Congreso

Los avances de esta tesis fueron presentados en el siguiente congreso:

Thermo-and pH-sensitive polyurethane catheters of N-vinylimidazole and N-isopropylacrylamide synthesized by grafting-radiation. **Jessica Audifred-Aguilar**, Victor Pino-Ramos and Emilio Bucio. XXII International Materials Research Congress. Agosto 19-24, 2018. Cancún Quintana Roo, México.

Agradecimientos

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico **DGAPA-UNAM** por el apoyo económico recibido del proyecto **PAPIIT IN201617** titulado “Diseño de biomateriales poliméricos estímulo sensibles para uso médico e inmovilización de enzimas”.

Al Consejo Nacional de la ciencia y la Tecnología **CONACyT** por el estímulo otorgado como ayudante de investigador por el programa del **SNI**.

Al **Dr. Emilio Bucio Carrillo** por recibirme en el grupo de trabajo, así como por su confianza y apoyo incondicional.

Al **Dr. Victor Hugo Pino Ramos** por todo el tiempo dedicado en la asesoría de este proyecto y la experiencia compartida.

A la **Dra. Guillermina Burillo Amezcua** por todas las anécdotas y enseñanzas.

Al **M. en C. Benjamín Leal** por la ayuda en la irradiación de las muestras para la realización de esta tesis.

Al **M. en C. Gerardo Cedillo** del Instituto de Investigaciones en Materiales **IIM-UNAM** por su apoyo en los análisis de ^{13}C -RMN de los materiales.

Al **Sr. Martín Cruz** por su valiosa asistencia técnica en cómputo y recuperación de datos.

A la **Universidad Nacional Autónoma de México**, a la **Facultad de Química** y al **Instituto de Ciencias Nucleares** por el apoyo en mi formación profesional.

Dedicatorias

A mis padres **Pablo Audifred Flores** y **Eustolia Irma Aguilar Ruiz** por el apoyo a lo largo de mi vida, por el cariño que me dan, la comprensión y la confianza recibida, los amo.

A mi tía **Angela Audifred Flores** por ser como una segunda madre, simplemente la amo.

A mis hermanos **Rafael** y **Pablo Audifred Aguilar** porque a pesar de todo siempre estar a mi lado, los quiero.

A mi primo **Tomás Contreras Audifred** por ser como un hermano mayor y un gran apoyo a lo largo de mi formación académica.

A mi sobrina **Natalia Itzel Audifred Rosales** y a mi cuñada **Mirna Suyin Rosales Valencia** por estar en mi vida.

A **Victor Hugo Pino Ramos** por todo el cariño, comprensión y apoyo.

A mis amigos desde el **CCH-O**, **Dali Franco** y **Erick Hernández** por seguir en mi vida después de tantos años.

A todos mis primos en especial a **Ingrid Navarro**, **Lizbeth Romero**, **Claudia Rojas**, **Paola Aguilar**, **Oscar Aguilar**, **Victor Aguilar** por siempre apoyarme y el tiempo juntos.

A mis compañeros y amigos de la Facultad de Química **David Ramírez**, **Martin Rivera**, **Carlos López**, **Omar Ruiz**, **Gisela Preciado**, **Miguel Bernard** y **Omar Miguel** por todo el tiempo e historias compartidas.

A todos mis compañeros del grupo de macromoléculas en especial a **Lorena Duarte**, **Yeimi Esquivel**, **Ema Valencia**, **Efraín Rodríguez** y **Eduardo Barrigete**.

Contenido

Introducción	1
Capítulo I. Marco teórico	2
1.1 Polímeros.....	2
1.1.1 Clasificación según su origen	3
1.1.2 Propiedades térmicas	4
1.1.3 Copolímero	6
1.2 Modificación superficial de dispositivos médicos	9
1.2.1 Catéter de poliuretano	10
1.2.1 Métodos de modificación de polímeros	11
1.3 Polímeros estímulo sensibles	19
1.3.1 Polímeros termo sensibles.....	19
1.3.2 Polímeros pH sensibles	21
1.4 Sistemas transportadores de fármacos	22
1.5 Caracterización	23
1.5.1 Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (FT-IR)	23
1.5.2 Resonancia magnética nuclear de carbono 13 (¹³ C RMN)	25
1.5.3 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	26
1.5.4 Análisis Térmico	27
1.5.5 Hinchamiento límite	29
Capítulo II. Hipótesis	31
Capítulo III. Objetivos	32
3.1 Objetivo general:.....	32
3.2 Objetivos particulares:.....	32
Capítulo IV. Desarrollo experimental	33
4.1 Materiales y reactivos	33
4.1.1 Monómeros.....	33
4.1.2 Fármacos.....	34
4.2 Preparación de material	36
4.2.1 Lavado de catéter	36

4.2.2 Purificación de monómeros	37
4.3 Primer injerto PU-g-NIPAAm.....	39
4.4 Segundo injerto (PU-g-NIPAAm)-g-Vim.....	41
4.5 Caracterización	43
4.5.1 Análisis térmico.....	43
4.5.2 Hinchamiento límite	43
4.5.3 LCST	44
4.5.4 pH Critico	44
4.6 Carga y liberación de Fármaco	46
4.7 Ensayo antimicrobiano.....	47
Capítulo V. Resultados	48
5.1 Primer injerto PU-g-NIPAAm.....	48
5.1.1 Efecto del disolvente en el grado de hinchamiento de los catéteres de PU ..	48
5.1.2 Efecto de la dosis de irradiación en el grado de injerto de NIPAAm sobre PU.....	49
5.1.3 Efecto del tiempo de reacción en el grado de injerto de NIPAAm sobre PU .	50
5.1.4 Mecanismo propuesto para el injerto de NIPAAm sobre catéteres de poliuretano.....	51
5.2 Segundo injerto (PU-g-NIPAAm)-g-Vim.....	53
5.2.1 Efecto del disolvente en el grado de injerto de 1-vinilimidazol en catéteres de poliuretano	53
5.2.2 Efecto de la concentración en el injerto de 1-vinilimidazol sobre PU-g-NIPAAm.....	54
5.2.3 Efecto de la concentración en el injerto de 1-vinilimidazol sobre PU.....	55
5.2.2 Efecto de la dosis de irradiación en el grado de injerto de 1-vnilimidazol sobre PU.....	56
5.2.3 Mecanismo propuesto para el injerto de NIPAAm sobre catéteres de poliuretano.....	57
5.3 Caracterización	59
5.3.1 Espectrometría Infrarroja (FT-IR).....	59
5.3.2 Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13 (¹³ C-RMN)	60
5.3.3 Microscopia Electronica de Barrido (SEM)	63
5.3.4 Análisis térmico.....	65
5.3.5 Hinchamiento límite	67

5.3.6 Respuesta a la temperatura (LCST)	68
5.3.7 pH Critico	69
5.4 Carga y liberación de fármaco	70
5.4.1 Elección del fármaco	70
5.4.2 Curva de calibración de diclofenaco	72
5.4.3 Liberación de fármaco	73
5.5 Ensayo Antimicrobiano	74
Capítulo VI. Conclusiones	76
Referencias	77
Anexo I	81
Estudio de degradación	81



Introducción

En los últimos años los poliméricos han cobrado fuerza en el área de la medicina, grupos de investigación se han enfocado en la síntesis y modificación de nuevos materiales para la producción de dispositivos médicos esto para mejorar algunas de sus propiedades como fisicoquímicas, térmicas y de biocompatibilidad.

El grupo de investigación de Química de Radiaciones en Macromoléculas del Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM se ha enfocado en el estudio de polímeros estímulo sensibles, recientemente se estudió que estos polímeros tienen potenciales aplicaciones como transportadores de fármacos.

Uno de los métodos más usados para la modificación de dispositivos médicos es injertando grupos hidrófilos, esto se realiza irradiando el material con radiación gamma para la formación de radicales libres y así polimerizar.

En este proyecto se realiza la modificación de un catéter comercial de poliuretano tecoflex® (PU) al ser injertado con N-isopropilacrilamida (NIPAAm) y 1-vinilimidazol (Nvim) esto con el fin de modificar sus propiedades hidrófilas. A los polímeros de poli(NIPAAm) se le asocian propiedades termosensibles, mientras que el poli(vinilimidazol) pH sensibles, el material sintetizado presenta estas propiedades. Se realizaron técnicas de caracterización fisicoquímicas, térmicas y de espectroscopia al nuevo material. Así como la carga y liberación de diclofenaco esto con el fin de disminuir el dolor causado por las infecciones asociadas a bacterias.



Capítulo I. Marco teórico

1.1 Polímeros

El término polímero proviene de la raíz griega *poli* (muchos) y *meros* (parte), la traducción literal es “muchas partes” y designa una molécula compuesta por la repetición de una unidad simple conocida como *monómero* (un).

Los polímeros son moléculas de gran tamaño, las cuales están conformadas por miles o incluso millones de átomos; por esta razón, son llamados “macromoléculas”.

Los monómeros están constituidos comúnmente por átomos de carbono y pueden poseer grupos laterales. En los polímeros, la unidad repetitiva de la molécula se encierra entre paréntesis y se adiciona un subíndice (*n*), este subíndice representa el número de moléculas que conforman el polímero (Figura 1), en caso de que se conozca el peso molecular. El valor de *n* usualmente tiene rangos de cientos a miles (Chanda, 2006).

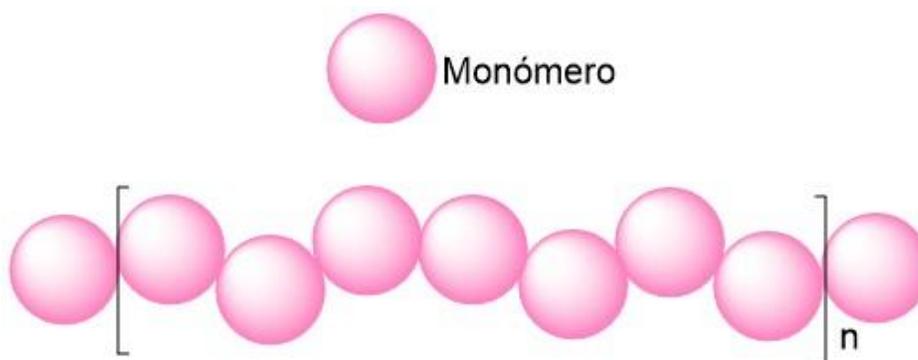


Figura 1. Representación de un polímero y su unidad estructural.



1.1.1 Clasificación según su origen

Los polímeros se pueden clasificar por diferentes criterios; uno de los principales, es por su origen, y generalmente se clasifican en: naturales, semi-sintéticos y sintéticos.

Naturales

Los polímeros naturales provienen de fuentes naturales, tales como la seda, el algodón, la celulosa. Las proteínas, los polisacáridos y los ácidos nucleicos entran en esta categoría, y estas cumplen funciones vitales en sistemas vivos; son conocidos como biopolímeros.

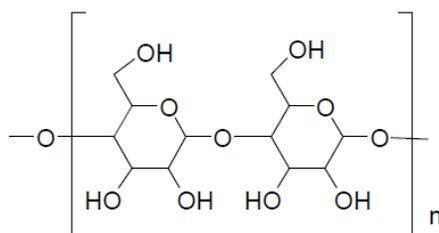


Figura 2. Ejemplo de polímero natural: celulosa.

Semi-sintéticos

Son aquellos polímeros naturales que son modificados para la mejora de sus propiedades mecánicas; algunos ejemplos de esta clase de polímeros son: la nitrocelulosa y el caucho vulcanizado.

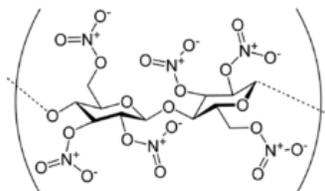


Figura 3. Ejemplo de polímero semi-sintético: nitrocelulosa.



Sintéticos

Son polímeros sintetizados en los laboratorios o en la industria a partir de monómeros que son derivados del petróleo, tales como el polietileno, poliestireno y policloruro de vinilo.

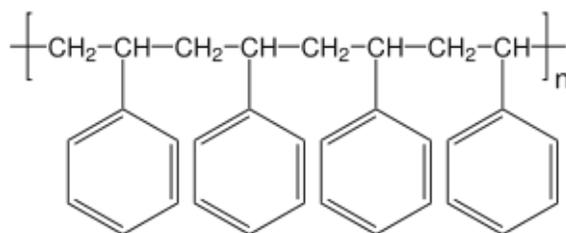


Figura 4. Ejemplo de polímero sintético: poliestireno.

1.1.2 Propiedades térmicas

Dependiendo de las propiedades físicas o químicas que posea cada polímero será su uso, los polímeros presentan diferentes comportamientos al ser expuestos a calentamientos drásticos; por esta razón, se clasifican en termoestables y termoplásticos. Las propiedades térmicas son un factor importante en el área de los materiales. Dos de las transiciones térmicas más estudiadas en los polímeros, son la temperatura de fusión (T_m) y la temperatura de transición vítrea (T_g).

1.1.2.1 Polímeros termoestables

Los polímeros termoestables son materiales que se caracterizan por ser insolubles y no presentan punto de fusión al estar expuestos a la temperatura, sino que pasan directamente a la degradación o se convierten en quebradizos. Este tipo de materiales son sintetizados polimerizando cadenas cortas para después ser colocado en un molde,



posteriormente se calienta para entrelazar las moléculas por acción del calor y de la presión aplicada (Chanda, 2010).

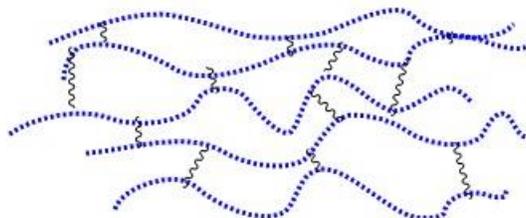


Figura 5. Representación de un polímero termoestable.

1.1.2.2 Polímeros termoplásticos

Los termoplásticos se endurecen o suavizan reversiblemente al ser calentados. A cierta temperatura pueden fluir para ser moldeados, principalmente por procesos de moldeo por inyección, moldeo por extrusión y por soplado.

La propiedad de rigidez que presentan las resinas termoplásticas a bajas temperaturas, se debe a interacciones secundarias entre las cadenas del polímero, estas interacciones son afectadas a altas temperaturas, causando fluidez en la resina. Normalmente, este tipo de polímeros contienen estructuras lineales y flexibles (Chanda, 2006).

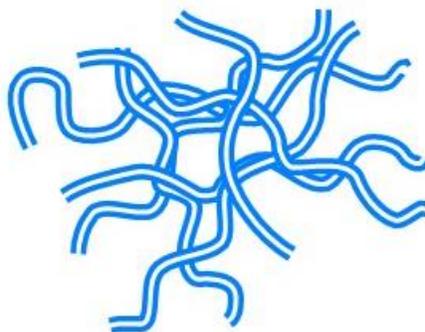


Figura 6. Representación de un polímero termoplástico.



1.1.2.3 Temperatura de transición vítrea (T_g)

La temperatura de transición vítrea, es una transición térmica de segundo orden que está asociada a la movilidad que adquieren las moléculas poliméricas por acción de una temperatura aplicada; es decir, es la temperatura a la cual, el material polimérico pasa de un estado rígido a un estado gomoso. Es una propiedad reversible; por debajo de esta temperatura el polímero suele ser rígido o quebradizo.

1.1.2.4 Temperatura de fusión cristalina (T_m)

Es definida como el punto de fusión de los dominios cristalinos del polímero, a esta temperatura específica el polímero cambia su estado físico, pasando de sólido a líquido (Odian, 2004).

1.1.3 Copolímero

Otra forma de clasificar los materiales poliméricos es mediante su composición; de esta manera, los polímeros que están constituidos de una sola unidad repetitiva son llamados *homopolímeros*.

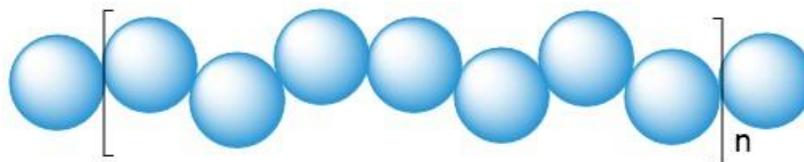


Figura 7. Representación de un homopolímero.



Sin embargo, aquellos polímeros que están compuestos por más de una unidad repetitiva son conocidos como copolímeros, estos presentan diferentes estructuras dependiendo de la distribución de las unidades repetitivas que los conforman.

A continuación, se muestran las cuatro diferentes distribuciones que pueden adquirir los copolímeros formados por los monómeros A y B.



Aleatorio o al azar: En este copolímero, el arreglo no cuenta con una secuencia definida en su estructura, sino que los monómeros se encuentran unidos aleatoriamente.



Figura 8. Copolímero aleatorio.

Alternado: Las unidades repetitivas que lo conforman están en un arreglo consecutivo y acomodadas de manera regular a lo largo de la estructura.



Figura 9. Copolímero alternado.

Bloque: Los copolímeros de bloque tienen secuencias ininterrumpidas de un solo monómero unidos a secuencias de un monómero diferente, la molécula puede contar con uno o más bloques.

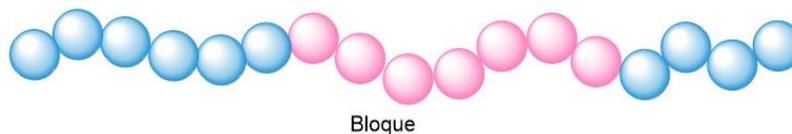


Figura 10. Copolímero de bloque.

De injerto: Los copolímeros de injerto son un tipo de polímero ramificado, se caracterizan por tener una cadena estructural base y una o más cadenas laterales de un segundo monómero. Comúnmente son usados para emitir una comparación de propiedades entre un homopolímero y un copolímero.

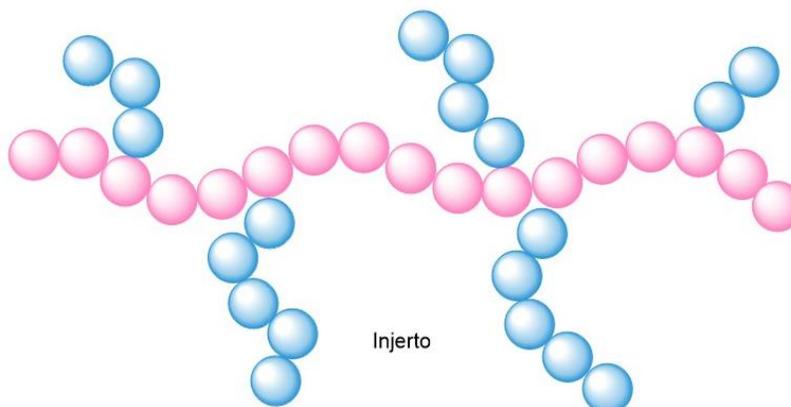


Figura 11. Copolímero de injerto.

1.1.3.1 Copolímeros de injerto

Son polímeros constituidos por dos o más cadenas de polímeros diferentes; la metodología de síntesis consiste en el injerto de cadenas poliméricas a una matriz, esto con el fin de modificar las propiedades iniciales, como la hidrofiliidad. Estas propiedades mejoradas dependerán tanto de la naturaleza de las cadenas injertadas como de la matriz principal.



Figura 12. Síntesis de copolímeros de injerto.

1.2 Modificación superficial de dispositivos médicos

Los polímeros han sido usados en múltiples áreas, esto por la diversidad de materiales que pueden crearse además sus propiedades y a su bajo costo de producción. Se ha aprovechado la biocompatibilidad que poseen algunos polímeros como la silicona, los poliuretanos y el PVC para diseñar dispositivos médicos principalmente para implantes óseos, hilos de sutura y catéteres.



Figura 13. Ejemplos de dispositivos médicos poliméricos.

En los últimos años se ha estudiado ampliamente la modificación de dispositivos médicos poliméricos como una alternativa para la síntesis de nuevos biomateriales; esto con el fin de mejorar sus propiedades tanto térmicas, mecánicas y/o biocompatibilidad. Otro de los objetivos principales de la modificación superficial de dispositivos médicos es el mejoramiento de su naturaleza hidrofóbica; es decir, disminuir su hidrofobicidad mediante el injerto de cadenas hidrofílicas, ya que estudios previos han demostrado que la naturaleza hidrofóbica de los polímeros promueve la formación de biopelículas



(acumulación de microorganismo) que causan indeseables efectos secundarios tales como enrojecimiento, inflamación e infecciones. La modificación de dispositivos médicos mediante grupos hidrófilos los otorga una mayor a los tejidos del cuerpo humano y al organismo en general.



Figura 14. Infecciones asociadas a catéteres implantados.

1.2.1 Catéter de poliuretano

Para este proyecto se decidió usar catéteres de poliuretano para modificarlos y así mejorar sus propiedades iniciales, estos catéteres se usan para la extracción de sangre o administración de medicamentos insertándolos en un vaso sanguíneo. La formulación de este poliuretano es conocido como tecoflex[®], asemeja las propiedades de la silicona cuando está en contacto con el organismo y es más resistente que ella. La marca de los catéteres es Umbili-Cath[™], tienen una longitud de 34 cm y un calibre de 18.



Figura 15. Catéter de Poliuretano.

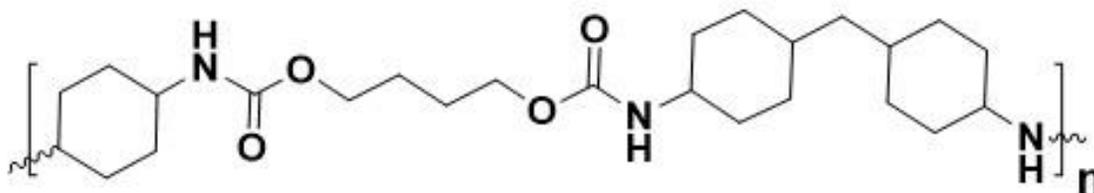


Figura 16. Estructura química de poliuretano tecoflex®.

La síntesis de este poliuretano se realiza por la reacción de los siguientes precursores: diisocianato de 4,4'-d ciclohexilmetano (HMDI), politetrametilenglicol (PTMG) y 1,4-butanodiol (1,4-BD).

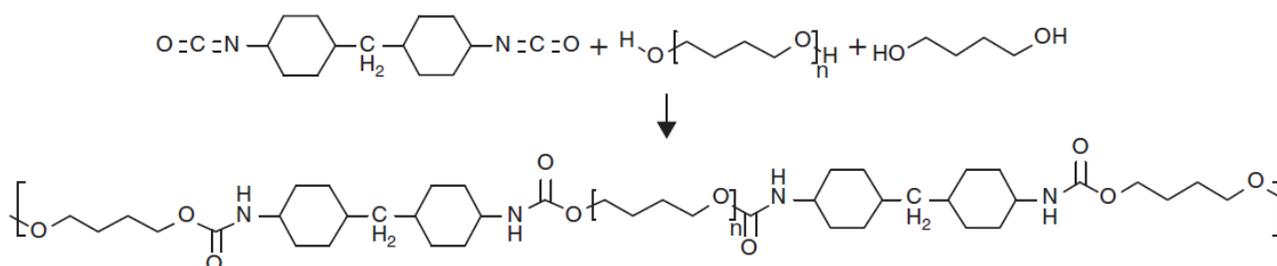


Figura 17. Esquema de la síntesis de tecoflex®.

1.2.1 Métodos de modificación de polímeros

Dependiendo de la naturaleza de cada polímero o monómero, será el método de injerto a utilizar, los métodos se dividen principalmente en dos, métodos químicos y físicos.

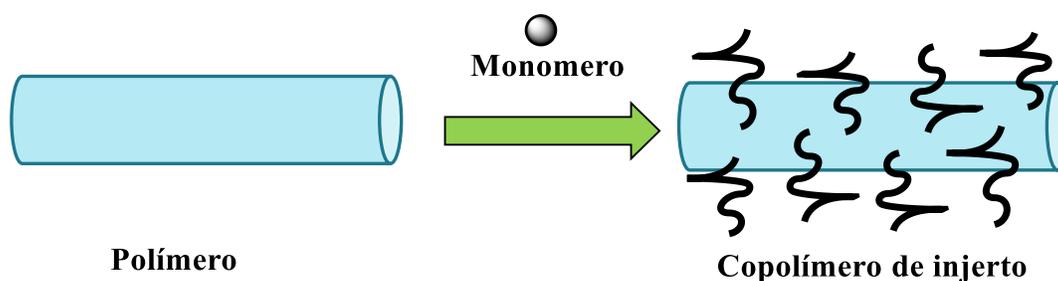


Figura 18. Esquema de la modificación superficial de polímeros.



1.2.1.1 Método Químico

Los métodos químicos para sintetizar copolímeros de injerto se basan en el uso de iniciadores como 2,2-azobisisobutironitrilo (AIBN), peróxido de terbutilo y el fenilazotriifenilmetano, acelerando la formación de radicales libres e iniciando el injerto.

1.2.1.2 Método Físico

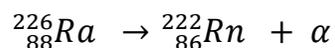
El método físico para la síntesis de copolímeros de injerto se realiza por la exposición a radiaciones de alta energía, esto con el fin de producir las rupturas homolíticas de enlaces para iniciar la polimerización. Las radiaciones comúnmente usadas para este fin son los electrones acelerados, rayos α , rayos β y rayos γ .

Partículas α

Consisten en 2 neutrones asociados con 2 protones, son considerados como núcleos de átomos de helio (${}^4_2\text{He}$). Tienen masa de 4 una (unidad de masa atómica) y 2 cargas positivas.

Si un núcleo atómico es radiactivo y emite una partícula α , pierde 2 unidades en carga y 4 unidades en masa. Este átomo decae por la emisión de partículas α y pasan a ocupar un sitio 2 lugares a la izquierda de su colocación original en la Tabla Periódica.

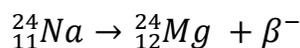
Solo isotopos de los elementos más pesados $Z > 82$, emiten partículas α para conseguir su estabilidad.



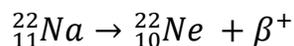


Partículas β

Estas partículas tienen una masa despreciable y presentan carga negativa o positiva. La partícula β^- o negatrón es un electrón emitido por el núcleo, el cual aumenta 1 unidad su carga positiva, al transformar un neutrón en protón, lo que el número atómico aumenta y el átomo se convierte en el elemento situado a la derecha en la tabla periódica, sin modificar su masa.



La partícula β^+ o positrón, es emitida cuando el protón se transforma en neutrón y una partícula de la misma masa que el electrón, pero con carga positiva, es emitida por el núcleo. El número atómico decrece 1 unidad y el elemento se corre un lugar a la izquierda en la tabla periódica.



Puede ocurrir que un protón en exceso tome un electrón orbital de la capa más próxima al núcleo, para transformarse en neutrón, disminuyendo una unidad el número atómico Z. Este proceso es llamado captura electrónica va acompañado de la emisión de rayos X y se designa con la letra griega ϵ .



Durante la captura electrónica, la órbita vacía es ocupada por un electrón de una órbita exterior, lo que da lugar a la emisión de un rayo X, siendo la única indicación externa de que esa transformación ha tenido lugar.

Rayos γ

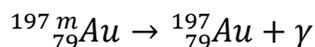
Los rayos γ son radiaciones electromagnéticas, similares a los rayos x, la luz u ondas de radio, pero con mucho menor longitud de onda y en consecuencia mucho mayor energía.



A menudo son llamados fotones, cuando se consideran como paquetes de energía con valor constante, emitidos por un núcleo radiactivo al decaer.

Los rayos γ al igual que los rayos X tienen energías bien definidas ya que son producidos por la transición entre niveles de energía del átomo, los rayos γ son emitidos por el núcleo, mientras que los rayos X resultan de las transiciones de energía de los electrones fuera de núcleo u orbitales.

El proceso por el cual un núclido emite un rayo γ es llamado transición isomérica, durante esta transición el núclido permanece con igual número atómico y de masa, pero un nivel menor de energía. El núclido tiende a la estabilidad valiéndose del reacomodo de las partículas subnucleares, cambiando así su nivel de energía. Los núclidos que se encuentran en un estado de excitación y necesitan emitir energía en forma de radiación gamma para alcanzar su estabilidad, son llamados núclidos en estado metaestable, condición que se indica con la letra m al lado del número de masa (Navarrete, 1993).



1.2.1.2.1 Injerto mediante radiación gamma

Para el proceso de injerto se utiliza una fuente del radioisótopo de ${}^{60}\text{Co}$ el cual decae a ${}^{60}\text{Ni}$, principalmente por la emisión de partículas β^- de 0.38 MeV en el 99.88% de los átomos y el 0,12% restante emite partículas β^- de 1.48 MeV llegando así a un estado metaestable o excitado de níquel (${}^{60m}\text{Ni}$), este llega a su estado estable por la emisión de dos rayos gamma con energías de 1.17 MeV y 1.33 MeV, tienen un tiempo de vida media de 5.272 años (Navarrete, 1993).

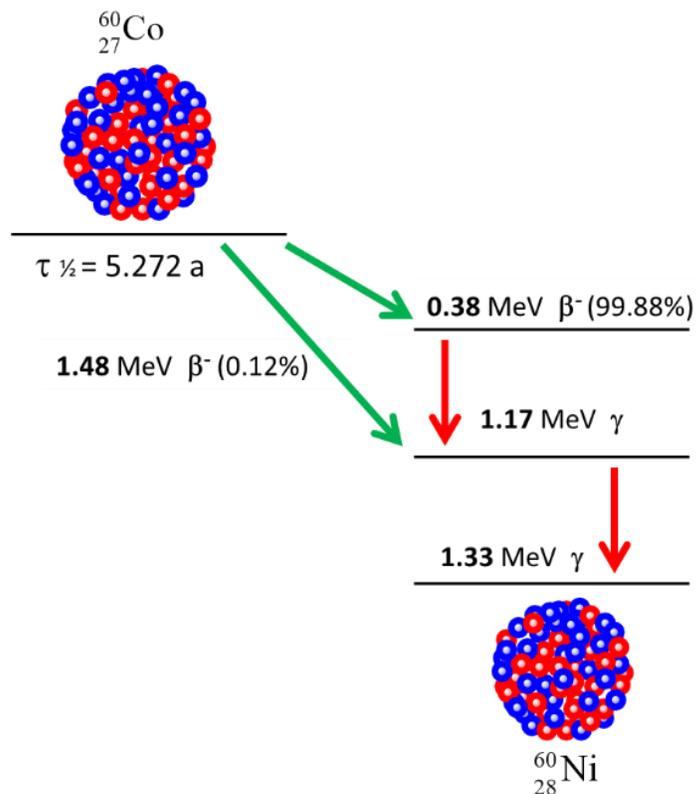


Figura 19. Esquema de decaimiento del ${}^{60}\text{Co}$.

El injerto se da al exponer una matriz polimérica a rayos gamma los cuales forman radicales libres al romper los enlaces, los radicales libres formados reaccionan con los monómeros formando nuevos enlaces covalentes que crean cadenas poliméricas.

La radiación gamma es usada por las ventajas que posee tales como evitar el uso de iniciadores químicos, su poder de penetración, el uso en múltiples compuestos, además de lograr entrecruzamiento en algunos materiales y su propiedad de esterilización.

En nuestro grupo de investigación, la irradiación de los materiales se lleva a cabo en la Unidad de Irradiación y Seguridad Radiológica del Instituto de Ciencias Nucleares.



Figura 20. Irradiador del Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM (izquierda), lápices de ^{60}Co (derecha).

La modificación se realiza principalmente por tres diferentes métodos que serán explicados a continuación, se elige cada uno de ellos dependiendo de varios factores como la naturaleza del material a modificar y la reactividad de los monómeros.

- ♪ Método directo
- ♪ Método de preirradiación
- ♪ Método de preirradiación oxidativa

1.2.1.2.2 Método directo

En el método directo se irradian simultáneamente la matriz polimérica y el monómero a injertar, en condiciones inertes. De esta forma se garantiza la formación de radicales libres tanto en la matriz polimérica o/y en el monómero dando paso a la formación de nuevos enlaces, logrando así el proceso de injerto.

Este método es preferible para polímeros de baja reactividad, ya que al ser irradiado el monómero tienden a activarse. Para evitar la excesiva formación de homopolímero, se



pueden modificar las variables que afectan este proceso como son la dosis (kGy), la concentración de monómero y el disolvente usado.

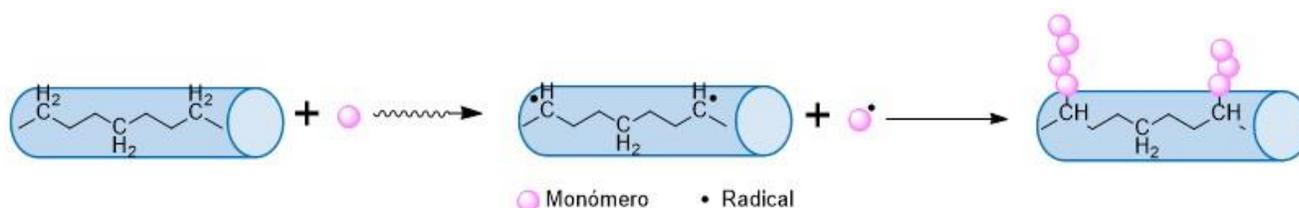


Figura 21. Esquema de injerto por método directo.

1.2.1.2.3 Método de preirradiación

Para lograr la síntesis de copolímeros de injerto por el método de preirradiación, el primer paso consiste en la irradiación de la matriz polimérica en condiciones inertes para la ruptura de enlaces y así dar paso a la formación de radicales libres, una vez que se tiene los radicales en la superficie de la matriz se adiciona el monómero a injertar, se coloca la reacción a una temperatura específica y condiciones inertes, para la formación de nuevos enlaces entre la matriz y el monómero.

Para este proceso, el tiempo entre la irradiación del material y la reacción debe ser el mínimo posible, esto por la inestabilidad de los radicales libres. La ventaja que tiene este método es que la formación de homopolímero disminuye al no ser irradiado el monómero. Los principales factores que influyen en este proceso son la concentración de monómero, el disolvente, dosis, temperatura de reacción y el tiempo de reacción.



1.2.1.2.4 Método de preirradiación oxidativa

Este método consiste en irradiar la matriz polimérica en presencia de aire para la formación de peróxidos e hidropéroxidos, los cuales al calentarse se rompen, formando radicales libres. La desventaja de este método es que al irradiar el material en presencia de aire acérela la degradación del mismo.

Los factores que influyen en este proceso son la dosis de irradiación, la concentración del monómero, el disolvente, el tiempo y temperatura de reacción.

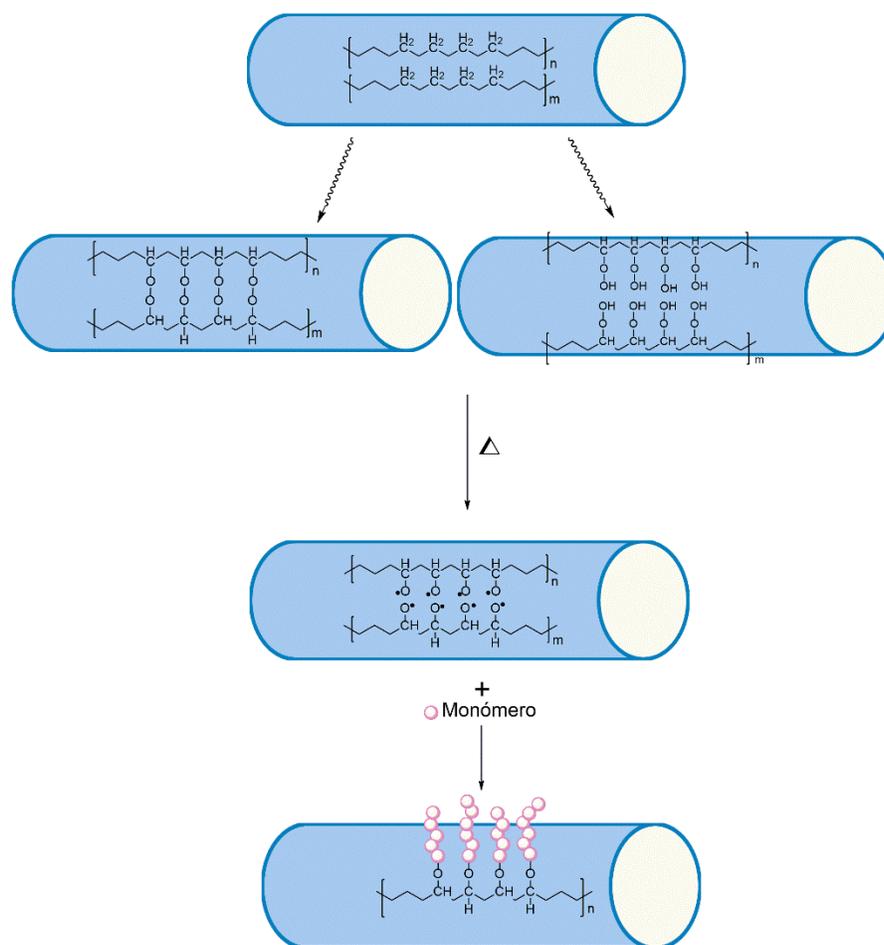


Figura 22. Esquema de injerto por método de preirradiación oxidativa.



1.3 Polímeros estímulo sensibles

Los polímeros estímulos sensibles o polímeros inteligentes son aquellos materiales poliméricos que presentan cambios reversibles en sus propiedades fisicoquímicas causadas por ligeras variaciones en su entorno. Los estímulos a los cuales comúnmente responden son a los cambios de pH, temperatura, campo eléctrico y fuerza iónica.

Estos cambios comúnmente se manifiestan en el colapso o expansión de las cadenas poliméricas, en respuesta al reacomodo de las interacciones hidrofílicas e hidrofóbicas. (Aguilar, 2007)

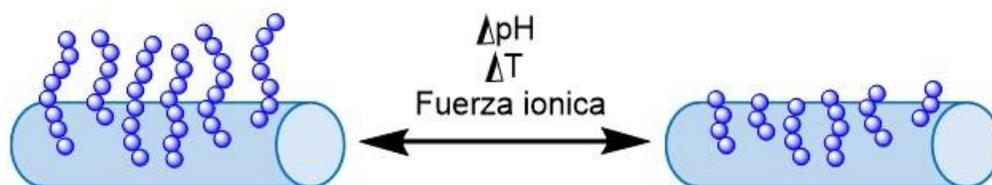


Figura 23. Polímero estímulo sensible.

Debido a sus propiedades, se están usando en múltiples campos, especialmente los polímeros termo y pH sensibles, debido a que tienen potenciales aplicaciones biomédicas tales como sistemas de liberación o transportadores de fármacos, siendo ampliamente estudiados a nivel mundial.

1.3.1 Polímeros termo sensibles

Este tipo de polímeros presentan transiciones de fase al modificar la temperatura del medio acuoso que los rodea, el cambio se da a una temperatura conocida como temperatura crítica (T_c).



Estos polímeros presentan un comportamiento tanto hidrofóbico como hidrofílico debido a los grupos que los conforman. Este cambio está dado por la habilidad de hinchar o disolverse por la formación de puentes de hidrogeno entre la parte hidrofílica y el agua.

Los polímeros con esta propiedad tienen en su estructura grupos amida, éster o éter; los más comunes son la N-isopropilacrilamida (NIPAAm), dimetilaminoetil metacrilato (DMAEMA) y la N-vinilcaprolactama (NVCL).

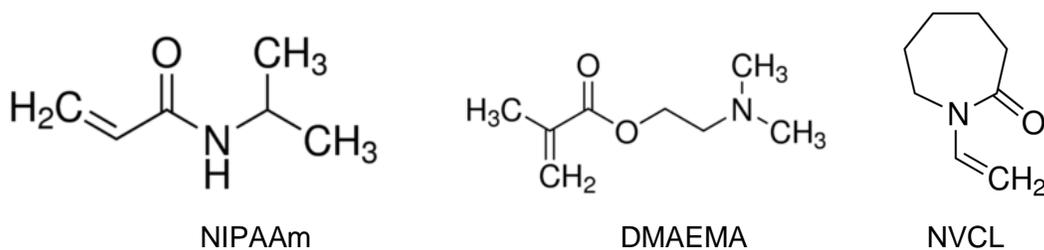


Figura 24. Ejemplos de polímeros termo sensibles

1.3.1.1 Respuesta a la temperatura

Existen dos tipos de respuesta a la temperatura LCST (*Lower Critical Solution Temperature*) y la UCST (*Upper Critical Solution Temperature*).

Los polímeros que presentan respuesta positiva a la temperatura (UCST), pasan de un estado hidrofóbico a hidrofílico. Mientras que los polímeros que presentan LCST, cambian de un estado hidrofílico a uno hidrofóbico, esto ocurre por el colapso o precipitación de los polímeros por encima de la T_c .

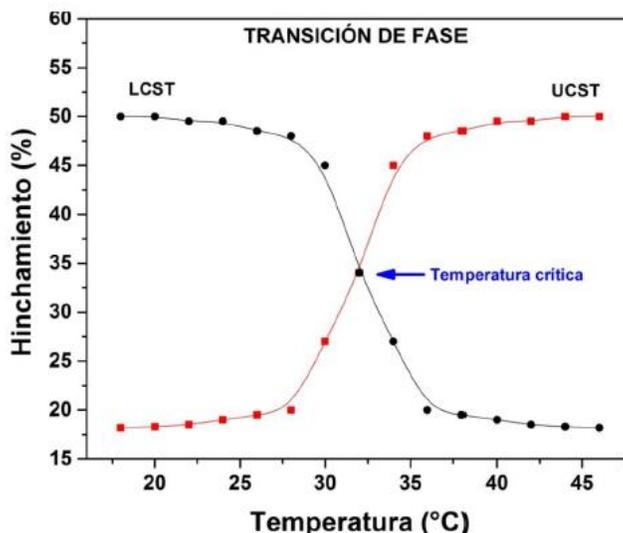


Figura 25. Representación de la temperatura de respuesta Pino-Ramos (2018).

1.3.2 Polímeros pH sensibles

Los polímeros pH sensibles tienen en su estructura grupos ácido o básicos como son los ácidos carboxílicos, las aminas, y son capaces de aceptar o donar protones en su ambiente. Presentan cambios en su estado de ionización por las variaciones de pH, esto se traduce en alteraciones en el grado de hinchamiento del material. Los cambios producidos se deben a las repulsiones electrostáticas entre las cadenas poliméricas producidas por la protonación o desprotonación de los grupos ionizables. Los principales polímeros pH sensibles son el dimetilaminoetil metacrilato (DMAEMA), la 4-vinilpiridina, 1-vinilimidazol y el ácido acrílico.

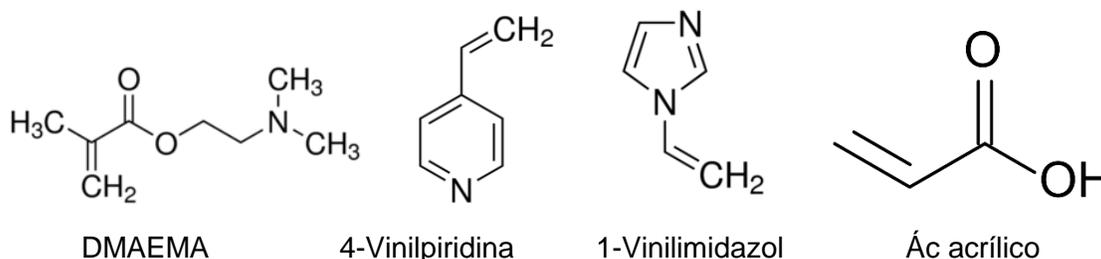


Figura 26. Ejemplos de polímeros pH sensibles.



1.3.2.1 pH crítico

El valor de pH al cual los polímeros tienen una transición de fase notoria en intervalos cortos de pH se conoce como pH crítico, este valor depende directamente del pKa del grupo hidrófilico, aunque tiende a desplazarse por el tamaño de las cadenas poliméricas. La transición puede tener una respuesta positiva o negativa, ya sea que el polímero este conformado por grupos catiónicos o aniónicos.

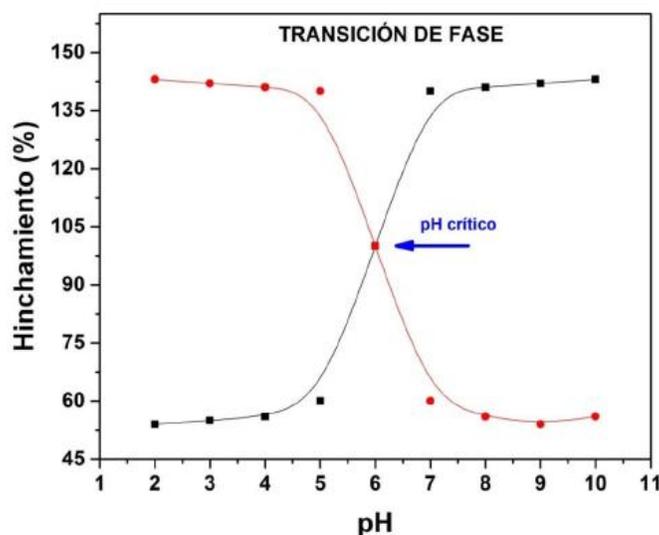


Figura 27. Representación del pH crítico. Pino-Ramos (2018).

1.4 Sistemas transportadores de fármacos

Existe una amplia gama de investigaciones acerca de los sistemas transportadores de fármacos, esto con el fin de crear materiales que logren una administración local del medicamento sin provocar reacciones adversas. El uso de diversos materiales poliméricos para este fin, ha ganado importancia por la biocompatibilidad que presentan, además de sus propiedades mecánicas y resistencia térmica, en especial los polímeros



estímulos sensibles se han aplicado para la liberación de fármacos, la cual se ve afectada por el medio que los rodea como el pH y la temperatura, el tipo liberación dependerá de las propiedades del polímero.

Los perfiles de liberación para los sistemas poliméricos son diferentes a los existentes para la administración oral o intravenosa, los sistemas más utilizados para la liberación controlada son el encapsulamiento o atrapamiento.

1.5 Caracterización

Una parte fundamental de la síntesis de materiales es la caracterización, por lo que se realizaron diferentes análisis para conocer algunas de sus propiedades, así como para elucidar su estructura. También nos interesa conocer las propiedades de hidrofiliidad, su análisis térmico y comprobar su modificación superficial.

1.5.1 Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (FT-IR)

La técnica de espectroscopia infrarroja es de las más versátiles, con ella se estudian la interacción entre la radiación infrarroja y la materia, esa interacción puede entenderse en términos de cambios en los dipolos moleculares asociados con vibraciones y rotaciones.

Existen dos tipos de vibración molecular principalmente: estiramiento y flexión. Un estiramiento es un movimiento a través del enlace tal que la distancia interatómica se incrementa o decrece mientras que un aleteo consiste en un cambio en el ángulo entre enlaces con un átomo en común.

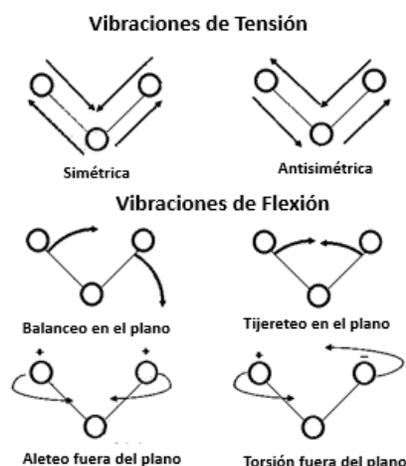


Figura 28. Esquema de vibraciones moleculares en IR.

La longitud de onda usada para este análisis va de los 4000 a 400 cm^{-1} , se encuentra en la región de infrarrojo y la visible. La vibración de los enlaces se da por la absorción de energía, la cantidad de energía que absorben depende del tipo de enlace y del tamaño de los átomos involucrados, es un análisis cualitativo con el que podemos conocer los tipos enlaces que tiene la molécula las muestras que se analizan pueden ser en polvo, sólidos, líquido o gas.

El estudio consiste en hacer incidir un haz de luz infrarroja sobre la muestra para determinar así la longitud de vibración de los enlaces, el resultado es un espectro en donde podemos observar picos asociados a las vibraciones.

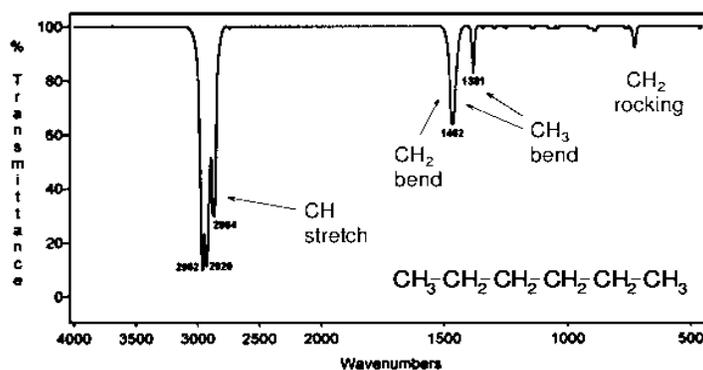


Figura 29. Ejemplo de espectro de IR.



1.5.2 Resonancia magnética nuclear de carbono 13 (^{13}C RMN)

Es una de las herramientas más poderosas que existen en la actualidad para dilucidar estructuras de moléculas principalmente orgánicas. Esta técnica se basa en las propiedades magnéticas de los núcleos.

Los núcleos de los átomos con número impar de protones o neutrones como ^1H , ^{13}C , ^{19}F y ^{31}P tienen momento magnético intrínseco, mejor conocido como spin nuclear ($1/2$, $3/2$), es decir, poseen carga positiva y movimiento de rotación sobre un eje asemejando a imanes; mantienen una orientación al azar.

Al colocar un campo magnético los grupos con spin positivo se orientan en la misma dirección que el campo, mientras que los negativos se orientan en dirección contraria, cuando los núcleos vuelven a su estado original emiten señales cuya frecuencia depende de la diferencia de energía entre los estados de spin positivo o negativo.

Las señales son detectadas y presentadas en un espectro de desplazamientos químicos. Los átomos más usados para este análisis son ^1H y ^{13}C .

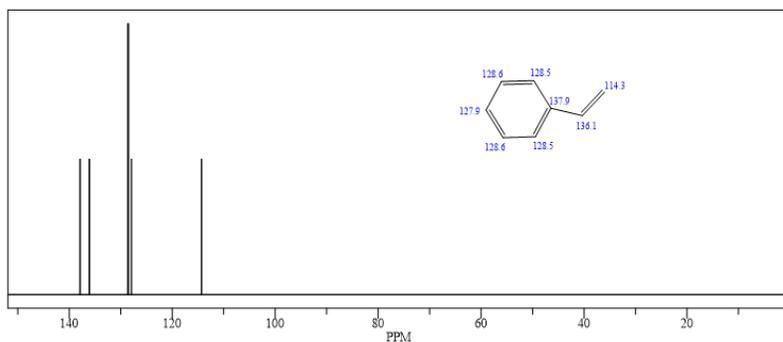


Figura 30. Ejemplo de espectro de ^{13}C -RMN.



1.5.3 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

El conjunto de técnicas y métodos para la investigación de objetos de tamaños menores al rango de resolución del ojo humano, es por medio de microscopios.

La técnica de SEM consiste en hacer incidir un haz de electrones sobre la muestra, principalmente para el estudio de la morfología de las superficies, la imagen es generada por la interacción de un haz de electrones que “barre” un área determinada de la muestra.

Para analizar la muestra, esta debe de ser conductora, sino lo es, entonces debe de cubrirsele con una capa de oro (comúnmente) o de carbón.

Al hacer incidir el haz de electrones se generan 3 señales diferentes:

- ♪ Electrones secundarios: Se emplean normalmente para obtener una imagen de la morfología superficial de la muestra. Son de muy baja energía (< 50 eV).
- ♪ Electrones retrodispersados: Está compuesta por electrones que emergen de la muestra con una energía superior a 50 eV. La intensidad de dicho efecto varía proporcionalmente con el número atómico de la muestra.
- ♪ Rayos X: Son característicos de cada elemento de la muestra, por lo que se utilizan para obtener información sobre la composición de la muestra (Análisis elemental superficial), puede ser puntual o en un área determinada.

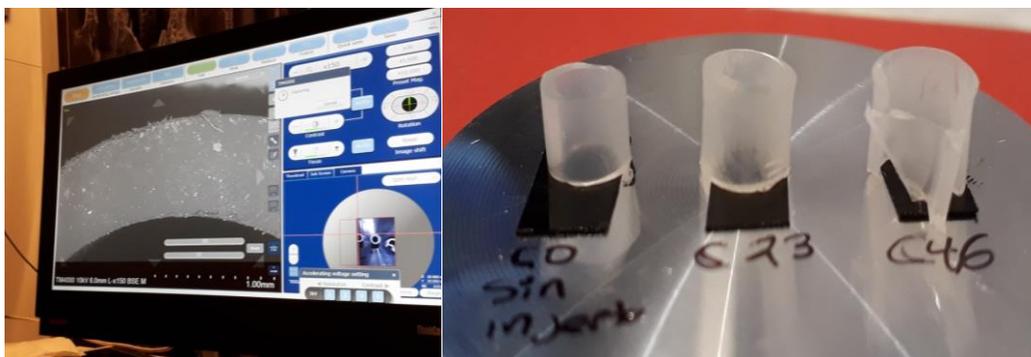


Figura 31. Muestras de catéteres de PU, PU-g-NIPAAm y (PU-g-NIPAAm)-g-Vim en análisis SEM.



1.5.4 Análisis Térmico

El análisis térmico comprende un grupo de técnicas en las cuales una propiedad fisicoquímica de la muestra es medida en función de la temperatura, mientras que la muestra es sometida a una tasa de calentamiento o enfriamiento.

En el área de los materiales el análisis térmico es primordial para conocer las principales transiciones en un polímero al sufrir un calentamiento. Principalmente se usan dos tipos, la calorimetría diferencia de barrido (DSC) y el análisis termogravimétrico (TGA).

1.5.4.1 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La técnica de DSC mide las diferencias en el flujo de calor necesario para calentar e inducir una transición fisicoquímica en la muestra, utilizando como referencia una charola sin muestra, mientras que ambas están sujetas a una tasa de calentamiento controlado. Esta técnica nos proporciona datos termodinámicos precisos, así como información sobre la reactividad de la muestra. Las muestras usadas tienen un peso de 5-10 mg, deben estar secas, la rampa de calentamiento comúnmente es de 10 °C/min.

Este análisis permite el estudio de aquellos procesos en los que se produce una variación entálpica como son la temperatura de transición vítrea (T_g), la temperatura de fusión, cristalización y las reacciones que puedan ocurrir al calentar el polímero.

El resultado del análisis mediante DSC es un termograma que puede poseer la siguiente información (Figura 30) dependiendo del polímero y la temperatura de calentamiento máxima.

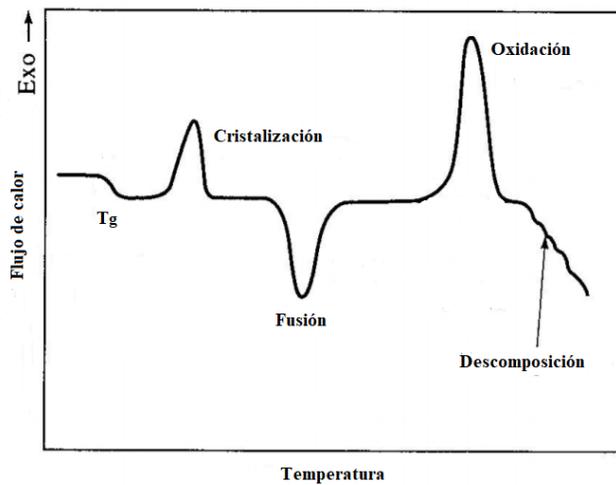


Figura 32. Ejemplo de termograma de DSC.

1.5.4.2 Análisis termogravimétrico (TGA)

Este análisis consiste en el monitoreo de la degradación térmica de una muestra desde la temperatura ambiente hasta los 700 o 900 °C en una atmosfera de nitrógeno u oxígeno, según sea necesario. La técnica es destructiva y la muestra debe tener un peso entre 5-10 mg. La muestra se coloca en una charola de platino y el peso es calculado tomando en cuenta una calibración previa; una vez dentro del horno, este es calentado por un termopar. El calentamiento comúnmente se lleva a cabo a una razón de 10°C/min.

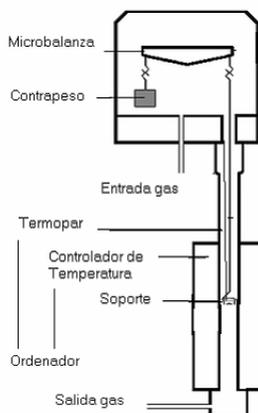


Figura 33. Esquema del equipo del TGA.



Las muestras pueden ser líquidas, sólidas, películas o polvos; el resultado del análisis es un termograma con el cual podemos conocer principalmente:

- ♪ La temperatura de descomposición del material
- ♪ Pureza de la muestra
- ♪ Identificación de un componente conocido en el polímero
- ♪ Se determina la estabilidad térmica del polímero
- ♪ Se pueden determinar el porcentaje de volátiles como: aditivos, plastificantes, solvente retenido.

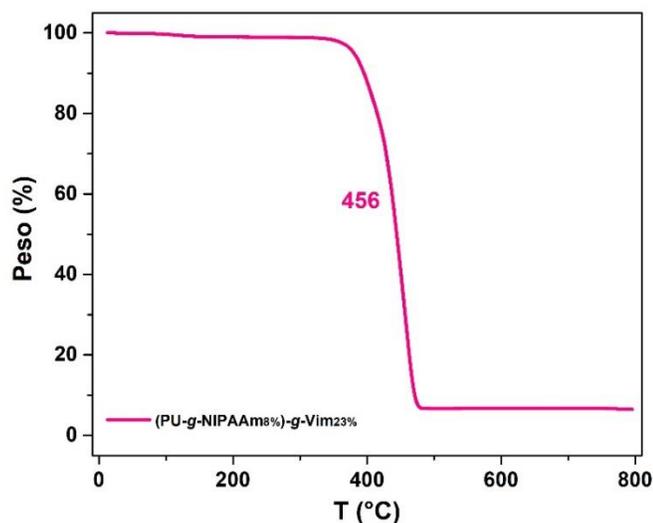


Figura 34. Ejemplo de termograma.

1.5.5 Hinchamiento límite

El proceso de hinchamiento consiste en la absorción de un disolvente dentro del material. Dependiendo de la naturaleza del material, se puede adsorber cierta cantidad de disolvente. El punto en donde el polímero no absorbe más disolvente a pesar del tiempo es conocido como tiempo de hinchamiento límite.



Son diversos los factores que afectan el grado de hinchamiento como son: la estructura molecular, la cristalinidad, el peso molecular, la temperatura y el pH. Con esta técnica de análisis podemos conocer el grado de hidrofiliidad del material, lo cual es de suma importancia al momento de usar el material como sistema de carga y liberación de fármacos.

El hinchamiento del material lo conocemos mediante siguiente ecuación:

$$\text{Hinchamiento (\%)} = \left(\frac{w_s - w_h}{w_s} \right) \times 100$$

Donde:

w_s peso del material seco

w_h peso del material hinchado



Capítulo II. Hipótesis

La modificación de catéteres de poliuretano tecoflex® con 1-vinilimidazol y N-isopropilacrilamida mediante radiación gamma, nos ayudará a sintetizar materiales termo-pH sensibles con potenciales aplicaciones como agente transportador de fármacos. El material sintetizado tendrá un pH crítico y una temperatura crítica cercanos a los fisiológicos.



Capítulo III. Objetivos

3.1 Objetivo general:

Sintetizar un biomaterial a través de la modificación superficial de catéteres de poliuretano mediante el injerto de N-isopropilacrilamida (NIPAAm) y 1-Vinilimidazol (Vim); obteniendo así, un polímero termo-pH sensible (PU-g-NIPAAm)-g-Vim, con posibles aplicaciones biomédicas para la liberación controlada de fármacos.

3.2 Objetivos particulares:

- ⌘ Injertar catéteres de poliuretano (PU) con N-isopropilacrilamida (NIPAAm) y 1-Vinilimidazol (Vim) mediante radiación ionizante, estudiando los factores que afectan la reacción de injerto (dosis, concentración y disolvente)
- ⌘ Caracterizar el biomaterial obtenido mediante diversas técnicas tales como: infrarrojo (FTIR-ATR), calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis termogravimétrico (TGA), resonancia magnética nuclear de sólidos (^{13}C -RMN CP/MAS) y microscopia electrónica de barrido (SEM).
- ⌘ Estudiar las propiedades fisicoquímicas del material injertado; hinchamiento límite, pH crítico y temperatura de respuesta (LCST)
- ⌘ Realizar estudios de carga y liberación de fármacos con el catéter modificado simulando condiciones fisiológicas (*in vitro*).



Capítulo IV. Desarrollo experimental

4.1 Materiales y reactivos

4.1.1 Monómeros

Se eligieron dos monómeros para ser injertados en la superficie del catéter, estos fueron NIPAAm y el 1-vinilimidazol con el fin de modificar y mejorar las propiedades del poliuretano.

4.1.1.1 N-isopropilacrilamida (NIPAAm)

La estructura del NIPAAm es anfifílica, el grupo amida es hidrófilico mientras que el grupo isopropil es hidrofóbico, los grupos hidrofílicos forman puentes de hidrógeno en medio acuoso. En los últimos años ha sido ampliamente estudiado porque el poli(NIPAAm) presenta propiedades termo-sensibles, Aguilar et. al. (2007) reporta una temperatura crítica de 32 °C que es cercana a la corporal, lo cual es aprovechado en el área biomédica.

Para este proyecto se decidió usar la N-isopropilacrilamida para la modificación de los catéteres, adquiriendo su propiedad térmica además de mejorar la hidrofiliidad del material. El reactivo fue adquirido de Sigma-Aldrich con 97% de pureza, tiene un peso molecular de 113.16 g/mol, su punto de fusión es 60-63 °C y de ebullición 89-92 °C.

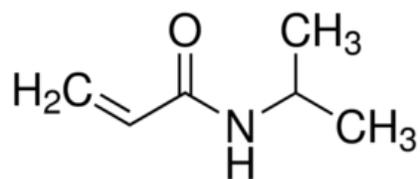


Figura 35. Estructura del NIPAAm.



4.1.1.2 1-Vinilimidazol

El 1-vinilimidazol presenta en su estructura un anillo de imidazol, el cual tiene naturaleza hidrofílica y debido a sus propiedades fisicoquímicas es usado en múltiples investigaciones en el área médica, se le atribuye biocompatibilidad y es usado para la síntesis de antimicrobianos (Sabaa, 2010).

Una de las aplicaciones más estudiadas es en la liberación de fármacos, aunque los polímeros derivados de 1-vinilimidazol también tienen la capacidad de formar complejos con algunos metales; además, presenta propiedades pH sensibles, teniendo un pH crítico cercano a 5.6 (López Saucedo, 2017). Por su reactividad, la polimerización de este monómero se realiza por radicales libres.

Debido a las propiedades descritas del 1-vinilimidazol, se decidió usar este monómero para mejorar la hidrofiliidad del catéter de poliuretano y proveerle sensibilidad al pH. El reactivo usado es de la marca Sigma-Aldrich con una pureza de 99%, su peso molecular es de 94.11 g/mol, densidad 1.039 g/mL y un punto de ebullición de 192-194 °C

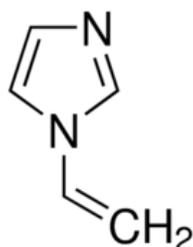


Figura 36. Estructura del 1-vinilimidazol.

4.1.2 Fármacos

La potencial aplicación de los copolímeros sintetizados en este trabajo, es la carga y liberación de fármacos, se usaron dos fármacos diferentes para comprobar su potencial



aplicación, estos pueden ayudar en el tratamiento de las infecciones asociadas a los catéteres.

4.1.2.1 Ciprofloxacino

El ciprofloxacino pertenece al grupo de las fluoroquinolonas, es un antibiótico con efectos bactericidas (bacterias gram negativas) inhiben la replicación del ADN bacteriano, se usan comúnmente para el tratamiento en infecciones urinarias, infecciones de vías respiratorias e infecciones en la piel y tejido blando, su administración es comúnmente por vía oral o intravenosa, su peso molecular es de 331.346 g/mol.

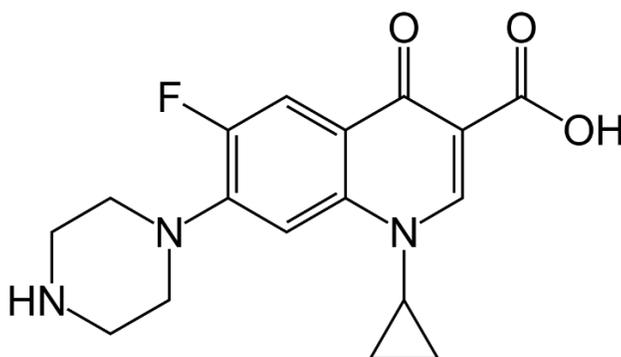


Figura 37. Estructura del ciprofloxacino

4.1.2.2 Diclofenaco

El diclofenaco pertenece al grupo de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), presenta acción antiinflamatoria y analgésica, las principales formas de administración son la oral en comprimidos, tópica en forma de gel o intravenosa. La absorción del diclofenaco es generalmente rápida, tienen un peso molecular de 318.14 g/mol.

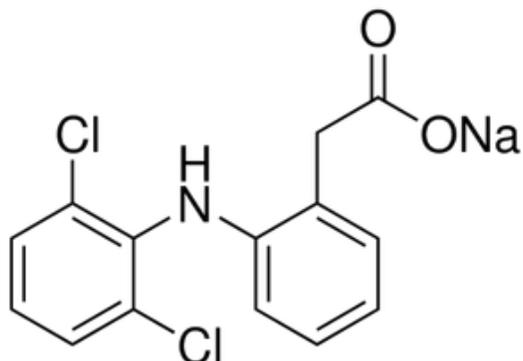


Figura 38. Estructura del diclofenaco sódico.

4.2 Preparación de material

4.2.1 Lavado de catéter

Para propósitos del proyecto, los catéteres fueron cortados de 2.5 cm, aproximadamente. Posteriormente se purificaron con etanol en agitación constante. Se cambió el disolvente en caso de que el sobrenadante se notara ligeramente sucio. Terminado el tiempo de lavado, se extrajeron las muestras y se secaron a 50 °C aproximadamente a vacío.



Figura 39. Muestra de catéter

Las muestras secas y limpias, se colocaron en tubos de borosilicato previamente rotulados, con registró de su peso inicial. Los tubos se utilizaron para la elaboración de las ampolletas. Una vez que se tienen las ampolletas se comprueba que no tengan fracturas y/o imperfecciones que afecte el posterior proceso de desgasificación.



Figura 40. Ampolleta

4.2.2 Purificación de monómeros

Previo a la polimerización de los monómeros, se debe eliminar el inhibidor que contienen, esto se realiza por diferentes técnicas dependiendo de la naturaleza del monómero.

4.2.2.1 Purificación de N-isopropilacrilamida

La purificación de este monómero se realizó por medio de una recrystalización en hexano. Se pesaron 25 g aproximadamente de NIPAAm en un vaso de precipitados, se agregó el hexano para disolverlo. El vaso de precipitados se colocó a calentamiento con agitación constante hasta que el soluto se disolviera totalmente. Después de disolverlo, se colocó en un baño con hielo para inducir la cristalización, el siguiente paso fue filtrarlo usando papel filtro con un embudo buchner y un matraz kitasato, se dejó evaporar el hexano y finalmente, se secó por completo en la estufa de vacío.



Figura 41. Cristales de NIPAAm purificados mediante recrystalización.



4.2.2.2 Purificación de 1-Vinilimidazol

Se realizó una destilación a presión reducida para la eliminación del inhibidor, colocando 100mL aproximadamente de 1-Vinilimidazol en un matraz de bola, que fue puesto en calentamiento con ayuda de un baño de silicona de Aldrich. El sistema de destilación a presión reducida contó con una trampa de agua con nitrógeno líquido para el cuidado de la bomba.

La destilación del monómero comenzó cuando el vapor alcanzó una temperatura de 95 °C dentro del matraz. Al término de la destilación, se almaceno el monómero purificado en un frasco ámbar y en refrigeración para su posterior uso.



Figura 42. Proceso de destilación a presión de vacío del 1-vinilimidazol



4.3 Primer injerto PU-g-NIPAAm

El primer injerto que se lleva a cabo es el de NIPAAm, se realizó por el método directo usando etanol como disolvente, una concentración de 1 molar y diferentes dosis de irradiación (20, 30, 40 y 50 kGy).

$$25\text{mL} \left(\frac{\text{L}}{1000\text{mL}} \right) \left(\frac{1\text{mol}}{1\text{L}} \right) \left(\frac{113\text{g}}{1\text{mol}} \right) = 2.825\text{g de NIPAAm}$$

Para este proceso se utilizaron ampollitas con la muestra en el interior, se agregaron 3 mL de solución de monómero y se procedió a la desgasificación del medio de reacción. Se coloca la ampollita en la línea de vacío, se congela el interior de la ampollita (el monómero y la muestra) con la ayuda de nitrógeno líquido dentro de un Dewar, se extrae el aire contenido en la ampollita al abrir el vacío durante 3 min aproximadamente; posteriormente, se cierra el vacío y se descóge la ampollita con ayuda de agua a temperatura ambiente. El proceso de desgasificación se repite de 3 a 5 veces hasta llegar a la extracción total del aire. Una vez desgasificada la muestra, el siguiente paso es sellar la ampollita, se realiza teniendo la ampollita congelada y el vacío abierto, esto con la ayuda de un soplete hasta que el borosilicato sea maleable en ese momento se gira la ampollita hasta conseguir sellarla.

Sellada la ampollita, se manda a irradiación en el Gammabeam, donde el tiempo de exposición depende de la dosis deseada, para este primer injerto se varía la dosis a la que es expuesta la muestra.

Después del proceso de irradiación, se abre la ampollita y se extrae el material injertado, se desecha el homopolímero formado y el catéter es purificado con etanol en agitación constante por 3 horas aproximadamente, este proceso se realiza por triplicado para la eliminación de subproductos de reacción. Terminado el lavado, el catéter es secado en



estufa de vacío. Para conocer el injerto se registra su peso final, se sigue la siguiente ecuación.

$$\text{Injerto (\%)} = \left(\frac{w_f - w_i}{w_i} \right) \times 100$$

Ecuación 2. Cálculo de porcentaje de injerto

Donde:

w_i = peso inicial

w_f = peso final

Se realizaron pruebas de hinchamiento, para seleccionar del disolvente más apropiado para injertar el monómero, los candidatos fueron: hexano, tolueno y cloroformo. Para esta prueba se omitió el agua porque el material no presenta hinchamiento en ella. Se procedió a usar el método de preirradiación oxidativa. En este método las variables a tomar en cuenta son la concentración de monómero, el disolvente, la dosis de radiación y el tiempo de reacción.

Como primer paso, la ampolleta se irradia en presencia de aire a cierta dosis; una vez irradiada, se agregan 4 mL de monómero, 1 M (NIPAAm) y se procede a la desgasificación por desplazamiento con argón, haciéndolo burbujear en la disolución por 10 min aproximadamente, después de la desgasificación se procede al sellado de la ampolleta con un soplete hasta que este sea maleable, en ese momento se gira hasta realizar el sellado. Como siguiente paso, se procede a colocar las muestras a baño maría a 70 °C, durante 20 horas. Al término del tiempo de reacción se procede a extraer el catéter de la ampolleta, el lavado se realiza por triplicado con etanol y agitación, para eliminar los residuos de monómero, después se deja evaporar el etanol restante y por último se seca en la estufa. Se registra el peso del catéter totalmente seco, para conocer su porcentaje de injerto.



usando nitrógeno líquido para congelar el contenido de la ampolleta, el proceso de desgasificación se repite de 3 a 5 veces hasta llegar a la extracción total del aire. Una vez desgasificada, el siguiente paso es sellar la ampolleta con un soplete hasta que el borosilicato sea maleable en ese momento se gira la ampolleta hasta conseguir sellarla.

Ya con la ampolleta sellada, se envía al proceso de irradiación en el Gammabeam 651 PT ubicado en el Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM, el tiempo de exposición depende de la dosis deseada, para este primer injerto se varió la dosis. Después del proceso de irradiación, se extrae el material, abriendo la ampolleta con ayuda de un choque térmico, se desecha el homopolímero formado y el catéter es lavado con etanol en agitación constante por 3 horas, este lavado se realiza por triplicado para la eliminación de residuos de homopolímero. Terminado el lavado, el catéter es secado en la estufa a vacío. Para conocer el grado de injerto se registra su peso final y se utiliza la ecuación 2.

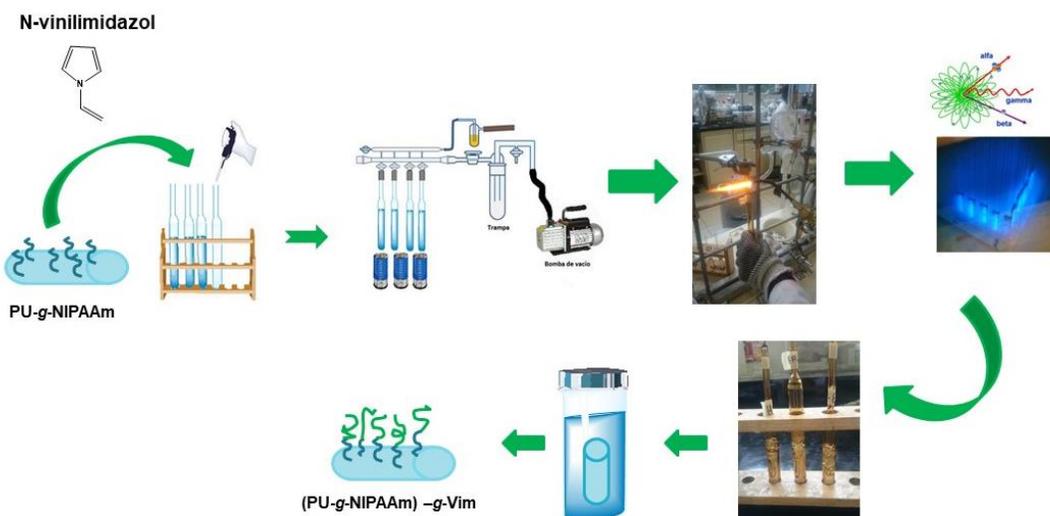


Figura 44. Esquema de la metodología del injerto de 1-vinilimidazol en catéteres de PU-g-NIPAAm por el método directo.



4.5 Caracterización

4.5.1 Análisis térmico

4.5.1.1 DSC

Se pesaron de 5 a 7 mg de cada muestra, se realizó un secado previo de 24 horas en la estufa a 60°C para eliminar la humedad de las muestras. Antes del análisis, se registraron los pesos y se procedió a su encapsulamiento. Para todas las muestras se hicieron dos calentamientos, el primero con una rampa de 10 °C/min (para eliminar el historial térmico) y el segundo 5 °C/min en un rango de 20 a 180 °C.

4.5.1.2 TGA

Este análisis se realizó en el Laboratorio de Química de Radiaciones en Macromoléculas en el equipo *TGA Q50*. Se eligieron 4 muestras representativas: poliuretano sin modificar (PU), poliuretano con un injerto (PU-*g*-NIPAAm, PU-*g*-Vim) y poliuretano con injerto binario ((PU-*g*-NIPAAm)-*g*-Vim), se tomaron de 5 a 10 mg de cada muestra y el análisis se realizó desde temperatura ambiente hasta 700 °C.

4.5.2 Hinchamiento límite

Para realizar esta prueba, se colocaron muestras representativas de los catéteres con previo registro de su peso inicial y se procedió a agregar un volumen determinado de disolución buffer pH 6. Se monitorea el proceso de hinchamiento pesando las muestras cada determinado tiempo hasta que alcanzar el equilibrio.



$$\text{Hinchamiento (\%)} = \left(\frac{w_s - w_h}{w_s} \right) \times 100$$

Donde:

w_s peso del catéter seco

w_h peso del catéter hinchado

4.5.3 LCST

Se tomaron muestras representativas de los catéteres modificados y se registró su peso inicial, se colocaron en frascos con agua destilada y estos frascos dentro de un sistema de calentamiento. El estudio se realizó iniciando a temperatura ambiente y las muestras se dejaron aproximadamente 5 horas para que alcancen su hinchamiento límite, se elimina el exceso de agua y se pesan para conocer su grado de hinchamiento. Realizado esto, la temperatura del medio se fue aumentando gradualmente 2 °C; el proceso de determinación de grado de hinchamiento fue realizado a cada temperatura.

$$\text{Hinchamiento (\%)} = \left(\frac{w_s - w_h}{w_s} \right) \times 100$$

Donde:

w_s peso del catéter seco

w_h peso del catéter hinchado

4.5.4 pH Crítico

Para la preparación de las soluciones buffer se usaron:

Solución Ácida



Ácido bórico 0.2M + Ácido Cítrico 0.05M

$$1L = \left(\frac{0.2mol}{1L}\right) \left(\frac{61.83g}{mol}\right) = 12.366g \text{ de Ácido bórico}$$

$$1L = \left(\frac{0.05mol}{1L}\right) \left(\frac{192.124g}{mol}\right) = 9.606g \text{ de Ácido cítrico}$$

Solución básica

Ortofosfato trisódico 0.1M

$$1L = \left(\frac{0.1mol}{1L}\right) \left(\frac{380.12g}{mol}\right) = 38.012g \text{ de Ortofosfato trisódico}$$

Las disoluciones acidas y básicas se mezclaron en diversas proporciones hasta llegar al pH requerido, obteniendo 12 soluciones buffer con pH de 2 y hasta 13.

En este análisis, se requiere conocer el peso de los catéteres en seco, el ensayo se realizó en soluciones buffer, colocando los catéteres en soluciones de diferente pH. Comenzando en una disolución de pH 2, las muestras se sumergieron en el buffer durante 3 horas para alcanzar su hinchamiento limite, transcurrido este tiempo, las muestras se extrajeron y se removió el exceso de agua para pesarlos y así conocer el porcentaje de hinchamiento, el proceso se repitió con el resto de soluciones buffer hasta llegar a la de pH 13.



4.6 Carga y liberación de Fármaco

Durante la elección del fármaco, se tomaron muestras representativas de los catéteres, estas se pesaron previamente y se colocaron en viales. Ciprofloxacino y diclofenaco fungieron como fármacos modelos a hospedar en nuestro material injertado (PU-g-

NIPAAm10%)-g-Vim32%. Se usaron 3 mL de disolución de cada fármaco, se colocaron en contacto con el material en inmersión y agitación durante 3 horas, se midió la absorbancia cada determinado tiempo a 270 nm para monitorear la cantidad absorbida.

Una vez identificado el fármaco a usar (diclofenaco) se realiza una disolución de 0.034 mg/mL de concentración, (absorbancia de 1.102) en una longitud de onda de 270 nm. Se realizó una curva de calibración de diclofenaco, para poder conocer la concentración.

Para la carga de diclofenaco se usaron 3 mL de la solución de fármaco para cada muestra, este proceso se realizó durante 5 horas en agitación constante, después de esto se midió la absorbancia para conocer la concentración de diclofenaco remanente y así calcular por diferencia la concentración, la cantidad de diclofenaco que adsorbió cada catéter. Posteriormente, se llevó a cabo el secado en la estufa de vacío a 40 °C durante 12 horas o hasta peso constante.

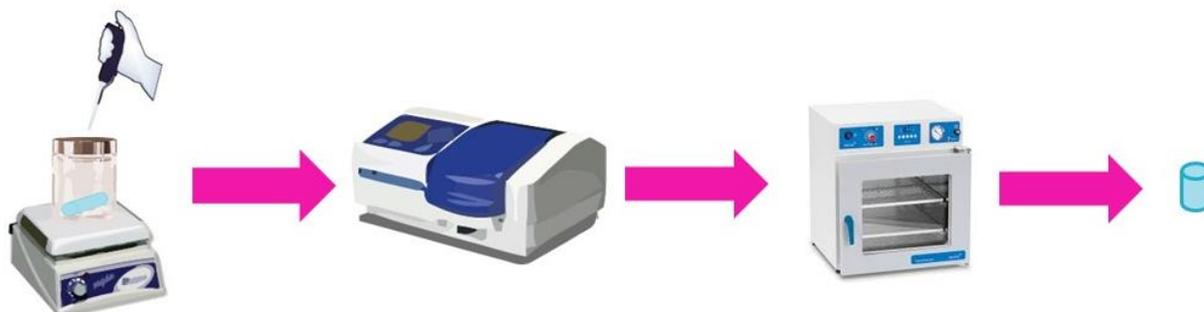


Figura 45. Esquema del proceso de carga de fármaco en los catéteres modificados.



Para la liberación del fármaco (*in vitro*) se usó una solución salina 0.9%, una temperatura de 37 °C y una agitación constante de 500 rpm.

$$100\text{mL} \left(\frac{0.9 \text{ NaCl}}{100\text{mL}_{\text{solución}}} \right) = 0.9\text{g de NaCl}$$

El proceso se monitoreó durante 20 horas, entre 220 y 500 nm de longitud de onda para conocer la concentración de diclofenaco liberada por el material.

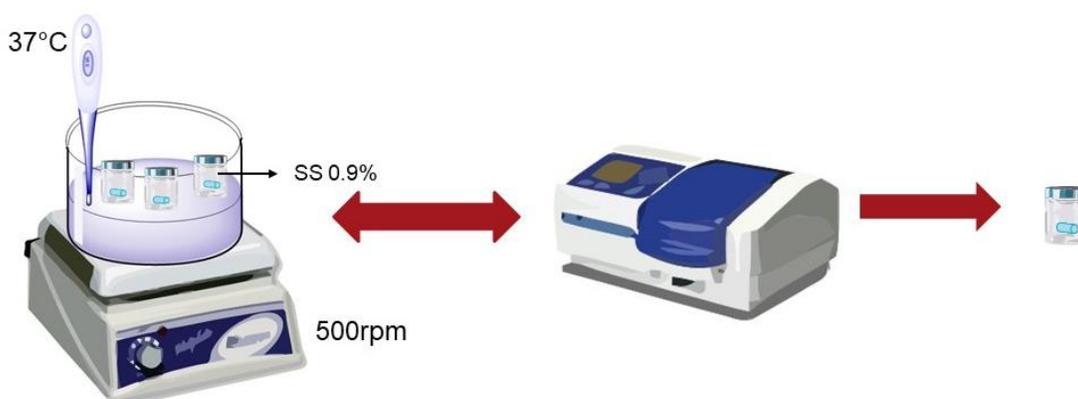


Figura 46. Esquema del proceso de liberación del fármaco de catéteres modificados en solución salina a 37 °C

4.7 Ensayo antimicrobiano

Se determinó de la actividad antimicrobiana de catéteres de poliuretano sobre *E. coli* (*Escherichia coli*) y *MRSA* (*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina).

Utilizando placas de 12 pozos, se colocaron cada uno de los catéteres. Previamente, se ajustó el inóculo de *E. coli* y *MRSA* en caldo de Tripticaseína de soya (BD, Bioxon) tomando como referencia el tubo 0.5 de la escala de McFarland (1×10^8 bacterias). Posteriormente, se incubó a 37°C en condiciones aerobias por 18 horas. Después de incubar, fueron tomados 100 µl del medio de cultivo de cada uno de los tratamientos y se pasaron a una placa de 96 pozos. Posteriormente, se cuantificó la absorbancia a una longitud de onda de 600nm utilizando un lector de microplacas (Biotek, Winooski, VT).



Capítulo V. Resultados

5.1 Primer injerto PU-g-NIPAAm

Se realizaron experimentos para determinar si el método directo era el conveniente para el injerto de NIPAAm, usando etanol como disolvente y una concentración de 1 M; se varió la dosis de irradiación; sin embargo, el aumento de la dosis dio lugar a la degradación de la matriz polimérica; por lo que se decidió usar el método de preirradiación oxidativa para llevar a cabo el injerto de NIPAAm.

5.1.1 Efecto del disolvente en el grado de hinchamiento de los catéteres de PU

En tolueno, el catéter presentó un hinchamiento medio del 16%, en cloroformo fue del 25%, pero este último exhibió la desventaja de dañar el material dándole una coloración amarillenta; razón por la cual se descartó su uso. En etanol el material hinchó un 12%.

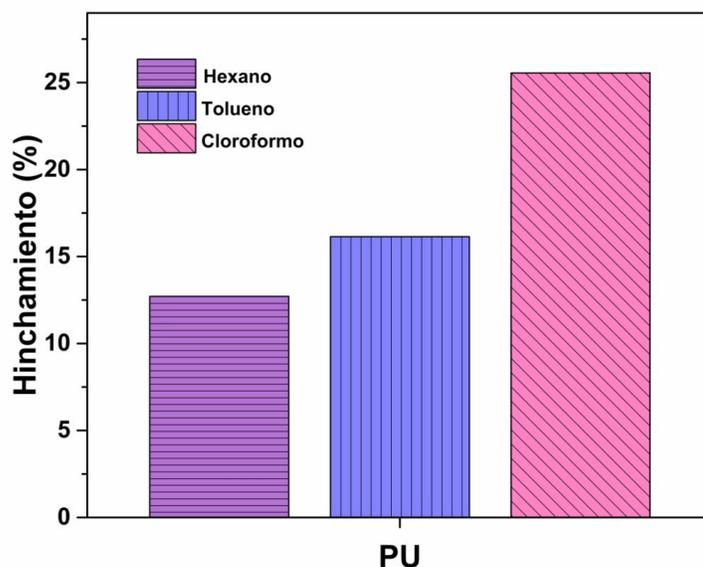


Figura 47. Grado de hinchamiento de los catéteres de PU en diferentes disolventes.



Se realizó una prueba por el método directo usando tolueno, 50 kGy y una concentración 2 M, en este caso se favoreció la homopolimerización en vez del injerto, lo que implicó que la extracción del catéter fuese complicada. Por esta razón la concentración usada para el injerto se disminuyó a 1M.

5.1.2 Efecto de la dosis de irradiación en el grado de injerto de NIPAAm sobre PU

Otro factor importante al momento de realizar injertos es la dosis de irradiación; la cinética de dosis se realizó por el método de preirradiación oxidativa, concentración de 1 M en tolueno, temperatura de 70 °C y un tiempo de reacción de 20 h; a dosis de 20, 30,40 y 50 kGy.

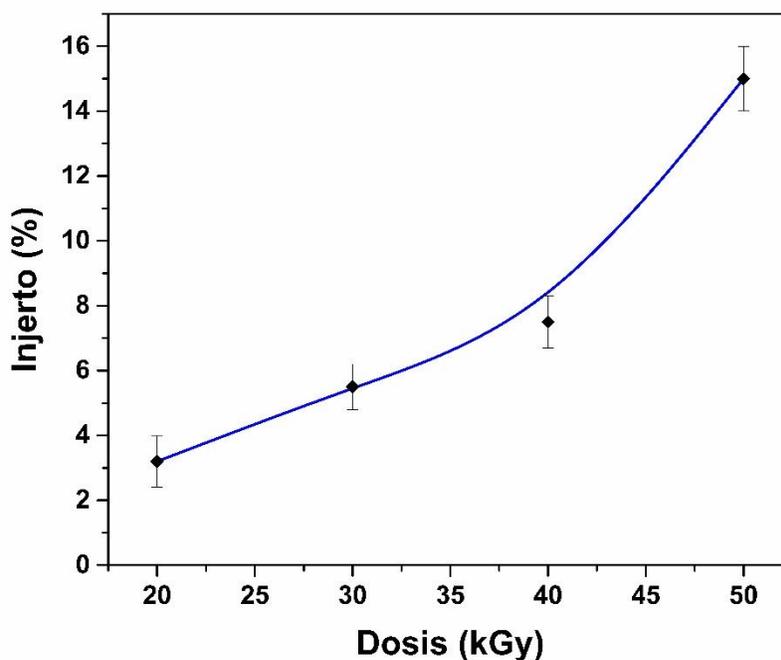


Figura 48. Efecto de la dosis en el grado de injerto de NIPAAm en catéteres de poliuretano.

Notamos que esta cinética tiene una tendencia positiva al aumentar la dosis de irradiación, se eligió usar 40 kGy con 7%. No se observó modificación notable en el



grosor del catéter, además de que los injertos obtenidos al irradiar 50 kGy llegan a 15%; a mayor injerto, los catéteres empiezan a ser poco flexibles y/o quebradizos.

5.1.3 Efecto del tiempo de reacción en el grado de injerto de NIPAAm sobre PU

La siguiente cinética estudiada es la de tiempo de reacción, utilizando 1 M de concentración en tolueno, dosis de 40 kGy y una temperatura de 70 °C.

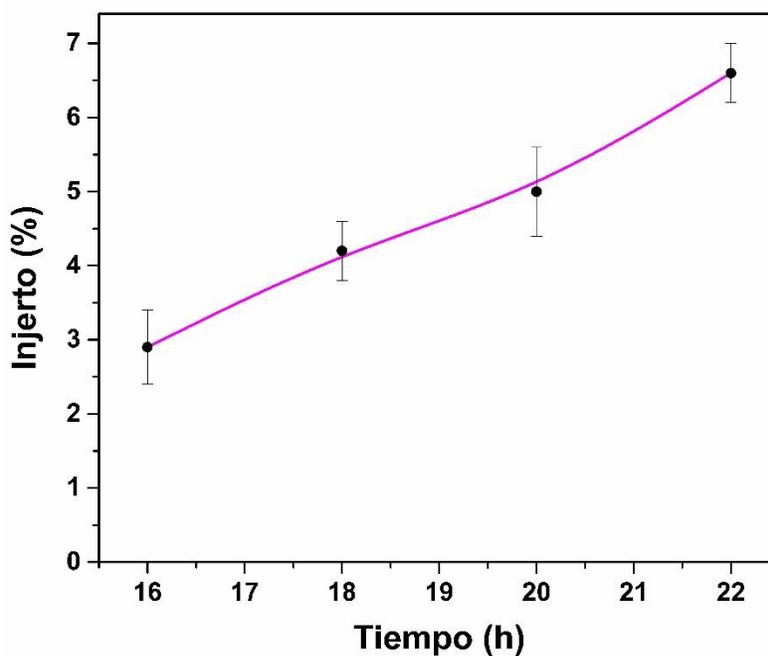


Figura 49. Efecto del tiempo de reacción en el grado de injerto de NIPAAm sobre catéteres de poliuretano.

La tendencia que sigue esta cinética es ascendente; es decir, al aumentar el tiempo de reacción elegido, el porcentaje de injerto incrementa; el tiempo de reacción fue de 20 h.



Por lo anterior, se consideró que las mejores condiciones para realizar el injerto de PU-g-NIPAAm, son por el método de preirradiación oxidativa, concentración de 1 M en tolueno, 40 kGy, temperatura de 70 °C y 20 h de reacción.

5.1.4 Mecanismo propuesto para el injerto de NIPAAm sobre catéteres de poliuretano.

El mecanismo propuesto para el primer injerto consiste en la formación de radicales libres sobre el átomo de nitrógeno debido a la estabilidad del radical libre por deslocalización que le confiere el grupo carboxilo vecino. Esta observación está basada en un trabajo previamente reportado por Hioe y colaboradores (2015), el injerto se da por la formación de un enlace entre los radicales libres del tecoflex® y del NIPAAm. Los sitios de injerto propuestos, no representan los únicos sitios en los cuales pudiera llevarse a cabo el proceso de injerto, ya que como todos sabemos, la radiación gamma es muy energética y podría inducir otros sitios de reacción; sin embargo, debido a que no se observan nuevos desplazamientos químicos en el espectro de ^{13}C -RMN y la pérdida de intensidad de la señal de las señales del enlace N-H, fortalecen esta observación.

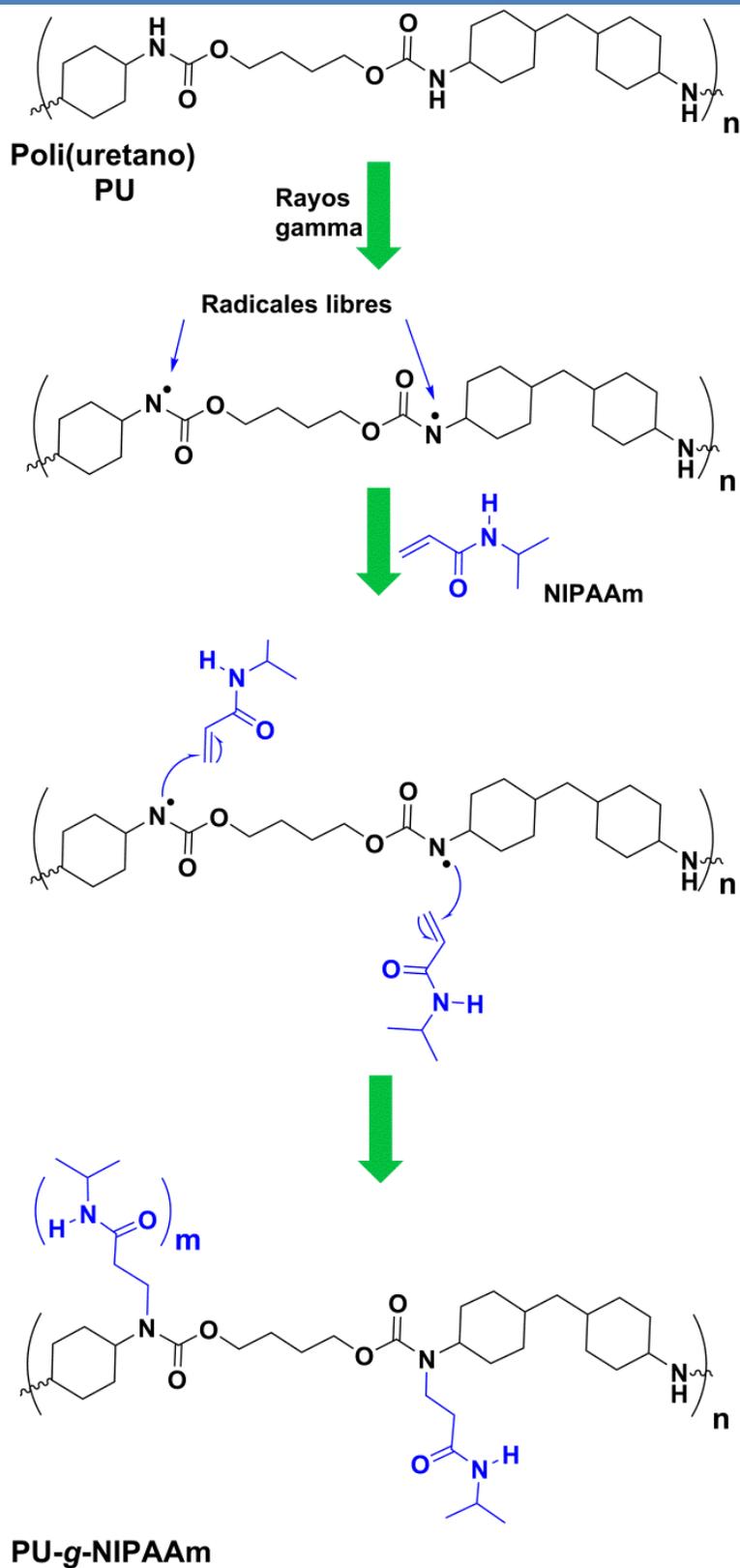


Figura 50. Mecanismo propuesto para la síntesis de PU-g-NIPAAm.



5.2 Segundo injerto (PU-g-NIPAAm)-g-Vim

El segundo monómero a injertar fue 1-vinilimidazol, este injerto se realizó por el método directo, se estudiaron los factores que afectan al grado de injerto como son: disolvente, concentración de monómero y dosis aplicada.

5.2.1 Efecto del disolvente en el grado de injerto de 1-vinilimidazol en catéteres de poliuretano

Para la elección del disolvente se realizaron estudios previos por el método directo, 50 kGy y 5 M de concentración; se utilizó N,N-dimetilformamida (DMF), acetona y etanol, como disolventes de ensayo.

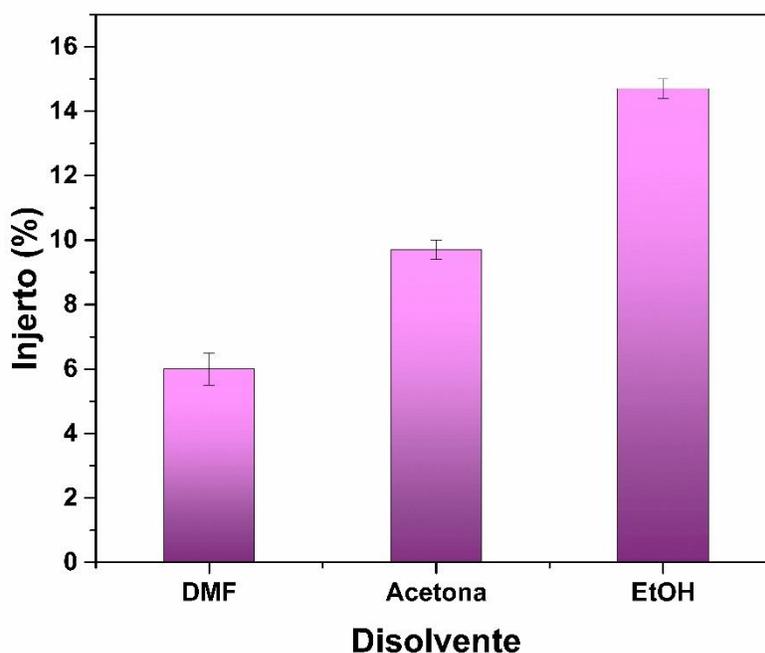


Figura 51. Efecto del disolvente en el grado de injerto de 1-vinilimidazol en poliuretano, para el 2° injerto.



El injerto obtenido al usar DMF fue cercano al 6%, en este disolvente no se observó formación de homopolímero, mientras que al usar acetona se notó una gran formación de subproducto (homopolímero) el cual es de color blanco y viscoso; por esta razón se descartó este disolvente, al usar etanol los injertos son cercanos al 15% además de baja formación de homopolímero.

Con este estudio comprobamos que el disolvente afecta directamente al porcentaje de injerto de vinilimidazol en los catéteres y a la formación del homopolímero, por estas razones el disolvente utilizado para realizar el segundo injerto fue etanol.

5.2.2 Efecto de la concentración en el injerto de 1-vinilimidazol sobre PU-g-NIPAAm

El siguiente análisis realizado fue el efecto de la concentración, las condiciones a las que se llevó a cabo el estudio por el método directo fueron: 40 kGy y etanol como disolvente, variando las concentraciones de 1, 2, 3, 4 y 5 M. El injerto el injerto 1-vinilimidazol se realizó sobre catéteres con 4% de NIPAAm (PU-g-NIPAAm4%).

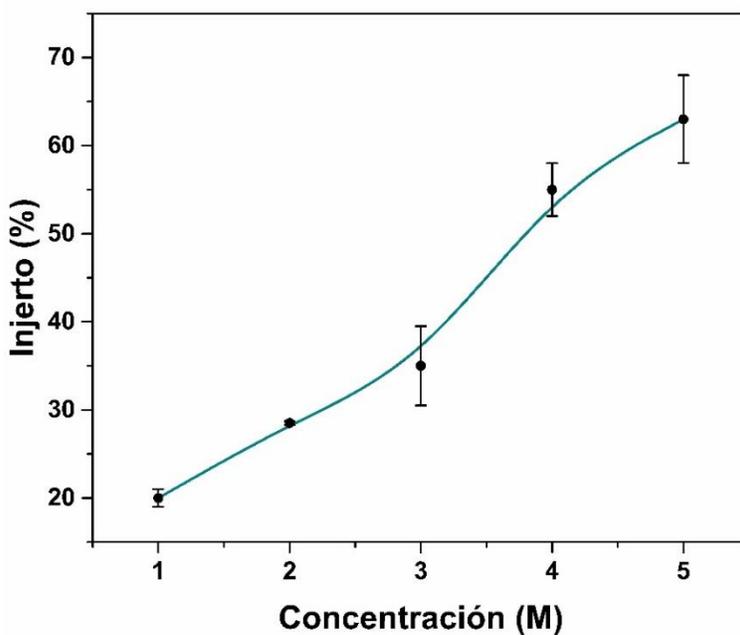


Figura 52. Efecto de la concentración en el grado de injerto de 1-vinilimidazol en catéteres los PU-g-NIPAAm.



Se observó que porcentaje de injerto crece con el aumento de la concentración de monómero, a una concentración de 2 M se obtienen injertos alrededor del 35%, mientras que al duplicar la concentración (4 M) el injerto se dispara alrededor de 55%; los injertos máximos se obtienen con la concentración de 5 M llegando al promedio de 60%. Se utilizó esta última concentración para posteriores análisis.

5.2.3 Efecto de la concentración en el injerto de 1-vinilimidazol sobre PU

Como estudio complementario se estudió el injerto de 1-vinilimidazol sobre el poliuretano para tener una comparación del efecto del material en el injerto, las condiciones a las que se realizó este estudio fueron por el método directo, etanol y 60 kGy, variando la concentración del monómero en 2, 3, 4 y 5 M.

En las muestras de (PU-g-NIPAAm)-g-Vim podemos notar como los injertos de 1-vinilimidazol son superiores a los obtenidos sobre PU, este análisis nos sirvió para conocer que el injerto del segundo monómero se da sobre el primer injerto. Por lo que podemos decir que el injerto de NIPAAm no solo sirve para conferir propiedades termo-sensibles al catéter, sino también como base para el segundo injerto (1-Vinilimidazol).

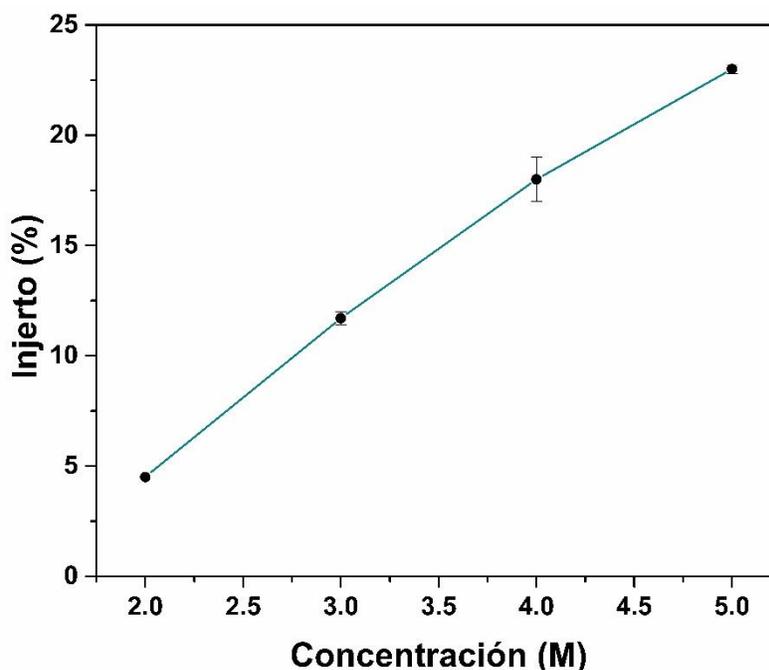


Figura 53. Efecto de la concentración de 1-vinilimidazol en el grado de injerto, sobre catéteres de PU.

5.2.2 Efecto de la dosis de irradiación en el grado de injerto de 1-vinilimidazol sobre PU

El siguiente estudio consiste en conocer las mejores condiciones para el injerto de 1-vinilimidazol, el método de injerto es directo, una concentración de 5M en etanol, variando en cada punto la dosis de irradiación en 20, 30, 40, 50 y 60 kGy.

En la Figura 54 podemos notar que el aumento de la dosis mejora el grado de injerto; es decir, a mayor dosis mayor grado de injerto. Esto es debido a que a dosis más altas se promueve la formación de un mayor número de rupturas homolíticas de los enlaces; esto es, un mayor número de radicales libres que pueden reaccionar con los enlaces vinílicos de las moléculas de monómero.

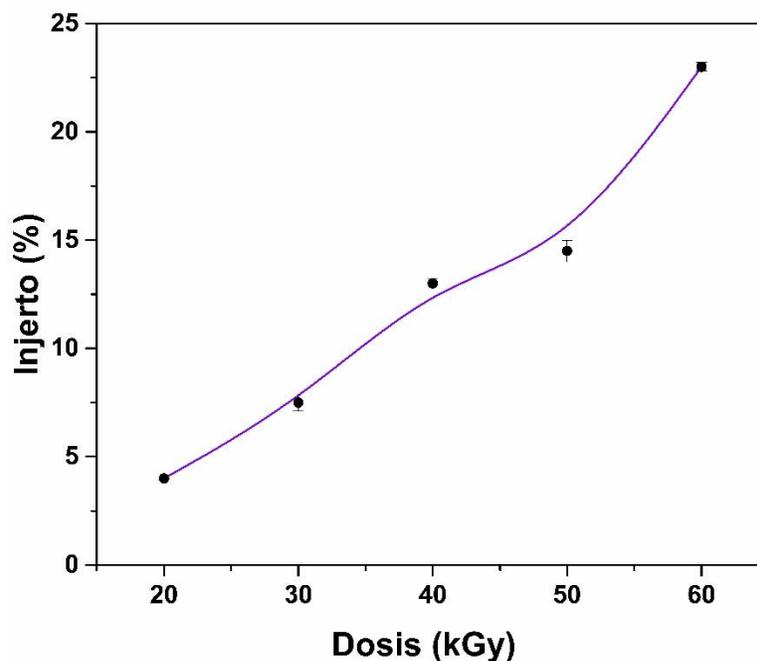
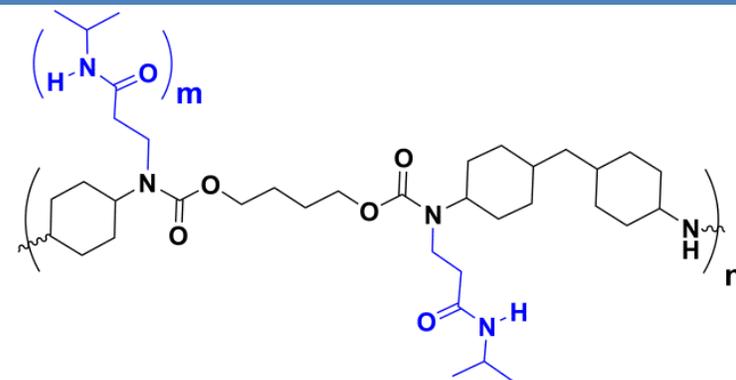


Figura 54. Efecto de la dosis de irradiación en el grado de injerto de 1-vinilimidazol.

Para realizar el segundo injerto las condiciones usadas son: método directo, dosis de 50 kGy y concentración monomérica de 5 M usando etanol como disolvente

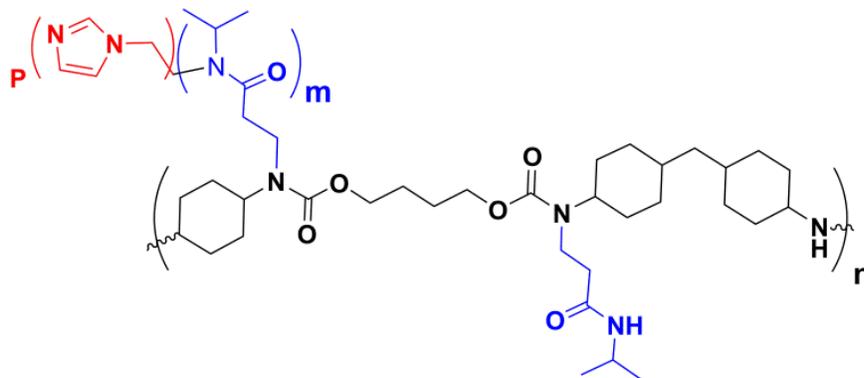
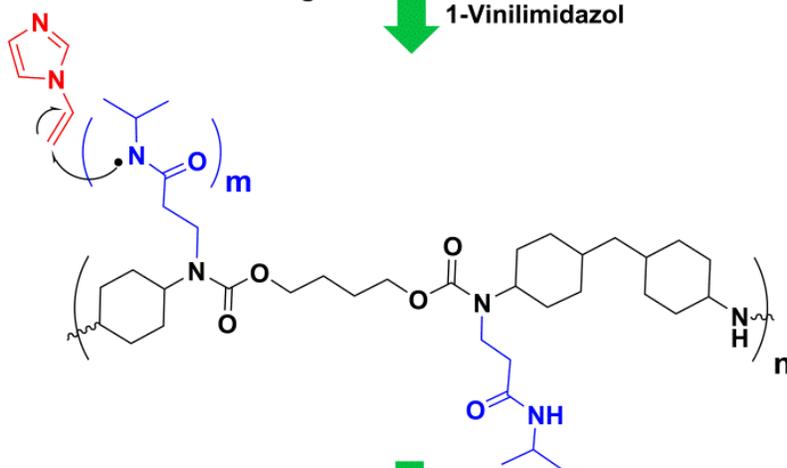
5.2.3 Mecanismo propuesto para el injerto de NIPAAm sobre catéteres de poliuretano.

En la siguiente Figura se muestra el mecanismo propuesto para segundo injerto, el cual podría ayudar a entender del porqué el injerto de 1-vinilimidazol se favorece en PU-g-NIPAAm por encima de PU, se propone que la formación de radicales libre se da principalmente sobre el NIPAAm injertado previamente.



PU-g-NIPAAm

Rayos gamma
↓
1-Vinilimidazol



(PU-g-NIPAAm)-g-Vim

Figura 55. Mecanismo propuesto para el injerto de 1-Vinilimidazol sobre PU-g-NIPAAm.



5.3 Caracterización

5.3.1 Espectrometría Infrarroja (FT-IR)

En la Figura 56a se observan los espectros de PU, y los de los injertos sencillos PU-*g*-NIPAAm5%, PU-*g*-Vim23% y la del injerto binario (PU-*g*-NIPAAm10%)-*g*-Vim32%. Las cuatro muestras presentaron en aproximadamente 3300 cm^{-1} el estiramiento del enlace N-H esta banda es de baja intensidad; la siguiente banda que presentaron en común fue la de 2800 cm^{-1} , misma que representa el estiramiento de los enlaces C-H. En el espectro de la muestra con injerto binario se observa en 2300 cm^{-1} una banda que corresponde a los dobles enlaces de C=C y C=N; todas las muestras presentaron en 1600 cm^{-1} la banda del estiramiento del grupo carbonilo (C=O), la cual es más intensa en la muestra PU-*g*-NIPAAm5% debido a que ya habían dos grupos carbonilo en esa muestra; en 1400 cm^{-1} se observa la flexión del enlace N-H en la muestra de tecoflex®, dicha banda perdió intensidad después del primer injerto de NIPAAm, y casi fue imperceptible después del segundo injerto. Por lo tanto, esto nos puede indicar que la reacción de injerto ocurrió sobre el átomo de nitrógeno del grupo funcional uretano; más adelante, mediante la técnica de ^{13}C -RMN podemos fortalecer este argumento. Por último, tenemos la banda de 1250 cm^{-1} señal atribuida al estiramiento del enlace C-N.

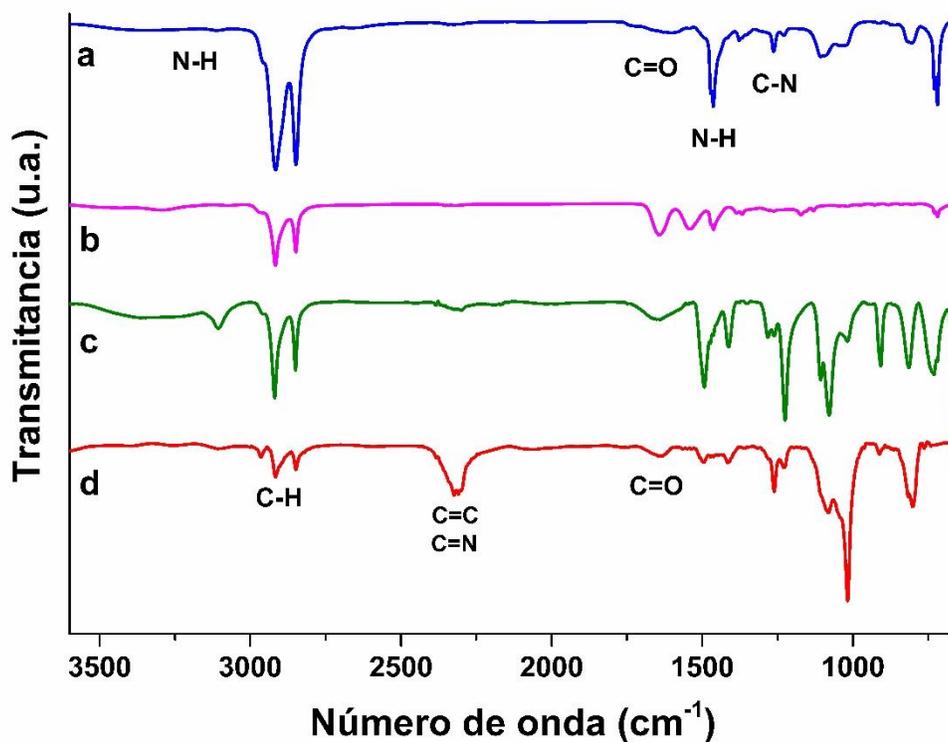


Figura 56. Espectro de IR de las muestras **a)** PU, **b)** PU-g-NIPAAm5%, **c)** PU-g-Vim23% y **d)** (PU-g-NIPAAm10%)-g-Vim32%.

5.3.2 Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13 (¹³C-RMN)

En la Figura 57 observamos las señales de ¹³C características de la estructura del poliuretano (PU), los desplazamientos químicos que presenta el catéter no injertado son: 134 ppm correspondiente al carbono del grupo carbonilo, el pico que aparece a 84 ppm corresponde al carbono unido al oxígeno, en la región de 40 a 10 ppm aparecen las señales de los grupos metileno correspondientes a los anillos y el resto de la cadena alifática.

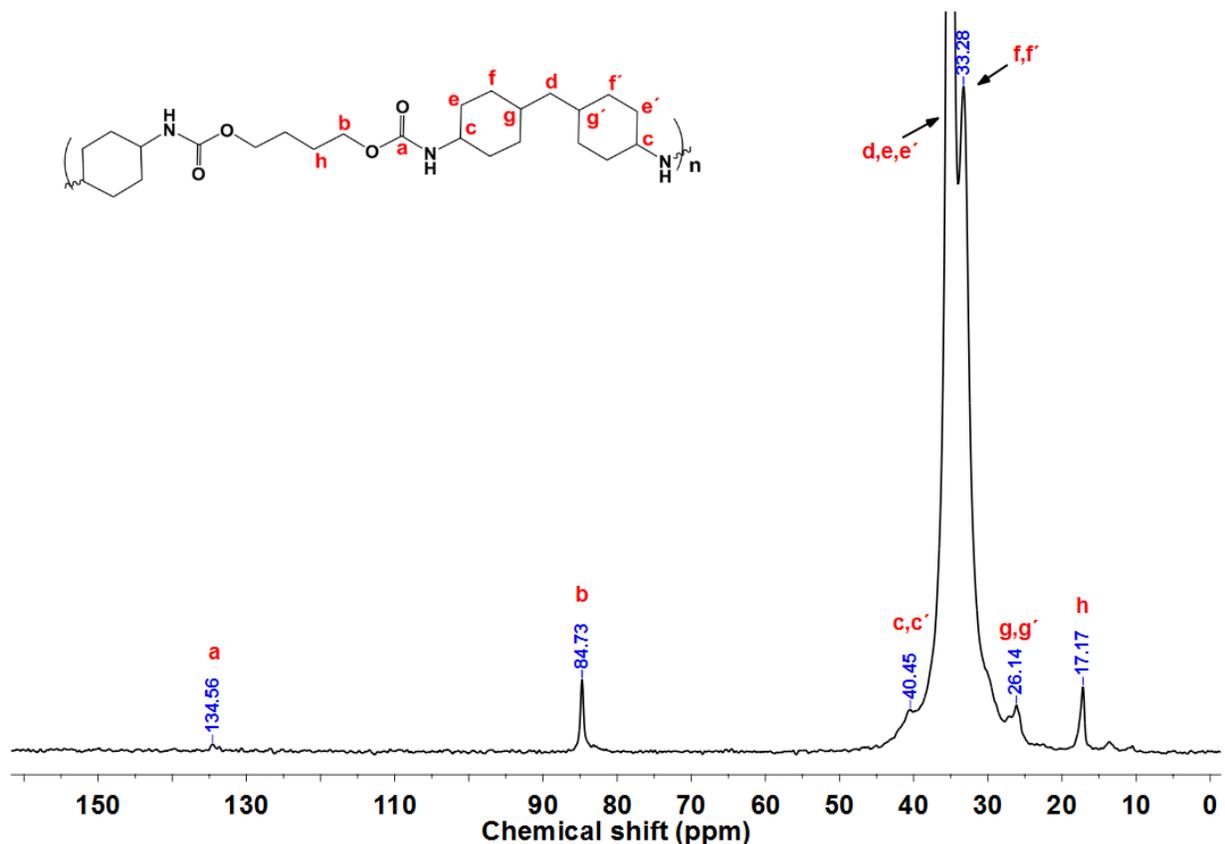


Figura 57. Espectro de ^{13}C -RMN en estado sólido del catéter de PU sin modificar.

En el siguiente espectro observamos las señales características de ^{13}C de la estructura propuesta del primer injerto PU-g-NIPAAm6%, la señal en 228 ppm corresponde al carbonilo del NIPAAm injertado, la banda en 178 ppm se asignó al carbonilo de la estructura de poliuretano, en 44 ppm podemos observar una nueva señal en comparación al espectro de poliuretano, esta señal se asignó al nuevo enlace formado por la reacción de injerto de NIPAAm en el poliuretano; las señales que se encuentran entre 40 y 13 ppm corresponden a los grupos metileno de los ciclos alifáticos y el resto de la cadena alifática.

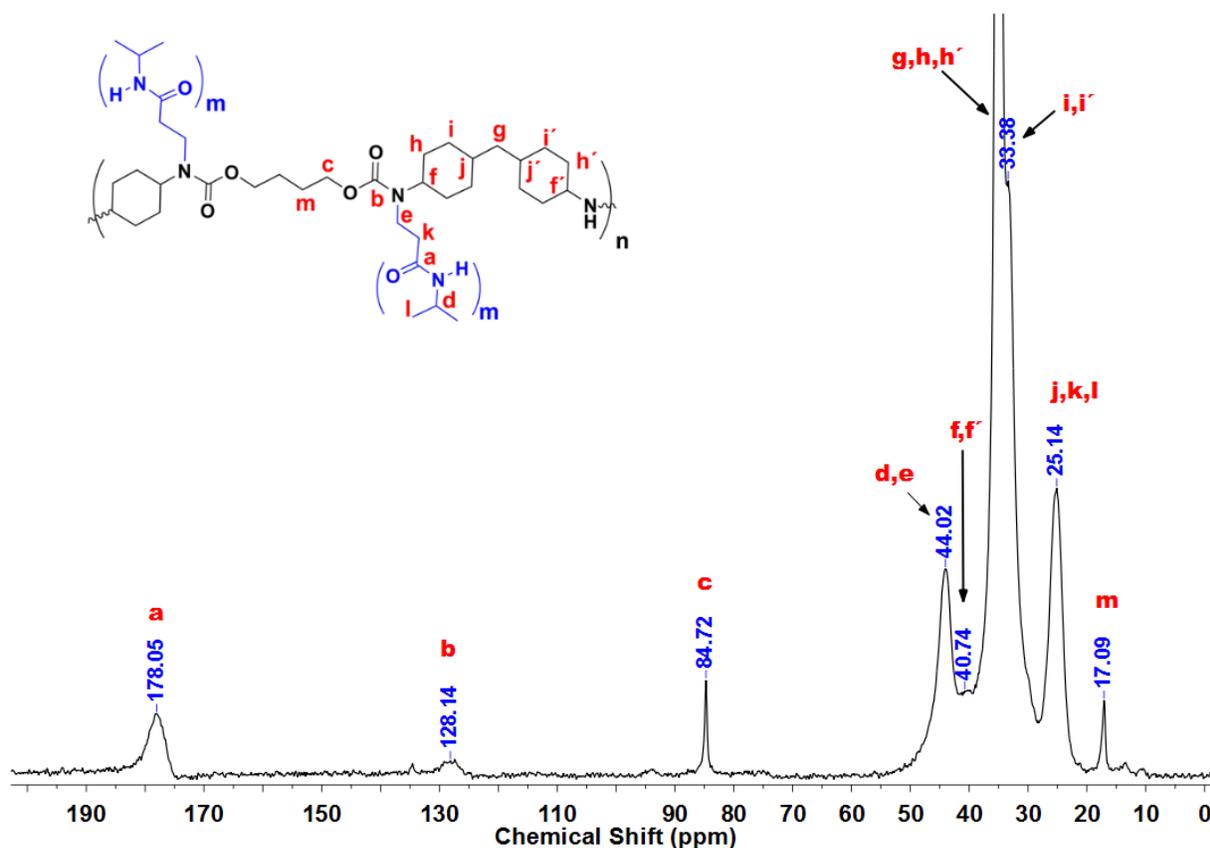


Figura 58. Espectro de ^{13}C -RMN en estado sólido del material PU-g-NIPAAm.

En la siguiente figura observamos el espectro de ^{13}C -RMN del catéter con injerto binario (PU-g-NIPAAm)-g-Vim presenta las señales características de ^{13}C de la estructura propuesta, la señal en 177 ppm corresponde al carbonilo del NIPAAm injertado, los picos entre 140 y 120 ppm se asignaron al injerto de 1-vinilimidazol, en 84 ppm se observa la señal correspondiente al carbono con enlace al oxígeno de la estructura principal de poliuretano, el pico a 54 ppm se asignó a los enlaces entre los dos injertos; las señales que se encuentran entre 40 y 17 ppm corresponden a los grupos metileno de los ciclos alifáticos y el resto de la cadena alifática

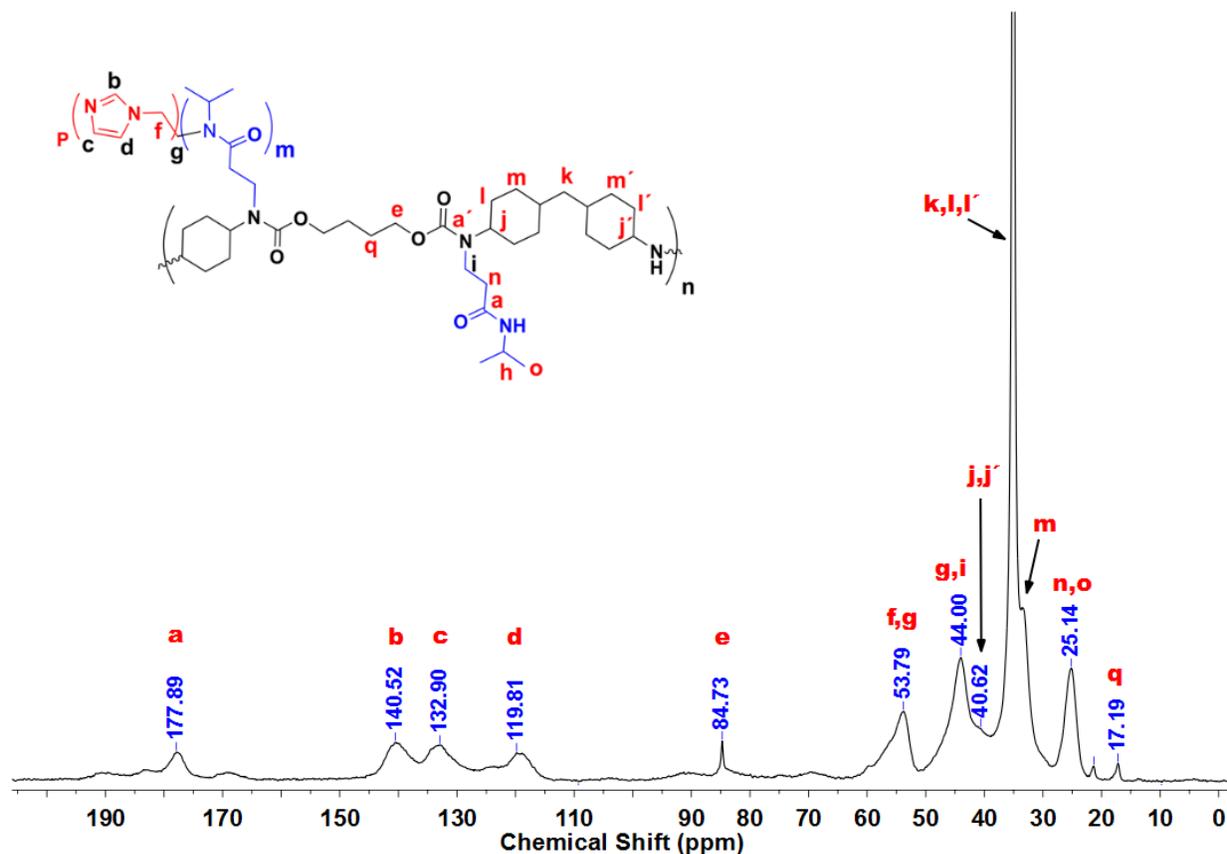


Figura 59. Espectro ^{13}C -RMN en estado sólido del injerto binario (PU-g-NIPAAm)-g-Vim

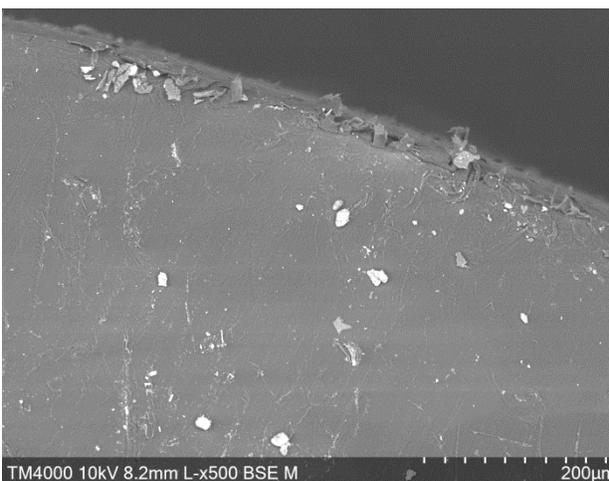
5.3.3 Microscopia Electronica de Barrido (SEM)

En la Figura 60 se muestran las micrografías de PU, PU-g-NIPAAm5% y (PU-g-NIPAAm9%)-g-Vim23% a 200 μm . En Figura 60a observamos el corte transversal de PU, el material presenta una superficie homogénea, completamente lisa, incluso podemos notar los cortes; la micrografía Figura 60b corresponde al primer injerto, podemos notar como el NIPAAm se injerta en la superficie de forma no homogénea y discontinua en la mayor parte de la superficie; en Figura 60c vemos la muestra con el injerto binario en el cual podemos observar que el injerto se da de forma heterogénea, en ciertas zonas notamos que la superficie no varía respecto al PU. La Figura 60d la observamos a una

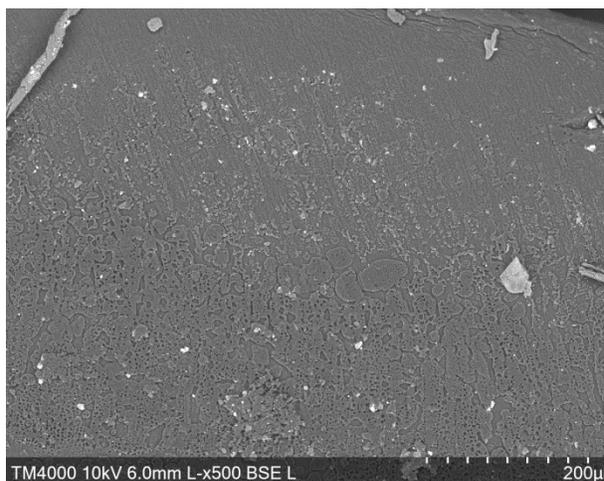


menor escala (40 μm), en esta micrografía observamos que el injerto binario presenta cúmulos formados y que existen áreas donde el injerto es mayor.

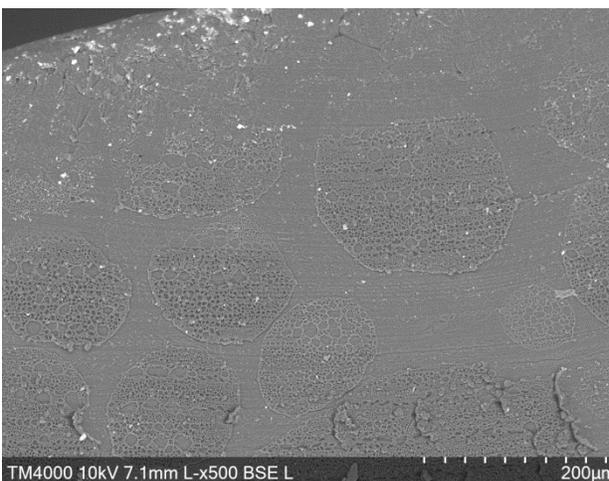
Con este análisis podemos comprobar que se llevó a cabo el injerto, ellos no sólo modifican la superficie del catéter, sino que el injerto fue en masa, tal y cómo lo notamos en los cortes transversales.



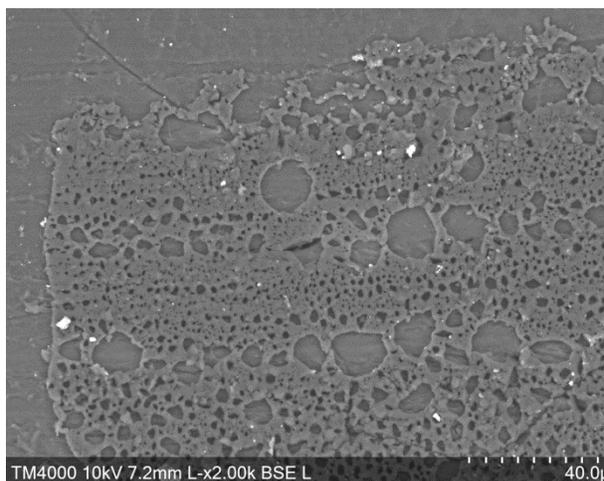
a) SEM PU 200 μm



b) SEM PU-g-NIPAAm 200 μm



c) SEM (PU-g-NIPAAm)-g-Vim 200 μm



d) SEM (PU-g-NIPAAm)-g-Vim 40.0 μm

Figura 60. Micrografías SEM de PU, PU-g-NIPAAm5% y (PU-g-NIPAAm9%)-g-Vim23%.



5.3.4 Análisis térmico

5.3.4.1 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La temperatura de transición vítrea (T_g) se determinó al estudiar el material mediante calorimetría diferencial de barrido; la T_g es el punto medio entre el estado fundido y el estado rígido; es decir, el estado gomoso. PU presentó su T_g a 101.8°C ; por encima de esta temperatura las cadenas poliméricas presentan movilidad adquiriendo un comportamiento flexible, mientras que debajo de esta temperatura el comportamiento es rígido o quebradizo.

Los materiales injertados presentan variaciones mínimas (2°) en su T_g , lo cual nos indica que, a pesar de la modificación, el catéter presenta resistencia térmica. Los resultados presentados son del segundo calentamiento; el análisis se realizó desde la temperatura ambiente hasta a 180°C .

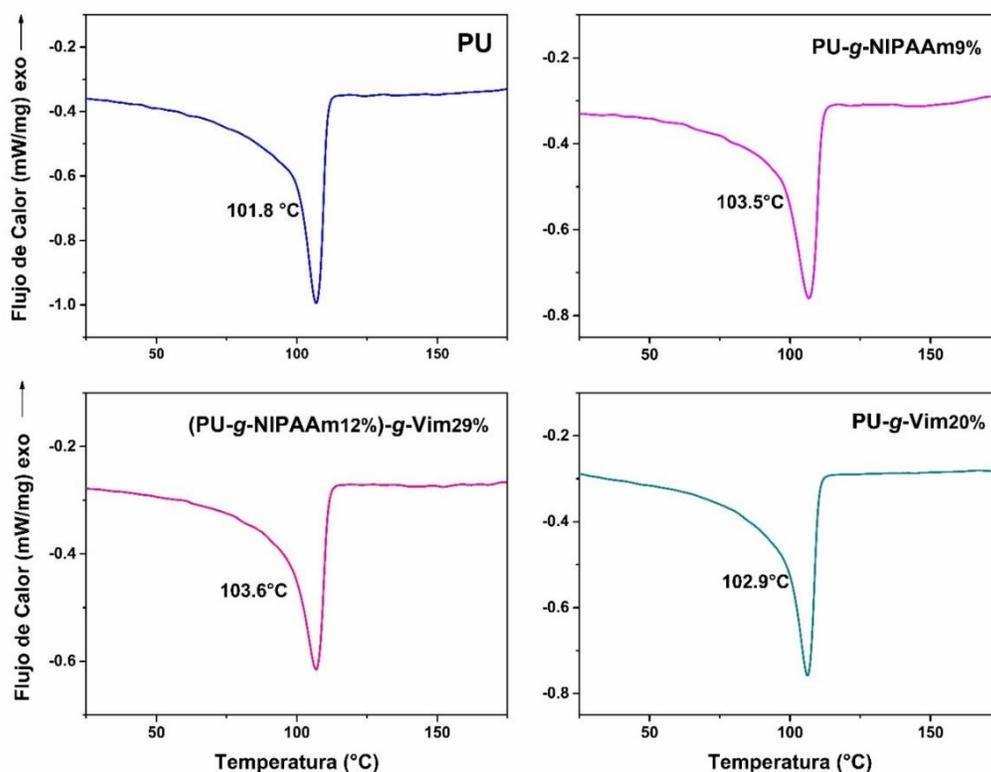


Figura 61. Termograma DSC de las muestras de PU, PU-g-NIPAAm9%, PU-g-Vim20% y (PU-g-NIPAAm12%)-g-Vim29%.



5.3.4.2 Análisis Termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico nos indica la temperatura de descomposición, y la temperatura a la que el material pierde el 10% en peso y el residuo. La temperatura de descomposición del catéter sin modificar fue de 470 °C, el catéter injertado con 1-vinilimidazol no presenta cambios en su temperatura de descomposición; el catéter injertado con NIPAAm presenta dos curvas de descomposición, una a 400 °C y otra a 472 °C. La primera se le atribuye a la descomposición de NIPAAm en el injerto de y la segunda a la descomposición de PU; (PU-g-NIPAAm)-g-Vim sólo presentó una descomposición a 456 °C, este catéter tiene una mayor estabilidad térmica, esto se comprueba al presentar un residuo de 6.7% a 600 °C.

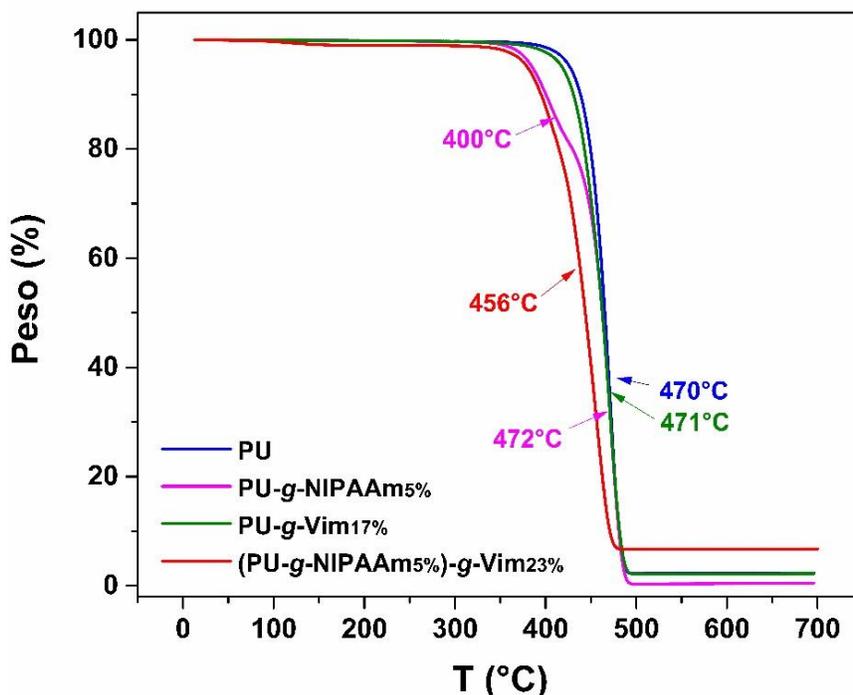


Figura 62. Termograma TGA de las muestras de PU, PU-g-NIPAAm5%, PU-g-Vim17% y (PU-g-NIPAAm5%)-g-Vim23%.



Tabla 1. Resultados análisis TGA de las muestras de PU, PU-*g*-NIPAAm5%, PU-*g*-Vim17% y (PU-*g*-NIPAAm5%)-*g*-Vim23%.

	Temperatura (°C) 10% de pérdida en peso	Peso (%) Residuo a 600°C
PU	438.4	2.3
PU-<i>g</i>-NIPAAm5%	399.7	0.4
PU-<i>g</i>-Vim17%	430.9	2.2
(PU-<i>g</i>-NIPAAm8%)-<i>g</i>-Vim23%	394.9	6.7

5.3.5 Hinchamiento límite

La mejora del carácter hidrofílico de los catéteres es un aspecto importante a tener en cuenta para una mejor interacción polímero-tejido. Teniendo esto como base y sabiendo que el injerto sobre los catéteres debería mejorar la hidrofiliidad de la superficie, se procedió a realizar es estudio fisicoquímico del material modificado.

El primer análisis fue el de hinchamiento límite, en el que se observa que, a mayor injerto, el material presenta una mayor hidrofiliidad, se utilizó una muestra control como referencia (PU sin modificar) donde comprobamos que PU es hidrofóbico. Al injertar cadenas hidrofílicas existe mayor afinidad al agua.

El material que presentó un mayor grado de hinchamiento fue el injerto, (PU-*g*-NIPAAm8%)-*g*-Vim23%, comparado con los materiales de un solo injerto, PU-*g*-NIPAAm4% y PU-*g*-Vim15%; el injerto binario mostró un grado de hinchamiento del 15%, esto se debe al efecto sinérgico de los grupos hidrofílicos de ambas unidades repetitivas; ya que ambos establecen puentes de hidrógeno. El hinchamiento límite se alcanza dentro de las 3 primeras horas en medio acuoso.

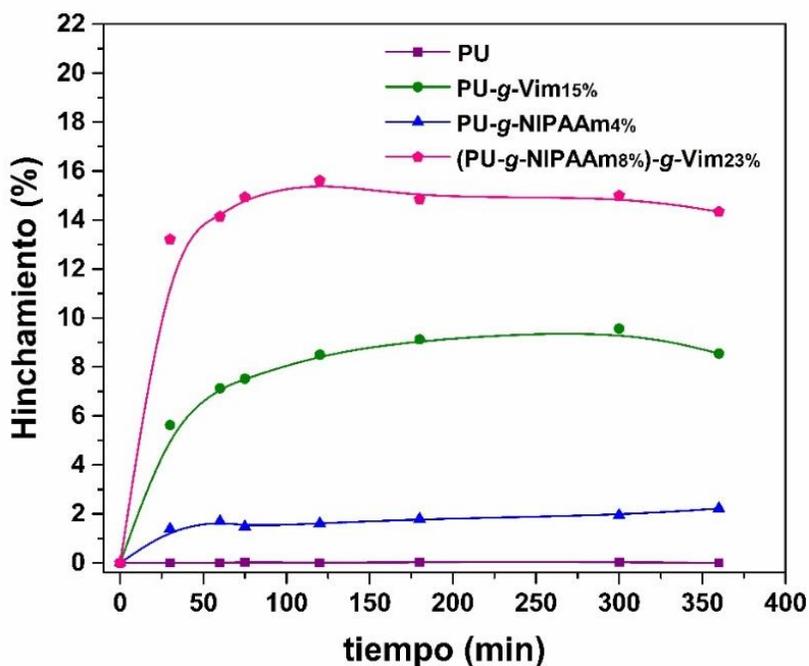


Figura 63. Hinchamiento límite de PU, PU-g-Vim15%, PU-g-NIPAAm4% y (PU-g-NIPAAm8%)-g-Vim23%.

5.3.6 Respuesta a la temperatura (LCST)

Debido a que los polímeros derivados de NIPAAm se les atribuyen la propiedad de termosensibilidad (LCST cerca de 32 °C), se realizó un estudio para determinar la temperatura crítica del catéter injertado.

La temperatura de respuesta es de tipo negativo (LCST), pasando de un estado hidrofílico a uno hidrofóbico; las muestras presentaron una LCST de 28°C, un valor cercano al reportado por Aguilar y colaboradores (2007). Bajo esta temperatura crítica, el grado de hinchamiento es superior al 20%, en temperaturas superiores a la LCST, el grado hinchamiento desciende por debajo del 15%.

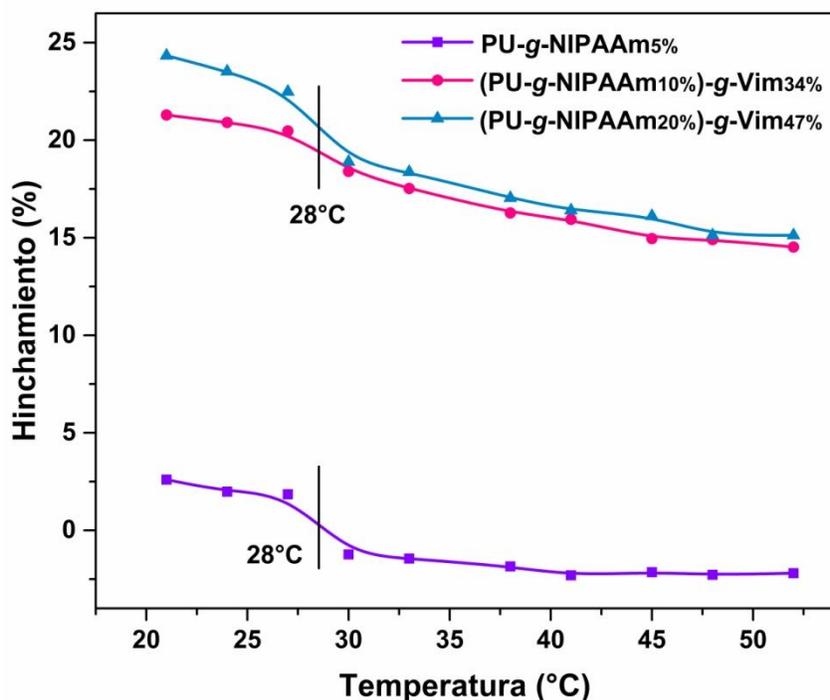


Figura 64. LCST de las muestras de PU-g-NIPAAm5%, (PU-g-NIPAAm10%)-g-Vim34% y (PU-g-NIPAAm20%)-g-Vim47%.

5.3.7 pH Crítico

En la Figura 55 se muestran los perfiles de hinchamiento de los catéteres injertados respecto a las variaciones de pH; se puede observar que los catéteres presentan un pH crítico de 6.9 aproximadamente; dicho valor no se ve afectado con el aumento en el porcentaje de injerto. Se observó que el catéter sin modificar, no presenta ningún cambio al estar en contacto con las disoluciones tampón. Esta propiedad es dada por el injerto de 1-Vinilimidazol, el cual presenta una respuesta a los cambios de pH; es decir, el pH crítico se debe a su presencia en el injerto.

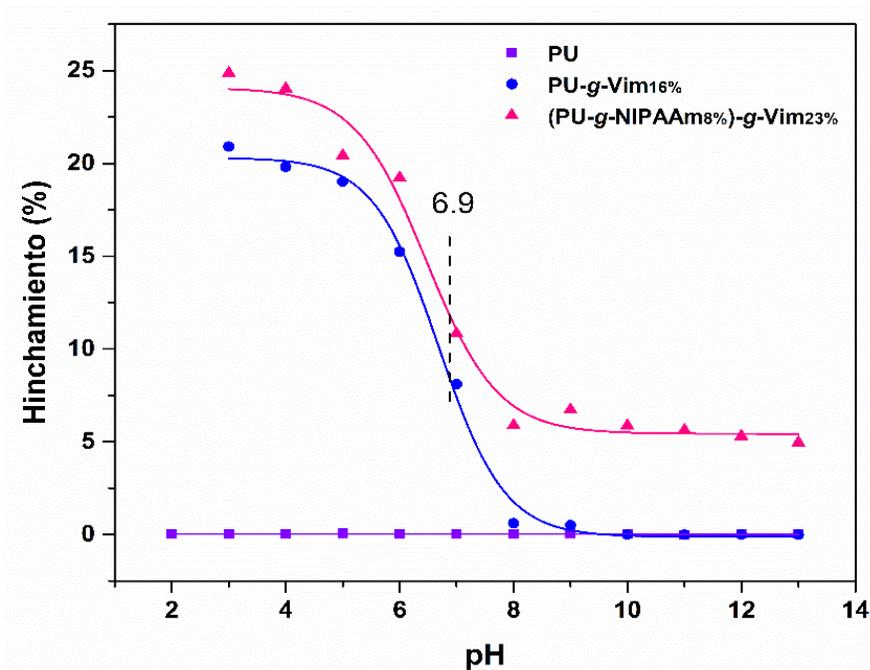


Figura 65. pH crítico de las muestras de PU, PU-g-Vim16% y (PU-g-NIPAAm8%)-g-Vim23%.

5.4 Carga y liberación de fármaco

Se tomaron muestras de PU-g-NIPAAm, (PU-g-NIPAAm)-g-Vim y (PU-g-NIPAAm10%)-g-Vim32% para realizar el estudio de carga y liberación del fármaco, esto con el fin de comparar cual es el más eficiente para esta aplicación.

5.4.1 Elección del fármaco

(PU-g-NIPAAm10%)-g-Vim32% tuvo mejor afinidad al diclofenaco al momento de realizar la carga, esto se observa al ver la disminución en la absorbancia; la absorción ocurre en un tiempo corto (aproximadamente 1 hora). Por esta razón se decidió usar diclofenaco



en vez de ciprofloxacino. Se usaron 3 mL de cada disolución, la concentración de los fármacos fue: ciprofloxacino 0.012 mg/mL y diclofenaco 0.034 mg/mL.

Tabla 2. Elección del fármaco.

Fármaco	Peso de la muestra (g)	Absorbancia			
		0h	1h	2h	3h
Ciprofloxacino	0.1711	1.0403	0.9492	0.9548	0.9542
Diclofenaco	0.1739	1.1155	0.2794	0.2179	0.2046

Posteriormente se probó la carga de vancomicina en los catéteres sintetizados, la absorbancia inicial de vancomicina es de 1.0744 a una concentración de 0.25 mg/mL, se utilizaron 3 mL de disolución de vancomicina (0.75 mg).

Tabla 3 y 4. Carga de vancomicina en catéteres modificados.

Muestra	Peso de la muestra (g)	Absorbancia		
		20h	24h	48h
PU-g-Vim16%	0.0727	0.7870	0.727	0.6551
(PU-g-NIPAAm6%)-g-Vim36%	0.0813	0.5457	0.513	0.4165

Muestra	Vancomicina cargada		
	(mg)	(%)	(mg/g)
PU-g-Vim16%	0.4573	60.8	6.29
(PU-g-NIPAAm6%)-g-Vim36%	0.2907	38.7	5.12



5.4.2 Curva de calibración de diclofenaco

Para poder conocer la concentración de diclofenaco absorbido en los catéteres, resulta necesario realizar una curva de calibración; aplicando una regresión lineal podemos conocer la ecuación asociada.

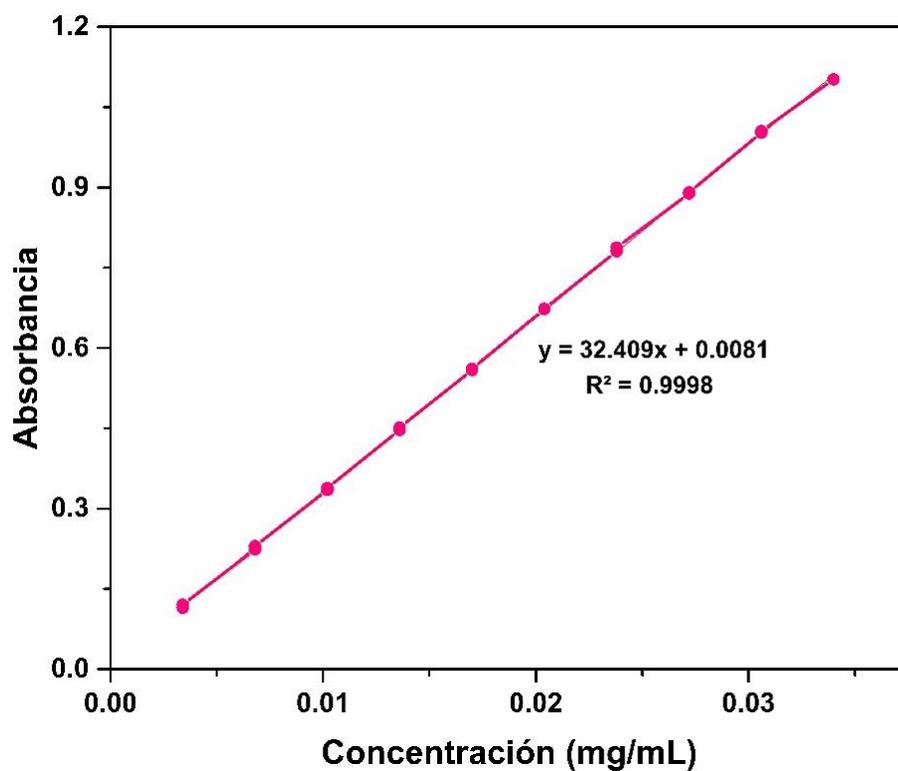


Figura 66. Curva de validación diclofenaco en agua a temperatura ambiente.

Usando la ecuación de la curva de calibración, se puede calcular la cantidad de fármaco absorbido y liberado para cada muestra de la siguiente manera:

$$\text{Absorbancia} = 32.409(\text{Concentración}) + 0.09081$$



$$\text{Concentración} = \frac{\text{Absorbancia} - 0.0081}{32.409}$$

En la Tabla 5 observamos concretamente, los valores de la carga y liberación de las muestras utilizadas; la liberación se monitoreo durante más de 20 horas. La muestra que de PU-g-NIPAAm no mostró capacidad para albergar el fármaco, mientras PU-g-Vim exhibió gran afinidad a él. Durante el proceso de desorción, observamos que esta afinidad es tal que la liberación fue sólo del 3%, es decir, casi no lo liberó. Las muestras de injerto binario mostraron la capacidad de cargar el fármaco y liberarlo progresivamente, con porcentajes superiores al 60% durante un tiempo de aproximado de 10 horas.

Tabla 5. Resultados obtenidos en los procesos de carga y liberación de diclofenaco en los catéteres modificados.

	Carga (mg/g)	Liberación (mg/g)	% de liberación
PU-g-NIPAAm10%	-	-	-
PU-g-Vim10%	0.9272	0.0285	3.07
(PU-g-NIPAAm10%)-g-Vim23%	0.6264	0.3865	61.71
(PU-g-NIPAAm12%)-g-Vim29%	0.5673	0.4173	73.57

5.4.3 Liberación de fármaco

En la Figura 67 observamos la liberación del diclofenaco en mg por g de muestra de catéter. Obviamente, los catéteres de poliuretano sin injertar no adsorbieron el fármaco en cuestión.

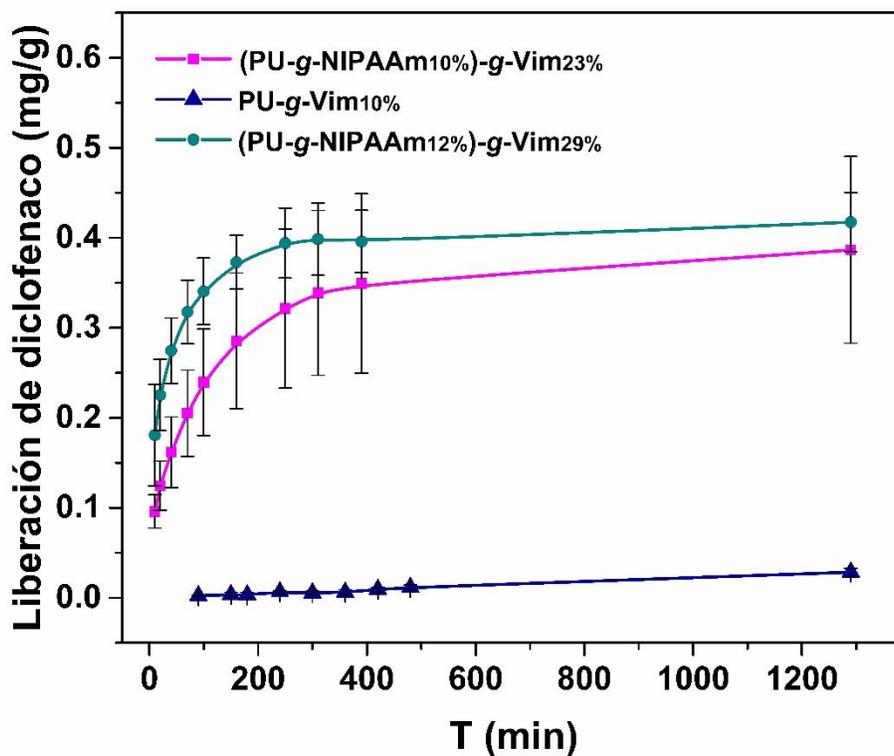


Figura 67. Liberación de diclofenaco a 37 °C, en agitación constante y en solución salina 0.9%.

5.5 Ensayo Antimicrobiano

Se realizó la determinación de la actividad microbiana en suspensión de *E. coli* (*Escherichia coli*) y *MRSA* (*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina) a través de la variación de densidad óptica de 600 nm a 18 horas de incubación con los catéteres sintetizados.

En la Figura 68 podemos observar los resultados de la actividad microbiana, se muestra primero el control donde se observa el 100% de crecimiento bacteriano, el poliuretano presenta el mismo comportamiento al crecimiento de ambas bacterias, la muestra PU-g-N corresponde al catéter modificado injertado con vinilimidazol al 16% (PU-g-Vim16%) y



cargado con vancomicina (6.29 mg/g) presenta una disminución del 35% en el crecimiento bacterial, la muestra (PU-g-N)-g-V corresponde al catéter con un injerto binario (PU-g-NIPAAm6%)-g-Vim36% cargado con vancomicina (5.12 mg/g) el cual presenta una mejor respuesta antimicrobial al disminuir un 60% el crecimiento bacterial.

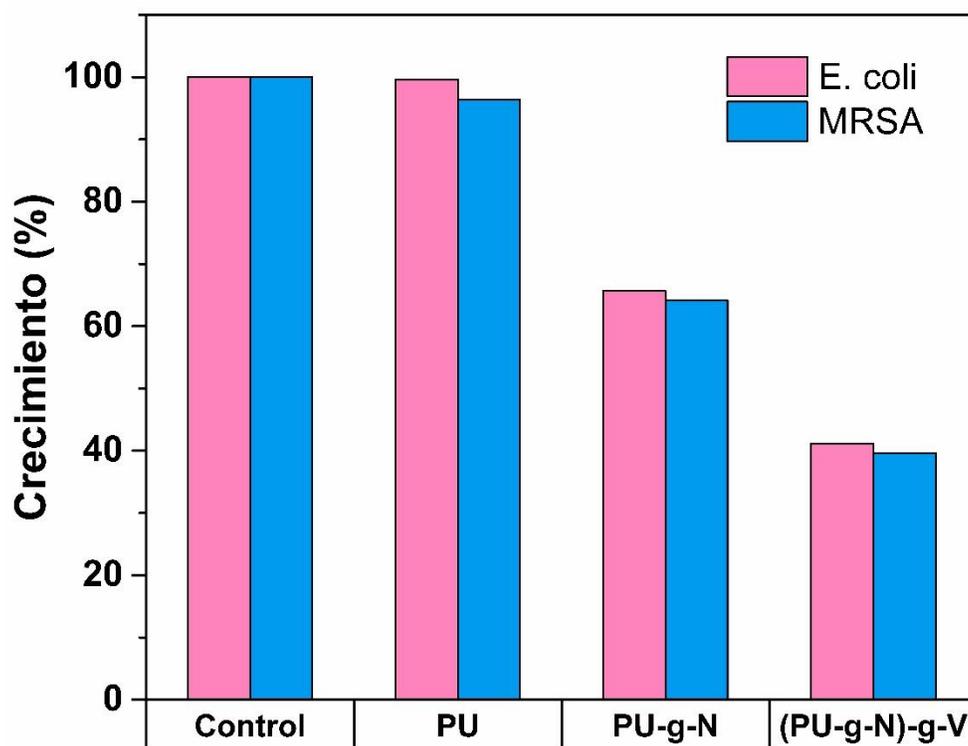


Figura 68. Determinación de la actividad microbiana de *E. coli* (*Escherichia coli*) y MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina) en catéteres sintetizados.



Capítulo VI. Conclusiones

Al término de este trabajo se obtuvieron las siguientes conclusiones:

La hidrofiliidad del catéter de poliuretano se mejoró gracias al injerto de NIPAAm y 1-vinilimidazol.

Las condiciones usadas para llevar el proceso de injerto son:

El primer paso se realizó por el método de preirradiación oxidativa, dosis de 40 kGy, concentración de 1 M de NIPAAm en tolueno, 70 °C de temperatura y un tiempo de reacción de 20 h; este primer injerto contribuye al mejoramiento del injerto de 1-vinilimidazol. El segundo paso es por método directo, concentración de 5 M de 1-vinilimidazol en etanol y dosis de 50 kGy.

Los catéteres modificados adquirieron las propiedades fisicoquímicas de los polímeros injertados como son: pH crítico de 6.9 correspondiente al 1-vinilimidazol y la LCST de 28 °C debido al NIPAAm.

Se logró realizar la carga diclofenaco en los catéteres injertados bajo las siguientes condiciones: temperatura ambiente, a pH 6.4 (agua destilada) y en agitación constante. Mientras que la liberación se llevó a cabo a 37 °C, en solución salina 0.1%, observándose un mejor comportamiento por parte del injerto binario.

Se comprobó que el 1-vinilimidazol es el responsable de la adsorción del fármaco en el catéter, y que el injerto binario es el que presenta un mejor perfil de desorción.



Referencias

- Aguilar, Elvira, Gallardo, Vázquez, and Román. (2007) Smart polymers and their applications as biomaterials. Topics in tissue engineering 3.
- Alejandro Ramírez Jiménez, Carmen Alvarez-Lorenzo, Angel Concheiro, and Emilio Bucio. (2014). Radiation-grafting of DEGMA/OEGMA onto PP and LDPE films for obtaining temperature-responsive and biocompatible surfaces. Radiation Physics and Chemistry 99, pp 53-61.
- Báez, J.E. (2016) El crecimiento en los extremos: reactividad de grupos terminales en polímeros para la síntesis de copolímeros bloque. Educación Química.
- Brenda Vázquez-González, H. Iván Meléndez-Ortiz, Luis Díaz-Gómez, Carmen Álvarez-Lorenzo, Ángel Concheiro, and Emilio Bucio. (2014) Silicone Rubber Modified with Methacrylic Acid to Host Antiseptic Drugs. Macromolecular Materials and Engineering 299, pp 1240-1250.
- Caroline C. Ferraz, Gustavo H.C. Varca, Juan-Carlos Ruiz, Patricia S. Lopes, Mónica B. Mathor, Ademar B. Lugão, Emilio Bucio. (2014) Radiation-grafting of thermo- and pH-responsive poly(N-vinylcaprolactam-co-acrylic acid) onto silicone rubber and polypropylene films for biomedical purposes. Radiation Physics and Chemistry 97, pp 298-303.
- Claudia Ishizawa, Javier Nakamatsu. (2002) Matrices poliméricas para liberación controlada de sustancias activas. Revista de Química, pp 13-23
- C. Desrousseaux, V. Sautou, S. Descamps, O. Traoré. (2013) Modification of the surfaces of medical devices to prevent microbial adhesion and biofilm formation. Journal of Hospital Infection 85, pp 87-93.
- Chanda, Manas. (2006) Introduction to polymer science and chemistry. Florida, United State. Taylor & Francis.



- Chapiro, A. (1962) *Radiation Chemistry of Polymeric Systems*, New York, Interscience..
- Felipe López-Saucedo, Carmen Álvarez-Lorenzo, Ángel Concheiro, Emilio Bucio. (2017) Radiation-grafting of vinyl monomers separately onto polypropylene monofilament sutures. *Radiation Physics and Chemistry* 132, pp.1-7.
- Grenier L., González R. (1994) *Sistemas biomaterial-droga para la liberación controlada de antibióticos*. *Biomédica* 14, pp 30-38.
- Franklin Muñoz-Muñoz, Emilio Bucio, Beatriz Magariños, Ángel Concheiro, Carmen Álvarez-Lorenzo. (2014) Temperature- and pH-Sensitive IPNs Grafted onto Polyurethane by Gamma Radiation for Antimicrobial Drug-Eluting Insertable Devices. *Applied Polymer Science*, pp 39992.
- H. Iván Meléndez-Ortiz, Patricia Díaz, Carmen Álvarez-Lorenzo, Ángel Concheiro, and Emilio Bucio. (2014) Binary graft modification of polypropylene for anti-inflammatory drug-device combo products. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 103, pp 1269-1277.
- Hector Magaña, Kenia Palomino, José Cornejo-Bravo, Carmen Álvarez- Lorenzo, Ángel Concheiro, and Emilio Bucio. (2014) Radiation-grafting of acrylamide onto silicone rubber films for diclofenac delivery. *Radiation Physics and Chemistry* 107, pp 164-170,.
- Hua Wang, Mozhen Wang , Xuewu Ge. (2009) Graft copolymers of polyurethane with various vinyl monomers via radiation-induced miniemulsion polymerization: Influential factors to grafting efficiency and particle morphology. *Radiation Physics and Chemistry* 78, pp. 112–118
- James M Anderson. (2001) *Biological responses to materials*. *Annual Review of Materials Research* 31, pp 81-110.



- López-Saucedo, F., Flores-Rojas, G.G., Magariños, B., Concheiro, A., Álvarez-Lorenzo, C., Bucio, E. (2019). Radiation grafting of poly(methyl methacrylate) and poly(vinylimidazole) onto polytetrafluoroethylene films and silver immobilization for antimicrobial performance. *Applied Surface Science* 473, pp. 951-959.
- Marco A. Luna-Straffon, Angel Contreras-García, Gilles Brackman, Tom Coenye, Angel Concheiro, Carmen Alvarez-Lorenzo, and Emilio Bucio. (2014) Wound debridement and antibiofilm properties of gamma-ray DMAEMA-grafted onto cotton gauzes. *Cellulose* 21, pp 3767-3779.
- Navarrete, Manuel. Cabrera, Luis. (1993) *Introducción al estudio de los radioisótopos*. Distrito Federal, México. Facultad de Química, UNAM.
- Odian, George. (2004), *Principles of polymerization*. Staten Island, New York. John Wiley & Sons.
- Pino-Ramos, V., & Bucio, E. (2018). Synthesis of a thermo- and pH-sensitive comb-type graft copolymer by ionizing radiation. *MRS Communications*, 8(3), pp. 1335-1342.
- Quio Y, Park K (2015). Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Adv Drug Deliver Rev*, 53.
- Rogel-Hernandez E., Licea-Claveríe A., Cornejo-Bravo J.M, Arndt K.F (2003). Preparación de hidrogeles anfífilos sensibles a diferentes valores de pH utilizando monómeros ácidos con espaciadores hidrofóbicos. *Revista de la Sociedad polimérica de México*, 47(3)
- Sabaa, M. W., Mohamed, N. H., Mohamed, R. R., Khalil, N. M., EILatif, S. M. A., (2010). Synthesis, characterization and antimicrobial activity of poly(N-vinylimidazole) grafted carboxy methyl chitosan. *Carbohydr. Polym.* 79,998–1005.



Virginia Sáez, Estibaliz Hernández, Lucio Sanz Angulo. (2004) Mecanismos de liberación de fármacos desde materiales polímeros. *Revista Iberoamericana de Polímeros* 5, pp 55-70.

Xin Ding, Chuan Yang, Tze Peng Lim, Li Yang Hsu, Amanda C. Engler, James L. Hedrick, Yi-Yan Yang. (2012) Antibacterial and antifouling catheter coatings using surface grafted PEG-b-cationic polycarbonate diblock copolymers. *Biomaterials* 33, pp 6593-6603.



Anexo I

Estudio de degradación

Con la inquietud de saber cómo afecta la radiación gamma en la degradación de los catéteres, se decidió realizar una prueba de la degradación de poliuretano a las condiciones de dosis y el disolvente usados para el proceso de síntesis del material.

Tabla 4. Degradación de poliuretano por radiación gamma.

Muestra	Dosis (kGy)	Degradación (%)
PU	40	0.13 ± 0.06
PU	50	0.15 ± 0.07

Tabla 5. Degradación de poliuretano en disolvente por radiación gamma.

Muestra	Dosis (kGy)	Disolvente	Degradación (%)
PU	40	Tolueno	0.3611
PU	50	Etanol	0.4225

El porcentaje de degradación por radiación gamma de poliuretano es mínimo, con la tabla anterior se comprueba que la degradación no es un factor que afecte al estudio de la modificación de catéteres.