



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

**“INJERTO DE GLICIDILMETACRILATO SOBRE POLIETILENO Y POLIPROPILENO
MEDIANTE RADIACIÓN GAMMA E INMOVILIZACIÓN DE β -CICLODEXTRINA
E HIDROXIPROPIL- β -CICLODEXTRINA, PARA LA INCORPORACIÓN
DE DICLOFENACO Y MICONAZOL.”**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. CÉSAR ALEJANDRO BERNABÉ NAVA ORTIZ.



TUTOR: **Dra. S. Guillermina Burillo Amezcua.**

AÑO: 2010



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.

Esta tesis doctoral fue desarrollada en el Laboratorio de Macromoléculas del Departamento de Química de Radiaciones y Radioquímica del Instituto de Ciencias Nucleares de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Los avances de esta tesis doctoral se presentaron en los siguientes congresos internacionales:

“30th Australian Polymer Symposium”

(Melbourne, Australia. 30–Noviembre al 4-Diciembre, 2008).

“IX Congreso de la sociedad española de farmacia industrial y galénica”

(Navarra, España. 1–13 Febrero, 2009).

“2nd PHARM SCI FAIR 2009”

(Nice, Francia. 8–12 Junio, 2009).

“238th ACS National Meeting & Exposition”

(Washington, DC, USA. 16–20 Agosto, 2009).

“QUIMIUNAM 2009”

(Cd. de México, México. 18–20 Noviembre, 2009).

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada durante mis estudios de doctorado en el programa de Ciencias Químicas de la UNAM, así como por el apoyo económico recibido por medio del programa “**Apoyos Integrales para la Formación de Doctores en Ciencias**”. Finalmente, por el otorgamiento de “**Beca Mixta**” para llevar a cabo un estancia de investigación en la “Universidad de Santiago de Compostela” en la ciudad de Santiago de Compostela, España.

A **DGAPA, UNAM** proyecto PAPIIT IN-200208 por el soporte económico otorgado.

A la **Coordinación de Estudios de Posgrado (CEP)** por el apoyo económico otorgado mediante su Programa de Movilidad Internacional de Estudiantes (PROMIE).

A la **Dra. Guillermina Burillo Amezcua** por haberme dado la oportunidad de unirme a su equipo de investigación, por su invaluable dirección, liderazgo y excelencia académica para la realización del presente trabajo de investigación. Además, por el apoyo y la motivación de seguir siempre adelante.

A la **Dra. Carmen Alvarez Lorenzo** y al **Dr. Angel Concheiro** por su incondicional impulso y apoyo recibido durante mi estancia en la Universidad de Santiago de Compostela, así como también, su dirección para la escritura de las publicaciones.

Al **Dr. Emilio Bucio Carrillo**, por su apoyo y disposición plena para ayudarme tanto en los momentos difíciles como compartiendo los momentos de fiesta.

A los **miembros del jurado** por sus aportaciones y observaciones hechas a este trabajo.

Al **M. en C. Benjamín Leal, Fís. Francisco García, Sr. Salvador Ham** del ICN por el apoyo técnico para la realización de esta tesis.

A mis amigos del posgrado: **Iván Meléndez, Yhair Morales, Antonio Bolaños, Karla Ramírez, Sandra Castillejos, Mariana Esquivelzeta, Lilian Olvera, Violeta Álvarez, Paty García e Isabel Domínguez** por todos los momentos buenos y difíciles transcurridos durante este ciclo de mi vida.

Al personal administrativo del Posgrado en Ciencias Químicas por el apoyo recibido a lo largo de estos últimos 6 años: **Josefina Tenopala, Rosy Viñas, Beatriz López, Susana Ramírez y Adriana Martínez**.

A la **UNAM y al ICN** por abrirme sus puertas para llevar a cabo los estudios de posgrado.

ÍNDICE

ÍNDICE	I
ÍNDICE DE FIGURAS	VI
ÍNDICE DE TABLAS	X
SIMBOLOGÍA	XI
RESUMEN	XIII
ABSTRACT	XV
Capítulo 1. INTRODUCCIÓN	1
Capítulo 2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	3
Capítulo 3. GENERALIDADES	5
3.1. Polímeros	5
3.1.1. Polimerización	5
3.1.2. Polimerización por adición	6
3.1.3. Polimerización por condensación	7
3.2. Copolimerización	8
3.2.1. Tipos de copolímeros	9
3.2.1.1. Copolímeros al azar	9
3.2.1.2. Copolímeros alternados	9
3.2.1.3. Copolímeros de distribución con secuencia ordenada	10
3.2.1.4. Copolímeros de bloque	10
3.2.1.5. Copolímeros de injerto	10
3.3. Copolimerización por injerto	11
3.3.1. Técnicas de injerto	11
3.3.1.1. Injerto inducido por métodos químicos	12
3.3.1.2. Injerto por radiación	12
3.3.1.3. Injerto fotoquímico	14
3.3.1.4. Injerto inducido por radiación de plasma	14
3.3.1.5. Injerto enzimático	14

3.3.2. Parámetros que influyen en el grado de injerto	15
3.3.2.1. Naturaleza química de la matriz polimérica	15
3.3.2.2. Efecto de la intensidad de dosis	15
3.3.2.3. Efecto de la dosis de irradiación	15
3.3.2.4. Efecto de la temperatura	15
3.3.2.5. Efecto de la concentración	16
3.3.2.6. Efecto del disolvente	16
3.3.2.7. Efecto del espesor de la matriz polimérica	16
3.4. Interacción de la radiación con materiales poliméricos	16
3.4.1. Efecto fotoeléctrico	17
3.4.2. Efecto Compton	17
3.4.3. Formación de pares	17
3.4.4. Fuentes de radiación	17
3.4.4.1. Cobalto-60 (^{60}Co)	17
3.5. Modificación de superficies poliméricas	18
3.6. Efecto de las moléculas puente en la bioconjugación	20
3.6.1. Reactivos polifuncionales	20
3.6.2. Glicidilmetacrilato (GMA)	21
3.7. Inmovilización de compuestos bioactivos	22
3.7.1. Retención física	24
3.7.2. Retención química	25
3.8. Ciclodextrinas sobre matrices poliméricas	26
3.8.1. Ciclodextrinas naturales	27
3.8.2. Estructura y propiedades físicas	28
3.8.3. Formación de complejos de inclusión	31
3.8.4. Determinación experimental de complejos de inclusión	32
3.8.5. Métodos de preparación de complejos de inclusión	34
3.9. Propiedades fisicoquímicas de los fármacos y sistemas de liberación	36
3.9.1. Liberación de fármacos desde polímeros (biomateriales)	37
3.9.2. Biocompatibilidad	39
3.9.3. Formación de biopelículas en productos sanitarios	40
3.9.4. Ciclodextrinas en la liberación de fármacos	42

3.9.4.1. Hidrosolubilidad de fármacos	43
3.9.4.2. Estabilidad química y física de fármacos	43
3.9.4.3. Mejora de la biodisponibilidad	44
3.9.4.4. Propiedades químicas del diclofenaco	44
3.9.4.5. Propiedades químicas del miconazol	46
3.9.4.6. Complejos fármaco/ciclodextrina	47
3.9.4.7. Interacción miconazol/ciclodextrinas	48
3.9.4.8. Interacción diclofenaco/ciclodextrinas	49
3.10. Métodos de caracterización	51
3.10.1. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	51
3.10.2. Microscopía electrónica de barrido (SEM)	53
3.10.3. Espectroscopia de infrarrojo (FTIR)	54
3.10.3.1. Reflectancia total atenuada (ATR)	55
Capítulo 4. PARTE EXPERIMENTAL	56
4.1. Síntesis de los copolímeros PE-g-GMA y PP-g-GMA	56
4.2. Inmovilización química de ciclodextrinas	58
4.3 Caracterización de los copolímeros de injerto y su modificación con ciclodextrinas	59
4.3.1. Rendimiento del injerto	59
4.3.2. Determinación del hinchamiento límite en DMF	59
4.3.3. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	60
4.3.4. Espectroscopia de infrarrojo (FTIR – ATR)	60
4.3.5. Microscopía electrónica de barrido (SEM)	61
4.3.6. Cantidad de ciclodextrina inmovilizada	61
4.3.7. Inclusión de ácido 3-metilbenzoico	61
4.4. Estudios de carga de 3-MBA, diclofenaco y miconazol, y liberación de diclofenaco desde los soportes poliméricos	62
4.4.1. Calibración de 3-MBA, diclofenaco y miconazol	62
4.4.2. Carga de diclofenaco y miconazol	63
4.4.3. Liberación de diclofenaco de sodio	63

4.5. Pruebas adicionales	64
4.5.1. Caracterización del LDPE (espesor = 100 μm)	64
4.5.2. Determinación de las propiedades fisicoquímicas del PE y PP	66
4.5.3. Solubilidad del nitrato de miconazol en βCD e $\text{HP}\beta\text{CD}$	66
Capítulo 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	67
5.1. Polimerización de GMA sobre PE y PP	67
5.1.1. Mecanismo de copolimerización de injerto de GMA sobre PE y PP	67
5.2. Injerto de GMA sobre PE	71
5.2.1. Temperatura y tiempo de reacción	71
5.2.2. Concentración de GMA	72
5.2.3. Dosis de irradiación	73
5.3 Injerto de GMA sobre PP	74
5.3.1. Tiempo de reacción	75
5.3.2. Concentración de GMA	76
5.3.3. Dosis de irradiación	77
5.4 Injerto de GMA sobre PE y PP	78
5.5 Inmovilización de βCD e $\text{HP}\beta\text{CD}$ sobre PE-g-GMA y PP-g-GMA	80
5.6. Caracterización de los copolímeros de injerto PE-g-GMA y PP-g-GMA y su modificación con ciclodextrinas	82
5.6.1. Hinchamiento límite en dimetilformamida (DMF)	83
5.6.2. Espectroscopia de infrarrojo (FTIR-ATR)	85
5.6.3. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	86
5.6.4. Microscopía electrónica de barrido (SEM)	90
5.6.5. Densidad del LDPE (100 μm) por flotación	93
5.7. Rectas de calibración y pruebas de solubilidad	94
5.7.1. Preparación de las curvas de calibración: diclofenaco de sodio, nitrato de miconazol y ácido 3-metilbenzoico	94
5.7.2. Solubilidad del nitrato de miconazol	95

5.8. Carga de ácido 3-metilbenzoico (3-MBA)	98
5.9. Carga de diclofenaco de sodio	103
5.10. Carga de nitrato de miconazol	108
5.11. Liberación de diclofenaco de sodio	112
Capítulo 6. CONCLUSIONES	118
6.1. Conclusión general	118
6.2. Conclusiones particulares	118
6.3. Perspectivas del trabajo de investigación	121
REFERENCIAS	122
APÉNDICE (PUBLICACIONES)	128

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPITULO 3. GENERALIDADES

Figura 1. <i>Representación de un copolímero al azar</i>	9
Figura 2. <i>Representación de un copolímero alternado</i>	9
Figura 3. <i>Representación de un copolímero de distribución con secuencia ordenada</i>	10
Figura 4. <i>Representación de un copolímero de bloque</i>	10
Figura 5. <i>Representación de un copolímero de injerto</i>	10
Figura 6. <i>Métodos para la modificación de polímeros</i>	11
Figura 7. <i>Mecanismo de polimerización de injerto por radiación en presencia de aire</i>	14
Figura 8. <i>Esquema general para la biomodificación de superficies</i>	18
Figura 9. <i>Métodos para la inmovilización de biomoléculas</i>	19
Figura 10. <i>Efecto de las moléculas puente sobre la bioactividad</i>	20
Figura 11. <i>Mejora de las propiedades químicas de la matriz polimérica, mediante la inmovilización de biomoléculas</i>	23
Figura 12. <i>Técnicas de inmovilización mediante la retención física</i>	25
Figura 13. <i>Métodos de inmovilización mediante unión química</i>	26
Figura 14. <i>Estructura cíclica de las ciclodextrinas</i>	28
Figura 15. <i>Ubicación de los diferentes grupos funcionales en la molécula de β-ciclodextrina</i>	29
Figura 16. <i>Formación de un complejo de inclusión</i>	31
Figura 17. <i>Clasificación de los complejos de inclusión propuesta por Higuchi y Connors</i>	33
Figura 18. <i>Complejo de inclusión ciclodextrina/fármaco con estequiometría 1:1</i>	34
Figura 19. <i>Representación de un producto sanitario diseñado para la liberación de fármacos</i>	38
Figura 20. <i>Contaminación microbiana de un producto sanitario cuando se introduce al organismo</i>	40
Figura 21. <i>Representación esquemática para la formación de una biopelícula sobre un producto sanitario</i>	41
Figura 22. <i>Representación de un producto sanitario que impide el crecimiento y desarrollo de una biopelícula</i>	42

Figura 23. <i>Estructura química del diclofenaco</i>	45
Figura 24. <i>Estructura química del miconazol</i>	46
Figura 25. <i>Representación del funcionamiento de un equipo de DSC</i>	51
Figura 26. <i>Representación completa de un termograma de DSC</i>	52
Figura 27. <i>Partes elementales de un microscopio electrónico de barrido</i>	53
Figura 28. <i>Reflexión total interna y elemento de reflexión interna (IRE) utilizado en el sistema ATR</i>	55

CAPITULO 4. PARTE EXPERIMENTAL

Figura 29. <i>Procedimiento experimental del método de preirradiación oxidativa</i>	56
Figura 30. <i>Fuente de ⁶⁰Co Gamma Beam (651 PT, Nordion International)</i>	57
Figura 31a. <i>Densidad de la solución mayor que la densidad del LDPE</i>	64
Figura 31b. <i>Punto de equilibrio entre la densidad de la solución y la densidad del LDPE</i>	65

CAPITULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Figura 32. <i>Mecanismo para la formación de peróxidos sobre PE y PP</i>	68
Figura 33. <i>Mecanismo de iniciación de la polimerización de GMA sobre PE y PP</i>	69
Figura 34. <i>Mecanismo de propagación de la polimerización de GMA sobre PE y PP</i>	69
Figura 35. <i>Primera forma de terminación para la polimerización de GMA sobre PE y PP</i>	70
Figura 36. <i>Segunda forma de terminación para la polimerización de GMA sobre PE y PP</i>	70
Figura 37. <i>Evolución del porcentaje de injerto de GMA sobre PE con respecto al tiempo de reacción a diferentes temperaturas</i>	72
Figura 38. <i>Evolución del porcentaje de injerto de GMA sobre PE con respecto a la concentración de monómero</i>	73
Figura 39. <i>Evolución del porcentaje de injerto de GMA sobre PE con respecto a la dosis de irradiación</i>	74
Figura 40. <i>Evolución del porcentaje de injerto de GMA sobre PP con respecto al tiempo de reacción a temperatura de 60 °C</i>	75
Figura 41. <i>Evolución del porcentaje de injerto de GMA sobre PP con respecto a la concentración de monómero</i>	76

Figura 42. Evolución del porcentaje de injerto de GMA sobre PP con respecto a la dosis de irradiación	77
Figura 43. Representación esquemática de la síntesis de los copolímeros de injerto y su posterior modificación con β -ciclodextrina	79
Figura 44. Injerto de GMA en PE y PP	79
Figura 45. Ruta sintética empleada para el injerto de GMA y la posterior inmovilización de β CD sobre los copolímeros de injerto PE-g-GMA y PP-g-GMA	81
Figura 46. Inmovilización de β CD e HP β CD	82
Figura 47. Determinación del hinchamiento límite en DMF en función del tiempo para PE-g-GMA	83
Figura 48. Determinación del hinchamiento límite en DMF en función del tiempo para PP-g-GMA	84
Figura 49. Espectros FTIR-ATR de PE, PE-g-GMA y su modificación con β CD e HP β CD	85
Figura 50. Espectros FTIR-ATR de PP, PP-g-GMA y su modificación con β CD e HP β CD	86
Figura 51. Termogramas DSC correspondientes al PE sin modificar, al copolímero de injerto PE-g-GMA y su análogo modificado con β CD (PE-g-GMA- β CD)	87
Figura 52. Termogramas DSC correspondientes al PP sin modificar, al copolímero de injerto PP-g-GMA y su análogo modificado con β CD (PP-g-GMA- β CD)	89
Figura 53. Micrografías de SEM correspondientes al PE sin modificar, al copolímero PE-g-GMA y su análogo modificado con β CD e HP β CD	91
Figura 54. Micrografías de SEM correspondientes al PP sin modificar, al copolímero PP-g-GMA y su análogo modificado con β CD e HP β CD	92
Figura 55. Curvas de calibración para diclofenaco de sodio, nitrato de miconazol y ácido 3-metilbenzoico	95
Figura 56. Diagrama de solubilidad de tipo A_L para la interacción entre el nitrato de miconazol y β CD	96
Figura 57. Diagrama de solubilidad de tipo A_L para la interacción entre el nitrato de miconazol y HP β CD	97
Figura 58. Cantidades cargadas de 3-MBA por la β CD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PP-g-GMA	99

Figura 59. <i>Cantidades cargadas de 3-MBA por la HPβCD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PP-g-GMA</i>	100
Figura 60. <i>Cantidades cargadas de 3-MBA por la βCD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PE-g-GMA</i>	101
Figura 61. <i>Cantidades cargadas de 3-MBA por la HPβCD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PE-g-GMA</i>	102
Figura 62. <i>Cantidades cargadas de diclofenaco de sodio por la βCD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PP-g-GMA</i>	104
Figura 63. <i>Cantidades cargadas de diclofenaco de sodio por la HPβCD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PP-g-GMA</i>	105
Figura 64. <i>Cantidades cargadas de diclofenaco de sodio por la βCD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PE-g-GMA</i>	106
Figura 65. <i>Cantidades cargadas de diclofenaco de sodio por la HPβCD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PE-g-GMA</i>	107
Figura 66. <i>Cantidades cargadas de nitrato de miconazol por la βCD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PP(Imm)-g-GMA</i>	109
Figura 67. <i>Cantidades cargadas de nitrato de miconazol por la HPβCD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PP(Imm)-g-GMA</i>	110
Figura 68. <i>Cantidades cargadas de nitrato de miconazol por la βCD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PE(Imm)-g-GMA</i>	111
Figura 69. <i>Cantidades cargadas de nitrato de miconazol por la HPβCD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PE(Imm)-g-GMA</i>	111
Figura 70. <i>Perfil de liberación de diclofenaco desde el copolímero de injerto PP-g-GMA-βCD, a temperatura ambiente y en amortiguador de fosfato a pH = 7.4</i>	113
Figura 71. <i>Perfil de liberación de diclofenaco desde el copolímero de injerto PE-g-GMA-βCD, a temperatura ambiente y en amortiguador de fosfato a pH = 7.4</i>	113
Figura 72. <i>Perfil de liberación de diclofenaco desde el copolímero de injerto PP-g-GMA-HPβCD, a temperatura ambiente y en amortiguador de fosfato a pH = 7.4</i>	114
Figura 73. <i>Perfil de liberación de diclofenaco desde el copolímero de injerto PE-g-GMA-HPβCD, a temperatura ambiente y en amortiguador de fosfato a pH = 7.4</i>	114

ÍNDICE DE TABLAS

CAPITULO 3. GENERALIDADES

Tabla 1. Propiedades físicas de las ciclodextrinas	30
Tabla 2. División del espectro de infrarrojo (IR)	54

CAPITULO 4. PARTE EXPERIMENTAL

Tabla 3. Concentraciones para la elaboración de las curvas de calibración	63
Tabla 4. Componentes para la preparación de la solución amortiguadora con pH = 7.4	64

CAPITULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 5. Propiedades térmicas de PE, PE-g-GMA y PE-g-GMA- β CD	87
Tabla 6. Propiedades térmicas de PP, PP-g-GMA y PP-g-GMA- β CD	89
Tabla 7. Densidad del LDPE sin modificar	93
Tabla 8. Cantidades cargadas de 3-MBA sobre PP-g-GMA modificado con β CD e HP β CD	98
Tabla 9. Cantidades cargadas de 3-MBA sobre PE-g-GMA modificado con β CD e HP β CD	99
Tabla 10. Cantidades cargadas de diclofenaco de sodio sobre PP-g-GMA modificado con β CD e HP β CD	103
Tabla 11. Cantidades cargadas de diclofenaco de sodio sobre PE-g-GMA modificado con β CD e HP β CD	104
Tabla 12. Cantidades cargadas de nitrato de miconazol sobre PP-g-GMA modificado con β CD e HP β CD	108
Tabla 13. Cantidades cargadas de nitrato de miconazol sobre PE-g-GMA modificado con β CD e HP β CD	109

SIMBOLOGÍA

ADN	Ácido desoxirribonucleico.
AINES	Antiinflamatorios no esteroídicos.
ATR	Reflectancia total atenuada.
a.u.	Unidades arbitrarias.
β CD	β -Ciclodextrina.
CGTasa	Ciclodextrin glucosiltransferasa.
cm ²	Centímetros cuadrados.
CMI	Concentración mínima inhibitoria.
Cp	Capacidad calorífica.
COX	Ciclooxigenasa.
Cremophor®	Polioxil 35 castor oil.
DEET	N, N-dietil- <i>m</i> -toluamida
DSC	Calorimetría diferencial de barrido.
δ	Densidad.
Δ G	Energía libre de Gibbs.
Δ H	Cambio de entalpía.
DMF	Dimetilformamida.
Δ S	Cambio de entropía.
EDC	1-etil-3-(3-dimetil aminopropil) carbodimida.
eV	Electrón volt.
FTIR	Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier.
γ	Radiación gamma.
GMA	Glicidilmetacrilato.
h	Horas.
HDPE	Polietileno de alta densidad.
HP β CD	Hidroxiopropil- β -ciclodextrina.
IRE	Elemento de reflexión interna.
λ	Longitud de onda.

LDPE	Polietileno de baja densidad.
3-MBA	Ácido 3-metilbenzoico.
MeOH	Metanol.
MIC	Concentración mínima inhibitoria.
μm	Micras.
μmoles	Micromoles.
mm	Milímetros.
mM	Concentración milimolar.
nm	Nanómetros.
PC	Policarbonato.
PE	Polietileno.
PE-g-GMA	Injerto de glicidilmetacrilato sobre polietileno.
PEG	Polietilenglicol.
PET	Polietilentereftalato.
PP	Polipropileno.
PP-g-GMA	Injerto de glicidilmetacrilato sobre polipropileno.
RMN	Resonancia magnética nuclear.
SBE7- β -CD	Sulfobutiléter 7- β -ciclodextrina
SB4-CD	Sulfobutiléter- β -ciclodextrina.
SEM	Microscopia electrónica de barrido.
T_m	Temperatura de fusión.
UV-vis	Espectroscopia de ultravioleta visible.
X_c	Grado de cristalinidad.

RESUMEN

En la actualidad, la inserción temporal o permanente de productos sanitarios se ha convertido en una parte esencial del cuidado médico, jugando un papel muy importante en los procedimientos tanto de diagnóstico como terapéuticos, así como en el manejo de pacientes críticamente enfermos. Sin embargo, el uso de dispositivos biomédicos lleva asociado un riesgo importante de inflamación y/o infección. La adherencia bacteriana y la adsorción de proteínas sobre los productos sanitarios, son el primer paso en el desarrollo de dichas complicaciones. Una vez que las bacterias se adhieren a un producto sanitario formando colonias microbianas, se inicia un proceso de múltiples pasos, los cuales conducen a la formación de una comunidad compleja conocido como biopelícula.

La prevención de la adherencia bacteriana sobre las superficies, tiene un impacto importante en la incidencia de las infecciones relacionadas con dispositivos biomédicos. Una estrategia eficaz para reducir la adhesión bacteriana, es modificar las propiedades superficiales de los dispositivos biomédicos e incorporar a éstos, agentes antimicrobianos que se liberen directamente en el área de la infección, sin llegar a niveles sistémicos en el cuerpo. El polietileno (PE) y el polipropileno (PP) son polímeros químicamente inertes con propiedades mecánicas muy versátiles, lo que los hace materiales útiles para la producción de una amplia gama de dispositivos biomédicos (por ejemplo, catéteres, mallas y suturas para hernias) y se han llevado a cabo distintos estudios para reducir el riesgo de infecciones asociadas a su uso.

El objetivo de este trabajo es diseñar novedosos soportes de PE y PP modificados con ciclodextrinas, para dotarlos de capacidad para incorporar y liberar de manera controlada diclofenaco y miconazol. El diclofenaco es un fármaco anti-inflamatorio no esteroideo (NSAID) capaz de prevenir la adherencia microbiana sobre la superficie; el miconazol (1-[2-(2,4-dicloro-benziloxi)-2-(3,4-dicloro-fenil)-etil]-1H-imidazol) es un fármaco anti-fúngico que previene el desarrollo de dermatofitos y *Candida albicans*. La superficie del PE y PP fue modificada con β -ciclodextrina (β CD) e hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD), con el propósito de dotarla de capacidad para formar complejos de inclusión. La modificación se llevó a cabo siguiendo un procedimiento de dos pasos: el primer de ellos consistió en la irradiación de películas de PE y PP para generar grupos peróxido e hidroperóxido sobre la superficie. Posteriormente, se realizó la copolimerización por injerto del glicidilmetacrilato (GMA) iniciada por la degradación térmica de

los grupos peróxido. El segundo paso radicó, en la reacción de los grupos epoxi del GMA con los grupos hidroxilos de las ciclodextrinas, formando con ello enlaces éteres. Finalmente, se cuantificó la capacidad de incorporar diclofenaco y miconazol sobre los soportes, así como también, la eficacia de liberación de estos fármacos.

ABSTRACT

Temporal or permanent insertion of medical devices has become an essential part of modern medical care, playing an important role in common diagnostic and therapeutic procedure and in the management of critically ill patients. However, the use of medical devices is associated with substantial risk of development inflammation and/or infection. Bacterial adhesion and protein absorption to medical devices are the first step in the development of such complications. Once bacteria attach to a medical device, a multistep process starts leading to the formation of a complex, adhering microbial community that is termed a biofilm.

Avoidance of bacterial adhesion on the surfaces has a major impact in preventing medical devices related infections. An effective approach to reduce bacterial adhesion is to modify the surface properties of the medical devices and/or to load them with antimicrobial agents that are directly released at the infection area without reaching systemic levels in the body. Polyethylene (PE) and polypropylene (PP) are chemically inert polymers with highly versatile mechanical properties, which make them versatile materials useful for the production of a range of medical devices (e.g. catheters, hernia meshes and sutures) and various approaches have been tested to reduce the risk of infections associated with their use.

The aim of this work was the design of novel cyclodextrin-functionalized polyethylene (PE) and polypropylene (PP) for providing them with the capability to load and control the delivery of diclofenac and miconazole. Diclofenac is a non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) that can also prevent bacterial adsorption on polymer surface, and miconazole (1-[2-(2,4-dichloro-benzyloxy)-2-(3,4-dichloro-phenyl)-ethyl]-1H-imidazole), is anti-fungal drug that can prevent dermatophytes and *C. albicans*. PE and PP were surface functionalized with β -cyclodextrin (β CD) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP β CD) with the aim of providing PE and PP with the capability of forming inclusion complex. Functionalization was carried out according to a two-step procedure: the first step consisted of irradiating the PE and PP films in order to create peroxide and hydroperoxide groups on the surface. This was followed by an immediate graft polymerization of the glycidyl methacrylate monomer (GMA) initiated by the thermal degradation of the peroxide and hydroperoxide radicals. The second step involved the reaction of the epoxy groups of GMA with the hydroxyl groups of CDs forming ether bonds. Finally, we quantified the diclofenac and miconazol loading capability, as well as, the efficacy of release of these drugs.

CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN.

1.1. INTRODUCCIÓN.

La modificación química realizada vía copolimerización por injerto inducida por radiación, es una de las técnicas ampliamente utilizada para la modificación superficial de matrices poliméricas, permitiendo con ello la obtención de nuevos materiales, con novedosas y específicas características para su posterior aplicación en diferentes campos de la ciencia.

El polietileno (PE) y polipropileno (PP), son polímeros utilizados en distintas investigaciones, debido a sus excelentes propiedades tanto químicas como mecánicas. Un ejemplo de ello, es su aplicación dentro del campo de la biofarmacia, ya que han sido empleados para la fabricación de nuevos productos sanitarios, como son los catéteres, stents, vasos sanguíneos artificiales y otros materiales.

Con frecuencia, los implantes de catéteres o stents resultan contaminados por microorganismos en el momento de su inserción o por la propia etiopatología del proceso. La posibilidad de que los microorganismos se adsorban sobre las paredes del dispositivo y formen biopelículas, resulta muy difícil de evitar por los procedimientos terapéuticos convencionales. Por todo ello, el desarrollo de procedimientos capaces de dotar a materiales biocompatibles de aptitud para cargar y ceder de forma controlada, agentes antimicrobianos y otros fármacos, despierta un interés creciente. Los polímeros de injerto sintetizados, utilizando como sustratos materiales que, como el PE y el PP, son de uso habitual en la fabricación de tales productos sanitarios, encierran un gran potencial en este campo.

La incorporación de fármacos a los sistemas poliméricos se puede producir por diferentes mecanismos, como la simple imbibición del fármaco en la fase acuosa del entramado polimérico o el establecimiento de interacciones de carácter débil, como puentes de hidrógeno o interacciones hidrofóbicas. Para los fármacos que presentan un marcado carácter hidrofóbico, la incorporación de unidades de ciclodextrina al entramado puede ofrecer interesantes aplicaciones.

Las ciclodextrinas son oligómeros cíclicos formados de 6 a 9 unidades de glucopiranosas, que dan lugar a estructuras de forma toroidal que presentan un interior hidrofóbico y una superficie externa hidrofílica. Los fármacos pueden formar complejos de inclusión con las ciclodextrinas alojándose de forma completa o parcial en su cavidad. La afinidad del fármaco por la ciclodextrina viene determinada por la relación de tamaños cavidad-fármaco y por su capacidad de interacción, pudiéndose formar complejos anfitrión-huésped con distintas relaciones molares de cada uno de ellos.

En el presente trabajo, se realizó la preparación de los copolímeros de injerto PE-g-GMA y PP-g-GMA, empleando para ello radiación gamma y el método de preirradiación oxidativa, donde se determinó el efecto de diferentes parámetros de reacción, tales como la dosis y la intensidad de dosis, la concentración de monómero, la temperatura, el tiempo de reacción, así como también, el espesor de la matriz polimérica (PE = 100 μ m y 1mm; PP = 50 μ m y 1mm).

Por otro lado, con la finalidad de mejorar las propiedades de dichos copolímeros, se llevó a cabo la inmovilización de β -ciclodextrina (β CD) e hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD), las cuales poseen características específicas para la formación de complejos de inclusión, propiedad que ha sido empleada en diferentes campos de investigación, y en particular, dentro del campo de la biofarmacia. Esta propiedad de formación de complejos de inclusión (huésped-anfitrión) es de suma importancia, ya que se mejoran las propiedades químicas de las moléculas huésped, tal es el caso de la solubilidad de fármacos hidrofóbicos. Con respecto a los copolímeros sintetizados, la inmovilización de dichas ciclodextrinas dotó a éstos de prestaciones mejoradas, empleadas para la carga y liberación de diclofenaco y miconazol.

De esta manera se logró sintetizar los copolímeros de injerto PE-g-GMA y PP-g-GMA modificados con ciclodextrinas, los cuales son novedosos materiales y posibles candidatos para la fabricación y diseño de productos sanitarios, con la capacidad de actuar como dispositivos de liberación controlada de fármacos.

CAPITULO 2. HIPOTESIS Y OBJETIVOS.

2.1. HIPÓTESIS.

El injerto de glicidilmetacrilato (GMA) sobre matrices poliméricas de polietileno (PE) y polipropileno (PP), así como también, la inmovilización de β -ciclodextrina (β CD) e hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD) sobre éstas, resultará en un sistema capaz de incorporar diclofenaco y miconazol.

2.2. OBJETIVO GENERAL.

El objetivo general del presente trabajo es la preparación de los copolímeros de injerto PE-g-GMA y PP-g-GMA, mediante radiación ionizante, para permitir la inmovilización de β -ciclodextrina e hidroxipropil- β -ciclodextrina, y a su vez, llevar a cabo los ensayos de incorporación de diclofenaco y miconazol sobre éstos.

2.2.1. OBJETIVOS PARTICULARES.

Entre los objetivos particulares de este trabajo de investigación, se encuentran los citados a continuación:

1. Síntesis de los copolímeros de injerto PE-g-GMA y PP-g-GMA, determinando para ello las condiciones óptimas de copolimerización, mediante el estudio de los siguientes parámetros de reacción:
 - ✓ Dosis de preirradiación.
 - ✓ Concentración de monómero.
 - ✓ Temperatura.
 - ✓ Tiempo de reacción.
 - ✓ Espesor de la lámina polimérica (PE o PP).

2. Inmovilización de β -ciclodextrina e hidroxipropil- β -ciclodextrina sobre los copolímeros de injerto sintetizados, así como también, su evaluación gravimétrica.
3. Caracterización del material polimérico sintetizado y modificado con las ciclodextrinas, en su estructura química (FTIR con ATR), análisis térmico (DSC) y morfología (SEM).
4. Cuantificación del complejo de inclusión ácido 3-metilbenzoico/ciclodextrina (β CD y HP β CD) en el material polimérico modificado, empleando para ello espectroscopia UV-vis.
5. Determinación de la complejación miconazol/ciclodextrina (β CD y HP β CD), mediante pruebas de solubilidad.
6. Cuantificación de la carga de diclofenaco y miconazol sobre los soportes poliméricos modificados con ciclodextrinas, mediante espectroscopia UV-vis.
7. Evaluación de la cinética de liberación de diclofenaco desde los soportes modificados.

CAPITULO 3. GENERALIDADES.

3.1. POLÍMEROS.

Los polímeros son compuestos químicos de alto peso molecular, formados mediante la unión covalente de un gran número de moléculas pequeñas, llamadas monómeros, formando con ello cadenas moleculares con propiedades químicas y físicas específicas. Por otro lado, los monómeros son el grupo de átomos que representan la unidad química repetitiva más pequeña que existe en un polímero.

En la actualidad, hay diferentes formas de clasificar a los polímeros, entre ellas se encuentran las siguientes:

Tipo de polimerización. Dentro de esta clasificación, se considera el método por el cual se logró sintetizar el polímero, y para ello se emplean tanto las reacciones de condensación como las de adición.

Tipo de constitución. Aquí se considera a los monómeros que forman al polímero. Para ello se emplea el término de **homopolímero**, y se refiere aquellos que están formados por una sola unidad repetitiva de monómero, o **heteropolímero**, para aquellos con diferentes unidades de monómeros presentes en la cadena polimérica.

Propiedades Físicas. Desde el punto de vista físico, se puede hablar de tres tipos de polímeros, los elastómeros, los termoplásticos y los termoestables. Los dos primeros están constituidos por moléculas que forman cadenas largas con poco entrecruzamiento entre ellas, y por lo regular, cuando se someten a calentamiento se ablandan sin descomposición y pueden ser moldeados. Sin embargo, los termoestables se preparan generalmente a partir de sustancias semifluidas de peso molecular relativamente bajo, las cuales alcanzan un alto grado de entrecruzamiento molecular formando materiales duros que funden con descomposición.

3.1.1. POLIMERIZACIÓN.¹

La polimerización es el proceso químico mediante el cual se unen covalentemente moléculas de un monómero para formar polímeros, empleando para ello distintas fuentes tanto químicas como físicas, por ejemplo, calor, radiación o un catalizador con la finalidad de iniciar dicho proceso.

Como se mencionó anteriormente, dependiendo de la forma de polimerización, las macromoléculas se dividen en dos grupos: los polímeros de adición y de condensación.

En las reacciones de adición, se considera que todos los átomos de monómero se convierten en partes del polímero. En cambio, en las reacciones de condensación, algunos de los átomos del monómero no forman parte del polímero, sino que son liberados como H₂O, CO₂, alcoholes, etc.

3.1.2. POLIMERIZACIÓN POR ADICIÓN.

Este tipo de polimerización ocurre por un mecanismo en el que interviene la formación de diferentes especies químicas reactivas, como radicales libres o iones. Esta reacción se lleva a cabo en cadena con tres etapas específicas (iniciación, propagación y terminación).

Dentro de esta clase de polímeros, según el mecanismo por el que ocurre la adición, hay tres tipos de procesos:

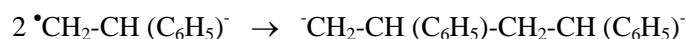
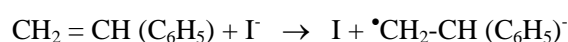
- a) Radicales libres. El mecanismo de polimerización tiene lugar por rompimiento homolítico del doble enlace, lo que resulta en la formación de un radical libre, generalmente por combinación con uno antes formado (R[•]), como se muestra a continuación:



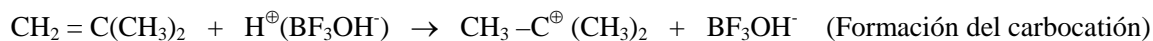
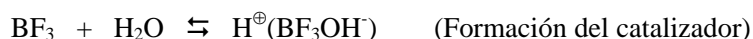
Donde R[•], representa el radical libre formado. La cadena en crecimiento es, por lo tanto, un radical.

- b) Iónica. En este tipo de proceso, se debe distinguir entre una polimerización aniónica y catiónica, dependiendo del tipo de intermediario que se propague durante la reacción.

- i) Aniónica. La reacción ocurre por la apertura del doble enlace, lo que genera la formación de un ión-radical que posteriormente, por recombinación, da lugar a un di-ión. A continuación se muestra un ejemplo de ello, donde se utiliza un ión yoduro como iniciador de la reacción:



- ii) Catiónica. Para llevar a cabo la polimerización catiónica, es necesario el empleo de un complejo catalizador-cocatalizador, el cual es capaz de donar un protón al monómero dando lugar a la formación de un ión carbonio, que en presencia de un monómero cualquiera trae consigo la formación de un carbocatión, como se muestra en seguida:



El carbocatión formado reacciona con otro monómero presente y regenerando otro ión carbonio pero de mayor tamaño. Este proceso continúa hasta que tenga lugar algún proceso de terminación de la cadena en crecimiento.

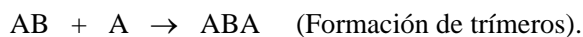
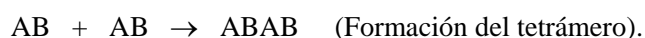
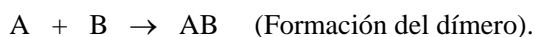
3.1.3. POLIMERIZACIÓN POR CONDENSACIÓN.

Este tipo de polimerización se lleva a cabo por la combinación de monómeros polifuncionales paso por paso, es decir, no ocurre con un mecanismo de reacción en cadena (a diferencia de la polimerización por adición), sino por sucesivas condensaciones entre éstos, lo que trae como resultado eliminación de subproductos, tales como H_2O , CO_2 , HCl , etc.

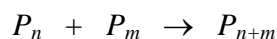
La también llamada polimerización por etapas, se produce mediante reacciones entre monómeros que tienen grupos bifuncionales, donde el grupo funcional de uno de los monómeros reacciona con el grupo funcional del otro de manera sucesiva, para formar especies de bajo peso molecular como dímeros, trímeros, tetrámeros, etc., los cuales reciben el nombre de oligómeros y se pueden aislar.

Esta polimerización se puede escribir como una reacción química lenta, que se debe llevar hasta muy altas conversiones para obtener pesos moleculares altos para aplicaciones industriales.

El mecanismo de reacción de este proceso, ocurre con la formación de un dímero, el cual posteriormente reacciona con otro para formar un tetrámero, o bien éste puede reaccionar con los monómeros para formar trímeros, como se muestra a continuación:



Este mecanismo se puede generalizar de la siguiente manera:



Donde P_n y P_m representan una cadena en crecimiento con n unidades monoméricas, de esta manera la longitud de la cadena es formada por pasos, por las reacciones de las dos cadenas en crecimiento.

Debido a ello, el peso molecular no se incrementa significativamente hasta que casi todo el monómero ha reaccionado, por lo que se requieren de altas conversiones para producir un polímero con alto peso molecular promedio.

3.2. COPOLIMERIZACIÓN.¹

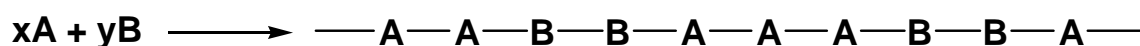
En la actualidad, la modificación de sistemas poliméricos se ha acentuado debido a su gran aplicación, desde el diseño de dispositivos biológicos hasta la creación de nuevos materiales con óptimas propiedades mecánicas. Dicha modificación, trae consigo la mejora de propiedades tanto químicas como mecánicas del sistema.

La copolimerización consiste en la formación de macromoléculas a partir de dos o más monómeros de estructura química diferente. Esto conduce a la obtención de una extensa gama de productos, cuyas propiedades van a depender de la naturaleza química de los monómeros, las concentraciones relativas de éstos, así como también, la forma en la que se unan dichos monómeros durante el proceso de copolimerización.

Por estos motivos, la técnica de copolimerización constituye el método ideal para obtener polímeros con determinadas propiedades físicas y químicas, útiles para aplicaciones específicas. Se conocen innumerables copolímeros industriales en los que se ha logrado modificar sustancialmente su solubilidad, propiedades mecánicas, térmicas, ópticas, entre otras.

Los copolímeros juegan también un papel muy importante en los polímeros de origen natural, especialmente en el caso de los polisacáridos y proteínas, en los que sus propiedades dependen de cómo se establecen las secuencias de los azúcares y aminoácidos, respectivamente.

En general, una reacción de copolimerización puede representarse de la siguiente manera:



donde el copolímero formado está compuesto por unidades monoméricas A y B, distribuidas al azar o de forma regular, dependiendo de la estructura molecular de los monómeros empleados, el disolvente, la temperatura, etc.

Un copolímero formado por dos monómeros se denomina bipolarímero o copolímero, cuando son tres terpolímeros, etc. Es importante mencionar que el término copolímero suele emplearse única y exclusivamente a los polímeros de adición, debido a que algunos polímeros de condensación pueden poseer en su estructura dos unidades estructurales distintas.

La posibilidad de formar copolímeros con estructura química heterogénea, ha creado nuevas e interesantes investigaciones en el campo de las macromoléculas y, desde el punto de vista industrial, más aún, ya que se pueden obtener variando tanto la composición de los distintos monómeros y otros parámetros determinados.

Los copolímeros también se pueden clasificar mediante la forma en que los monómeros están situados dentro de la estructura molecular del copolímero. Evidentemente, existirán infinitas maneras de disponerlos, por lo que los siguientes tipos deben entenderse como estructuras límites ideales.

3.2.1. TIPOS DE COPOLÍMEROS.

3.2.1.1. Copolímeros al azar.

En este tipo de copolímeros, las unidades estructurales se disponen al azar unas respecto a las otras (Figura 1), y se suelen designar mediante la nomenclatura poli(A-co-B). Un ejemplo de ello, podría ser el copolímero de poli(estireno-co-acrilonitrilo).

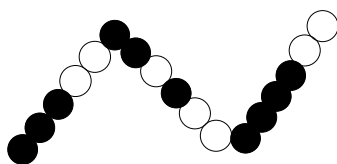


Figura 1. Representación de un copolímero al azar (• = monómero A; o = monómero B).

3.2.1.2. Copolímeros alternados.

Dentro de esta clasificación, los monómeros A y B se disponen de modo alternado a lo largo de la estructura del copolímero (Figura 2) y, por lo general, se designan mediante la nomenclatura poli(A-alt-B).

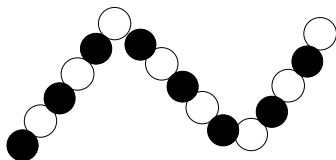


Figura 2. Representación de un copolímero alternado (• = monómero A; o = monómero B).

3.2.1.3. Copolímeros de distribución con secuencia ordenada.

Como su nombre lo dice, llevan una secuencia ordenada y bien definida, aunque no es alternado como en el caso anterior (Figura 3). Son producidos por un suministro controlado de monómero durante la reacción de polimerización.

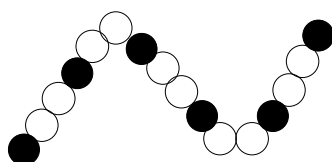


Figura 3. Representación de un copolímero de distribución con secuencia ordenada

(• = monómero A; o = monómero B).

3.2.1.4. Copolímeros de bloque.

También se suelen denominar copolímeros secuenciales, debido a su forma estructural. Aquí todas las unidades A y B se agrupan separadamente, formando secuencias homogéneas a lo largo de la cadena del copolímero (Figura 4). Para designarlos se utiliza la notación poli(A-b-B).

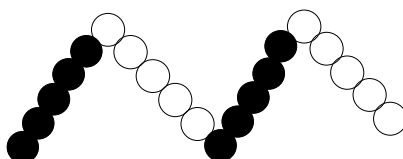
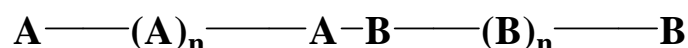


Figura 4. Representación de un copolímero de bloque (• = monómero A; o = monómero B).

Este tipo de polímeros se suelen representar de la siguiente manera:



También se pueden formar copolímeros compuestos por varios bloques de unidades monoméricas A o B, por lo que entonces se denominan dibloques, tribloques, tetrabloques, etc.

3.2.1.5. Copolímeros de injerto.

La clasificación que se ha hecho hasta el momento, sólo considera aquellos copolímeros con cadena lineal; sin embargo, también se pueden formar copolímeros ramificados (Figura 5).

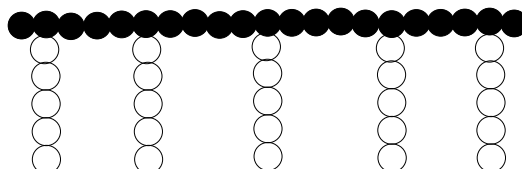


Figura 5. Representación de un copolímero de injerto (• = monómero A; o = monómero B).

Estos copolímeros se denominan de injerto. En ellos las ramificaciones B pueden estar distribuidas estadísticamente o de manera regular a lo largo de la cadena principal A, la cual, generalmente, se denomina matriz polimérica. Se designan mediante la notación poli(A-g-B), en donde la letra “g” proviene del inglés “graft”, que significa injerto.

3.3. COPOLIMERIZACIÓN POR INJERTO.²

Actualmente, existe la tendencia mundial de remplazar gradualmente los materiales naturales con aquellos que sean sintéticos o materiales naturales modificados. En esta era, considerada como la del plástico, es esencial poder modificar las propiedades de dichos materiales sintéticos, para lograr aplicaciones específicas mediante procesos tales como el mezclado y el injerto.

La mezcla química de dos o más polímeros se realiza para obtener macromoléculas con propiedades específicas para su aplicación. Sin embargo, el injerto es el método por el cual los monómeros se unen mediante enlaces covalentes a una cadena o matriz polimérica. La representación esquemática de los métodos para la modificación de polímeros se muestra en la Figura 6.

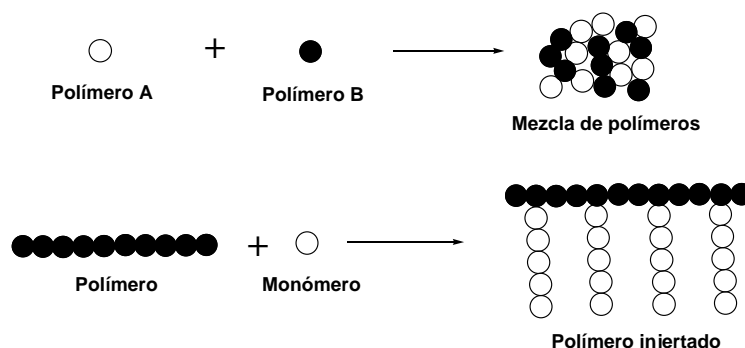


Figura 6. Métodos para la modificación de polímeros.

3.3.1. TÉCNICAS DE INJERTO.

Existen diferentes formas de injertar un monómero en una matriz polimérica; algunos métodos involucran la radiación como parámetro de polimerización, otros implican el uso de iniciadores químicos; sin embargo, todas estas técnicas tienen beneficios y desventajas al llevar a cabo la polimerización. Entre las técnicas de injerto más comunes, se encuentran aquellas iniciadas por métodos químicos, radiación, medios fotoquímicos, plasma y medios enzimáticos.

3.3.1.1. Injerto iniciado por métodos químicos.

El empleo de iniciadores químicos para llevar a cabo la copolimerización es de suma importancia, debido a que mejoran las condiciones de reacción. Sin embargo, no siempre es recomendable su uso, debido a que al final del proceso éstos quedarán presentes en el medio de reacción y se deberán purificar los productos. Cuando se utilizan los medios químicos, el injerto puede proceder por dos mecanismos diferentes de polimerización, radicales libres o vía iónica; la preferencia por cualquiera de estos procesos estará determinada por la presencia del iniciador, ya que éste mejorará las condiciones de copolimerización.

Injerto vía radicales libres. En este tipo de mecanismo, los radicales libres producidos por iniciadores se transfieren al sustrato para reaccionar con el monómero y así, comenzar con el proceso de propagación para formar el copolímero.

Injerto vía iónica. Diferentes tipos de ácidos y bases son iniciadores comunes en este tipo de injerto, los cuales propician y facilitan la formación de iones necesarios para llevar a cabo la copolimerización.

3.3.1.2. Injerto por radiación.

Al igual que en el método anterior, este tipo de injerto puede proceder tanto en forma de radicales como iónica, con la diferencia de no utilizar un iniciador para llevar a cabo la copolimerización. La formación de las especies químicas reactivas, se logra mediante la irradiación de las macromoléculas. En el caso de la copolimerización por radicales libres, el mecanismo ocurre con la formación de radicales libres, seguido del proceso de propagación y, posteriormente, se llega a una terminación. Por otro lado, la copolimerización iónica puede ser tanto del tipo catiónico como aniónico, donde las especies reactivas se forman a partir de la radiación de alta energía, y posteriormente, reaccionan con el monómero para formar el copolímero. La principal ventaja del método iónico es la alta velocidad de reacción. Así, bajas dosis de radiación son suficientes para obtener injertos considerables.

La copolimerización de injerto iniciada por radiación, involucra dos procesos simultáneos, en los cuales las especies reactivas son formadas por radiación en la superficie polimérica o cerca de ella, seguida de la polimerización de los monómeros.

Existen tres métodos principales de copolimerización de injerto inducida por radiación.

Método directo. En esta técnica, tanto el monómero como la matriz polimérica son irradiados simultáneamente, bajo condiciones de atmósfera inerte. Cabe mencionar que el monómero puede estar en fase gaseosa o en solución. Generalmente, la matriz polimérica es irradiada con exceso de monómero, sin embargo, son posibles distintas variaciones en la técnica. Una de las principales desventajas del método directo es la formación de homopolímero, el cual es un producto indeseable en la copolimerización.

El injerto predomina si el rendimiento de radicales formados del monómero es menor que el de los radicales originados en la cadena polimérica. También se incrementa el grado de injerto, si el polímero es tratado antes del proceso de irradiación, con una solución del monómero en un disolvente sensible a la radiación (hinchamiento del polímero).

Método de preirradiación. En este método, la matriz polimérica es irradiada en ausencia de aire, empleando para ello vacío o atmósfera de algún gas inerte y, subsecuentemente, se lleva a cabo el injerto, cuando el monómero es colocado en contacto con el polímero previamente irradiado, ya sea en estado líquido o gaseoso. Una de las principales ventajas de esta técnica, es la ausencia de homopolimerización. Sin embargo, la posible degradación de la matriz polimérica, así como también, la dependencia de la temperatura y el grado de cristalinidad, son considerados como desventajas de dicho método, trayendo como resultado una disminución en el grado de injerto.

Método de preirradiación oxidativa. A manera de comparación con la técnica anterior, en este método también se lleva a cabo la preirradiación de la matriz polimérica, con la diferencia de que se realiza en presencia de aire, lo cual hace que los radicales formados se recombinen con el oxígeno, originando con ello peróxidos e hidroperóxidos (Figura 7). Una vez que se tienen éstos, la reacción de injerto comienza cuando la matriz polimérica se calienta en ausencia de aire, junto con la solución monómero-disolvente, ocasionando que dichos peróxidos se descompongan en radicales, los cuales funcionan como especies reactivas para la polimerización. Una de las ventajas de este método, es la posibilidad de almacenar en frío la matriz polimérica irradiada por un tiempo considerable antes de empezar el injerto. Sin embargo, la formación de radicales hidroxilo en el mecanismo de reacción ($\cdot\text{OH}$), induce a la homopolimerización del monómero considerando esto como una de las principales desventajas del método.

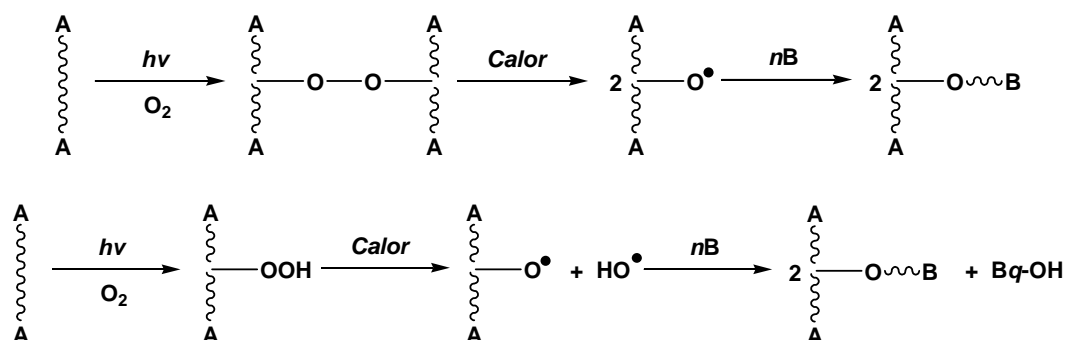


Figura 7. Mecanismo de polimerización de injerto por radiación en presencia de aire.

3.3.1.3. Injerto fotoquímico.

Cuando un cromóforo en una macromolécula absorbe luz, cambia a un estado excitado, el cual se puede disociar en radicales libres, los cuales inician el proceso de injerto. Si la absorción de luz no conduce a la ruptura homolítica de enlaces y con ello la no formación de radicales libres, puede adicionarse un fotosensibilizador, el cual ayudará en este proceso.

3.3.1.4. Injerto inducido por radiación de plasma.

Las condiciones de plasma logradas con descargas suaves, ofrecen condiciones similares a las de la radiación ionizante. El principal proceso en plasma es la excitación electrónica inducida, ionización y disociación. Así, la aceleración de electrones provenientes del plasma, tiene suficiente energía para inducir el rompimiento homolítico de los enlaces en la estructura polimérica, y de esta forma generar los radicales libres involucrados en la reacción de injerto.

3.3.1.5. Injerto enzimático.

Este método de injerto es relativamente nuevo; el principio implicado es que una enzima inicia la reacción de injerto químico-electroquímico.

3.3.2. PARAMETROS QUE INFLUYEN EN EL GRADO DE INJERTO.^{2a}

Hasta el momento se conoce que la modificación de matrices poliméricas es un proceso por el cual se pueden mejorar tanto sus propiedades químicas como físicas, para su posterior aplicación en diferentes campos. Sin embargo, para llevar a cabo dicha modificación, se necesitan evaluar distintos parámetros o condiciones para lograr de esta manera obtener los mejores rendimientos, así como también, las propiedades deseadas del polímero. A continuación, se analizan algunos de estos parámetros.

3.3.2.1. Naturaleza química de la matriz polimérica. Puesto que la copolimerización de injerto involucra la unión covalente del monómero con el soporte polimérico, la naturaleza química de este último tiene un efecto fundamental en dicho proceso, por lo cual se debe tener en cuenta tanto sus propiedades químicas como físicas, siempre con la finalidad de obtener buenos rendimientos en la copolimerización.

3.3.2.2. Efecto de la intensidad de dosis. Se conoce que a altas intensidades de dosis (por ejemplo, de 100 a 160 Gy/min),^{2b} el grado de injerto disminuye, debido a la recombinación de los radicales libres formados durante este proceso. Sin embargo, cuando se disminuye la intensidad de dosis, es posible que no se logre la formación de radicales poliméricos, provocando de esta manera que no se lleve a cabo la copolimerización.

3.3.2.3. Efecto de la dosis de irradiación. Cuando la dosis de irradiación es alta en un proceso (por ejemplo, de 60 a 100 kGy),^{2c} la velocidad de copolimerización incrementa debido a un efecto de autoaceleración, el cual depende de la naturaleza del monómero, disolvente y de la intensidad de dosis. Dicho efecto es provocado por un aumento en la viscosidad del medio, y puede ocasionar un posible incremento en la velocidad de terminación. Sin embargo, al aumentar la viscosidad del sistema, la difusión del monómero hacia la matriz polimérica será menor, trayendo como resultado una disminución en el grado de injerto.

3.3.2.4. Efecto de la temperatura. Éste es uno de los parámetros más importantes para controlar la cinética de copolimerización. En general, la velocidad de formación de injerto aumenta con el incremento de la temperatura (hasta cierto límite), debido a que se facilita la descomposición de peróxidos e hidroperóxidos formados, esto para el caso del método de preirradiación oxidativa. Además, se conoce que un incremento en la temperatura, favorece el proceso de difusión del monómero en la matriz polimérica, provocando con ello un grado de injerto mayor.

3.3.2.5. Efecto de la concentración. Se conoce que el grado de injerto dependerá de la concentración utilizada, es decir, al aumentar la concentración del monómero en un sistema, se favorecerá el rendimiento en la copolimerización. Sin embargo, esto no es necesariamente proporcional, sino que va a depender de las propiedades químicas de los reactivos y del método de copolimerización empleados. Por ejemplo, cuando se utiliza el método directo, no es conveniente manejar una concentración de monómero superior al 80%, debido a que hay una mayor tendencia a formar homopolímero que a favorecer el rendimiento de injerto, mientras que en el método de preirradiación, se debe de utilizar una concentración de monómero superior al 50%, ya que a concentraciones más bajas el rendimiento de injerto será menor.

3.3.2.6. Efecto del disolvente. En el proceso de copolimerización, el disolvente es el medio por el cual el monómero puede difundirse con mayor facilidad hacia la matriz polimérica, por lo cual, la elección del disolvente será de suma importancia para lograr con ello buenos rendimientos de injerto. Sin embargo, la elección del disolvente involucra diferentes parámetros, incluyendo la solubilidad del monómero, las propiedades de hinchamiento de la matriz polimérica, así como también, la generación de radicales libres en presencia del disolvente durante el proceso de irradiación.

3.3.2.7. Efecto del espesor de la matriz polimérica. En general, la velocidad de copolimerización por injerto disminuye para películas con espesores mayores, debido a una difusión más lenta del monómero hacia éstas. Esto no es un contratiempo, cuando hay un excelente hinchamiento por parte del disolvente empleado, en donde la difusión del monómero se ve favorecida.

3.4. INTERACCIÓN DE LA RADIACIÓN CON MATERIALES POLIMÉRICOS.^{3,4}

Cuando la radiación ionizante pasa a través de un material polimérico, está produce un efecto sobre los átomos y modifica sus propiedades. Los cambios observados se dan tanto en el material como en el rayo incidente, y dependen del tipo de radiación, así como también, de las características del material polimérico irradiado.

Los principales mecanismos de interacción son el efecto fotoeléctrico, el efecto Compton y la producción de pares. Lo que determina que predomine uno de los tres procesos, depende de la energía del fotón y del número atómico del material que sufre la interacción.

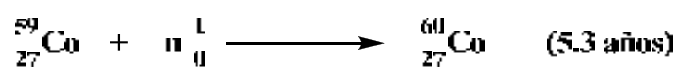
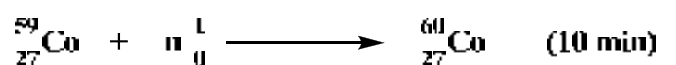
3.4.1. Efecto fotoeléctrico. Es la interacción de un fotón incidente sobre los electrones de un átomo absorbente. El fotón incidente transfiere toda su energía a la capa interna de un electrón atómico. Si la energía suministrada es superior a la energía de ligadura del electrón al átomo, éste es expulsado. Si el lugar vacante es ocupado por un electrón externo, se puede liberar energía sobrante en forma de rayos X (fenómeno de fluorescencia). El proceso fotoeléctrico es el que predomina con radiaciones de baja energía ($< 0.1\text{MeV}$) y sustancias absorbentes de alto número atómico.

3.4.2. Efecto Compton. En este proceso el fotón incidente interacciona con un electrón, cediendo parte de su energía a éste. El resultado es un fotón de menor energía y un electrón desviado de su órbita. Entre mayor es el ángulo de desviación, mayor es la energía cedida al electrón. A menudo, este efecto es el mecanismo predominante de interacción en el intervalo de energía de 0.1 a 1MeV, así como también, en materiales con número atómico bajo.

3.4.3. Formación de pares. Si la energía del fotón excede el doble de la energía equivalente a la masa del electrón (1.022 MeV), entonces el proceso de producción de pares es energéticamente posible. Esta interacción consiste en la transformación del fotón en energía cinética de un electrón y un positrón, debido a la interacción del fotón con el campo magnético del núcleo. Para que se produzca este fenómeno debe haber un núcleo o electrón cerca para cumplir el principio de conservación de la energía.

3.4.4. Fuentes de radiación. Entre los diferentes tipos de fuentes radioactivas se encuentran los isótopos radioactivos naturales como el radio y radón; radioisótopos artificiales como el cobalto-60, cesio-137 y estroncio-90/itrio-90; aceleradores de partículas como los generadores de rayos X, los aceleradores de electrones y finalmente, los reactores nucleares como los generadores de neutrones.

3.4.4.1. Cobalto-60 (^{60}Co). Este radioisótopo se caracteriza por emitir radiación gamma con una vida media de 5.27 años. Su formación proviene del proceso de captura de neutrones del ^{59}Co (estado natural) cuando es expuesto a un flujo de neutrones térmicos. A continuación, se muestran las reacciones involucradas en este proceso:



3.5. MODIFICACIÓN DE SUPERFICIES POLIMÉRICAS.⁵

La inmovilización covalente de compuestos bioactivos sobre superficies poliméricas, ha logrado un rápido crecimiento en las últimas décadas dentro de los campos biomédicos, textiles, biológicos, microelectrónicos y envasado de alimentos. Si bien el uso destinado para cada polímero biofuncionalizado es diferente en cada caso, el concepto general es el mismo (Figura 8).

El primer paso es la elección o diseño de un polímero con propiedades que se ajusten con las necesidades de su aplicación, tales como elasticidad, origen (natural o sintético), conductividad, claridad óptica y biodegradación. Diferentes polímeros han servido como sustratos para la inmovilización de biomoléculas, entre ellos el polietileno y polipropileno.⁶⁻⁹ Debido a la naturaleza inerte de la mayoría de los polímeros comerciales, éstos deben someterse a una previa modificación superficial antes de la unión covalente de biomoléculas. Por tanto, el segundo paso es optimizar la superficie polimérica con el propósito de introducir nuevos grupos funcionales que la doten de reactividad.

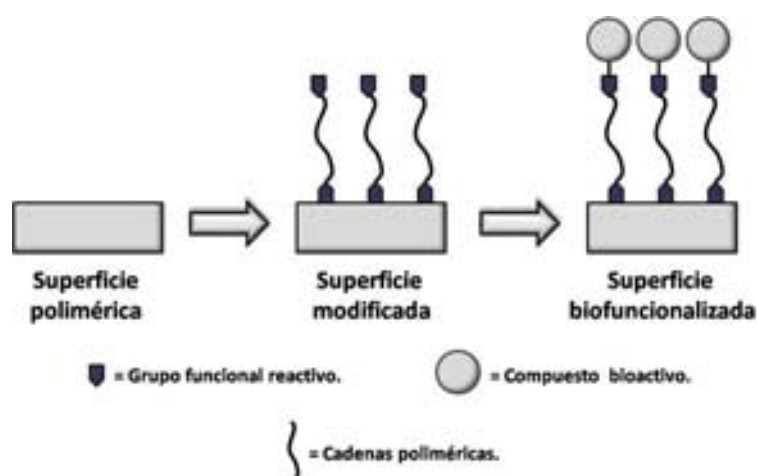


Figura 8. Esquema general para la biomodificación de superficies.

Sin embargo, la modificación de estos materiales puede resultar lenta y costosa; por tales inconvenientes, el empleo de radiación ionizante para llevar a cabo estas modificaciones, se ha convertido en un medio eficaz y costeable.^{10, 11}

La polimerización por injerto inducida por radiación, es una técnica útil para la modificación de superficies, llevando a cabo el injerto de cadenas de un monómero sobre una matriz polimérica.¹ La reacción química de injerto implica la formación de enlaces covalentes entre la matriz polimérica y las unidades del monómero involucrado, por lo cual, las propiedades de dicho material son modificadas. De esta manera, el paso final es la unión covalente del compuesto bioactivo a la superficie modificada del polímero.

Los métodos principales para la inmovilización de compuestos bioactivos sobre una superficie polimérica son la adsorción (vía interacciones electrostáticas) y la unión covalente (Figura 9). La adsorción no covalente tiene un gran potencial de aplicación en el ámbito farmacéutico, en particular, en procesos de liberación de fármacos y en el diseño de textiles antimicrobianos.^{6, 12, 13} Sin embargo, la inmovilización covalente permite la unión química más estable entre la biomolécula y la superficie del polímero.

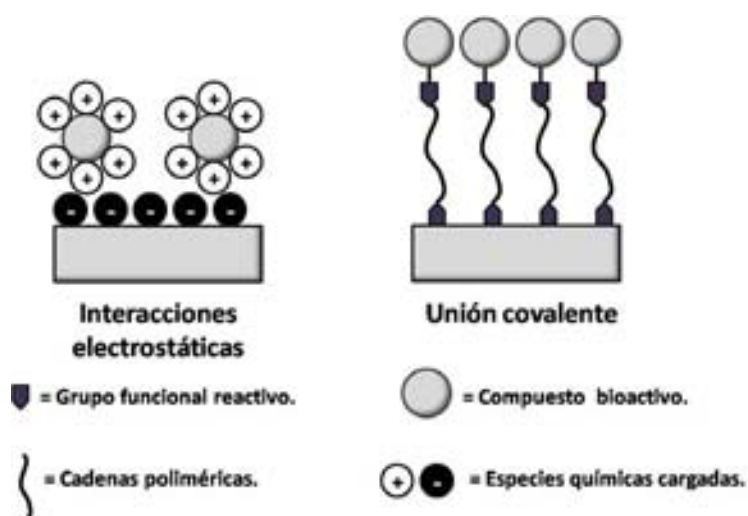


Figura 9. Métodos para la inmovilización de biomoléculas.

En el ámbito biomédico, la inmovilización covalente puede ser utilizada para aumentar la vida media de una biomolécula, es decir prevenir su metabolismo (un ejemplo de ello son los compuestos con actividad antitumoral usados de manera local, puesto que si se metabolizan pueden ser tóxicos), así como también en el diseño de novedosos materiales biocompatibles (como son los productos sanitarios, stents o catéteres).¹⁴

3.6. EFECTO DE LAS MOLÉCULAS PUENTE EN LA BIOCONJUGACIÓN.

Si la superficie polimérica inicial no posee suficientes grupos reactivos, o si los compuestos bioactivos pierden su actividad cuando se unen químicamente a la superficie del polímero, puede ser necesario el injerto de un intermediario (espaciador o puente) entre la superficie y los compuestos bioactivos. Existen muchos factores que influyen en el efecto que tiene la molécula puente sobre la actividad de la biomolécula (Figura 10). Entre estos debe considerarse las relaciones estructura-función, ubicación de los grupos funcionales disponibles para la unión química y el impacto que tiene la unión entre el compuesto bioactivo y el sustrato hidrofóbico.

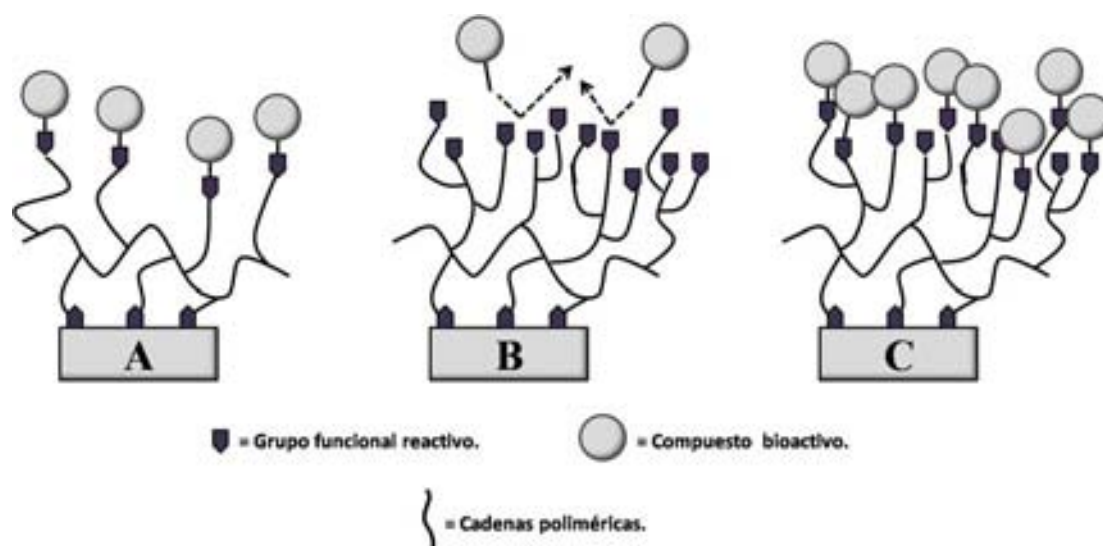


Figura 10. Efecto de las moléculas puente sobre la bioactividad. A) Se incrementa la inmovilización de biomoléculas debido a la conformación estructural de las cadenas poliméricas (puentes); B) se reduce la inmovilización de las biomoléculas debido a un exceso de grupos funcionales reactivos sobre los puentes; C) se reduce la bioactividad de las biomoléculas debido al impedimento estérico entre ellas.

3.6.1. REACTIVOS POLIFUNCIONALES.

El ácido acrílico se ha injertado sobre superficies poliméricas con la finalidad de sintetizar matrices funcionales con ácidos carboxílicos.^{6, 15, 16} A su vez, la poli(etilenimina), la poli(alilamina) y el quitosano se han unido covalentemente a superficies que contienen aldehídos o ácidos carboxílicos, con el propósito de incrementar la funcionalidad de la superficie con grupos amino primarios.^{14, 17}

El uso de tales agentes polifuncionales proporciona un aumento en el número de sitios de reacción disponibles sobre una superficie polimérica, con el propósito de inmovilizar compuestos bioactivos. Por ejemplo, el injerto de polietilenglicol (PEG) sobre una superficie de poli(etilenimina), proporciona alto grado de injerto de PEG sobre la superficie.¹⁸

Mediante la síntesis de una superficie polianionica, mediante el injerto de poli(ácido acrílico), se logra mejorar la biocompatibilidad de ésta, además de aumentar su capacidad para inmovilizar covalentemente proteínas para el diseño de dispositivos biomédicos.¹⁹ Así mismo, los dendrímeros ofrecen otra manera de incrementar la funcionalidad de una superficie polimérica. Diferentes tipos de dendrímeros se han empleado para aumentar el grado de inmovilización de proteínas y ADN sobre substratos inorgánicos, con el propósito de desarrollar nuevas técnicas bioanalíticas de alta sensibilidad.^{20, 21}

Sin embargo, el empleo de puentes voluminosos o dendríticos, trae consigo el problema de aglomeración entre éstos, lo cual puede tener varias complicaciones (Figura 10). Por un lado, la acumulación de grupos funcionales reactivos sobre una misma área de la superficie, puede disminuir la inmovilización de compuestos bioactivos. Además, la acumulación de éstos sobre la superficie, resultará en un inevitable impedimento estérico entre ellos.

3.6.2. GLICIDILMETACRILATO (GMA).

Distintos polímeros comerciales, entre ellos el polietileno y polipropileno, se han empleado en campos tanto tecnológicos como industriales, pero su uso es limitado debido a su baja versatilidad química, derivada por la falta de grupos funcionales reactivos en su estructura. En este sentido, distintas técnicas se han aplicado para mejorar las propiedades reactivas de dichos polímeros, en particular, el injerto de monómeros sobre la superficie polimérica iniciado por radiación, ha sido uno de los mejores métodos debido a su versatilidad y bajo costo.^{10, 11} Algunos de los monómeros injertados sobre estas superficies poliméricas se encuentran el ácido acrílico, la acrilamida, el acetato de vinilo y el GMA sólo por mencionar algunos.²²⁻²⁴ En especial, el GMA tiene gran importancia debido a la alta reactividad química que muestra el grupo epóxido en su estructura. Además, el empleo de dicho grupo funcional en diferentes reacciones químicas, tales como la sulfonación, la fosforilación, y la hidrólisis, conduce a la síntesis de nuevos materiales poliméricos.²⁵⁻²⁷

Por lo tanto, dicho epóxido puede ser usado eficazmente para reaccionar con nucleófilos, tales como el grupo hidroxilo (-OH) o el grupo amino (-NH₂), con la finalidad de formar nuevos enlaces covalentes. Bernard et al., llevaron a cabo el injerto de GMA sobre PP, y la posterior inmovilización química de ciclodextrinas sobre éste, con el propósito de emplear dicho soporte para el tratamiento de aguas residuales.²⁸ Así mismo, Kiyohara et al., sintetizaron el copolímero de injerto PE-g-GMA, sobre el cual se inmovilizaron covalentemente L-amino ácidos, con la finalidad de preparar membranas porosas para su posterior aplicación en cromatografía de membranas.²⁹ Además, el injerto de GMA sobre distintas poliolefinas ha sido empleado para lograr buena compatibilidad química en procesos de mezclado de polímeros. Un ejemplo de ello es el trabajo de Akkapeddi et al., quienes publicaron que el copolímero PE-g-GMA actúa como buen agente de compatibilidad en mezclas de policarbonato (PC) y polietilentereftalato (PET).³⁰

3.7. INMOVILIZACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS.

Cuando se lleva a cabo la modificación de una superficie polimérica inerte, se debe tomar en consideración que las nuevas propiedades químicas de ésta, entre ellas la reactividad, deben ser totalmente compatibles con los sitios de reacción del compuesto bioactivo que se inmovilizará covalentemente sobre ella. Algunos grupos funcionales comunes para proporcionar reactividad a una superficie polimérica son los epóxidos, tioles, aldehídos, ácidos carboxílicos, hidroxilos y aminas primarias; la elección de uno u otro dependerá de la reactividad necesaria sobre la superficie polimérica. Además, el desarrollo y diseño de diferentes agentes entrecruzantes abre una nueva gama de sustancias químicas utilizables para la inmovilización de compuestos bioactivos. Al igual que los compuestos bioactivos, los agentes entrecruzantes difieren en sus valores de pH óptimo, temperatura y solubilidad, así que éstos deben ser seleccionados basándose en los requerimientos necesarios para lograr la mejor inmovilización de la biomolécula.³¹

En ocasiones, es necesario el bloqueo de ciertos grupos funcionales de la matriz polimérica previamente modificada, con la finalidad de garantizar la correcta inmovilización de la biomolécula. Algunos grupos funcionales están a menudo en forma de iones, por lo que pueden participar en interacciones débiles o contribuir a un cambio en el pH óptimo de los compuestos bioactivos. En el caso de las aminas primarias, éstas pueden ser bloqueadas mediante el uso de la sulfo-N-hidroxisuccinimida o con el acetato del anhídrido acético para formar una acetamida no reactiva.

Para los tioles, éstos pueden ser bloqueados de manera permanente por la formación de un enlace tioéter empleando para ello el acetato de iodo; si es de manera reversible, se utiliza el tetrationato de sodio (reactivo de Ellman) para la formación de un enlace disulfuro. Por último, la etanolamina puede ser usada junto con un agente reductor para proteger aldehídos, o bien la 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodimida (EDC) para el bloqueo de ácidos carboxílicos.³¹

Un gran número de biomoléculas activas pueden ser inmovilizadas por sistemas poliméricos (polímeros entrecruzados, copolímeros e injertos), que contengan grupos funcionales capaces de unirse de manera covalente, o bien, mediante interacciones débiles del tipo electrostático o por puentes de hidrógeno. Uno de los aspectos más relevantes de la inmovilización de biomoléculas en una matriz polimérica, es la posibilidad de que diferentes moléculas puedan ser inmovilizadas en la misma cadena de polímero, logrando con ello una mejora significativa de su actividad biológica. Entre muchas aplicaciones que pueden tener estos procesos de inmovilización, se puede citar a la separación selectiva de enzimas en solución. De esta manera, una enzima que se encuentre en solución junto con el producto de una reacción química, puede ser fácilmente separada y reciclada, permitiendo recuperar el producto al mismo tiempo.^{32, 33}

Para la fabricación de materiales biotecnológicos aplicados a la industria farmacéutica, se ha llevado a cabo la inmovilización de ciclodextrinas en diferentes soportes poliméricos. Estos polímeros al estar formados por múltiples receptores moleculares, unidos mediante enlaces covalentes, favorecen la capacidad de las ciclodextrinas de formar complejos de inclusión con diferentes sustratos hidrofóbicos, mejorando con ello las propiedades químicas y físicas de la matriz polimérica, incluso las propiedades de los sustratos hidrofóbicos son mejoradas (Figura 11).^{32, 33}



Figura 11. Mejora de las propiedades químicas de la matriz polimérica, mediante la inmovilización de biomoléculas.

La inmovilización es un proceso químico, en el cual se retienen moléculas biológicamente activas, ya sea en solución o en un soporte fijo. En biomedicina, los polímeros multifuncionales sintéticos, han sido empleados como soportes para uniones covalentes de carbohidratos y ciclodextrinas, así como también, entidades biológicas como péptidos o fragmentos de ADN.³²

Entre los diversos monómeros funcionales existentes en el campo de la química, se encuentran aquellos que poseen grupos funcionales capaces de modificar y ser modificados en distintas reacciones químicas, en particular, se puede hablar de aquellos monómeros que poseen anillos epóxido en su estructura, los cuales tienen una contribución muy importante dentro de la síntesis orgánica, dado que promueven reacciones de un paso con alcoholes o aminas, grupos funcionales que están presentes en casi todas las biomoléculas.³⁴ De esta manera, las biomoléculas reaccionan con los grupos terminales de las cadenas poliméricas, lo cual permite la inmovilización de éstas. La finalidad de este proceso es mejorar significativamente sus propiedades, así como también su estabilidad, lo que hace posible su empleo en la producción de productos químicos, farmacéuticos, alimenticios y en muchas otras aplicaciones. En general, existen dos métodos para la inmovilización de biomoléculas: la retención física y la unión covalente (retención química).

3.7.1. RETENCIÓN FÍSICA.³²

La retención física se puede llevar a cabo mediante dos procesos: la retención e inclusión en membranas (Figura 12). El primer proceso consiste en retener a la molécula en las cavidades de una matriz sólida porosa, formada principalmente por prepolímeros fotoentrecruzables del tipo poli(acrilamida), colágeno o resina de poliuretano. El proceso de inmovilización se realiza mediante la suspensión de la biomolécula en la solución de monómero, donde posteriormente se inicia la polimerización. La retención puede ser en geles o fibras, donde las biomoléculas quedan atrapadas en el interior del gel, o bien, se encuentran ocluidas dentro de las microcavidades de la fibra.

En la inclusión en membranas, se lleva a cabo una micro-encapsulación, donde las biomoléculas están rodeadas de membranas semipermeables que no permiten su paso, pero si facilitan la salida de moléculas de sustrato y producto.

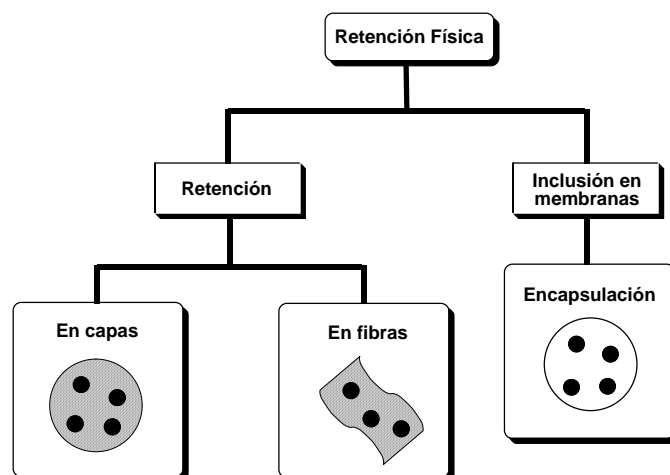


Figura 12. Técnicas de inmovilización mediante la retención física.

3.7.2. RETENCIÓN QUÍMICA.³²

Al igual que en el proceso anterior, éste también se puede realizar de dos maneras: la unión en soportes sólidos y el reticulado (Figura 13). El primero de ellos se considera como el más utilizado y del que se dispone de mayor información. La elección del soporte y el tipo de enlace son determinantes para obtener las propiedades deseadas. Los soportes pueden ser del tipo orgánico, los cuales están formados por polímeros naturales (polisacáridos y proteínas fibrosas) y sintéticos (poliolefinas, acrílicos, poliamidas, etc.), o del tipo inorgánico, los cuales pueden ser naturales (arcillas, piedra pómez, sílice, etc.) o manufacturados (óxidos de metales, alúmina, cerámicas, gel de sílice, etc.).

Las biomoléculas se pueden unir a estos soportes por adsorción o unión covalente. En el primero, la molécula se une al soporte sin funcionalizar, es decir, mediante interacciones débiles del tipo iónicas, fuerzas de van der Waals o por puentes de hidrógeno. Los factores que afectan a este proceso son el pH del medio de reacción, la fuerza iónica, el diámetro del poro y la presencia de iones. Con lo que respecta a la unión covalente, éste tipo de proceso de inmovilización se basa en la activación de grupos funcionales en el soporte, para que reaccionen con los grupos nucleófilos de las biomoléculas. En el caso de las ciclodextrinas, se espera que el grupo hidroxilo primario (-CH₂OH) lleve a cabo la reacción de inmovilización sobre el soporte.

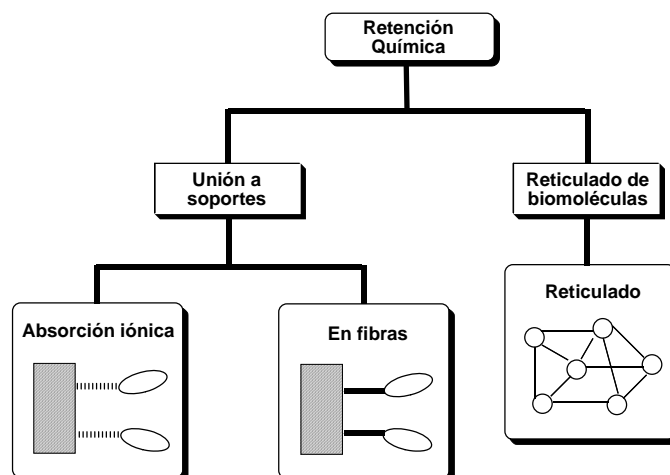


Figura 13. Métodos de inmovilización mediante unión química.

3.8. CICLODEXTRINAS SOBRE MATRICES POLIMÉRICAS.

Las ciclodextrinas poseen una cavidad hidrofóbica en la cual pueden ser alojadas moléculas no polares formando de esta manera complejos de inclusión. Estas biomoléculas cíclicas han sido inmovilizadas en distintos soportes; un ejemplo de ello es su anclaje sobre fibras de poliamida con el propósito de investigar su uso como agentes de acabado textil. A su vez, diferentes técnicas tales como FTIR, SEM y espectros de absorbancia, han confirmado su inmovilización, además de comprobar mediante pruebas estándar que la modificación y el tratamiento de las fibras no afecta las propiedades mecánicas de éstas.

De esta manera, un agente antimicrobiano (ácido benzoico), un compuesto empleado en tecnología de alimentos (vainillina) y un plaguicida repelente de insectos (DEET), son algunos de los productos químicos investigados para la formación de complejos de inclusión con ciclodextrinas.³⁵⁻³⁷ La propiedad de las ciclodextrinas para formar complejos de inclusión de manera reversible, hace que éstas sean una herramienta eficaz para la liberación controlada de fármacos, eliminación de olores, perfumes e incluso para la rehabilitación del medio ambiente.

Las ciclodextrinas naturales se consideran seguras por vía oral, ya que su absorción gastrointestinal es prácticamente nula.³⁸ También son compatibles con la vía ocular dado que no irritan el epitelio corneal ni la conjuntiva ocular y no producen lacrimo.

No obstante, su incorporación a este tipo de formulaciones se ve limitada por su interacción con los parabenos, y por la consiguiente reducción de la efectividad conservante que producen.³⁹ Las ciclodextrinas son también potencialmente útiles como excipientes de formas de administración nasal, ya que actúan como promotores de la absorción de péptidos y proteínas sin dañar el funcionamiento del sistema mucociliar ni las estructuras mucosales.^{40, 41} Por vía rectal, promueven la absorción de macromoléculas, sin irritar significativamente la mucosa.⁴² También se usan como excipientes de formas de aplicación tópica, si bien en cantidades elevadas puede promover la extracción de ciertos componentes de la piel, deteriorando su funcionalidad como barrera.^{43, 44} El uso de las ciclodextrinas como componentes de formas parenterales se ve limitado por su potencial toxicidad cuando se administran por esta vía.³⁸

Debido al gran potencial de las ciclodextrinas para formar complejos de inclusión con distintos fármacos y su baja toxicidad, se ha llevado a cabo la inmovilización de éstas en diferentes superficies poliméricas, con la finalidad de dotarlas con propiedades de reconocimiento molecular.⁴⁵ Por ejemplo, al hacer reaccionar los grupos funcionales de la matriz polimérica con los grupos hidroxilo primarios (-CH₂OH) de las ciclodextrinas, se logra inmovilizar a éstas mediante la formación de un enlace covalente entre ambos. De esta manera, se mejoran las propiedades químicas del polímero para su posterior aplicación en diversos campos.

3.8.1. CICLODEXTRINAS NATURALES.⁴⁶

Las ciclodextrinas, también conocidas como dextrinas de Schardinger, cicloamilosas o cicloglucanos, son series de oligosacáridos producidos por la acción de la enzima *ciclodextrin glucosiltransferasa* (CGTasa), del *Bacillus macerans* presente en el almidón. A pesar de que éstas fueron descubiertas en 1891 por Villers,⁴⁷ la primera descripción detallada de su preparación y aislamiento fue hecha por Schardinger en 1903.

Las ciclodextrinas naturales están formadas por unidades de D-(+)-glucopiranosas, unidas covalentemente por enlaces α -(1,4)-glucosídicos. Éstas se representan con una letra griega que denota el número de unidades de glucosa unidas: α - para 6, β - para 7, γ - para 8, y así sucesivamente (Figura 14). Algunas veces, las α , β y γ -ciclodextrinas son llamadas ciclohexamilosas, cicloheptamilosas y ciclooctamilosas, respectivamente.

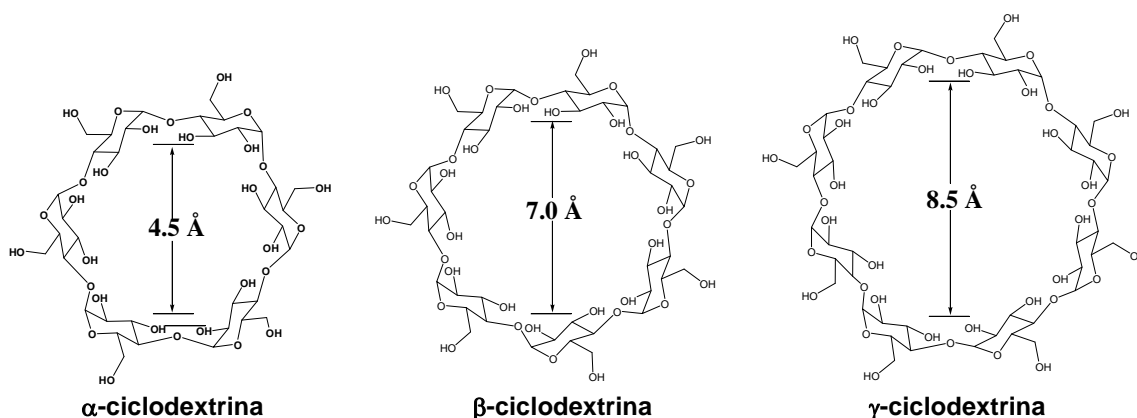


Figura 14. Estructura cíclica de las ciclodextrinas.

El tratamiento del almidón con la *ciclodextrin glucosiltransferasa* del *Bacillus macerans*, origina el extracto crudo del almidón, el cual contiene la α, β y γ-ciclodextrinas junto con otros subproductos de degradación. Una manera fácil de aislar a estas tres ciclodextrinas, es la precipitación selectiva mediada con disolventes orgánicos.

En la actualidad, solamente se han aislado la α, β y γ-ciclodextrinas. Sin embargo, no se conoce la existencia de aquellas con menos de seis unidades de glucosa, probablemente, debido al impedimento estérico entre dichas unidades. Las ciclodextrinas formadas por más de 8 unidades de glucopiranososa se conocen como ciclodextrinas mayores y son más difíciles de aislar.⁴⁸

3.8.2. ESTRUCTURA Y PROPIEDADES FÍSICAS.

La cavidad del anillo de las ciclodextrinas es ligeramente cónica, de manera que la molécula adquiere la forma de un cono truncado. Sus lados los representa una cadena de seis o más anillos de glucosa con una conformación en silla y, en consecuencia, la profundidad del cono es del ancho del anillo piranósico. Por fuera, en torno al borde “superior”, se encuentran los grupos hidroxilo, -OH, secundarios de C-2 y C-3; en torno al borde “inferior”, se hallan los -OH primarios de C-6, esto es, los grupos -CH₂OH (Figura 15). Debido a la presencia de estos grupos hidroxilo hidrofílicos en los extremos de la cavidad, las ciclodextrinas son solubles en agua. El interior del cono consiste de tres niveles superpuestos: dos de unidades C-H y, en medio, una de unidades de oxígeno glucosídico.⁴⁹ Por lo tanto, los pares electrónicos no compartidos de estos oxígenos hacen que la cavidad interior sea hidrofóbica.

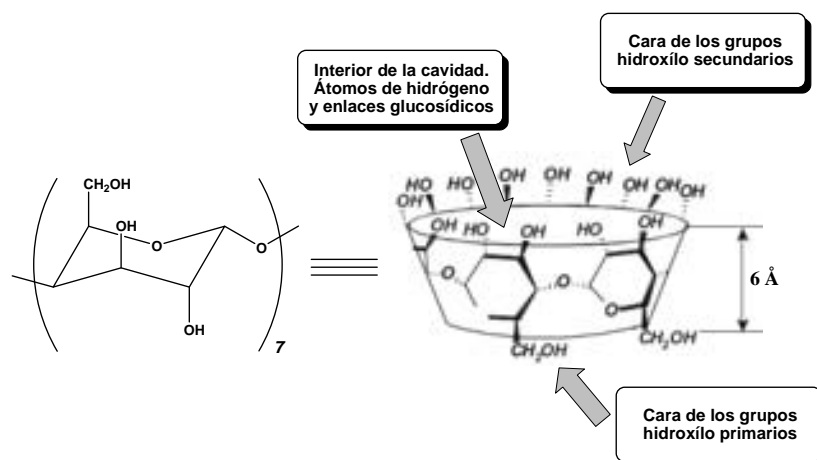


Figura 15. Ubicación de los diferentes grupos funcionales en la molécula de β -ciclodextrina.

De esta forma se puede inferir que:

1. Una ciclodextrina admite en su interior lipófilo una molécula no polar como huésped; obviamente, la conformación adoptada por dicha molécula depende de su tamaño y polaridad, así como del tamaño de la cavidad de la ciclodextrina que se use.
2. El exterior hidrófilo del complejo resultante le confiere a la molécula huésped solubilidad en agua.

Estas características son las que permiten a las ciclodextrinas formar complejos de inclusión, que son la base fundamental del encapsulamiento molecular. Se conoce que estos complejos anfitrión-huésped se forman por medio de interacciones hidrofóbicas y dipolo-dipolo, así como también, a fuerzas de van der Waals y enlaces de puente de hidrógeno.

La α -ciclodextrina, que tiene la cavidad más pequeña y, por consiguiente, el menor volumen, acomoda mejor un núcleo bencénico, mientras que la β -ciclodextrina lo hace con un núcleo de naftaleno.⁵⁰ Casi todas las aplicaciones de las ciclodextrinas involucran la formación de complejos de inclusión; éstos son relativamente estables y pueden separarse casi puros como sustancias cristalinas que se emplean directamente, por ejemplo, en complejos con fármacos y saborizantes. En la Tabla 1, se muestran varias propiedades físicas de algunas ciclodextrinas.

Propiedades físicas					Dimensiones de la cavidad (Å)	
Ciclodextrina (CD)	Número de residuos de glucosa	Peso molecular (calculado)	Solubilidad en agua, (g/100ml)	Rotación específica, $[\alpha]_D^{25}$	Diámetro interno	Profundidad
α -CD	6	972	14.5	150.5 ± 0.5	4.5 ^a	6.7 ^a
β -CD	7	1,135	1.85	162.5 ± 0.5	7.0 ^b	7.0 ^b
γ -CD	8	1,297	32.2	177.4 ± 0.5	8.5 ^b	7.0 ^b
δ -CD	9	1,459	Muy soluble	191 ± 3	—	—

^a Análisis por RX. ^b Estimado por modelos moleculares en Courtald.

Las ciclodextrinas naturales presentan un número variable de grupos hidroxilos susceptibles de reaccionar químicamente para incorporar diferentes grupos funcionales, lo que hace posible la formación de una gran variedad de derivados.⁵¹ La incorporación de estos grupos modifica las propiedades fisicoquímicas de la ciclodextrina original y la dota de nuevos lugares de unión.

La alquilación de las ciclodextrinas naturales no se produce de manera aleatoria, sino que está condicionada por la reactividad de los distintos grupos hidroxilo de éstas. Los hidroxilos secundarios, que se encuentran en posiciones 2 y 3, tienen un carácter más ácido que los primarios unidos al carbono 6. En consecuencia, dependiendo de la composición del medio de reacción, la sustitución de unos u otros grupos hidroxilo se encuentra más o menos favorecido.

En un medio fuertemente básico, la alquilación se producirá preferentemente en posición 6, mientras que en un medio menos básico lo hará en la posición 2.⁵² Este hecho tiene una gran trascendencia práctica, puesto que las propiedades físico-químicas de los derivados de ciclodextrina y su aptitud para formar complejos de inclusión dependen, no sólo de su grado de sustitución, sino también de las posiciones que ocupan sus sustituyentes.⁵³

Las ciclodextrinas naturales, en especial la β -ciclodextrina, cuentan con una hidrosolubilidad limitada (Tabla 1). Esta reducida hidrosolubilidad es consecuencia del establecimiento de puentes de hidrógeno entre sus grupos hidroxilo secundarios.^{54, 55} La sustitución de los grupos hidroxilo dificulta la formación de uniones intramoleculares y facilita la interacción con el agua.⁵⁴ Sobre la base de su hidrosolubilidad, los derivados de ciclodextrina se suelen clasificar como hidrofílicos, hidrofóbicos o ionizables. La solubilidad de éstos últimos es muy dependiente del pH y se incrementa cuando sus grupos ácidos o básicos se ionizan. Desde la perspectiva de la tecnología farmacéutica, los derivados más interesantes son la hidroxipropil- β -ciclodextrina, la sulfobutiléter- β -ciclodextrina y algunas β -ciclodextrinas ramificadas, cuya baja toxicidad las hace útiles para el desarrollo de formas parenterales.⁵⁶

3.8.3. FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE INCLUSIÓN.

Las interacciones que se establecen en los complejos de inclusión ciclodextrina-huésped son de carácter no covalente y su formación/disociación transcurre a una velocidad muy rápida, que es comparable o incluso superior a la de muchos procesos fisiológicos.⁵⁷⁻⁵⁹ Por lo tanto, aunque los complejos se suelen representar como una única especie, en realidad se comportan en disolución como sistemas dinámicos en los que éstos coexisten con la ciclodextrina y el huésped libres.⁶⁰ Las moléculas de agua que se encuentran en el interior de la cavidad de la ciclodextrina, en un estado energético desfavorable, como consecuencia de la repulsión que se produce con los grupos apolares de la ciclodextrinas, son desplazadas hacia el exterior conforme la molécula huésped entra en el interior de la ciclodextrina. Su reemplazo por otras moléculas menos polares, que se introducen total o parcialmente en la cavidad, conduce a la formación de un complejo de inclusión (Figura 16). Obviamente para que el complejo se pueda formar, las moléculas huéspedes deben presentar un tamaño adecuado y ser más apolares que el agua.⁶⁰

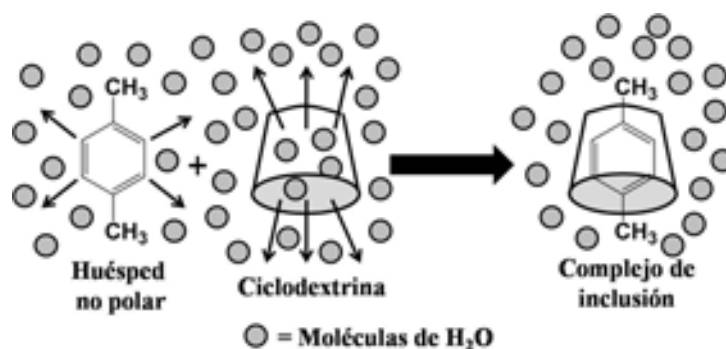


Figura 16. Formación de un complejo de inclusión.

De esta manera, se dice que la estabilidad y estructura de los complejos formados depende fundamentalmente de factores geométricos y de polaridad, aun cuando otros factores como interacciones electrostáticas e impedimento estérico juegan un papel muy importante en la estructura y fortaleza de los complejos formados. En general, la disposición que se adopta es la que proporciona el máximo contacto posible entre la parte hidrofóbica de la molécula huésped y la superficie interna de la cavidad.

Normalmente, sólo se encapsula un huésped en la cavidad de una molécula de ciclodextrina para formar un complejo de inclusión, en una relación 1:1 molar. Sin embargo, con frecuencia se incorporan dos moléculas huésped pequeñas, lo que da como resultado la formación de un complejo anfitrión-huésped en una relación 1:2. En algunos casos, una molécula huésped que es voluminosa, se encapsula en dos moléculas de ciclodextrina formando un complejo de inclusión 2:1. Además, puede ocurrir la autoasociación para formar un complejo en relación 2:2.⁵⁰

Los fármacos poco solubles, los saborizantes que se deterioran rápidamente, las fragancias volátiles, incluso los gases pueden atraparse y liberarse justo cuando se requiera, mediante el encapsulamiento molecular. Por todo esto, las ciclodextrinas se emplean en los campos de la industria química, alimenticia, farmacéutica, cosmética, etc. Los fármacos hidrofóbicos que son insolubles en el cuerpo humano, se vuelven más solubles y/o estables cuando se añaden ciclodextrinas; de esta manera, los fármacos pueden administrarse introduciéndolos dentro de estas “capsulas moleculares”.

3.8.4. DETERMINACIÓN EXPERIMENTAL DE COMPLEJOS DE INCLUSIÓN.⁴⁶

En el proceso de inclusión intervienen fuerzas de distinta naturaleza: hidrofóbicas, de van der Waals, puentes de hidrógeno, transferencia de carga y resultantes de tensiones del anillo de ciclodextrina.^{61, 62} Cuando la resultante es favorable, se produce la complejación lo que provoca cambios en las propiedades fisicoquímicas de la ciclodextrina y del huésped (de ahora en adelante, se considerará un fármaco debido a su importancia dentro de este manuscrito). Estas modificaciones se ponen de manifiesto por diferentes técnicas, que permiten dilucidar la estequiometría del complejo de inclusión y estimar el valor de la constante de formación.⁶³

Los métodos más usuales se basan en la medida de las alteraciones que sufre la solubilidad del fármaco, la reactividad química, el espectro de absorción en la región UV-vis, la fluorescencia, el tiempo de retención en una columna cromatográfica, el pKa, la estabilidad química, el desplazamiento químico de los protones en el espectro de ^1H en RMN y la capacidad de paso del fármaco a través de membranas. Una aproximación de uso habitual consiste en seguir la influencia de la concentración de ciclodextrinas en la solubilidad del fármaco. Los resultados de estos estudios se representan en forma de diagramas de solubilidad (Figura 17), que pueden ser de dos tipos:⁶⁴

TIPO A. La solubilidad del fármaco aumenta a medida que se incrementa la concentración de ciclodextrina en el medio, pudiendo darse tres tipos de comportamientos:

A_L . La dependencia es lineal; se asume que la estequiometría de formación del complejo fármaco/ciclodextrina es 1:1.

A_P . Se produce una desviación positiva de la linealidad, que indica que la estequiometría del complejo fármaco/ciclodextrina es 1:2 o superior.

A_N . Se observa una desviación negativa de la linealidad, que suele ser consecuencia de cambios en la constante dieléctrica del medio o en la solubilidad del complejo de inclusión, o de la formación de estructuras macromoleculares, fruto de la asociación parcial de varias unidades de ciclodextrina para dar lugar a micelas.⁶⁵

TIPO B. La dependencia de la solubilidad del fármaco respecto de la concentración de ciclodextrina es no lineal. Este tipo de diagramas son indicativos de la formación de complejos de inclusión con solubilidad limitada.

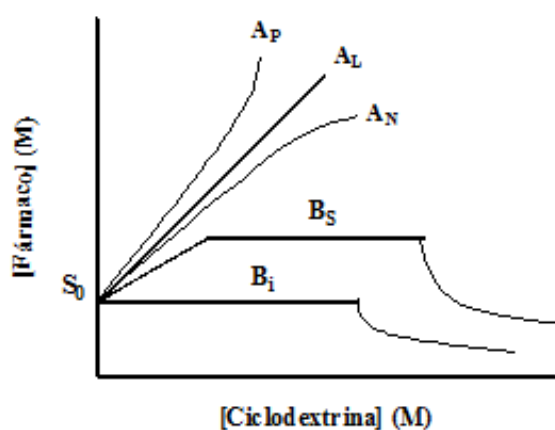


Figura 17. Clasificación de los complejos de inclusión propuesta por Higuchi y Connors.⁶⁴

En general, los derivados de ciclodextrina que son solubles en agua dan lugar a perfiles de tipo A_L, mientras que las ciclodextrinas naturales de más baja solubilidad proporcionan perfiles de tipo B. Sin embargo, los diagramas de solubilidad no prueban por sí solos que se forme un complejo y únicamente ponen en manifiesto un incremento de la solubilidad del fármaco en presencia de la ciclodextrina. Puede ocurrir que este incremento se produzca por otros mecanismos, como por ejemplo, la incorporación del fármaco a micelas de ciclodextrina. Para concluir que se forman los complejos de inclusión, los datos de solubilidad deben complementarse con otros procedentes de la aplicación de técnicas que aporten información directa acerca de las estructuras que se forman en el sistema, como ¹H-RMN, fluorescencia, espectroscopia UV-vis o técnicas calorimétricas.

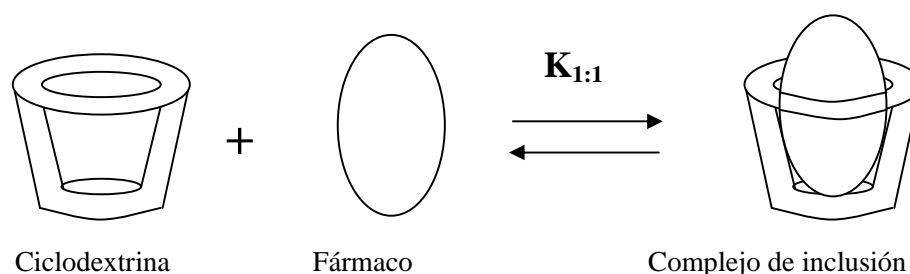


Figura 18. Complejo de inclusión ciclodextrina/fármaco con estequiometría 1:1.

La constante de formación de los complejos 1:1 ($K_{1:1}$, Figura 18) se estima a partir de la pendiente de los diagramas A_L, utilizando la siguiente expresión: ⁶⁴

$$K_{1:1} = \frac{\text{pendiente}}{S_0(1 - \text{pendiente})}$$

en la que S_0 representa la solubilidad intrínseca del fármaco. Son valores habituales los comprendidos entre 50 y 2000 M⁻¹.

3.8.5. MÉTODOS DE PREPARACIÓN DE COMPLEJOS DE INCLUSIÓN.

La naturaleza química de las interacciones en los complejos de inclusión, no puede ser catalogada como un clásico enlace no polar, tal como el que ocurre en la formación del complejo enzima-sustrato, puesto que en el complejo de inclusión está asociado con un cambio favorable en la entalpía y a su vez un cambio desfavorable en la entropía.⁴⁶

Varias propuestas se han hecho para interpretar este cambio favorable en la entalpia: ⁴⁶

- a) Interacciones hidrofóbicas y de van der Waals entre el fármaco y la ciclodextrina.
- b) Puentes de hidrógeno entre el fármaco y los grupos hidroxilo de la ciclodextrina.
- c) Liberación de energía por el desplazamiento de moléculas de agua en la cavidad de la ciclodextrina por el fármaco hidrofóbico.
- d) Energía liberada por cambios conformacionales.

En el aspecto experimental, existen distintos procedimientos para la preparación de complejos de inclusión entre ciclodextrinas y fármacos,⁶⁶ entre los que figuran la **disolución**, la cual consiste en adicionar un exceso de fármaco a una disolución acuosa de ciclodextrina, manteniendo el sistema en agitación, generalmente a temperatura ambiente, durante el tiempo necesario para que se alcance el equilibrio. Seguidamente, el sistema se filtra o se centrifuga para separar el principio activo no disuelto. La eliminación del agua por evaporación o liofilización permite obtener el complejo de inclusión en estado sólido.

Si la eficacia del proceso es baja, se requieren grandes cantidades de ciclodextrina para preparar el complejo. En estos casos, se puede promover la inclusión actuando sobre el grado de ionización del fármaco. En general, las formas no ionizadas dan lugar a complejos de inclusión más estables que las ionizadas, aún cuando su solubilidad intrínseca sea más baja. Una alternativa para mejorar la capacidad de complejación de las ciclodextrinas consiste en incorporar un tercer componente, que puede ser un hidroxiaácido o un polímero hidrofílico.^{67, 68} Con frecuencia se ha logrado un mayor incremento en la solubilidad de fármacos no ionizados mediante su ionización como paso previo al establecimiento del complejo de inclusión, a pesar de que éste se establezca más fácilmente con la forma no ionizada.

Otros métodos para la preparación de estos complejos de inclusión son la **co-precipitación** y la **molienda**; el primero de ellos consiste en preparar una disolución de ciclodextrina a la que se añade el fármaco a concentraciones altas, bajo agitación y aplicando calor. Una vez que se recupera la temperatura ambiente, se produce la precipitación del complejo, que se separa por filtración o centrifugación. Por el elevado consumo energético que implica, este método sólo es útil a nivel de laboratorio. En el segundo método, se pulverizan en un molino mezclas de fármaco y ciclodextrina. Esta técnica sólo es aplicable, con buenos resultados, a un número limitado de sistemas.

3.9. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LOS FÁRMACOS Y SISTEMAS DE LIBERACIÓN.^{69,70}

En sentido amplio, un fármaco se define como toda sustancia química capaz de interaccionar con un organismo vivo.⁶⁹ En términos generales, esta definición no prejuzga si es útil o no para el tratamiento de las enfermedades, ni aclara su naturaleza. Debe recordarse que muchos fármacos no tienen efectos terapéuticos sobre las enfermedades, aunque son capaces de provocar acciones y efectos farmacológicos. A los fármacos que pueden tener efectos terapéuticos se les denomina principios activos definidos como toda materia, cualquiera que sea su origen (humano, animal, vegetal, químico o de otro tipo) a la que se atribuye una actividad apropiada para constituir un medicamento. Debido a ello, un medicamento se define como toda sustancia o combinación de sustancias que se presente como poseedora de propiedades para el tratamiento o prevención de enfermedades en seres humanos o administrarse a éstos con el fin de restaurar, corregir o modificar las funciones fisiológicas ejerciendo una acción farmacológica, inmunológica o metabólica.⁶⁹ En ocasiones, se utilizan de forma indistinta las palabras fármaco y principio activo para denominar las sustancias administradas a los seres humanos o animales con finalidad terapéutica.

Para administrar un medicamento se debe presentar en una forma que sea adecuada, por ejemplo, una capsula o un comprimido. Ambas presentaciones son formas galénicas o farmacéuticas, que se definen como la disposición a que se adaptan los principios activos y excipientes para constituir un medicamento, es decir, la combinación de la forma en la que el producto farmacéutico es presentado por el fabricante y la forma en la que es administrada.

Un excipiente es aquella materia que, incluida en las formas galénicas, se añade a los principios activos o a sus asociaciones para servirles de vehículo, facilitar su preparación y estabilidad, modificar sus propiedades organolépticas o determinar las propiedades fisicoquímicas del medicamento y su biodisponibilidad.

Para separar exactamente los medicamentos de otros productos conviene definir que son los productos sanitarios y los productos de higiene personal.

Se denomina producto sanitario a cualquier instrumento, dispositivo, equipo, material u otro artículo, incluyendo accesorios y programas lógicos que intervengan en su buen funcionamiento, destinados por el fabricante a ser utilizados en seres humanos solo o en combinación con otros confines de a) diagnóstico, prevención, control, tratamiento o alivio de una enfermedad o lesión, e b) investigación, sustitución o modificación de la autonomía de un proceso fisiológico. Marcapasos, catéteres y stents son productos sanitarios. Un producto de higiene personal es el producto que, aplicado directamente sobre la piel o mucosa sana, tiene como finalidad combatir el crecimiento de microorganismos, así como prevenir o eliminar ectoparásitos del cuerpo humano o eliminar los riesgos sanitarios derivados del empleo de prótesis terapéuticas que se apliquen sobre el cuerpo humano.

De esta manera, las propiedades fisicoquímicas de un fármaco son de suma importancia para el diseño de una forma galénica, determinando con ello su aplicación como potencial candidato en sistemas de liberación controlada (sistemas cuya concentración de fármaco es constante y con efecto prolongado). Dicha determinación se basa en las características del sistema de liberación y en la fisiología y/o anatomía de la zona de aplicación en el organismo.

3.9.1. LIBERACIÓN DE FÁRMACOS DESDE POLÍMEROS (BIOMATERIALES).⁷¹

La tecnología aplicada a la liberación controlada de fármacos surgió durante la década de los 80's como una alternativa de los sistemas de liberación tradicionales. Para esta área, lo más importante es crear un sistema en el cual se obtenga una respuesta óptima, con efectos secundarios mínimos y una eficacia prolongada en el organismo.

En un sistema de liberación controlada, el agente bioactivo es incorporado a un soporte que generalmente es un material polimérico o una combinación de varios (Figura 19). La velocidad de liberación de la sustancia activa desde dicho sistema al medio que la rodea, viene determinada por las propiedades del polímero y depende de varios factores tales como el pH, la temperatura y los fluidos del organismo. Por consiguiente, los sistemas de liberación controlada deben poseer la capacidad de permitir la administración de sustancias bioactivas de una forma lenta y continua, durante períodos dilatados de tiempo.⁷²

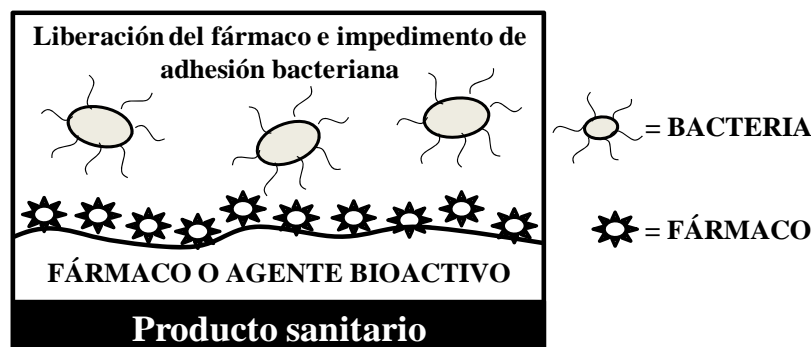


Figura 19. Representación de un producto sanitario diseñado para la liberación de fármacos.

Para toda sustancia farmacológicamente activa, existen dos concentraciones límite que deben estar perfectamente determinadas, las cuales dependen de la naturaleza propia del fármaco y de sus interacciones con el organismo. Una de ellas es la concentración mínima efectiva, por debajo de la cual las dosis administradas no tienen valor terapéutico y el fármaco resulta totalmente ineficaz, y por otro lado, la concentración mínima tóxica, por encima de la cual el fármaco origina la aparición de efectos secundarios, resultando tóxico para el organismo. Cabe señalar que la dosificación de un determinado fármaco debe estar siempre entre estos dos límites, de tal manera que se define el **índice terapéutico (IT)** como la relación entre la concentración mínima tóxica y la concentración mínima efectiva. Cuanto más alto sea el valor del índice terapéutico, mayor será la tolerancia y las posibilidades de dosificación de un fármaco.

$$\text{Índice terapéutico (IT)} = \frac{\text{Concentración mínima tóxica}}{\text{Concentración mínima efectiva}}$$

Con lo anterior se ratifica que la eficacia de un fármaco, en una aplicación específica, requiere el empleo de concentraciones adecuadas del mismo y una suministración en dosis diarias lo menos frecuentes posibles. Sin embargo, las técnicas convencionales utilizadas para el transporte y liberación de fármacos, proporcionan un control muy pobre sobre las concentraciones de la sustancia en el plasma sanguíneo a diferentes intervalos de tiempo. Los materiales poliméricos permiten liberar de forma controlada fármacos o sustancias bioactivas y permiten una gran variedad de rutas de administración (oral, parenteral, transdermal, nasal, ocular, etc.). En los casos en los que la actividad de los fármacos convencionales se pierde o se ve disminuida en el medio corporal, la combinación con macromoléculas tales como las ciclodextrinas, pueden mejorar la eficacia de los fármacos, reduciendo la inactivación biológica del agente terapéutico.⁷⁰

Los productos sanitarios basados en materiales poliméricos y diseñados para aplicaciones biomédicas, tales como catéteres o stents (Figura 19), toman en cuenta una serie de factores tales como la naturaleza de la enfermedad, las propiedades del fármaco, el tipo de terapia (puntual o crónica), la fisiología del paciente, la ruta de administración y las características del material polimérico empleado, incluyendo el mecanismo de liberación del fármaco. Los materiales poliméricos empleados en medicina incluyen polímeros sintéticos que imitan polímeros naturales con modificaciones químicas. Estas modificaciones se hacen para mejorar la biocompatibilidad, degradabilidad o para introducir otras propiedades deseadas. También se suelen conjugar químicamente con los fármacos, modificando eficazmente las características bioquímicas y farmacológicas del medicamento. La permeabilidad de los materiales poliméricos puede ser modificada y controlada; se les puede dar forma fácilmente y pueden ser empleados de forma sencilla con una gran variedad de métodos.

Por último, los sistemas avanzados de liberación controlada ofrecen un grado significativo de libertad en la elección del lugar de aplicación. Mientras que muchas formulaciones tradicionales deben ser inyectadas o ingeridas, los sistemas poliméricos de liberación controlada pueden ser aplicados virtualmente en cualquier cavidad corporal, de modo que estos soportes de fármacos pueden situarse en el organismo sobre o cerca de la zona a tratar, además, de que pueden ser implantados o adheridos externamente a la piel.

3.9.2. BIOCMPATIBILIDAD.

La biocompatibilidad de un material se puede definir como la capacidad que presenta el mismo para resistir cambios adversos en sus propiedades físicas, químicas, mecánicas y de superficie, cuando entra en contacto con fluidos corporales y tejidos vivos. Además, este material no debe dañar tejidos próximos al lugar de implante, ni causar reacciones tóxicas, alérgicas y tumorales, no debe destruir enzimas, proteínas plasmáticas o elementos de la sangre (si entra en contacto con ella), ni reducir los electrolitos de los tejidos o interferir en su metabolismo.⁷³

El término biomaterial hace inferencia a un dispositivo apropiado para su inclusión en sistemas vivos, que sustituye las funciones de los órganos y tejidos corporales. Estos materiales interaccionan con los sistemas biológicos para evaluar, tratar, reforzar o reemplazar un tejido, órgano o una determinada función del organismo.

En materia de implantes, con el desarrollo de la tecnología médica aparecieron polímeros que permitían ser implantados en el organismo sin causar reacciones adversas, tales como los implantes de válvulas cardíacas, de cadera, marcapasos e incluso implantes dentales de oseointegración. Entre estos también están incluidos aparatos de implantación temporal o parcial como catéteres.

A pesar del gran avance de la medicina, la introducción de un material polimérico al organismo genera un medio óptimo (adsorción de proteínas y electrolitos) para la formación de una biopelícula, que a su vez, ésta es causante de infecciones crónicas y persistentes en los seres humanos (Figura 20).⁷⁴

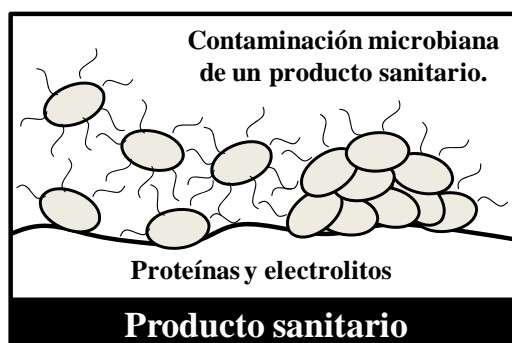


Figura 20. *Contaminación microbiana de un producto sanitario cuando se introduce al organismo.*

Por ello, la producción de polímeros capaces de ser implantados en el organismo y de combatir simultáneamente la formación de estas colonias de microorganismos, es de vital importancia para la rama médica y científica. Basados en éste principio se propone el trabajo doctoral presentado en esta tesis.

3.9.3. FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS EN PRODUCTOS SANITARIOS.

Las biopelículas son colonias microbianas que se adhieren a diferentes superficies mediante la secreción de un exopolímero, el cual es producido por los mismos microorganismos formando una matriz adherente, en donde éstos quedan atrapados y comienzan a organizarse en colonias con diferentes requerimientos metabólicos (Figura 21).

En general, estas colonias microbianas que pueden estar conformadas por bacterias, hongos y protozoos, presentan características como heterogeneidad, diversidad de microambientes, resistencia a antimicrobianos y capacidad de comunicación intercelular, que las convierte en complejos difíciles de erradicar de las superficies donde se establecen. En el hombre, las biopelículas se asocian con un gran número de procesos infecciosos que por lo general son de transcurso lento, ocasionando que su control sea costoso.

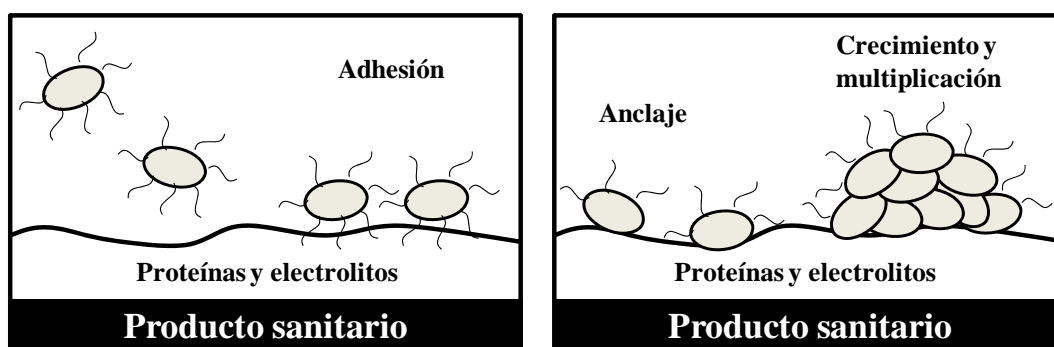


Figura 21. Representación esquemática para la formación de una biopelícula sobre un producto sanitario.

Con el desarrollo de la tecnología médica, aparecieron materiales que permiten ser implantados en el organismo sin causar reacciones adversas, como los aparatos de implantación temporal o parcial como catéteres. A pesar del gran avance de la medicina, la introducción de un material nuevo al organismo, simplemente genera un medio óptimo para la formación de una biopelícula. Así, bacterias como *Staphylococcus epidermis*, con frecuencia se encuentra relacionada con infecciones crónicas o tardías en productos sanitarios implantados, gracias a su bajo potencial patogénico, mientras que *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y otros microorganismos Gram negativos, por lo general, se encuentran asociados con la colonización y generación de infecciones agudas.

Cuando se pretende combatir a estas colonias por medio de agentes antimicrobianos, se encuentra que las colonias organizadas e incluidas en el exopolímero, forman una capa impermeable en donde sólo los microorganismos más superficiales se ven afectados por estos medios de control.

La incorporación de agentes antimicrobianos en las superficies de los materiales implantados, pueden llegar a ser muy efectivos en la prevención del desarrollo de biopelículas y las infecciones asociadas a ellas, evitando los efectos colaterales sistémicos derivados del uso de altas dosis de antibióticos, y superando a la vez, las dificultades provenientes de la resistencia bacteriana producidas en el exopolímero (Figura 22).

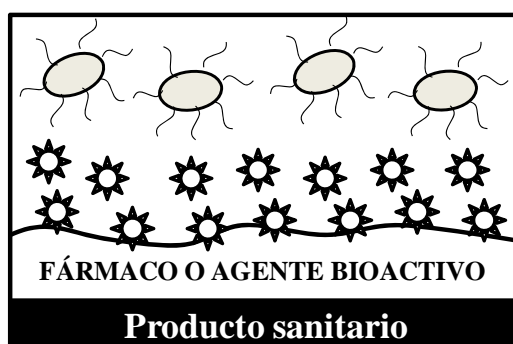


Figura 22. Representación de un producto sanitario que impide el crecimiento y desarrollo de una biopelícula.

Agentes antimicóticos pueden ser incorporados mediante adsorción física sobre la superficie de un material polimérico, diseñado para la liberación controlada de fármacos. Sin embargo, a pesar de los progresos en este ámbito, el desarrollo de materiales adecuados para la producción de catéteres e implantes, con capacidad de liberar localmente cantidades adecuadas y a velocidades óptimas, sigue siendo una difícil tarea.⁷⁵

La importancia de esta investigación se centra en modificar superficies de polietileno y polipropileno mediante el injerto de GMA y la posterior inmovilización de ciclodextrinas, para generar sistemas que absorban y liberen de manera controlada diclofenaco y miconazol; estos polímeros sin modificar son de los más empleados para la fabricación y diseño de catéteres, sin embargo, no tiene capacidad suficiente para erradicar la formación de biopelículas.

3.9.4. CICLODEXTRINAS EN LA LIBERACIÓN DE FÁRMACOS.

Con respecto al campo de la tecnología farmacéutica, las ciclodextrinas se introdujeron con el propósito de dar solución a problemas tales como la baja solubilidad, la inestabilidad y la volatilidad de algunos fármacos.⁷⁶

Posteriormente, se desarrollaron otras interesantes aplicaciones como la reducción de la irritación gástrica y ocular, la mejora de las propiedades organolépticas (sabor, color y olor), la transformación de fármacos líquidos en polvos microcristalinos o amorfos, o la compatibilidad de fármacos entre sí o con excipientes.⁷⁷ En los últimos años, el potencial de las ciclodextrinas como componentes funcionales de sistemas de liberación controlada de fármacos está despertando un interés creciente.⁶⁰

3.9.4.1. HIDROSOLUBILIDAD DE FÁRMACOS.

Es la aplicación más relevante y también más directa de las ciclodextrinas.⁵⁴ La introducción de ciclodextrinas sustituidas ha supuesto un gran avance en esta línea y ha permitido resolver algunos de los difíciles problemas de formulaciones que plantean los fármacos de muy baja solubilidad.⁷⁸⁻⁸⁰ Por ejemplo, la α -ciclodextrina y la dimetil- β -ciclodextrina permiten solubilizar eficazmente péptidos como la ciclosporina A.⁶⁰ En general, el efecto hidrosolubilizante de las ciclodextrinas se puede mejorar incorporando aditivos, como electrolitos o polímeros hidrofílicos, que incrementan su afinidad por el fármaco.^{81, 82} Los polímeros hidrofílicos permiten reducir la cantidad necesaria para solubilizar la dosis de fármaco hasta un 40-50%.^{59, 83, 84}

3.9.4.2. ESTABILIDAD QUÍMICA Y FÍSICA DE FÁRMACOS.

El efecto de las ciclodextrinas sobre la estabilidad química de los fármacos resulta difícilmente predecible; en algunos casos es favorable, en otros no se manifiesta y en ocasiones incluso se aceleran los procesos de degradación.⁶¹ Las aplicaciones más relevantes en este campo se relacionan con la protección de ciertos fármacos frente a la oxidación, la hidrólisis o al calor.⁸⁵⁻⁸⁷

Se conoce que la estructura cristalina de los fármacos condiciona de manera decisiva su solubilidad y su velocidad de disolución, lo que puede tener un importante efecto sobre su biodisponibilidad.⁸⁸ En general, los fármacos amorfos presentan una solubilidad más alta que en sus formas cristalinas. Sin embargo, el uso de fármacos en estado amorfo puede plantear problemas de estabilidad física. Para prevenir las transiciones polimórficas que pueden sufrir ciertos fármacos, como el nifedipino y el cloramfenicol, se ha acudido a la formación de complejos de inclusión.⁸⁹⁻⁹¹ Algunos derivados amorfos de las ciclodextrinas, como la hidroxipropil- β -ciclodextrina, también se han mostrado útiles para evitar el crecimiento cristalino.⁹² Por otra parte, la incorporación a un complejo de inclusión reduce la volatilidad de fármacos con elevada presión de vapor, contribuyendo a la estabilización de sus formulaciones.⁹³

En la formulación de fármacos peptídicos, se ha comprobado que la sulfobutiléter- β -ciclodextrina (SB4-CD) retrasa el proceso de agregación de la insulina, facilitando su formulación en formas de administración subcutánea; de esta manera, el uso de éste y otros derivados hidrofílicos de β -ciclodextrina evitan la absorción de péptidos por los componentes hidrofóbicos de los materiales de acondicionamiento.⁹⁴⁻⁹⁶

3.9.4.3. MEJORA DE LA BIODISPONIBILIDAD.

La biodisponibilidad oral de fármacos de Clase II (baja solubilidad, alta permeabilidad) y IV (baja solubilidad, baja permeabilidad) del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica, se puede mejorar incorporándolos a complejos con ciclodextrinas.^{59, 88} Los derivados de ciclodextrina más hidrofílicos se han mostrado especialmente aptos para esta aplicación, y han permitido mejorar sensiblemente la biodisponibilidad de esteroides, glucósidos cardiotónicos, antiinflamatorios no esteroídicos (AINES), barbitúricos, antiepilépticos, benzodiacepinas, antidiabéticos, antifúngicos, antibióticos e inmunosupresores.⁹⁷⁻¹⁰¹

La formación de complejos puede servir también para incrementar la absorción nasal y subcutánea de polipéptidos como la calcitonina, previniendo su degradación enzimática y promoviendo su penetración.⁷⁷ Por ejemplo, se ha comprobado que la α -ciclodextrina reduce el aclaramiento mucociliar de acetato de leuprolide tras su administración nasal y que la dimetil- β -ciclodextrina promueve la absorción de insulina cuando se administra por esta vía.^{102, 103} La administración de estradiol en forma de complejos de inclusión formando parte de comprimidos sublinguales acelera su absorción y reduce el efecto de primer paso hepático.¹⁰⁴

3.9.4.4. PROPIEDADES QUÍMICAS DEL DICLOFENACO.^{105a, 106a}

El diclofenaco, también conocido como diclofenac, es un analgésico usado para reducir inflamaciones, desde dolores causados por heridas menores hasta dolores muy intensos como los de la artritis. El tiempo de acción de una dosis (de 6 a 8 horas) es generalmente mayor, que el corto lapso indicado en los productos comerciales. Esto puede deberse en parte a una concentración elevada del fármaco en los fluidos sinoviales. Este analgésico es un derivado fenilacético, conocido químicamente como ácido 2-[2-[(2,6-diclorofenil)amino]fenil]acético (figura 23), el cual posee una fórmula química reducida $C_{14}H_{11}O_2Cl_2N$ (PM = 318.1 g/mol, para su forma en sal de sodio), un coeficiente de partición (P_{oct}) de 28.4 y un pKa de 3.9 a 25 °C,^{105b} además, de ser soluble en fluido intestinal (26 mg/mL) y tener baja solubilidad en agua (~36 mg/mL).^{106b}

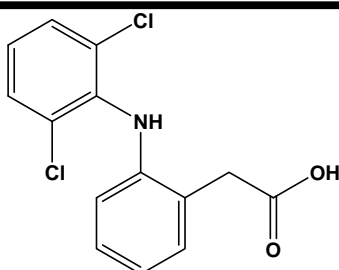


Figura 23. Estructura química del diclofenaco.

El mecanismo de acción no está totalmente investigado, pero se cree que el mecanismo primario, responsable de su acción antiinflamatoria y analgésica, es la inhibición de la síntesis de prostaglandinas debido a que impiden la acción de la enzima ciclooxigenasa (COX) que facilita la conversión del ácido araquidónico en prostaglandinas. La inhibición de esta enzima, disminuye la producción de prostaglandinas en el epitelio del estómago, haciéndolo mucho más vulnerable a la corrosión por los ácidos gástricos. Este es el efecto secundario del diclofenaco. El diclofenaco posee una preferencia baja a moderada (aproximadamente unas diez veces) a bloquear la isoenzima COX2, y se cree que por eso posee una baja incidencia de efectos negativos gastrointestinales semejantes a los provocados por la indometacina y la aspirina.

Existen evidencias de que el diclofenaco inhibe las funciones de la lipooxigenasa, por lo que reduce la formación de leucotrienos (sustancias inflamatorias). También se especula que inhibe la producción de la enzima fosfolipasa A2 en su mecanismo de acción. Estas acciones adicionales explican su alta efectividad. El uso de diclofenaco a largo plazo, al igual que con otros antiinflamatorios, predispone a la aparición de úlceras pépticas, por lo que muchos pacientes con esta propensión reciben tratamiento de diclofenaco en combinación con misoprostol, un análogo sintético de las prostaglandinas que protege la mucosa gástrica en un solo producto. En la mayoría de los países, este medicamento es suministrado en sales de sodio. El diclofenaco también está disponible de manera genérica en muchas formulaciones de otros medicamentos. Sus efectos secundarios son aprovechados para aliviar dolores menores y fiebres asociadas con infecciones comunes.

Por otro lado, se conoce que el diclofenaco siendo un anti-inflamatorio no esteroideo (NSAID) es capaz de prevenir la adherencia microbiana sobre las superficies, ya que inhibe la síntesis de prostaglandinas producidas por *Candida albicans*. Empleando una concentración de 1mM de diclofenaco fue posible inhibir la formación de la biopelícula de *C. albicans* SC5314 en un 70%.^{106c}

3.9.4.5. PROPIEDADES QUÍMICAS DEL MICONAZOL.^{107, 108}

Es un antifúngico sintético, caracterizado por la presencia en su estructura de un anillo azólico unido a otros anillos aromáticos. Fue el segundo compuesto azólico de empleo clínico como antifúngico. En la Figura 24, se muestra la estructura química del miconazol.

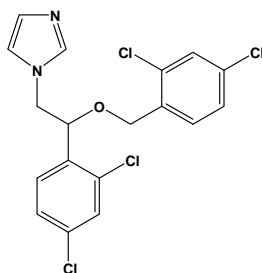


Figura 24. Estructura química del miconazol.

El miconazol, conocido químicamente como 1-(2-((2,4-diclorofenil)-2-(2,4-diclorofenil)-metoxi)etil)-1-imidazol (PM = 479.1 g/mol, para su forma en nitrato), es un fármaco antimicótico que posee una CMI frente a *Candida* sp. entre 0.1 y 25 $\mu\text{g/mL}$. Es soluble en disolventes orgánicos y, al igual que el resto de los imidazoles tópicos, su absorción por vía oral, vaginal o cutánea es muy limitada. Sin embargo, la posibilidad de ser administrado por vía intravenosa rápidamente hizo posible que fuera empleado para contrarrestar una gran variedad de candidiasis. Una desventaja del miconazol es su baja solubilidad en agua ($<1.03 \mu\text{g/mL}$), y a menudo, es formulado junto con un surfactante neutro, Cremophor® (polyoxyl 35 castor oil), para su administración parenteral; sin embargo, éste último está asociado con varios efectos colaterales que traen consigo reacciones alérgicas. En la actualidad, se buscan diferentes surfactantes que al ser formulados junto al miconazol no tengan efectos adversos al ser administrados en el organismo, y sin duda, uno de los mejores de ellos son las ciclodextrinas, ya que además de mejorar la solubilidad del miconazol en solución acuosa, son biocompatibles y no han mostrado toxicidad en el organismo. Por otro lado, esta base débil tiene un pKa de 6.7 y un punto de fusión de 142 °C.

El mecanismo de acción para este antifúngico, y en general para todos los azoles, es el de bloquear la síntesis de ergosterol en *Candida albicans*, al inhibir la 14- α -demetilasa, una enzima acoplada al citocromo P-450 y que transforma lanosterol en ergosterol. Esta inhibición altera la fluidez de la membrana, aumentando así la permeabilidad e inhibiendo el crecimiento y la replicación celular.

Además de la inhibición de la síntesis de ergosterol, este antimicótico posee un efecto directo sobre la membrana celular, lo que conlleva a un efecto fungicida. Su metabolización es hepática y se elimina fundamentalmente por heces, aunque un 15-20% lo hace por orina en forma de metabolito inactivo.

3.9.4.6. COMPLEJOS FÁRMACO/CICLODEXTRINA.

Las ciclodextrinas pueden jugar papeles diferentes en la formulación de sistemas de liberación controlada de fármacos, dependiendo de su polaridad y grado de ionización. Los derivados hidrofílicos mejoran la solubilidad y la velocidad de disolución de principios activos de baja hidrosolubilidad, y se utilizan mayoritariamente en la formulación de sistemas de liberación inmediata.^{77, 104, 109} Los derivados ionizables, que presentan sustituyentes con grupos ácido débil, se pueden utilizar para la formulación de sistemas de liberación retardada y entérica. La solubilidad de este tipo de ciclodextrinas es muy dependiente del pH. A pH neutro o alcalino, los grupos ácido se ionizan y la solubilidad se incrementa, induciéndose la liberación del fármaco.¹¹⁰ Los derivados hidrofóbicos, en particular los alquilados y los esterificados, permiten prolongar en el tiempo la liberación de fármacos hidrosolubles, tanto convencionales como peptídicos, cuando se administran por vía oral o transdérmica.^{111, 112} Las ciclodextrinas aciladas, si se seleccionan adecuadamente los sustituyentes, sirven para modular la cesión de fármacos, y las per-*O*-aciladas con sustituyentes de tamaño no superior a seis átomos de carbono, como la perbutiril- β -ciclodextrina, permiten obtener complejos que combinan hidrofobicidad y mucoadesividad elevadas. Se ha acudido a esta aproximación para desarrollar formulaciones orales de molsidomina y salbutamol.^{113, 114} Derivados etilados de la β -ciclodextrina se han utilizado con éxito para conseguir una liberación controlada de acetato de buserelina a partir de soluciones oleosas administradas por vía endovenosa.¹¹⁵

Cuando el objetivo que se plantea es modular el proceso de cesión, se puede acudir al uso de combinaciones de ciclodextrinas. Sistemas constituidos por complejos de un derivado hidrofílico (hidroxipropil- β -ciclodextrina) -que promueve la cesión rápida de una fracción de la dosis, y de un derivado hidrofóbico (triacetil- β -ciclodextrina)- responsable de la cesión prolongada de la fracción restante- se han mostrado eficaces para conseguir una liberación controlada de nicardipino.^{116, 117} En sistemas ternarios captoprilo/hidroxipropil- β -ciclodextrina/perbutanoil- β -ciclodextrina, se ha puesto de manifiesto un efecto sinérgico de las dos ciclodextrinas sobre el control de la cesión, que se ha atribuido a la capacidad filogénica del derivado hidrofílico.¹¹⁸

El campo de aplicación de las ciclodextrinas se ha extendido hasta el extremo de que hoy en día constituyen el punto de partida de estructuras poliméricas capaces de aunar en una misma molécula las propiedades de las matrices poliméricas y la capacidad de las ciclodextrinas para formar complejos de inclusión con diferentes principios activos. De este modo es posible evitar que el fármaco una vez disociado del complejo precipite por dilución en los fluidos corporales. La precipitación de un determinado fármaco tras administrarlo incorporado a una forma farmacéutica en la que se encuentra formulado, estableciendo un complejo de inclusión con una ciclodextrina, depende de la solubilidad intrínseca del mismo, de la fuerza de la interacción entre el fármaco y la ciclodextrina (caracterizada por la constante de formación del complejo) y de la estequiometría del complejo establecida sobre la base de su diagrama de solubilidad.¹¹⁹

Cuando la relación entre la solubilidad del fármaco y la concentración de la ciclodextrina es de tipo lineal, rara vez se produce la precipitación del fármaco por efecto de la dilución en los fluidos fisiológicos, mientras que cuando se pierde la linealidad cabe esperar que el fármaco precipite modificándose de forma importante su biodisponibilidad. De hecho, cuando el complejo de inclusión fármaco/ciclodextrina presenta una estequiometría 1:1, la solubilidad del fármaco aumenta de manera lineal a medida que se incrementa la concentración de ciclodextrina. En este caso no es tan relevante la fracción de fármaco libre tras la administración, ya que a pesar de la dilución y la rápida disociación del complejo, la concentración de fármaco permanece por debajo de su solubilidad intrínseca.

3.9.4.7. INTERACCIÓN MICONAZOL/CICLODEXTRINAS.

El miconazol ha demostrado, *in vitro*, ser eficiente en contra de hongos dermatofitos, dimórficos, filamentosos (*Aspergillus*), levaduras, hongos causantes de micetoma y bacterias Gram+, resultando útil en el tratamiento de la *P. versicolor*, dermatofitosis y candidiasis cutánea.¹²⁰⁻¹²² Químicamente, este fármaco posee propiedades tales a una base débil, con solubilidad limitada en agua (<1.03 µg/mL); por tal desventaja, el empleo de ciclodextrinas como vehículos para su administración ha aumentado en gran medida, debido a que éstas mejoran sus propiedades de solubilidad acuosa, estabilidad e incrementan su biodisponibilidad.^{61, 123} El empleo de diferentes surfactantes junto con el miconazol, para la elaboración de formulaciones parenterales, hace que éstos provoquen diversas reacciones adversas en el organismo, por ejemplo el Cremophor®, el cual induce la aparición de hiperlipidemia y otro tipo de alergias en pacientes tratados con estas formulaciones.

Debido a estas desventajas, se ha logrado gran interés en conseguir otro tipo de surfactantes. Este es el caso del empleo de ciclodextrinas, las cuales forman complejos de inclusión con el miconazol, trayendo como resultado un incremento en la solubilidad acuosa de dicho fármaco, y principalmente, el beneficio de la baja toxicidad de éstas.¹⁰⁸

Puesto a que el miconazol presenta propiedades químicas de una base débil, su solubilidad es dependiente del pH del medio. La combinación de hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD) o sulfobutiléter 7- β -ciclodextrina (SBE7- β -CD) y ácido láctico, permite disolver más 10 mg/mL de miconazol, logrando con ello una mejor disolución de dicho fármaco para la preparación de formulaciones parenterales, sin la necesidad de emplear surfactantes tóxicos.¹⁰⁸

Las investigaciones realizadas con respecto a la formación de complejos de inclusión entre ciclodextrinas y miconazol, han determinado una mejora en la solubilidad de dicho fármaco y, por lo tanto, una mejor absorción en el organismo. El complejo de inclusión formado entre β -ciclodextrina y miconazol, ocurre en una relación 1:1 molar, determinado mediante el empleo de diferentes técnicas espectroscópicas, además, de encontrar que el anillo aromático del miconazol es el que entra en la cavidad de la β -ciclodextrina.¹²⁴

3.9.4.8. INTERACCIÓN DICLOFENACO/CICLODEXTRINAS.

Al igual que otros fármacos no esteroideos antiinflamatorios (NSAIDs, por sus siglas en inglés: non-steroidal anti-inflammatory drugs), el diclofenaco de sodio, un derivado del ácido arilalcanoico, ha demostrado propiedades analgésicas y antipiréticas, debido a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas.¹²⁵⁻¹²⁹

Se ha usado principalmente en el tratamiento de la artritis reumatoide, osteoartritis, así como también, en el reumatismo no articular.¹²⁵ Además de poseer propiedades antimicrobianas contra bacterias Gram-positivas y negativas, mediante la inhibición de síntesis la de ADN bacterial.¹³⁰ Químicamente, el diclofenaco consiste de un grupo fenilacetato, un grupo amino secundario y un anillo aromático 1,6-diclorado.

A pesar de todas estas ventajas, este fármaco tiene limitada solubilidad en agua, especialmente en el jugo gástrico, además de ser inestable en solución acuosa.¹³¹ Está limitada solubilidad en medio ácido, genera problemas para su administración de forma oral, así como también en las formulaciones empleadas para dispositivos biomédicos con liberación controlada.

Una forma de evitar estas limitaciones es la complejación del diclofenaco con ciclodextrinas.¹³¹ Esta interacción se ha estudiado en gran medida, tanto en solución como en estado sólido mediante el empleo de diferentes técnicas experimentales tales como RMN, IR y difracción de rayos X.¹³²⁻¹³⁵ Se han publicado diferentes estequiometrias para el complejo de inclusión diclofenaco/ciclodextrina, lo cual va a depender del estado de agregación y la técnica experimental para la formación de dicho complejo.

Se ha publicado la existencia en solución de dos complejos isoméricos diclofenaco/ β CD con una estequiometría 1:1; en uno de ellos se presenta la inclusión del anillo aromático 1,6-diclorado, mientras que en el otro, se encuentra incluido en la cavidad de dicha ciclodextrina el anillo de fenilacetato.^{132, 136}

Además de estos, se conoce el complejo de inclusión diclofenaco/ciclodextrina con estequiometría 1:2, en el cual se involucra la inclusión de ambos anillos aromáticos del diclofenaco en dos moléculas de β CD.¹³¹ Por otro lado, también se sabe de la existencia en estado sólido del complejo formado por la inclusión del miconazol en la cavidad de la β CD, en el cual las cavidades de ésta son alojadas preferentemente por el fenilacetato, presentando una estequiometría para el complejo 1:1.^{137, 135}

Mediante la espectroscopia Raman, también se ha podido conocer la manera en la cual se forma el complejo de inclusión diclofenaco/ β CD, determinando que el pH es un factor determinante para la formación de dicho complejo; a pH menor de 6, el complejo isomérico formado es aquel en el cual el fenilacetato se introduce en la cavidad, mientras que a pH mayor de 6, el complejo que se forma tiene al anillo aromático 1,6-diclorado alojado en la cavidad.¹³⁸

3.10. MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN.

3.10.1. CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC).¹³⁹⁻¹⁴¹

La determinación de las propiedades térmicas de sistemas poliméricos, es fundamental para su completa caracterización; para ello se emplea la calorimetría diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en inglés: Differential Scanning Calorimetry), que es considerada como la técnica termoanalítica óptima, para llevar a cabo la medición de las transiciones térmicas de dichos sistemas.

El principio fundamental de esta técnica se basa, en la medida de diferencia de calor entre una muestra y algún material inerte de referencia, en función de la temperatura (Figura 25). Cuando un material polimérico experimenta una transformación física tal como una transición de fase, se necesitará un balance de calor entre la muestra y la referencia, esto para mantener a ambas a la misma temperatura. Por ejemplo, en el proceso endotérmico de fusión, se requerirá que fluya más calor a la muestra, esto para aumentar su temperatura a la misma velocidad que lo hace la de referencia. Caso contrario a los procesos exotérmicos, tales como la cristalización, donde se requiere menos calor para alcanzar la temperatura de la muestra.

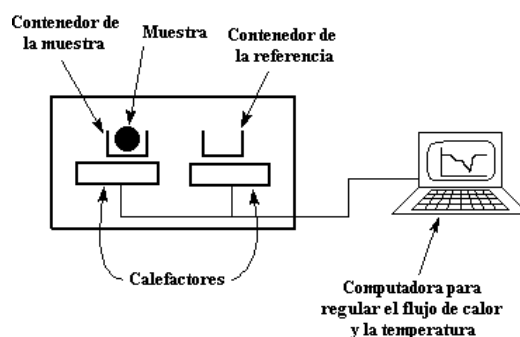


Figura 25. Representación del funcionamiento de un equipo de DSC.

Con la determinación de la diferencia de flujo de calor entre una muestra y una referencia, es posible medir la cantidad de calor absorbido o eliminado durante dichas transiciones térmicas, es decir, obtener la capacidad calorífica (ΔC_p) de la muestra en función de la temperatura, además, de otros parámetros termodinámicos globales del sistema, como los cambios de entalpía (ΔH), de entropía (ΔS), de energía de Gibbs (ΔG). Además de estos parámetros termodinámicos, también se pueden caracterizar procesos como la fusión (T_f) y la cristalización (T_c), así como también, la temperatura de transición vítrea (T_g), característica de los sistemas poliméricos.

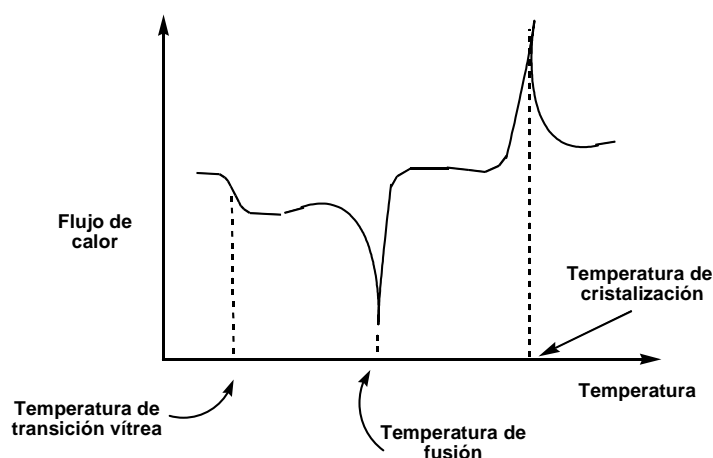


Figura 26. Representación completa de un termograma de DSC.

El resultado de llevar a cabo un experimento en DSC, es un termograma donde se muestra una curva de flujo calorífico con respecto a la temperatura o al tiempo (Figura 26). Cuando se calienta un polímero, hasta alcanzar cierta temperatura, la curva del termograma dará una discontinuidad hacia abajo, como la que se presenta en la Figura 26, lo que significa que hay un mayor flujo de calor y que se ha obtenido un aumento en la capacidad calorífica. Lo anterior sucede porque el polímero ha experimentado una transición vítrea. Por arriba de la temperatura de transición vítrea, se llega al proceso endotérmico denominado fusión, en el cual, las cadenas poliméricas comenzarán a separarse y moverse libremente, para ello es necesario absorber calor del sistema. Cuando se supera la temperatura de fusión, los sistemas poliméricos han ganado suficiente energía para adoptar un arreglo molecular ordenado, es decir, un arreglo cristalino. Al alcanzar dicho acomodo, estos sistemas liberan calor, lo que traerá consigo una disminución en el flujo de calor, llegando al proceso exotérmico conocido como cristalización.

A diferencia de las transiciones de cristalización y fusión, la transición vítrea no muestra ninguna depresión, así como tampoco ningún pico. Esto se debe a que en dicha transición no hay calor latente liberado ni absorbido, pero la fusión y la cristalización sí involucran liberación o absorción de calor. Lo único que se muestra en la transición vítrea es un cambio en la capacidad calorífica, pero no hay calor latente involucrado, por lo cual se considera a ésta una transición de segundo orden. Las transiciones que implican cambios en el calor latente, como son la fusión y cristalización, se denominan transiciones de primer orden.

3.10.2. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM).¹⁴²

La microscopía electrónica de barrido, también conocida como Scanning o SEM (por sus siglas en inglés: Scanning Electron Microscopy), es una técnica espectroscópica que tiene como finalidad el análisis de superficies, es decir, observar detalles muy pequeños o partículas sólidas que no son posibles de resolver con la longitud de onda de la luz visible (380 a 750 nm), empleando para ello un haz de electrones con una longitud de onda (λ) de alrededor de 2800 veces menor que la de la luz, lo que permite obtener resoluciones de entre 3 y 4 nm.

El fundamento de este método se basa en el barrido de la superficie de una muestra, por medio de un haz de electrones cuyo diámetro se disminuye, aproximadamente, entre 4 y 200 nm, por lentes electromagnéticas formadas por el paso de corriente a través de un conjunto de bobinas. Después de que el haz de electrones interacciona con la muestra, se generan varios tipos de señales o formas de radiación, las cuales son colectadas por un detector. Finalmente, se genera una imagen la cual puede ser almacenada en una placa fotográfica o digitalmente (Figura 27).

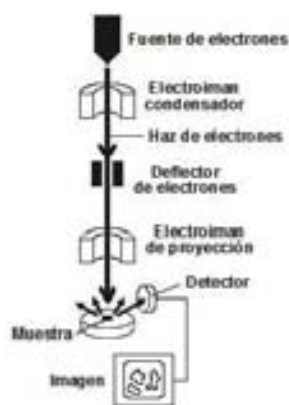


Figura 27. Partes elementales de un microscopio electrónico de barrido.

De todas las formas de radiación resultantes de la interacción del haz de electrones y la muestra, hay dos fundamentales en la microscopía de barrido: los electrones secundarios y los electrones retrodispersados. La señal de electrones secundarios es la que se emplea normalmente para obtener una imagen de apariencia tridimensional de la superficie de la muestra en cuestión.

La preparación de las muestras es relativamente fácil pues la mayoría de los microscopios electrónicos de barrido sólo requieren que estas sean conductoras, en el caso de que las muestras no tengan esta propiedad, se recubren con una capa de metal delgado, y es barrida con el haz de electrones. Cabe señalar que, los microscopios electrónicos de barrido sólo pueden ofrecer imágenes en blanco y negro puesto que no utilizan la luz, a diferencia de los microscopios ópticos.

3.10.3. ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO (FTIR).

Los diferentes tipos de espectroscopias moleculares, se basan en la interacción que tiene la radiación electromagnética y la materia. Dependiendo de la región del espectro en la que se trabaje y, por tanto, de la energía de la radiación utilizada (caracterizada por su longitud o número de onda), esta interacción será de diferente naturaleza, ya sea por medio de excitación de electrones, vibraciones y/o rotaciones moleculares.¹⁴³ Una molécula, al absorber la radiación infrarroja, cambia su estado de energía vibracional y rotacional. Las transiciones entre dos estados rotacionales requieren muy poca energía, por lo que solo es posible observarlas específicamente en el caso de muestras gaseosas. En el caso del estudio del espectro infrarrojo (IR) de muestras sólidas y líquidas, sólo se tienen en cuenta los cambios entre estados de energía vibracional.¹⁴⁴ La medida más común en el infrarrojo es la que se basa en la absorción (o la intensidad transmitida), aunque también se han desarrollado espectroscopias basadas en el fenómeno de la reflexión, como la reflectancia total atenuada (ATR).

Aunque el espectro infrarrojo se extiende desde 10 a 14,300 cm^{-1} , se divide en tres zonas: el IR lejano, donde se producen las absorciones debidas a cambios rotacionales, el IR medio, donde se presentan las vibraciones fundamentales y, el IR cercano, donde se producen absorciones debidas a sobretonos y combinaciones de las bandas fundamentales (Tabla 2).

Tabla 2. División del espectro de infrarrojo (IR).			
Región	Transiciones características	Longitud de onda (nm)	Número de onda (cm^{-1})
Infrarrojo cercano	Sobretonos y combinaciones	700 - 2500	14300 – 4000
Infrarrojo medio	Vibraciones fundamentales	2500 - 5×10^4	4000 – 200
Infrarrojo lejano	Rotaciones	5×10^4 - 10^6	200 – 10

3.10.3.1. REFLECTANCIA TOTAL ATENUADA (ATR).

El principio de esta medida se basa en el fenómeno de la reflexión total interna y la transmisión de la luz a través de un cristal con un elevado índice de refracción (Figura 28). La radiación penetra más allá de la superficie del cristal donde se produce la reflexión total, en forma de onda evanescente.¹⁴⁵ Si en el lado exterior del cristal se coloca un material absorbente (muestra), la luz que viaja a través del cristal se verá atenuada (de ahí el nombre de la técnica) y se puede registrar el espectro de la muestra.

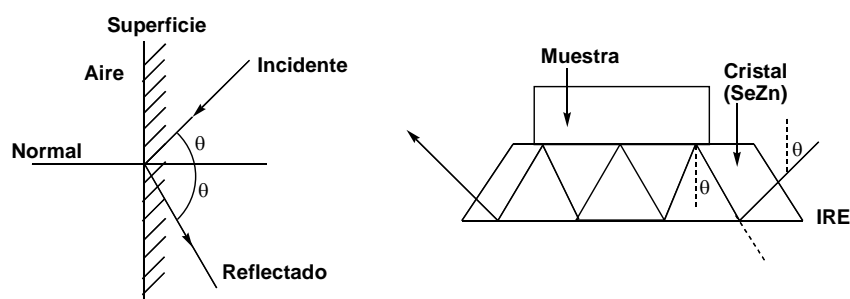


Figura 28. Reflexión total interna y elemento de reflexión interna (IRE) utilizado en el sistema ATR.

Esta técnica de caracterización es muy efectiva para el análisis de sólidos y líquidos, especialmente en las regiones del infrarrojo medio y del infrarrojo cercano. Para obtener medidas adecuadas, es necesario que exista un contacto íntimo entre la muestra y el cristal del ATR, por lo que esta técnica se utiliza principalmente en líquidos o en sólidos que se puedan compactar contra el cristal aplicando presión.

CAPITULO 4. PARTE EXPERIMENTAL.

4.1. SÍNTESIS DE LOS COPOLÍMEROS PE-g-GMA Y PP-g-GMA.

Para la síntesis del copolímero de injerto PE-g-GMA, se emplearon láminas de PE con dos espesores diferentes, 100 μm (PE de baja densidad, LDPE. PEMEX, México) y 1 mm (PE de alta densidad, HDPE. Goodfellow, UK), con una superficie de 1.2 x 4 cm y 1 x 4 cm, respectivamente. En el caso del copolímero de injerto PP-g-GMA, se emplearon láminas de PP con dos espesores distintos, 50 μm (PEMEX, México) y 1 mm (Goodfellow, UK), con una superficie de 1.2 x 4 cm y 1 x 4 cm, respectivamente. Por otro lado, el GMA fue adquirido en Aldrich, mismo que se empleó como se recibió.^{146a} Es importante destacar que los inhibidores contenidos en éste no impiden la reacción de copolimerización, obteniéndose buenos resultados de injerto. Los disolventes como metanol y acetona de grado analítico (Baker), fueron empleados tal como se recibieron. A continuación, se muestra la forma experimental de sintetizar los copolímeros de injerto PE-g-GMA y PP-g-GMA, empleando para ello el método de preirradiación oxidativa (Figura 29).

1. Se cortaron láminas de PE y PP con las características antes mencionadas, las cuales se extrajeron dos veces con metanol durante 30 min (por cada extracción). Dichas láminas se secaron empleando para ello una estufa de vacío a 40 °C durante 5 h.
2. Posteriormente, las láminas se irradiaron en atmosfera de aire a la dosis e intensidad de dosis deseada. La fuente de irradiación que se empleó fue el ^{60}Co Gamma Beam 651PT (Figura 30), ubicado en el Instituto de Ciencias Nucleares (ICN) de la UNAM. Éste presenta una actividad aproximada de 73,000 Ci (febrero, 2008) y fue diseñado por Nordion International Inc.^{146b} Es importante destacar el uso del método de Fricke modificado ($\text{Fe}^{+2} \rightleftharpoons \text{Fe}^{+3} + \text{e}^-$) para llevar a cabo la dosimetría del irradiador.^{146c}

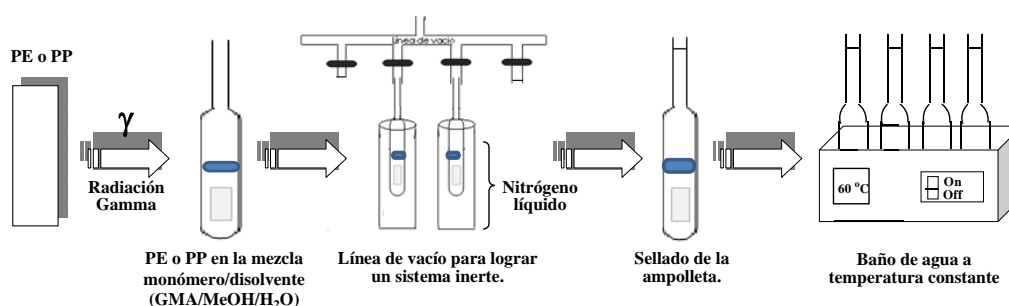


Figura 29. Procedimiento experimental del método de preirradiación oxidativa.

- Una vez irradiadas las láminas, se colocaron por separado en ampollas de vidrio agregando 8 mL de una solución de GMA al 20% y un sistema de disolventes formado por MeOH/H₂O al 80%, en una relación 8:2 (%v). Sin embargo, en los estudios donde se evaluó el efecto de la concentración de GMA con respecto al rendimiento de injerto, se empleó un rango de concentraciones que va desde 20 hasta 50% v.
- Para conseguir un sistema inerte dentro de las ampollas, éstas se colocaron en una línea de vacío, donde primero se procedió a congelar la solución monómero/disolvente con nitrógeno líquido, y después se abrió el paso de vacío durante 15 min. Transcurrido este tiempo, se cerró el paso de vacío y se descongeló la solución con agua a temperatura ambiente, volviéndose a repetir este procedimiento por lo menos dos veces más. Una vez logrado el sistema inerte, se procede a sellar las ampollas empleando para ello un soplete, considerando que durante este proceso, se mantienen congeladas las ampollas y el paso del vacío abierto.
- Enseguida, las ampollas previamente selladas, se colocaron en un baño de agua a temperatura y tiempo definidos, con la finalidad de llevar a cabo la reacción de copolimerización. Al término de ello, se retiraron las láminas de las ampollas, colocándolas en metanol y agitación durante 8 h, con el propósito de extraer de éstas monómero y homopolímero. Finalmente, se colocaron las láminas en una estufa de vacío a 40 °C durante 5 h.

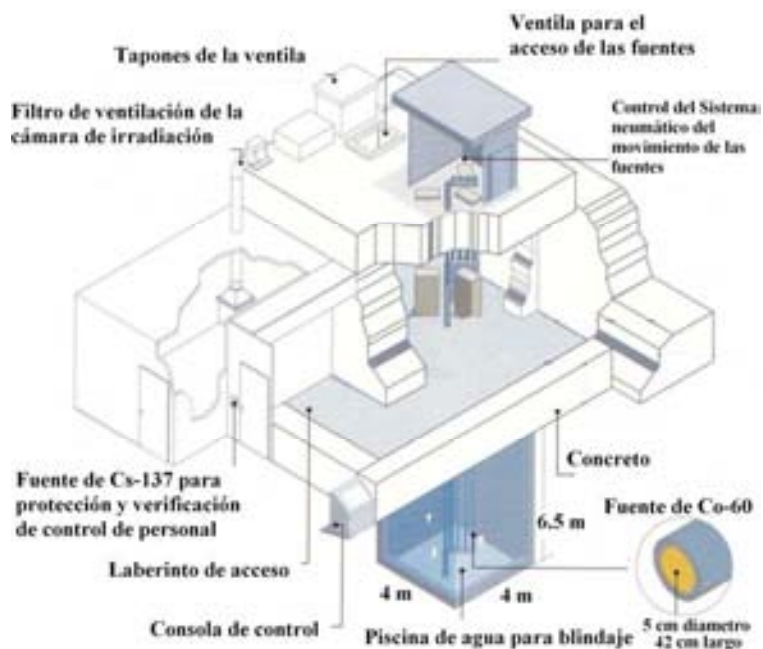


Figura 30. Fuente de ⁶⁰Co Gamma Beam (651 PT, Nordion International).

4.2. INMOVILIZACIÓN QUÍMICA DE CICLODEXTRINAS.

Para llevar a cabo la inmovilización de la β -ciclodextrina (β CD) e hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD) sobre los copolímeros de injerto, se hizo reaccionar los hidroxilos primarios de éstas con los grupos epóxido presentes en dichos copolímeros, empleando para ello NaCl y una mezcla de DMF-H₂O como medio de reacción.¹⁴⁷ Ambas ciclodextrinas fueron adquiridas en Roquette Laisa, España (Barcelona), y la dimetilformamida grado reactivo fue comprada en Baker. A continuación, se describe detalladamente la técnica experimental para llevar a cabo la modificación superficial de los copolímeros de injerto con las ciclodextrinas.

1. Se pesaron las láminas de los copolímeros de injerto PE-g-GMA y PP-g-GMA, con diferentes porcentajes de GMA injertado.
2. Dichas láminas se colocaron, por separado, en recipientes con dimetilformamida (DMF) durante 2 h, con la finalidad de hinchar a éstas.
3. Posteriormente, se colocaron en su respectivo tubo de reacción, agregando 2 mL de DMF y 8 mL de una solución, previamente preparada, de NaCl (ac) 0.5 M, considerando una relación de ambos disolventes de 2:8 (%v). La cantidad de ciclodextrina incorporada al medio de reacción fue la necesaria para conseguir una relación molar ciclodextrina/GMA injertado de 1:1 (mol/mol). Es importante señalar que dicha cantidad de ciclodextrina se disolvió empleando para ello los 8 mL de la solución de NaCl (ac).
4. Los tubos de reacción se cerraron utilizando para ello un tapón de corcho, y se mantuvieron en agitación y a una temperatura constante de 70 °C, durante 24 h.
5. Una vez transcurrido el tiempo de reacción, las láminas se colocaron en recipientes conteniendo una mezcla de agua, acetona y metanol, aproximadamente a una temperatura de 50 °C, con agitación constante durante 4 días, con el propósito de extraer y eliminar los residuos de DMF sobre éstas.
6. Finalmente, las láminas se colocaron en una estufa de vacío durante 5 h a 40°C.

4.3. CARACTERIZACIÓN DE LOS COPOLÍMEROS DE INJERTO Y SU MODIFICACIÓN CON CICLODEXTRINAS.

4.3.1. RENDIMIENTO DEL INJERTO.

Una vez que el soporte polimérico, al cual se ha hecho el injerto de GMA, está completamente seco, se procede a determinar la cantidad de GMA injertado. Esto se logra por medio de la diferencia en peso del soporte polimérico, antes y después de llevar a cabo la copolimerización; en seguida, se muestran las formulas que se emplearon para ello.

$$\text{Injerto (\%)} = \frac{P_f - P_i}{P_i} \times 100 \qquad \text{Injerto } (\mu\text{mol/cm}^2) = \frac{P_f - P_i}{A \times M_{\text{GMA}}} \times 10^6$$

En donde:

P_f = Peso del soporte polimérico después del injerto (g).

P_i = Peso del soporte polimérico antes del injerto (g).

A = Área del soporte después del injerto (cm^2).

M_{GMA} = Peso molecular del GMA ($PM = 142.16 \text{ g/mol}$).

De esta manera es posible determinar el rendimiento para la reacción de copolimerización.

4.3.2. DETERMINACIÓN DEL HINCHAMIENTO LÍMITE EN DMF.

Para determinar el grado de hinchamiento de los copolímeros de injerto PE-g-GMA y PP-g-GMA, y optimizar el rendimiento de inmovilización de las ciclodextrinas sobre éstos, se llevó a cabo la técnica de hinchamiento límite, empleando para ello dimetilformamida (DMF) como disolvente. A continuación, se describe la manera experimental de realizar esta determinación.

1. Antes de iniciar, las muestras deben estar pesadas y completamente secas.
2. A continuación, éstas se colocan por separado en recipientes con dimetilformamida. Los recipientes se dejan en un baño de agua a temperatura constante de $25 \text{ }^\circ\text{C}$.
3. Transcurrido cierto tiempo, comenzando con tiempos cortos, quizás de minutos, y finalizando con tiempos largos, incluso de horas o días, se retiran las películas de la dimetilformamida, eliminando el exceso de ésta sobre el copolímero, y se procede a tomar el peso.

4. Finalmente, se calcula el hinchamiento (%) del copolímero de injerto (PE-g-GMA o PP-g-GMA), empleando para ello la siguiente fórmula:

$$\text{Hinchamiento (\%)} = \frac{P_f - P_i}{P_i} \times 100$$

En donde:

P_f = Peso del copolímero hinchado (g).

P_i = Peso del copolímero seco (g).

4.3.3. CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC).

Para determinar las propiedades térmicas de los copolímeros de injerto sintetizados, así como también su posterior modificación con ciclodextrinas, se empleó un calorímetro DSC Q100 (TA Instruments, New Castle, Delaware USA), calibrado con una muestra de indio. Los ensayos se llevaron a cabo en capsulas herméticas de aluminio, calentando a una velocidad de 10 °C/min, desde 30 °C hasta una temperatura aproximada de 250 °C. Los pesos de las muestras fueron de aproximadamente 5 mg.

1. La muestra se coloca en una capsula de aluminio y se sella herméticamente.
2. La muestra y la referencia se colocan sobre los calefactores del equipo.
3. Las muestras son analizadas en las condiciones mencionadas anteriormente.
4. Durante el experimento, el equipo registra un termograma del cual se obtienen la temperatura de transición vítrea, T_g (según sea el caso) y la temperatura de fusión, T_m .

4.3.4. ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO (FTIR – ATR).

Este método de caracterización se llevó a cabo empleando un espectrofotómetro de infrarrojo con transformada de Fourier MB102 (ABB Bomem Inc. Quebec, Canadá), con una celda de reflexión total atenuada (ATR). Para llevar a cabo la caracterización, se procedió como sigue: la muestra se coloca sobre la celda de ATR. Con la punta de diamante se hace presión sobre la muestra a analizar y se procede al análisis. Las muestras se analizaron con un intervalo de número de onda de 500 a 4000 cm^{-1} . Por medio de este método se obtuvo el espectro de infrarrojo de las láminas delgadas de PE y PP antes y después de realizar el injerto de GMA, así como también, después de su previa modificación con ciclodextrinas.

4.3.5. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM).

En esta prueba de caracterización, se tomaron fotografías del orden de μm , de las películas de PE y PP antes y después de llevar a cabo el injerto de GMA, además de los copolímeros modificados con las ciclodextrinas; para ello se empleó un microscopio electrónico de barrido modelo LEO-435VP (EDX, Oxford 300). Las muestras utilizadas para esta determinación, se cubrieron con una capa de oro, con la finalidad de bombardear la superficie con electrones secundarios; posteriormente, se colocaron dentro del microscopio, donde con diferentes aumentos se observó la morfología de las láminas modificadas y sin modificar.

4.3.6. CANTIDAD DE CICLODEXTRINA INMOVILIZADA.

Al igual que en el caso anterior (sección 5.3.1), cuando el copolímero modificado con ciclodextrina está completamente seco, se procede a determinar el rendimiento de reacción. De esta manera, el rendimiento de inmovilización de ciclodextrinas sobre los copolímeros de injerto PE-g-GMA y PP-g-GMA, se obtiene mediante la siguiente ecuación:¹⁴⁷

$$\mu\text{moles de ciclodextrina / g de copolímero} = \frac{[W_{\text{CD}} - W_{\text{copolímero}}]}{[W_{\text{CD}} \times M_{\text{CD}}]} \times 10^6$$

Donde:

W_{CD} = Peso del copolímero después de la inmovilización (g).

$W_{\text{copolímero}}$ = Peso del copolímero antes de la inmovilización (g).

M_{CD} = Peso molecular de la ciclodextrina empleada ($\beta\text{CD} = 1134 \text{ g/mol}$ y $\text{HP}\beta\text{CD} = 1400 \text{ g/mol}$).

4.3.7. INCLUSIÓN DE ÁCIDO 3-METILBENZOICO.

Con la finalidad de determinar la cantidad de cavidades disponibles de ciclodextrina sobre la superficie de los copolímeros de injerto PE-g-GMA y PP-g-GMA, se llevo a cabo la inclusión del ácido 3-metilbenzoico (3-MBA) en éstas.¹⁴⁸ Cabe mencionar, que el 3-MBA fue adquirido en Aldrich. A continuación, se describe la técnica experimental empleada para llevar a cabo dicha caracterización.

1. Muestras de los copolímeros previamente modificados con las ciclodextrinas fueron cortadas, con una superficie de $1.2 \times 0.5 \text{ cm}$.

2. Se preparó una solución acuosa de 0.2 mg/mL, de ácido 3-metilbenzoico (3-MBA).
3. Se colocaron las muestras, por separado, en 5 mL de la solución acuosa previamente preparada de 3-MBA en viales de vidrio, y a continuación, se cerraron. Los viales empleados para esta determinación se mantuvieron durante 48 h en la obscuridad.
4. Finalmente, se determinó la concentración de ácido 3-metilbenzoico incluido en las cavidades de las ciclodextrinas, empleando para ello un espectrofotómetro de UV-vis (Agilent 8453, Germany), a una longitud de onda de 281 nm. Cabe mencionar que para esta determinación se hizo una curva de calibración de 3-MBA, misma que se describe a continuación.

4.4. ESTUDIOS DE CARGA DE 3-MBA, DICLOFENACO Y MICONAZOL Y LIBERACIÓN DE DICLOFENACO DESDE LOS SOPORTES POLIMÉRICOS.

4.4.1. CALIBRACIÓN DE 3-MBA, DICLOFENACO Y MICONAZOL.

Con la finalidad de determinar las concentraciones de 3-MBA, diclofenaco de sodio y nitrato de miconazol absorbidas o liberadas en función del tiempo, desde los copolímeros de injerto PE-g-GMA y PP-g-GMA previamente modificados con las ciclodextrinas, se llevó a cabo la determinación de las curvas de calibración para dichos analitos, empleando para ello un equipo de UV-vis (Agilent 8453, Germany) a diferentes concentraciones de éstos. En la Tabla 3, se presentan las concentraciones empleadas para la elaboración de dichas curvas de calibrado.

Todas estas disoluciones fueron preparadas por dilución en agua MilliQ[®] de una solución patrón de mayor concentración (0.2 mg/L para 3-MBA; 0.05 mg/L para diclofenaco de sodio y 0.2 mg/L para nitrato de miconazol). Se empleó agua ultra-pura obtenida mediante osmosis inversa (MilliQ[®], Millipore, España) como blanco en los diferentes ensayos realizados en el equipo UV-vis. La absorción del 3-MBA fue medida a 281 nm; para el diclofenaco de sodio a 276 nm, mientras que para el nitrato de miconazol su absorción se midió a 272 nm. Es importante señalar que estas curvas de calibrado se realizaron por triplicado. Por otro lado, las características químicas de dichos fármacos son una pureza de 99.6% para el diclofenaco de sodio y de 99.9% para el nitrato de miconazol, mismos que fueron proporcionados por Vorquímica, S.L. (España) y Fagron Iberica, S.A.U. (España), respectivamente.

Tabla 3. Concentraciones para la elaboración de las curvas de calibración.

3-MBA (mg/L)		Miconazol (mg/L)		Diclofenaco (mg/L)	
20	140	10	90	5	30
40	150	20	100	10	35
60	160	30	120	15	40
80	170	40	140	20	45
100	180	50	160	25	50
110	190	60	180		
120	194	70	200		
130	200	80			

4.4.2. CARGA DE DICLOFENACO Y MICONAZOL.

Para la carga de diclofenaco de sodio y nitrato de miconazol se emplearon los copolímeros de injerto PE-g-GMA y PP-g-GMA previamente modificados con las ciclodextrinas, con distintas cantidades tanto de GMA injertado como de ciclodextrina inmovilizada, puesto que con ello se logra tener un mayor intervalo experimental. Para el proceso de carga de dichos analitos, se cortaron muestras de estos copolímeros con una superficie de 1.2 x 0.5 cm, los cuales se secaron en una estufa a 40 °C, para después ser pesadas y depositadas en viales de vidrio con 5 mL de disolución acuosa de los distintos analitos (0.1 g/L para diclofenaco de sodio y 1 g/L de nitrato de miconazol). Después de 48 h de carga a temperatura ambiente y sin agitación, se midió la absorbancia de todas las disoluciones, determinando la cantidad de analito remanente en el sobrenadante. Inmediatamente después de este tiempo, se retiraron las muestras de copolímero de las disoluciones y se sometieron a secado a 40 °C. Es importante mencionar que para las pruebas de carga los ensayos se hicieron por triplicado.

4.4.3. LIBERACIÓN DE DICLOFENACO DE SODIO.

Con respecto a las pruebas de liberación de diclofenaco de sodio desde los soportes poliméricos sintetizados, y previamente cargados con dicho fármaco, se llevaron a cabo a temperatura ambiente y a pH de 7.4, simulando de esta manera el pH de los fluidos fisiológicos, además, de ser el pH que se utiliza cotidianamente para los ensayos in vitro. Para ello se preparó un amortiguador de fosfato de potasio ($\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} / \text{NaOH}$) siguiendo las recomendaciones de la USP. En la Tabla 4 se describen los componentes usados, así como también el volumen empleado en dicha preparación. Tales pruebas se llevaron a cabo sin agitación bajo condiciones *sink*, es decir, la concentración de diclofenaco es inferior de 10 al 20% de su concentración de saturación.

Cada muestra cargada previamente con el diclofenaco de sodio (por triplicado), fue depositada en viales con 1 mL de solución amortiguadora con pH 7.4, y los valores de absorbancia en UV-vis fueron medidos cada 5 minutos durante la primera media hora, cada 30 minutos durante las 2 h siguientes y después cada 2 h hasta completar 9 h de liberación. También se midió la absorbancia a las 24 h después de empezar el ensayo.

pH	Componentes	Volumen empleado (mL)	Volumen total de solución (mL)	pH resultante medido en potenciómetro
7.4	KH ₂ PO ₄ .H ₂ O (0.2 M)	50	Se afora con agua MilliQ® hasta 200 mL	7.41
	NaOH (0.2 M)	39.1		

4.5. PRUEBAS ADICIONALES.

4.5.1. CARACTERIZACIÓN DEL LDPE (ESPESOR = 100 μm).

Antes de llevar a cabo el injerto de GMA sobre el PE, fue necesario determinar algunas propiedades fisicoquímicas de éste, tales como la densidad, la cristalinidad y la temperatura de fusión. Es importante mencionar que se empleó polietileno de baja densidad (LDPE) con un espesor de 100 μm , proporcionado por PEMEX, México. Para determinar la densidad de dicho polímero se empleó el método de “flotación”, el cual se realiza en base a la diferencia de densidades de dos disolventes conocidos, en este caso, una solución de etanol con agua destilada. El procedimiento experimental se describe enseguida. En un matraz aforado, con 50 mL de una solución etanol/agua (1:1), se coloca una pequeña muestra de LDPE. En un principio, la muestra se deposita en la superficie debido a que su densidad es menor que la que posee la solución (Figura 31a).

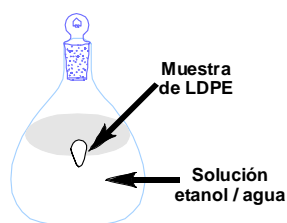


Figura 31a. Densidad de la solución mayor que la densidad del LDPE.

A continuación, se adiciona etanol con la finalidad de que la densidad de la solución disminuya, permitiendo con ello que la muestra descienda; cabe señalar la importancia de agitar el matraz después de cada adición de etanol. En un momento dado, la muestra queda suspendida en el centro de la solución, debido a que la densidad tanto del LDPE como la de la solución etanol/agua son iguales (Figura 31b).

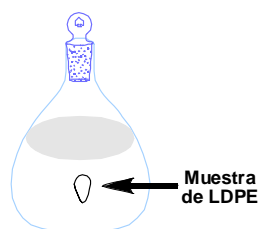


Figura 31b. Punto de equilibrio entre la densidad de la solución y la densidad del LDPE.

Si se agrega un volumen mayor de agua, la muestra de LDPE flotará en la superficie de la solución, debido a que la densidad de esta última aumenta con cada adición, siendo mayor que la de la muestra de LDPE. Posteriormente, al conseguir que la muestra flote en el centro de la solución, mediante la adición de agua o etanol, se registrara la temperatura de la solución y la temperatura ambiente (esta última se considera como la temperatura de referencia a la cual se realizó la determinación). Seguido de esto, se toma un picnómetro limpio y seco, con el objetivo de pesarse vacío, con agua destilada y con la solución que se obtuvo al quedar la muestra de LDPE en el centro del matraz.

Es importante mencionar, que el picnómetro debe pesarse inmediatamente después de que permaneció durante 30 min, en un baño de agua a temperatura constante e igual, a la temperatura a la cual la muestra de LDPE quedó en el centro de la solución. Al llenar el picnómetro en las diferentes ocasiones, se debe procurar que en éste no se han formado burbujas de aire, ya que éstas provocan error al momento de pesar el picnómetro. Por lo tanto, se tiene que:

$$\rho_{(H_2O)} = g_{(H_2O)} / mL_{(H_2O)};$$

$$g_{(H_2O)} = g_{(\text{Peso del picnómetro con agua destilada})} - g_{(\text{Peso del picnómetro vacío})}$$

$$\rho_{(H_2O)} = 1 \text{ g/mL}; \quad mL_{(\text{Sol'n})} = g_{(H_2O)} / \rho_{(H_2O)}$$

$$g_{(\text{Sol'n})} = g_{(\text{Peso del picnómetro con la solución})} - g_{(\text{Peso del picnómetro vacío})}$$

$$\rho_{(LDPE)} = g_{(\text{Sol'n})} / mL_{(\text{Sol'n})}$$

4.5.2. DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL POLIETILENO Y POLIPROPILENO.

Para determinar las propiedades fisicoquímicas de las matrices poliméricas, tales como la cristalinidad y la temperatura de fusión, se empleó para ello un equipo de calorimetría diferencial de barrido, marca TA Instruments, New Castle, modelo 2010, calibrado con una muestra de indio, la cual se colocó en una capsula hermética de aluminio y se calentó a una velocidad de 10 °C/min, hasta alcanzar una temperatura máxima de 350 °C. Después de calibrar el equipo, se elige la velocidad de calentamiento, así como también la temperatura límite de operación, teniendo en cuenta que la temperatura de fusión de la capsula hermética de aluminio es de 600 °C. El grado de cristalinidad fue calculado usando la siguiente ecuación:

$$X_c = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_m^+} \times 100$$

donde, ΔH_m es la entalpía específica de fusión medida y ΔH_m^+ es la entalpía específica de fusión para una muestra de PE o PP 100% cristalina (288 and 209 J g⁻¹, respectivamente).^{149, 150}

4.5.3. SOLUBILIDAD DEL NITRATO DE MICONAZOL EN β CD E HP β CD.

Con el objetivo de determinar la interacción entre el nitrato de miconazol y ambas ciclodextrinas, se elaboraron los diagramas de solubilidad, lo cual permitió determinar las constantes de asociación entre ambas moléculas. Dichas pruebas se realizaron de acuerdo a lo descrito por Higuchi et al.⁶⁴ La metodología experimental consistió en colocar en ampollitas de vidrio, por triplicado, cantidades en exceso de miconazol, a las cuales se les agregó 5 mL de solución acuosa con diferentes concentraciones de β CD (preparadas a partir de una disolución al 1.2%) o de HP β CD (preparadas a partir de una disolución al 10%). Las suspensiones se agitaron en un baño de agua a 37 °C durante 5 días y, posteriormente, fueron filtradas empleando para ello filtros de 0.45 μ m (MILLIPORE, España), y se analizaron en un espectrofotómetro UV-vis (Agilent 8453, Germany), con una longitud de onda de 272 nm. La constante de formación de los complejos 1:1 ($K_{1:1}$) se estima a partir de la pendiente de los diagramas A_L , utilizando la siguiente expresión, donde S es la pendiente de la recta y S_0 la solubilidad del miconazol sin ciclodextrinas (solubilidad intrínseca):⁶⁴

$$K_{1:1} = \frac{S}{S_0(1 - S)}$$

CAPITULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

5.1. POLIMERIZACIÓN DE GMA SOBRE PE Y PP.

El método de polimerización mediante el cual se injerto GMA sobre PE y PP fue por radicales libres, empleando para ello como iniciador de éstos radiación γ , por medio de la técnica de preirradiación oxidativa. Este tipo de polimerización iniciada por radiación ionizante, tiene la ventaja de que el producto de reacción es totalmente puro, dado que no se emplea ninguna sustancia como iniciador o catalizador; cabe mencionar que al final de la reacción, el copolímero resultante se extrajo con metanol para eliminar de esta forma el homopolímero y el monómero, y conseguirlo puro. Las películas de copolímero resultantes con porcentajes de injerto aproximadamente de 100%, conservan su flexibilidad y aumentan su área y grosor, por lo cual se pudo determinar que el injerto se llevó a cabo tanto en la superficie como en masa, esto para el caso de películas con espesor de 0.1 y 0.05mm (PE y PP, respectivamente). Para las películas con espesor de 1mm, el aspecto físico no se vio modificado, es decir, no se aumento el área ni el grosor de éstas, llevándose a cabo un injerto solo en la superficie de las películas.

La razón por la cual se empleó el método de preirradiación oxidativa fue la de evitar la formación de homopolímero. Además este método permite utilizar intensidades de dosis altas, con lo cual los tiempos de irradiación disminuyen.

5.1.1. MECANISMO DE COPOLIMERIZACIÓN DE INJERTO DE GMA SOBRE PE Y PP.

El mecanismo de copolimerización por injerto (Figura 32) comienza cuando el PE o PP se somete a radiación γ en presencia de oxígeno (preirradiación oxidativa), en el cual se produce un rompimiento homolítico del enlace C-H, lo que forma un radical secundario o terciario (**1**), según sea el caso de PE o PP; la formación de este tipo de radicales, reside en su estabilidad. Se conoce que la estabilidad de los radicales libres es mayor para carbonos secundarios y terciarios (mayor para estos últimos), en el caso del PE, la formación de un radical secundario es imprescindible, debido a la simetría de la molécula; por otro lado, en el caso del PP, si se formará un radical secundario, se tendría que llevar a cabo la eliminación de un radical metilo, lo que ameritaría un proceso inestable dado que el rendimiento radioquímico del metano (CH_4) es de 0.07 moléculas/100eV, mientras que la formación del radical terciario libera hidrógeno, teniendo un rendimiento radioquímico de 2.78 moléculas/100 eV. Es importante mencionar que el rendimiento radicoquímico se define como el número de moléculas transformadas por cada 100eV.

Otra razón para la formación de un radical terciario en el PP, es que el hidrógeno (H_2) puede difundir más rápido que el metano, por lo cual, el radical $-CH_3$ se puede recombinar. Una vez obtenido el radical libre (2), se combinará con el radical formado en la molécula de oxígeno (O_2) para crear un enlace C-O, y de esta manera obtener el radical alquilperoxi (3). Este radical tipo peroxi puede reaccionar para asociarse de dos formas diferentes, la primera es que dicho radical se recombine con otro radical alquilperoxi para formar un dialquilperoxi (4). La segunda forma de combinación es la interacción entre un radical alquilperoxi y un radical hidrógeno para obtener un hidroperóxido (5).

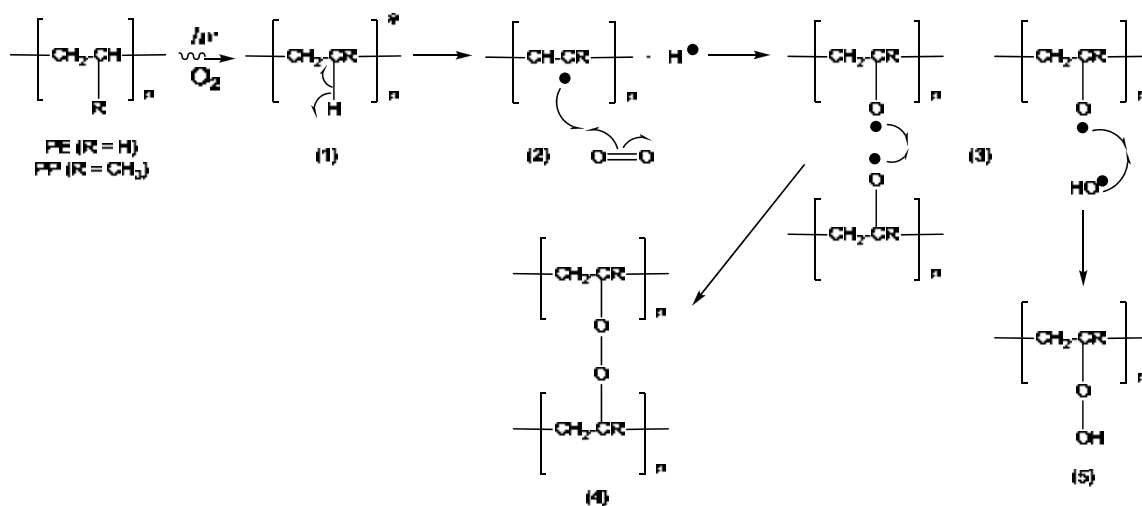


Figura 32. Mecanismo para la formación de peróxidos sobre PE y PP.

El siguiente paso del mecanismo de copolimerización es el paso de iniciación (Figura 33). Una vez formados el dialquilperóxido (4) y el hidroperóxido (5), las cuales son especies químicas inestables en presencia de calor, será fácil su disociación térmica para formar el radical alcoxi (6). Este radical alcoxi (6) reacciona con el átomo de carbono primario de la parte vinílica del GMA (7), para formar un enlace oxígeno-carbono formando un grupo éter. A su vez el electrón libre se localiza en el carbono secundario del GMA (8).

Por otro lado, la existencia de un radical hidroxilo (9) procedente del rompimiento homolítico del hidroperóxido, trae consigo la reacción de éste con la parte vinílica del GMA (7), formando con ello un enlace C–O, dando como resultado un grupo funcional alcohol primario (10). Similarmente, el electrón libre se localiza sobre el carbono secundario del GMA (Figura 33).

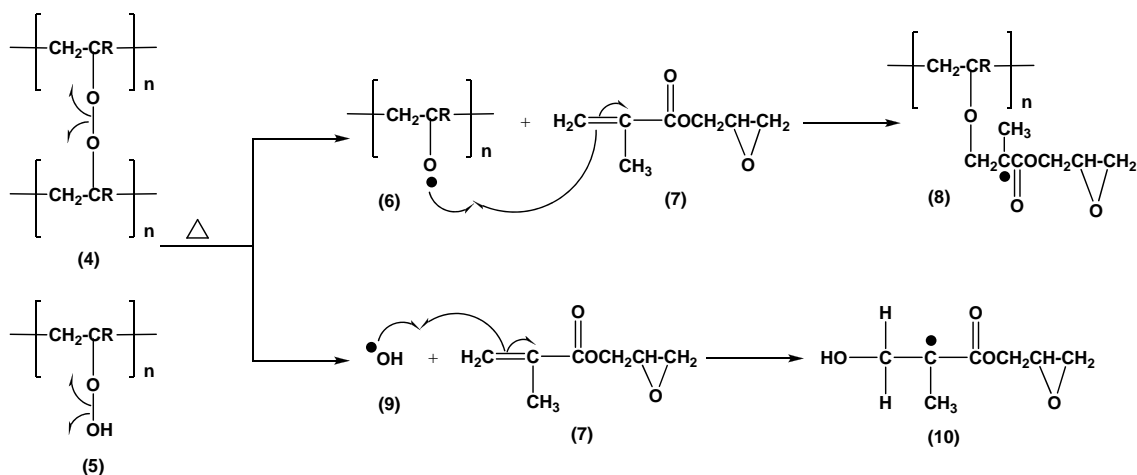


Figura 33. Mecanismo de iniciación de la polimerización de GMA sobre PE y PP.

El paso de propagación (Figura 34) se lleva a cabo cuando el radical libre secundario (8) reacciona con otra molécula de monómero (7) para formar otro radical secundario (11); este paso se repite sucesivamente hasta que se presente un proceso de terminación de la cadena. Así mismo, el alcohol primario formado previamente (10), el cual posee un radical libre secundario, es capaz de reaccionar con otra molécula de monómero (7), llevando a cabo la reacción conocida como homopolimerización (12).

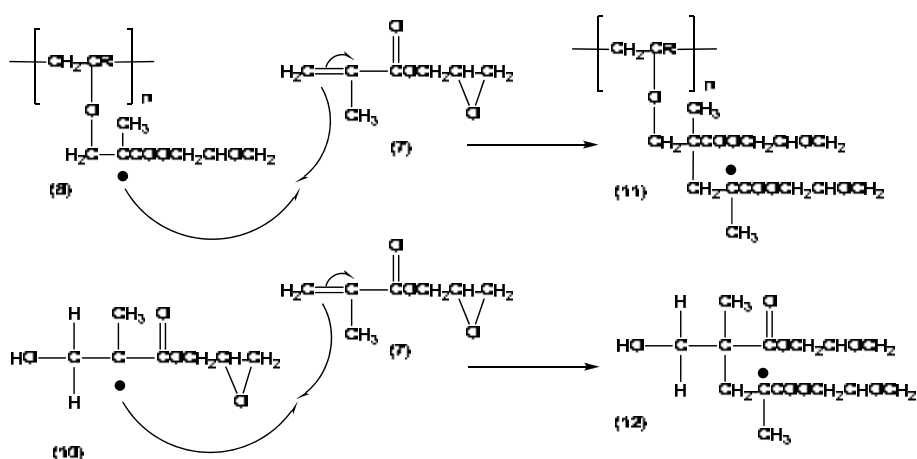


Figura 34. Mecanismo de propagación de la polimerización de GMA sobre PE y PP.

La parte final del mecanismo de polimerización (Figura 35), se lleva a cabo principalmente mediante dos formas. La primera de ellas es por medio del proceso de combinación en la que los radicales libres secundarios (11) de dos cadenas poliméricas diferentes se unen covalentemente para formar un enlace C-C (12), lo que incrementa el peso molecular del polímero, además de presentarse procesos de reticulación entre las cadenas poliméricas.

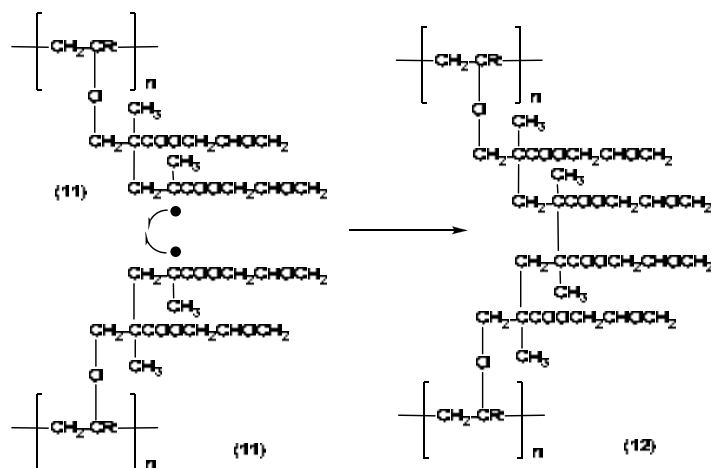


Figura 35. Primera forma de terminación para la polimerización de GMA sobre PE y PP.

La segunda forma es la desproporción (Figura 36), en la que un radical libre polimérico (11) se enlaza intramolecularmente para formar un doble enlace C=C (13) liberando un radical hidrógeno con lo cual se impide el crecimiento de la cadena polimérica. Por otra parte, el radical hidrógeno liberado se unirá con otro radical polimérico (11) para formar un sistema totalmente saturado (14) y finalizar de esta manera la propagación.

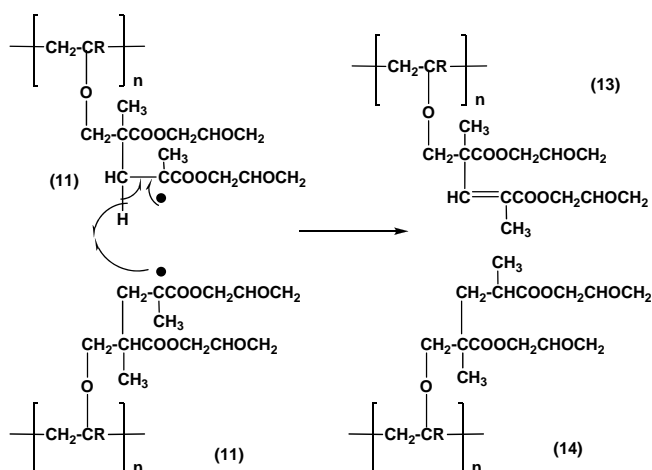


Figura 36. Segunda forma de terminación para la polimerización de GMA sobre PE y PP.

5.2. INJERTO DE GMA SOBRE PE.

El injerto de GMA sobre PE (PE-g-GMA) se realizó empleando el método de preirradiación oxidativa, llevando a cabo estudios preliminares de los diferentes parámetros que afectan la polimerización (temperatura, tiempo de reacción, concentración de monómero y dosis de preirradiación), determinando con ello una temperatura de 60 °C, un tiempo de reacción aproximadamente entre 3 y 4 h, dosis de preirradiación de 100 kGy y una concentración de 20%v de GMA.

Es importante mencionar que dichos estudios preliminares ayudaron a definir estas condiciones, por ejemplo, al inicio de la investigación se usó una dosis de preirradiación de 200 kGy, sin embargo, se determinó que el empleo de 100 kGy son suficientes para lograr buenos rendimientos de injerto. La exitosa síntesis del copolímero PE-g-GMA con diferentes porcentajes de GMA injertado sobre el PE, permitió su empleo en los ensayos de carga y liberación de diclofenaco y nitrato de miconazol. A continuación, se discuten los resultados obtenidos para la cinética de injerto de GMA sobre PE.

5.2.1. TEMPERATURA Y TIEMPO DE REACCIÓN.

Entre los parámetros que controlan la cantidad de GMA injertado sobre PE se encuentran el tiempo de reacción y la temperatura a la cual ocurre la polimerización, por lo cual se determinó el efecto del tiempo de reacción a 40, 50 y 60 °C con respecto al grado de injerto de GMA, usando como parámetros constantes una intensidad de dosis de 12.5 kGy/h, dosis de preirradiación de 200 kGy, concentración de 20%v de GMA empleando una mezcla de disolventes metanol/agua (8:2 v/v), con un intervalo de tiempo de reacción de 0.5 a 8 h correspondientes a 50 y 60 °C, y de 5 a 14 h para 40 °C (Figura 37).

Generalmente, un incremento en la temperatura de polimerización da como resultado una mayor velocidad de descomposición de peróxidos e hidropéroxidos (formados previamente durante el proceso de preirradiación) y una mayor difusión de monómero en la película, por lo tanto, es de esperarse que la cantidad de injerto incremente cuando la temperatura aumenta, sucediendo esto a temperaturas de 50 y 60 °C. Sin embargo, cuando la polimerización se realiza a una temperatura de 40 °C, se observa una pendiente menor en la curva, lo cual significa que se obtiene un menor rendimiento en la reacción de injerto a tiempos de reacción más altos.

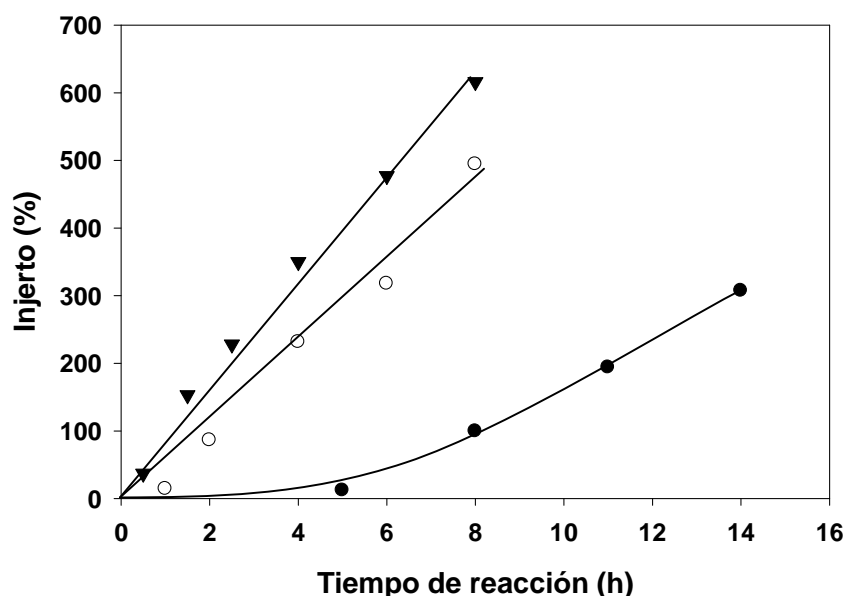


Figura 37. Evolución del porcentaje de injerto de GMA sobre PE con respecto al tiempo de reacción a temperatura de (●) 40°C, (○) 50°C y (▼) 60°C.

La temperatura y el tiempo de reacción necesarios para sintetizar el copolímero PE-g-GMA con buenos rendimientos de reacción, bajo las condiciones experimentales antes mencionadas, fueron de 60 °C y 3 h. Es importante mencionar que para las pruebas de carga y liberación de los fármacos, se contempló un intervalo en la cantidad de GMA injertado sobre las matrices poliméricas que va aproximadamente desde 50 hasta 300%.

5.2.2. CONCENTRACIÓN DE GMA.

El efecto de la concentración de GMA sobre la cantidad de injerto en el PE, se realizó empleando como condiciones experimentales una dosis de irradiación de 200 kGy, una intensidad de dosis de 11.3 kGy/h y un tiempo de reacción de 3 h. El intervalo de concentraciones de GMA utilizado para dicho ensayo fue de 10 hasta 40%v (Figura 38). Mediante este estudio se determinó que la cantidad de injerto sobre PE depende de la concentración de monómero, puesto que al incrementar la concentración de GMA, el injerto de éste aumenta hasta alcanzar una concentración de 20%, lo que se atribuye a que una mayor proporción de moléculas de monómero en el medio de reacción, aumentará la probabilidad de que éstas reaccionen con los sitios activos generados sobre la superficie de PE.

Sin embargo, a concentraciones mayores a 20%v de GMA, se observa una disminución en la cantidad de injerto debido a que se presenta por un lado la homopolimerización del monómero, y por otro, debido a una mayor probabilidad de recombinación de los radicales primarios (figura 32, página 68) predominando dichos procesos sobre la reacción de injerto. Determinando con esto que la concentración adecuada para la reacción de injerto de GMA sobre PE es de 20%v.

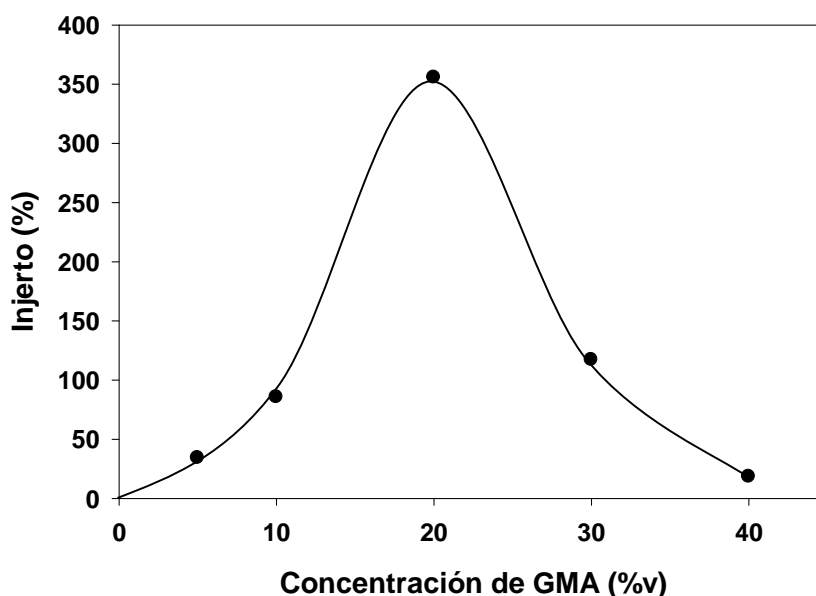


Figura 38. Evolución del porcentaje de injerto de GMA sobre PE con respecto a la concentración de monómero.

5.2.3. DOSIS DE IRRADIACIÓN.

También se llevó a cabo el estudio del efecto de la dosis de irradiación sobre la cantidad de GMA injertado en PE, considerando los siguientes parámetros experimentales, una intensidad de dosis de 11.3 kGy/h, una concentración de GMA de 20%v, tiempo de reacción de 3 h y una temperatura de 60 °C, considerando un intervalo de dosis de irradiación que va desde 50 hasta 200 kGy (Figura 39). Al llevar a cabo este estudio se pudo determinar que conforme aumenta la dosis de irradiación, la cantidad de GMA injertada sobre el PE incrementa; este comportamiento se debe a que a dosis altas de irradiación aumentan la formación de peróxidos e hidroperóxidos sobre la lámina de PE, resultando una mayor cantidad de radicales libres generados cuando dichos peróxidos se descomponen al incrementar la temperatura, favoreciendo de esta manera la reacción de copolimerización.

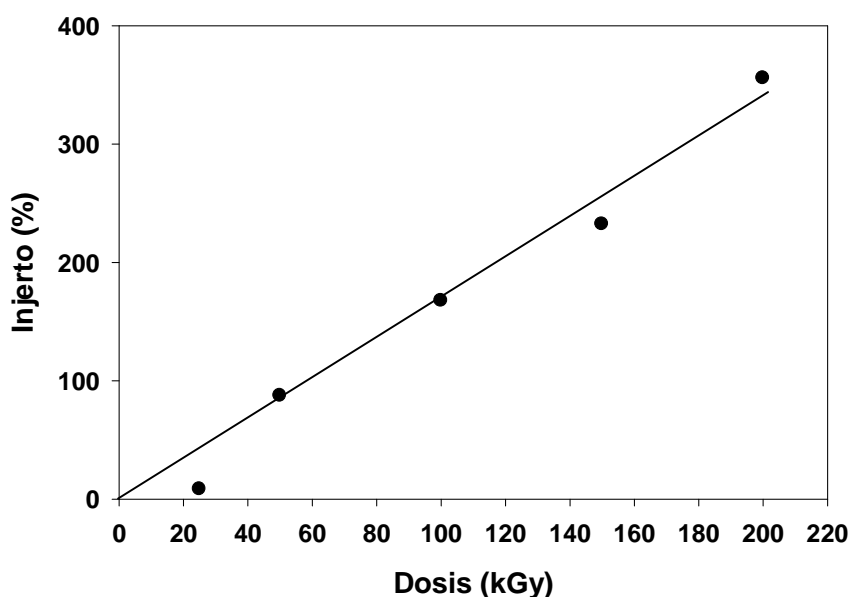


Figura 39. Evolución del porcentaje de injerto de GMA sobre PE con respecto a la dosis de irradiación.

Es evidente que el empleo de dosis de irradiación por encima de 100 kGy ofrece rendimientos de injerto adecuados para los posteriores estudios de carga y liberación de fármacos, puesto que se necesitan copolímeros de injerto PE-g-GMA y PP-g-GMA alrededor de 50 y 300% de injerto.

5.3. INJERTO DE GMA SOBRE PP.

Al igual que en el caso del PE, el injerto de GMA sobre PP se realizó empleando el método de preirradiación oxidativa, llevando a cabo un estudio de los diferentes parámetros que afectan tal polimerización, siendo éstos el tiempo de reacción, concentración de GMA y dosis de irradiación. Es importante señalar que se empleó una temperatura de 60 °C durante la medición de dichos parámetros, ya que previamente se determinó que es la adecuada para realizar la copolimerización y de esta manera lograr rendimientos de injerto satisfactorios. El estudio de estos parámetros garantiza reproducibilidad y rendimientos de reacción adecuados para la síntesis del copolímero de injerto PP-g-GMA, siendo éstos una temperatura de 60 °C, un tiempo de reacción aproximadamente entre 3 y 4 h, dosis de irradiación de 100 kGy y una concentración de 20%v de GMA. En seguida se muestran y se discuten los resultados obtenidos para la cinética de injerto de GMA sobre PP.

5.3.1. TIEMPO DE REACCIÓN.

El efecto del tiempo de reacción sobre la cantidad de GMA injertado en PP se realizó empleando como condiciones experimentales 100 kGy de dosis de irradiación, 11.3 kGy/h de intensidad de dosis, 20%v de GMA en una mezcla de MeOH/H₂O (8:2 v/v) y una temperatura de 60 °C. El tiempo de reacción quedo establecido en un intervalo de 0.5 a 4 h (Figura 40). Con ello se logró determinar que la cantidad de GMA injertado sobre PP incrementa al aumentar el tiempo de reacción.

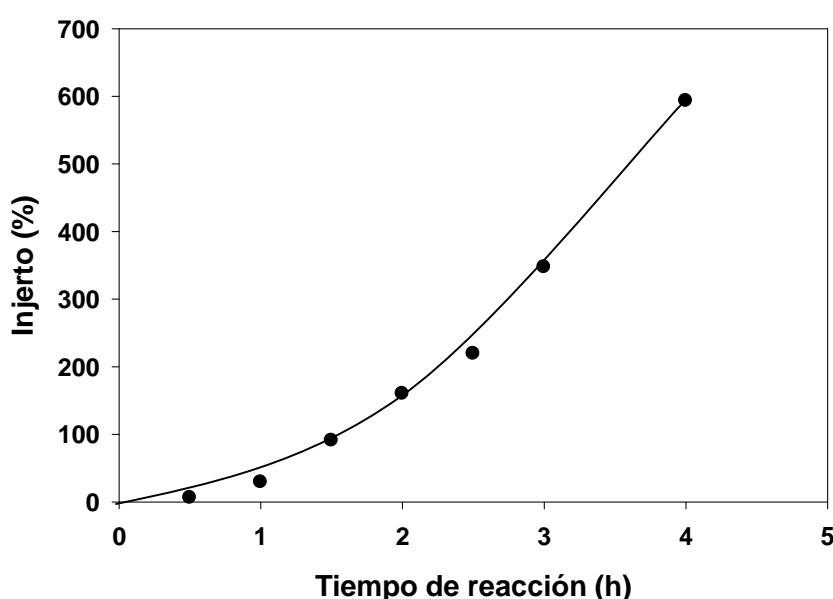


Figura 40. Evolución del porcentaje de injerto de GMA sobre PP con respecto al tiempo de reacción a temperatura de 60 °C.

Lo anterior se explica considerando que a tiempos mayores de reacción, se incrementa la proporción de descomposición térmica de los peróxidos e hidroperóxidos formados previamente durante el proceso de preirradiación, lo que aumenta los radicales libres sobre el PP favoreciendo la cantidad de GMA injertada sobre éste. Un incremento en el tiempo de reacción también induce la polimerización de un mayor número de moléculas de monómero sobre el PP, logrando así un máximo provecho de la concentración monomérica empleada. Por ello, al considerar esta variable, se puede considerar que a tiempos mayores de reacción se obtienen copolímeros con un número mayor de cadenas injertadas y con una longitud o peso molecular mayor a los obtenidos en tiempos menores.

5.3.2. CONCENTRACIÓN DE GMA.

Para determinar el efecto de la concentración de GMA en la cantidad de injerto sobre la matriz de PP, se emplearon como condiciones experimentales una dosis de irradiación de 100 kGy, una intensidad de dosis de 11.3 kGy/h y un tiempo de reacción de 3 h, además, de emplear un intervalo de concentraciones de GMA de 10 hasta 40%v (Figura 41); cabe señalar que el empleo de una concentración mayor a 40%v de GMA, propicia que la lámina de PP no esté completamente en contacto con la solución monómero/disolvente, puesto que la densidad de ésta última es mayor a la de la lámina. Por medio de este análisis, se comprobó que la cantidad de injerto sobre PP depende de la concentración de monómero, puesto que al incrementar la concentración de GMA se observa un aumento en el injerto de éste sobre la matriz polimérica; similar al caso del PE, lo anterior se atribuye a que una mayor proporción de moléculas de monómero en el medio de reacción, aumentará la probabilidad de que éstas reaccionen con los sitios activos generados sobre la superficie de PP.

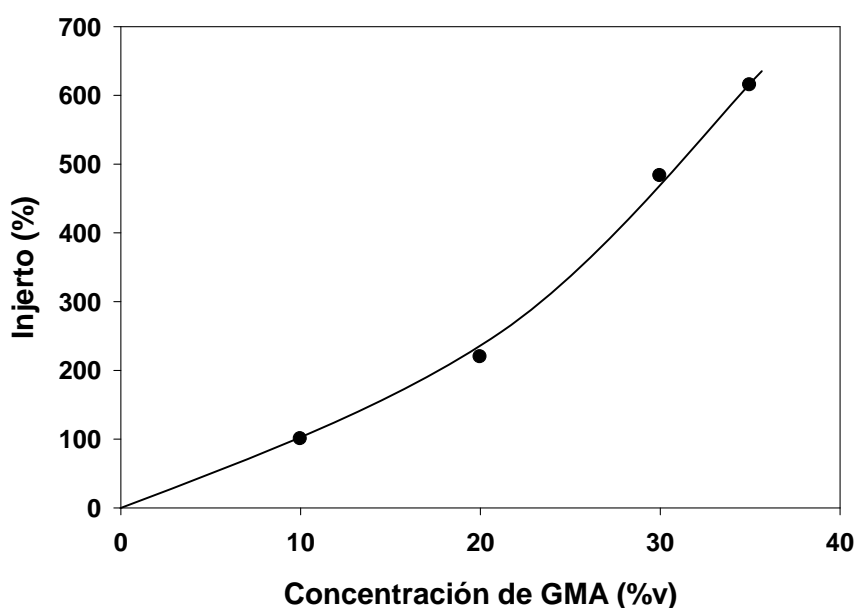


Figura 41. Evolución del porcentaje de injerto de GMA sobre PP con respecto a la concentración de monómero.

Por otro lado, en este estudio no se observa una disminución en la cantidad de injerto de GMA, como sucede con el PE (Figura 38, página 73), lo cual puede explicarse considerando la dosis a la cual es irradiado éste (200 kGy), generando una mayor cantidad de radicales libres, mismos que pueden reaccionar con las moléculas de GMA llegando a un equilibrio y límite en esta reacción, sin embargo, posterior a dicho equilibrio la reacción dominante en el medio de reacción será la homopolimerización de GMA, presentándose una disminución en el injerto de éste sobre el PE.

5.3.3. DOSIS DE IRRADIACIÓN.

Para llevar a cabo el estudio del efecto de la dosis de irradiación sobre la cantidad de GMA injertada en PP, se consideró una intensidad de dosis de 11.3 kGy/h, una concentración de GMA de 20%v, tiempo de reacción de 3 h y una temperatura de 60 °C, con un intervalo de dosis de irradiación de 25 hasta 100 kGy (Figura 42). De esta manera se determinó el incremento en la cantidad injertada de GMA sobre el PP al aumentar la dosis de irradiación; dicho comportamiento (similar al caso del PE, página 74) se debe a que a dosis altas de irradiación aumenta la formación de peróxidos e hidroperóxidos sobre la lámina polimérica, mismos que al descomponerse con la temperatura generan una mayor cantidad de radicales libres, favoreciendo de esta manera la reacción de copolimerización.

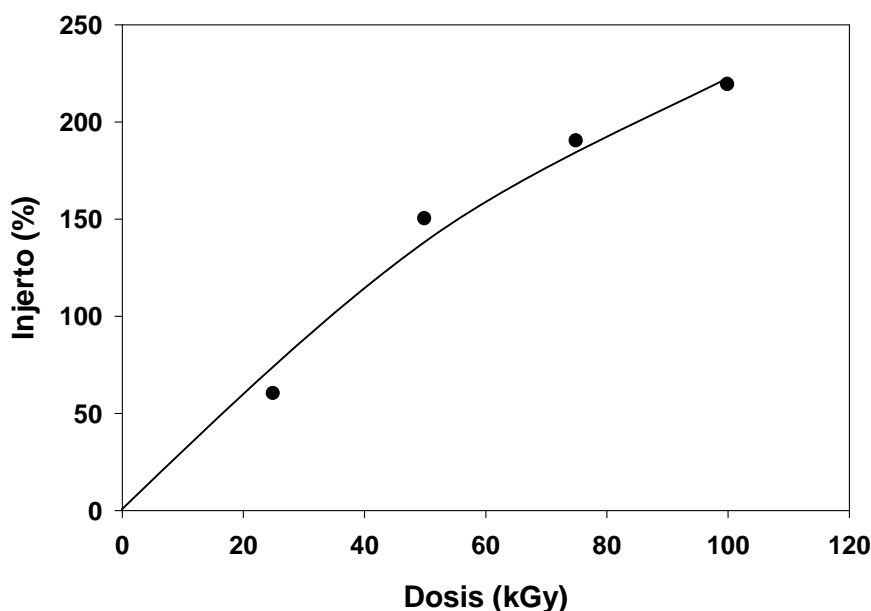


Figura 42. Evolución del porcentaje de injerto de GMA sobre PP con respecto a la dosis de irradiación.

Es importante destacar que el empleo de una dosis de irradiación de 100 kGy y las condiciones experimentales antes mencionadas, ofrecen rendimientos de injerto suficientes para la obtención de óptimos soportes poliméricos, mismos que serán modificados con ciclodextrinas y posteriormente empleados en los ensayos de carga y liberación de fármacos.

5.4. INJERTO DE GMA SOBRE PE Y PP.

Una vez determinadas las condiciones experimentales de copolimerización, se llevó a cabo el injerto de GMA sobre láminas de PE y PP con dos espesores diferentes (**0.05, 0.1 y 1 mm**), mediante la aplicación del método de preirradiación oxidativa iniciado con radiación gamma.

Dichas condiciones experimentales quedaron definidas al determinar la cinética de polimerización, siendo tales una dosis de preirradiación de 100 kGy, intensidad de dosis de 11 kGy/h, concentración de GMA de 20%v, concentración de la mezcla de disolventes MeOH/H₂O de 80% (8:2v/v) y una temperatura de 60°C. El tiempo de reacción está en un intervalo que va desde 0.5 hasta 4 h, correspondiente a las láminas de PE y PP con espesores de 100 y 50 µm, respectivamente; por otro lado, el intervalo en el tiempo de reacción empleado para las láminas con espesor de 1mm fue de 1 hasta 14 h.

Con ello se aseguró la síntesis de los copolímeros PE-g-GMA y PP-g-GMA con ambos espesores, obteniendo rendimientos suficientes para su modificación con ciclodextrinas.

A continuación, se muestra en la Figura 43 un esquema general tanto de la síntesis de los copolímeros PE-g-GMA y PP-g-GMA, así como también de la inmovilización de β-ciclodextrina (βCD) sobre éstos.

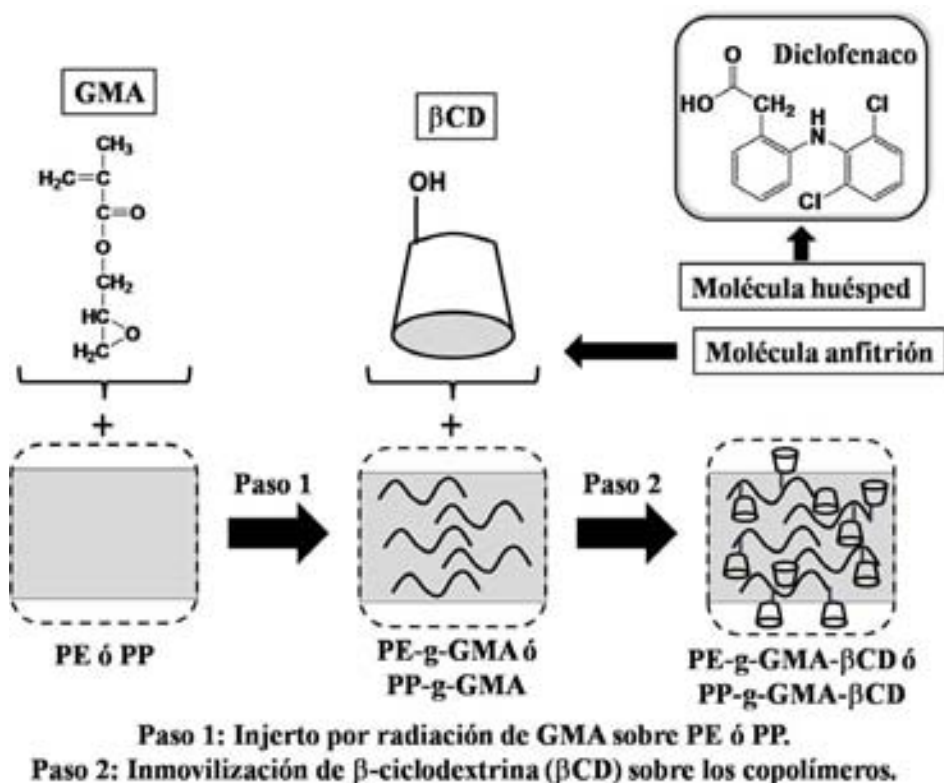


Figura 43. Representación esquemática de la síntesis de los copolímeros de injerto y su posterior modificación con β -ciclodextrina.

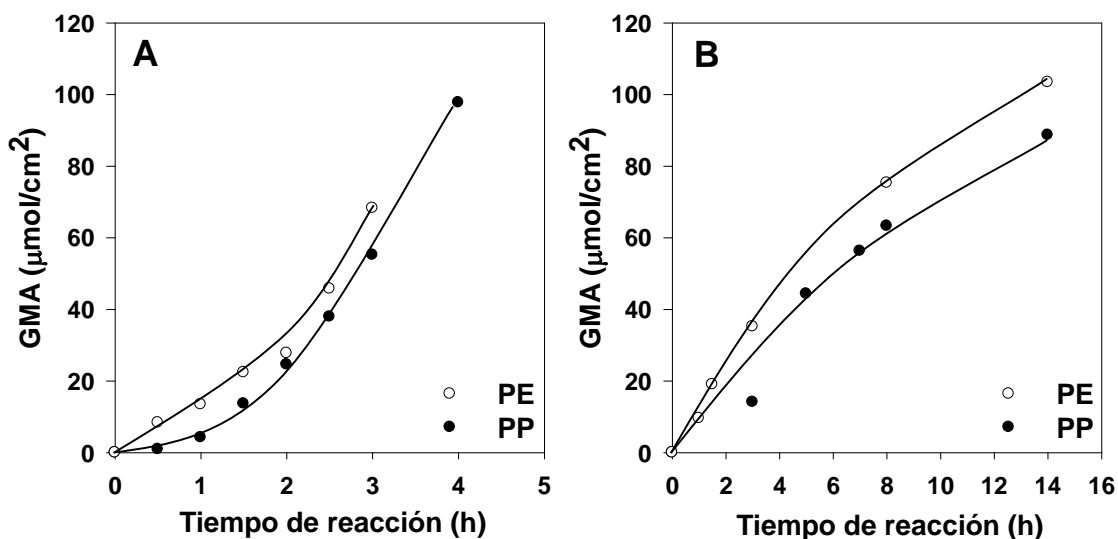


Figura 44. Injerto de GMA en PE y PP. $I = 11 \text{ kGy/h}$; $D = 100 \text{ kGy}$; $T = 60 \text{ }^\circ\text{C}$;

$[\text{GMA}] = 20\%v$; $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O} = 80\%v$ (8:2 %v/v).

A: Espesor = 0.05 mm (PP) y 0.1 mm (PE); B: Espesor 1 mm.

En la Figura 44, se muestra la cantidad de GMA ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$) injertado sobre PE y PP con respecto al tiempo de reacción. De esta manera se determinó que al aumentar el tiempo de reacción se consigue que los peróxidos formados por radiación, tengan mayor tiempo para romperse homolíticamente y, por consiguiente, los radicales generados por dicho rompimiento tengan tiempo de interaccionar con el GMA (Figura 33, página 69), dando como resultado un incremento en la cantidad injertada de éste sobre los soportes poliméricos.

Así mismo, se determinó que en los sistemas con mayor espesor (1 mm) el injerto sólo se lleva a cabo en superficie, a diferencia de aquellos con espesor delgado (0.05 y 0.1 mm), en los cuales el injerto se produce tanto en superficie como en masa, debido a una mayor difusión del GMA a través de estos soportes. Esto también se puede comprobar analizando el tiempo de reacción, mientras más grueso sea el material polimérico menor será la difusión del monómero en éste, y por consiguiente, se necesitará mayor tiempo de reacción para obtener cantidades de injerto comparables con aquellos de espesor delgado; por ejemplo, para obtener $60 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ de GMA injertado sobre las láminas delgadas, se necesitarán 3 h aproximadamente, sin embargo, para los sistemas gruesos se deberán emplear 8 h de reacción para conseguir la misma cantidad de GMA injertada. Por otro lado, al comparar la cantidad injertada de GMA sobre ambas matrices poliméricas, se observan mejores rendimientos de copolimerización sobre la matriz de PE que para el PP, esto para ambos espesores empleados, lo cual se debe en gran parte a la diferencia de cristalinidad de ambos soportes, puesto que el PE presenta menor grado de cristalinidad (Tabla 5, página 87), tendrá por consiguiente más zonas amorfas lo cual beneficiará el injerto de GMA sobre éste.

5.5. INMOVILIZACIÓN DE β CD E HP β CD SOBRE PE-g-GMA Y PP-g-GMA.

Para la inmovilización química de las ciclodextrinas, se aplicó el método publicado por Thuaut et al., el cual consistió en hacer reaccionar uno de los hidroxilos primarios de la β CD con el epóxido del GMA previamente injertado sobre una superficie de poliestireno.¹⁴⁷ En nuestro caso (Figura 45), las láminas secas de los copolímeros de injerto PE-g-GMA y PP-g-GMA se hincharon en dimetilformamida (DMF) y, a continuación, se sumergieron en una disolución de ciclodextrina, NaCl acuoso y DMF. La cantidad de ciclodextrina incorporada al medio fue la necesaria para conseguir una relación 1:1 molar de ciclodextrina y GMA injertado sobre los soportes poliméricos (consultar parte experimental, capítulo 4).

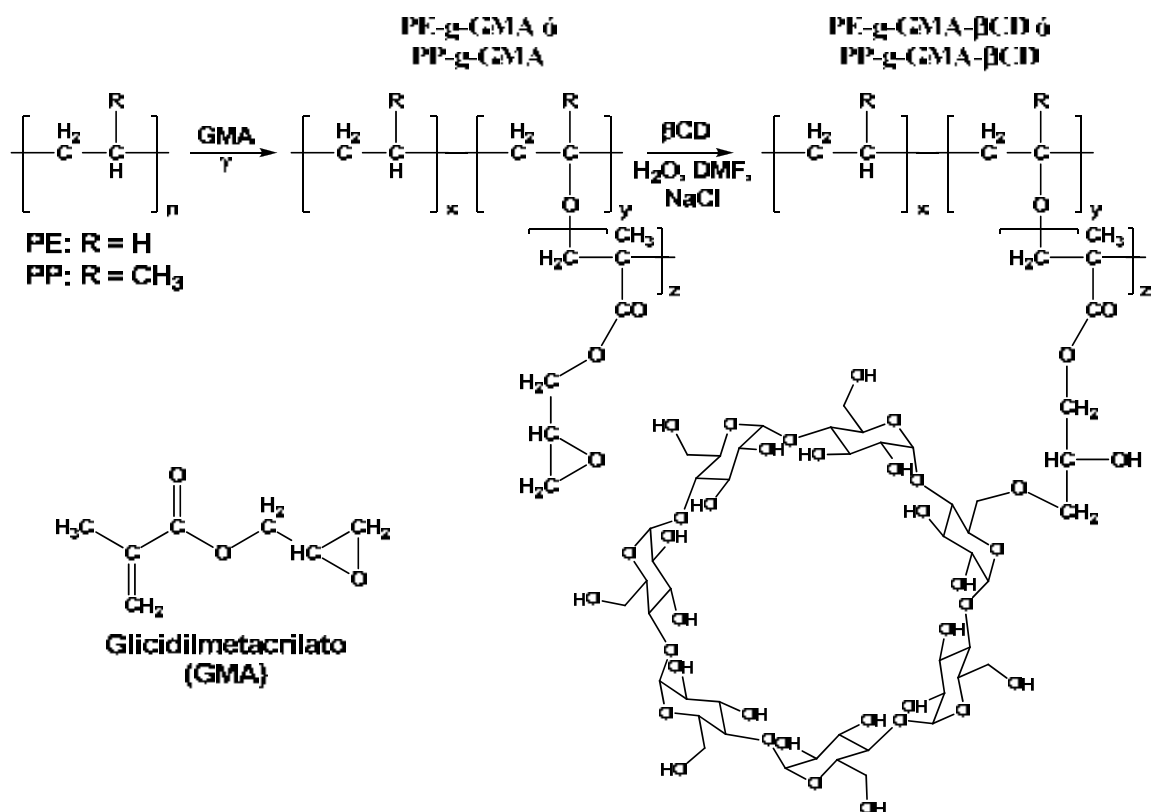


Figura 45. Ruta sintética empleada para el injerto de GMA y la posterior inmovilización de β CD sobre los copolímeros de injerto PE-g-GMA y PP-g-GMA.

En la Figura 46A, se muestra la cantidad de ciclodextrina inmovilizada, sobre los soportes poliméricos finos (0.05 y 0.1 mm) con respecto a la cantidad de GMA injertado. El rendimiento de la reacción se ve favorecido cuando la cantidad de GMA existente en los copolímeros aumenta, ya que al haber un número mayor de anillos epóxidos en éstos, se tendrán más sitios de reacción para la unión química de las ciclodextrinas.

Por otro lado, el contraste en el rendimiento de unión de ciclodextrinas entre PE y PP se explica mediante las diferencias de cristalinidad en éstas (Tablas 5 y 6, páginas 87 y 89), de manera similar al caso anterior, ya que al existir mayor cristalinidad en el PP habrá un mejor arreglo espacial de las cadenas injertadas de GMA sobre éste, y por consiguiente, se facilitará la inmovilización química de las ciclodextrinas. Sin embargo, se observa un menor rendimiento de unión para HP β CD, hecho que ocurre debido al impedimento estérico que muestra esta molécula.

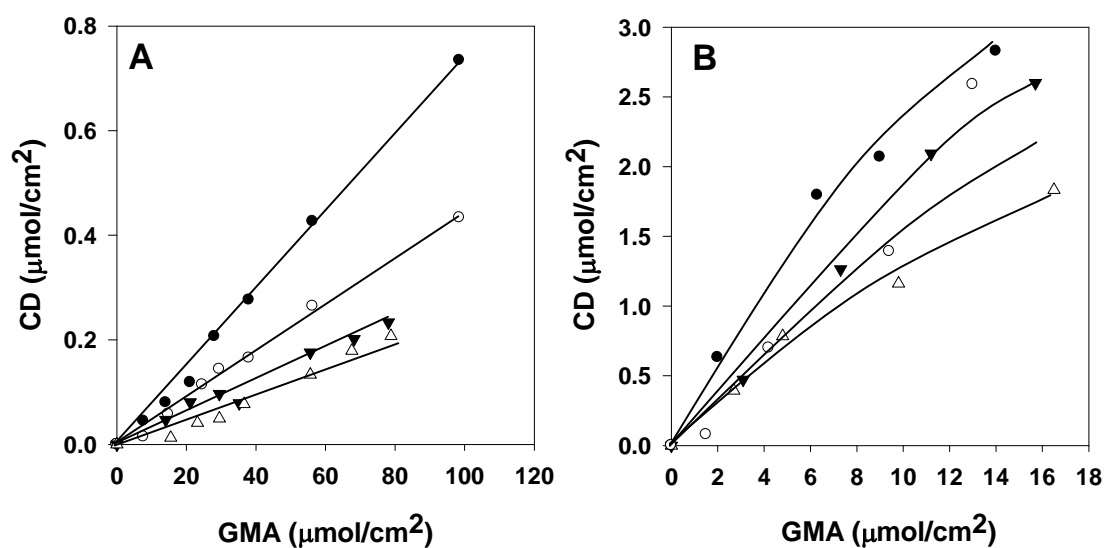


Figura 46. Inmovilización de β CD e HP β CD.

(●) PP-g-GMA- β CD; (▼) PE-g-GMA- β CD; (○) PP-g-GMA-HP β CD y

(Δ) PE-g-GMA-HP β CD. A: Espesor = 0.05 mm (PP) y 0.1 mm (PE); B: Espesor 1 mm.

Así mismo, en la Figura 46B se presenta el rendimiento de unión de las ciclodextrinas sobre los soportes poliméricos gruesos (1 mm) con respecto a la cantidad de GMA injertado en éstos. La cantidad inmovilizada de ciclodextrina se incrementa al haber un número mayor de GMA injertado sobre los copolímeros. Es interesante la manera en la cual ambas ciclodextrinas se unen químicamente a los soportes. Para el caso de la β CD, se observa una mayor cantidad de unión a los copolímeros, a diferencia de la HP β CD, lo cual se debe en gran medida al mayor impedimento estérico que presenta esta última, trayendo como resultado una menor facilidad de unión química a los soportes.

5.6. CARACTERIZACIÓN DE LOS COPOLÍMEROS DE INJERTO PE-g-GMA Y PP-g-GMA Y SU MODIFICACIÓN CON CICLODEXTRINAS.

Tanto los copolímeros de injerto sintetizados, así como también, su modificación con β -ciclodextrina e hidroxipropil- β -ciclodextrina, fueron caracterizados empleando técnicas tales como espectroscopia de infrarrojo (FTIR-ATR), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y microscopia electrónica de barrido (SEM); por otro lado, también se determinó el grado de hinchamiento en dimetilformamida (DMF) de dichos copolímeros, considerando a este estudio otra forma de caracterización, puesto que es necesario para llevar a cabo la inmovilización de ciclodextrinas.

5.6.1. HINCHAMIENTO LÍMITE EN DIMETILFORMAMIDA (DMF).

Los ensayos de hinchamiento límite se realizaron empleando dimetilformamida como disolvente y varias láminas de los copolímeros PE-g-GMA y PP-g-GMA con diferentes cantidades de GMA injertado, con la finalidad de determinar el tiempo de hinchamiento límite y con ello mejorar el rendimiento de unión de las ciclodextrinas sobre los copolímeros sintetizados.

En la Figura 47, se muestra la gráfica de hinchamiento límite correspondiente al copolímero de injerto PE-g-GMA. Mediante esta caracterización, se determinó que el hinchamiento de los copolímeros sintetizados sobre la matriz de PE aumenta con la cantidad de GMA injertado. Evidentemente, la incorporación de mayores cantidades de GMA sobre las cadenas de PE incrementa su afinidad por las moléculas de DMF, puesto que en este caso la matriz polimérica es muy hidrofóbica. Por otro lado, se estableció que el tiempo de hinchamiento límite para dichos copolímeros se encuentra aproximadamente a los 30 minutos.

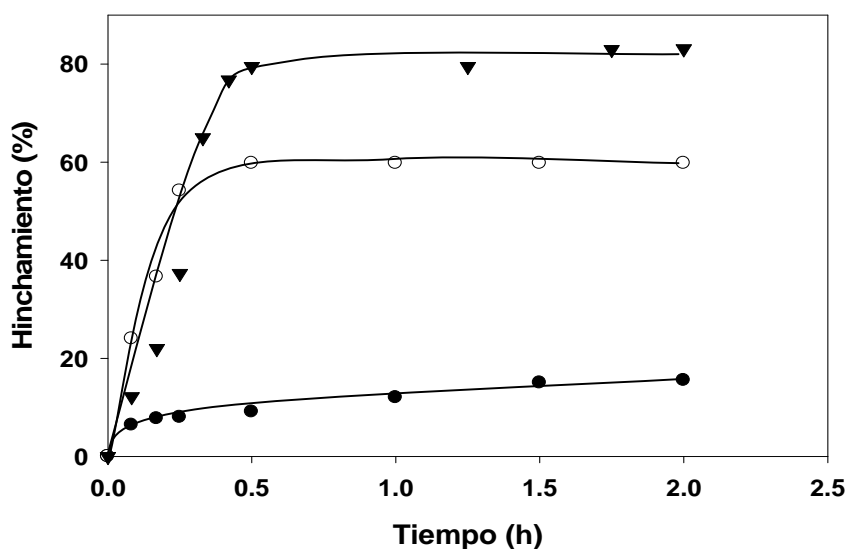


Figura 47. Determinación del hinchamiento límite en DMF en función del tiempo para (●) PE-g-GMA 60%, (○) PE-g-GMA 365% y (▼) PE-g-GMA 616%.

En la Figura 48, se presenta la gráfica de hinchamiento límite para el copolímero de injerto PP-g-GMA.

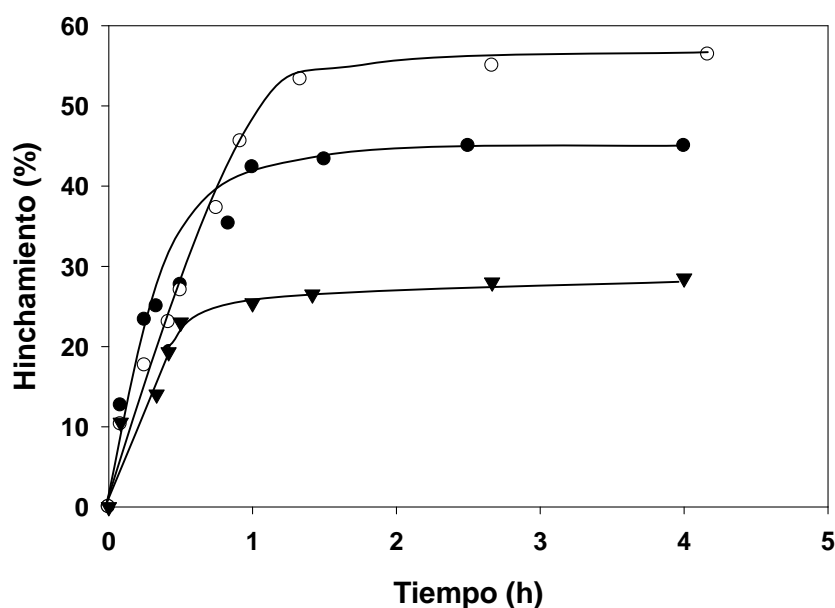


Figura 48. Determinación del hinchamiento límite en DMF en función del tiempo para (▼) PP-g-GMA 100%, (●) PP-g-GMA 482% y (○) PP-g-GMA 605%.

Al igual que en el caso anterior, el hinchamiento de los copolímeros sintetizados sobre la matriz de PP aumenta con la cantidad de GMA injertado. Puesto que la matriz de PP es muy hidrofóbica, un incremento en la cantidad de GMA sobre las cadenas de PP aumentará su afinidad por las moléculas de DMF, mejorando la propiedad hidrofílica del material de partida (PP). Es importante señalar, que el tiempo de hinchamiento límite es corto para el copolímero con una cantidad de GMA baja (100%), cerca de 1 h, puesto que presenta una menor afinidad por las moléculas de DMF, a diferencia de aquel con cantidades de GMA altas (605%), por lo tanto, éste último tardará más en alcanzar el equilibrio de interacción entre las cadenas de GMA con las moléculas de DMF, aproximadamente, 1.5 h.

Por otro lado, al hacer la comparación entre ambas matrices poliméricas y tomando en cuenta que las cadenas en el PE se encuentran más desordenadas, se determinó que el copolímero sintetizado sobre éste tiene un mayor grado de hinchamiento que aquel sintetizado sobre PP, puesto que en el primero existe una mayor difusión de DMF debido a la conformación de las cadenas en éste, evidentemente, será más difícil la difusión del disolvente en una estructura más ordenada (cristalina) como es el caso del copolímero sintetizado sobre PP, y por lo tanto, aumentará el tiempo de hinchamiento límite.

5.6.2. ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO (FTIR-ATR).

El injerto de GMA sobre las láminas de PE y PP, así como también la modificación con las ciclodextrinas, fueron confirmados mediante espectroscopia FTIR-ATR. En la Figura 49, se muestra el espectro de PE el cual presenta dos señales a 2916 y 2848 cm^{-1} debidas a la vibración simétrica de los grupos CH_2 .¹⁵¹ El espectro del copolímero de injerto PE-g-GMA, comparado con el de PE, muestra otras bandas de absorción en 1725 y 1180 cm^{-1} debidas al estiramiento vibracional del enlace C=O y al estiramiento del enlace C-O del grupo éster, respectivamente. Además, la ausencia de las bandas de absorción características del enlace insaturado C=C procedentes del GMA (3140, 1640 y 940, 815 cm^{-1}), sin duda confirman el injerto de dicho monómero sobre el PE.¹⁵² La funcionalización del copolímero de injerto PE-g-GMA con βCD e $\text{HP}\beta\text{CD}$, fue confirmada por la presencia de una banda de absorción en 3457 cm^{-1} debida al estiramiento vibracional del enlace O-H (Figura 49).

La disminución en la intensidad de las señales del grupo epóxido y la presencia de dos bandas de absorción en la región de 1100 y 1200 cm^{-1} (debidas al estiramiento del enlace C-O del grupo funcional éter) indican que las ciclodextrinas se unieron covalentemente al copolímero de injerto PE-g-GMA, resultado de la reacción química de los grupos epóxido del GMA con alguno de los hidroxilos primarios de las ciclodextrinas.

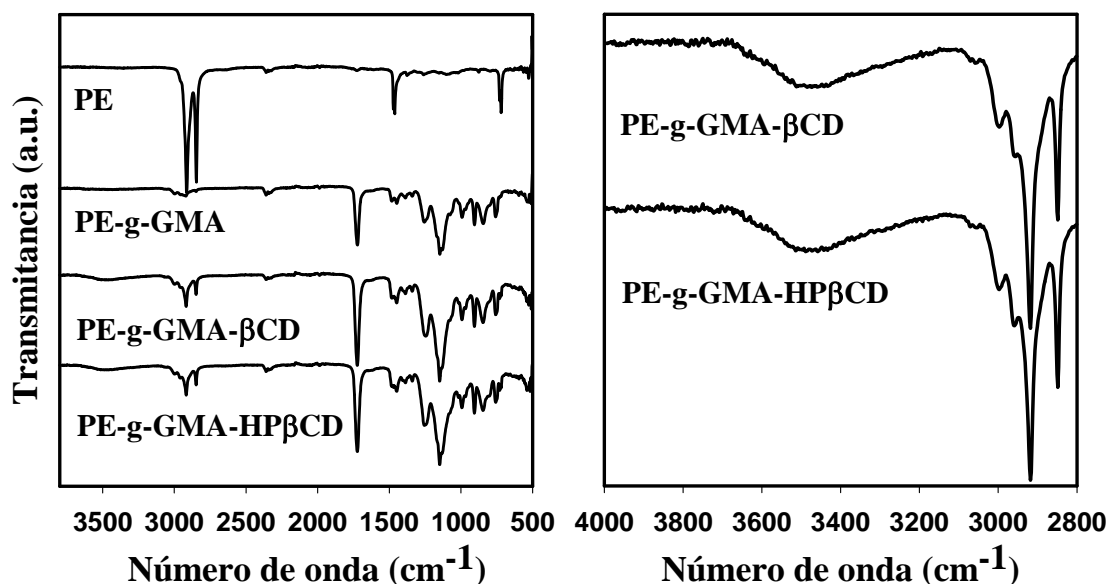


Figura 49. Espectros FTIR-ATR de PE, PE-g-GMA y su modificación con βCD e $\text{HP}\beta\text{CD}$.

En la Figura 50, se muestra el espectro de PP el cual presenta dos señales a 1375 y 1452 cm^{-1} que corresponden a la vibración simétrica y asimétrica de los grupos CH_3 , respectivamente, así como también bandas debidas a estiramientos de los grupos CH_2 entre 2950 y 2838 cm^{-1} .¹⁵³ Al igual que en el caso anterior, el espectro del copolímero de injerto PP-g-GMA, comparado con el de PP, muestra otras bandas de absorción en 1725 y 1180 cm^{-1} debidas al estiramiento vibracional del enlace C=O y al estiramiento del enlace C–O del grupo éster, respectivamente. La funcionalización del copolímero de injerto PP-g-GMA con βCD e $\text{HP}\beta\text{CD}$, fue confirmada por la presencia de una banda de absorción en 3457 cm^{-1} debida al estiramiento vibracional del enlace O–H (Figura 50). La disminución en la intensidad de las señales del grupo epóxido y la presencia de dos bandas de absorción en la región de 1100 y 1200 cm^{-1} (debidas al estiramiento del enlace C–O del éter).

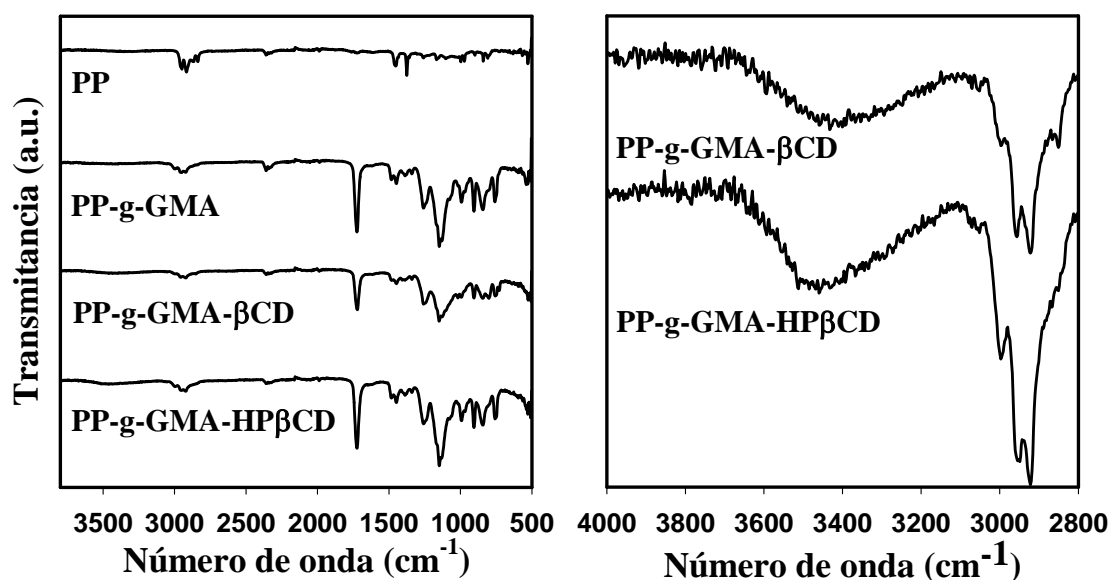


Figura 50. Espectros FTIR-ATR de PP, PP-g-GMA y su modificación con βCD e $\text{HP}\beta\text{CD}$.

5.6.3. CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC).

Por medio de la calorimetría diferencial de barrido se pudo determinar los cambios fisicoquímicos que sufren las matrices poliméricas de PE y PP, durante la reacción de injerto de GMA y su posterior modificación con β -ciclodextrina (βCD), para ello se presentan en las Tablas 5 y 6 los valores de cristalinidad (X_c), así como también, aquellos valores correspondientes a la temperatura y entalpia de fusión (T_m y ΔH_m , respectivamente) de varios sistemas sintetizados. Así mismo, en las Figuras 51 y 52 se muestran los termogramas obtenidos para dichos sistemas.

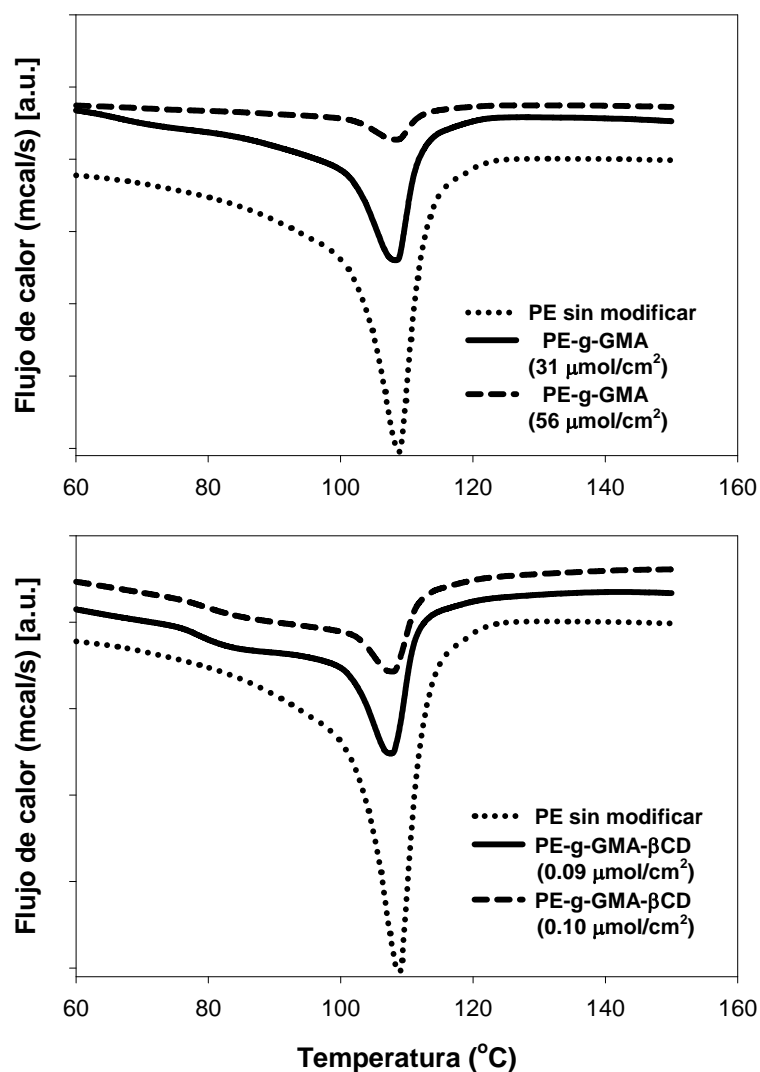


Figura 51. Termogramas DSC correspondientes al PE sin modificar, al copolímero de injerto PE-g-GMA y su análogo modificado con β CD (PE-g-GMA- β CD).

Tabla 5. Propiedades térmicas de PE, PE-g-GMA y PE-g-GMA- β CD.					
Muestra	GMA ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	β CD ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	T_m ($^{\circ}\text{C}$)	ΔH_m (J/g)	X_C (%)
PE	---	---	108.8	97	34
PE-g-GMA	31	---	108.4	69	24
PE-g-GMA	56	---	108.6	64	22
PE-g-GMA- β -CD	31	0.096	107.8	58	20
PE-g-GMA- β -CD	56	0.100	107.9	52	18

Con el análisis de la Figura 51 y los resultados mostrados en la Tabla 5, se determinó que el PE muestra una transición térmica de primer orden a 109 °C, correspondiente a su temperatura de fusión, misma que está de acuerdo con aquellas publicadas en la literatura (107-110 °C).¹⁵⁴ Además de mostrar un grado de cristalinidad del 34%.

Consecutivamente, con el injerto de GMA y la posterior modificación con β CD sobre el PE, se obtuvieron nuevos materiales poliméricos los cuales mostraron una disminución en el grado de cristalinidad con respecto al material de partida, así como también, una reducción en el valor de entalpía de fusión. Sin embargo, no se presentó algún cambio significativo en la temperatura de fusión de estos materiales sintetizados con respecto al PE sin modificar.

De esta manera se comprobó que propiedades fisicoquímicas tales como la cristalinidad y la entalpía de fusión disminuyen gradualmente conforme se modifica la matriz de PE. Lo anterior puede explicarse mediante los cambios estructurales que se producen en el polímero durante el injerto de GMA, puesto que éste al ser un componente no cristalino, se injertará en una mayor proporción en la parte amorfa de la matriz pero también afectará la cristalinidad de ésta.¹⁵⁵

En la Tabla 6, se presentan los valores de cristalinidad (X_c), temperatura y entalpía de fusión (T_m y ΔH_m , respectivamente) correspondientes a los copolímeros de injerto sintetizados sobre PP, así como también su modificación con β CD.

De igual forma, se determinó una transición térmica de primer orden correspondiente a la temperatura de fusión del PP a 165 °C (Figura 52), la cual está de acuerdo con aquellas publicadas en la literatura (165-170 °C).¹⁵⁰ Además de determinar un grado de cristalinidad del 54%.

Al igual que en el caso anterior, se observó una disminución en el grado de cristalinidad con respecto al PP de partida, así como también, una reducción en el valor de la entalpía de fusión, determinando con ello que tales propiedades fisicoquímicas disminuyen gradualmente conforme se modifica la matriz de PP. Este comportamiento se debe a la ruptura de la cristalinidad del polímero, dado que la reacción de injerto de GMA (componente no cristalino) se lleva a cabo tanto en la parte amorfa como en la cristalina, siendo mayor en la primera.¹⁵⁵ Por otro lado, no se presentó algún cambio significativo en la temperatura de fusión de estos materiales sintetizados con respecto al PP sin modificar.

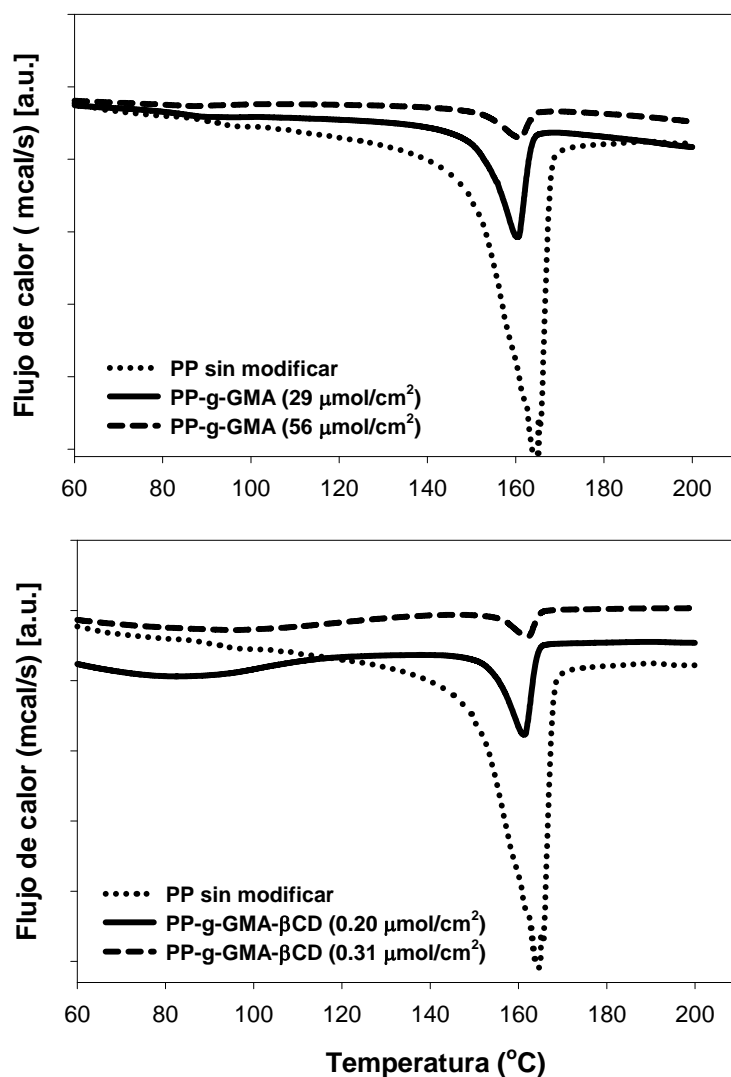


Figura 52. Termogramas DSC correspondientes al PP sin modificar, al copolímero de injerto PP-g-GMA y su análogo modificado con β CD (PP-g-GMA- β CD).

Tabla 6. Propiedades térmicas de PP, PP-g-GMA y PP-g-GMA- β CD.					
Muestra	GMA ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	β CD ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	T_m ($^{\circ}\text{C}$)	ΔH_m (J/g)	X_C (%)
PP	---	---	165	113	54
PP-g-GMA	29	---	160	96	46
PP-g-GMA	56	---	161	82	40
PP-g-GMA- β -CD	29	0.197	161	78	37
PP-g-GMA- β -CD	56	0.312	162	68	32

5.6.4. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM).

Las morfologías de los copolímeros sintetizados sobre ambas matrices poliméricas, así como también, sus análogos modificados con las ciclodextrinas, se presentan a continuación en las Figuras 53 y 54. Las muestras fueron analizadas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), determinando con esto que existen diferencias morfológicas entre ellas, debido a la presencia de GMA sobre las matrices poliméricas, además de su modificación con las ciclodextrinas.

En la Figura 53, se muestra la morfología de los copolímeros sintetizados sobre PE y su posterior modificación con β CD e HP β CD. En el caso del PE sin modificar, se observa una morfología homogénea y uniforme. Posteriormente, con el injerto de GMA sobre el PE, se presenta una superficie discontinua, la cual aumenta al incrementar la cantidad injertada de GMA sobre la matriz polimérica. Por otro lado, al llevar a cabo la modificación química de los copolímeros, se observa la formación de agregados moleculares de ciclodextrinas; sin embargo, la superficie es discontinua, comprobando con ello que la inmovilización de éstas es no homogénea sobre el copolímero. Por otro lado, en la Figura 54 se presentan los cambios en la morfología de los copolímeros sintetizados sobre el PP y su posterior modificación con β CD e HP β CD. Al igual que en el caso del PE, la superficie del PP es completamente homogénea y uniforme. Con el injerto de GMA sobre dicho polímero, se muestra una superficie discontinua, la cual aumenta al incrementar la cantidad de GMA. De igual manera, al realizar la modificación química de los copolímeros, se observa la formación de agregados moleculares de ciclodextrinas y una superficie discontinua y no uniforme, determinando con ello que dicha modificación no es completamente homogénea.

Las diferentes morfologías observadas para los copolímeros, resultan de las diferencias que existen entre las dos partes que los componen (PE o PP y GMA), por ejemplo, el grado de cristalinidad, la miscibilidad, hidrofiliidad, etc., además de las interacciones conformacionales entre las cadenas poliméricas durante el proceso de injerto. Por otro lado, al llevar a cabo la modificación química de los sistemas sintetizados, es evidente que la inmovilización de ciclodextrinas no se lleva a cabo uniformemente sobre toda la superficie del copolímero, debido a las fluctuaciones de concentración causadas por la difusión de las ciclodextrinas y, principalmente, al impedimento estérico característico de éstas. De esta manera, la inmovilización de ciclodextrinas puede realizarse dentro de los dominios localizados en la primera capa de injerto de GMA y, subsecuentemente, llevar una distribución desigual de masa.

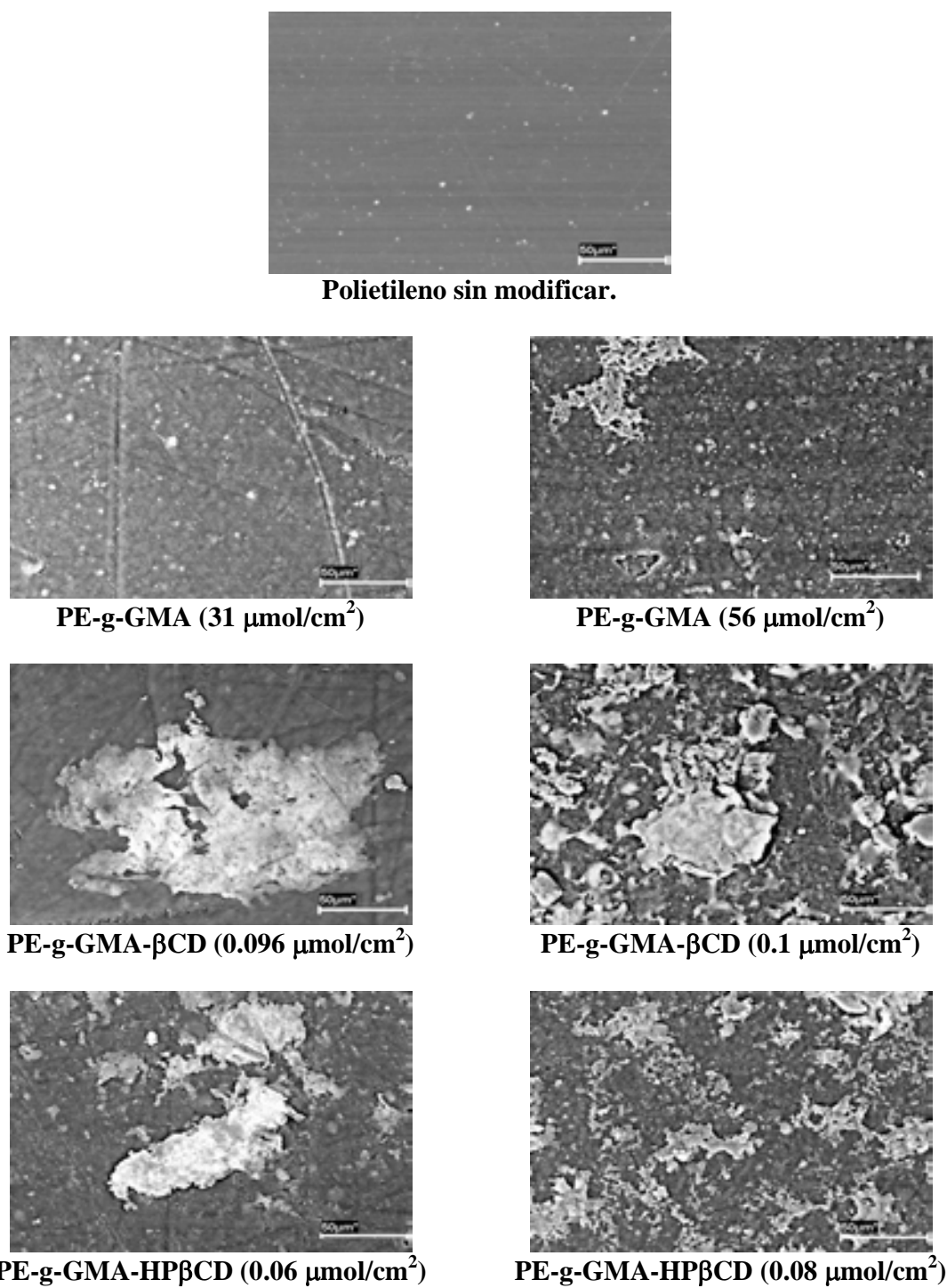
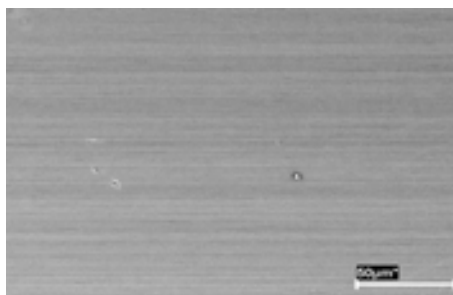
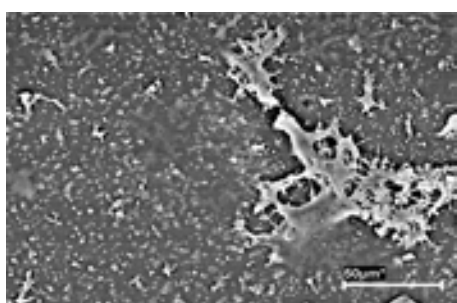


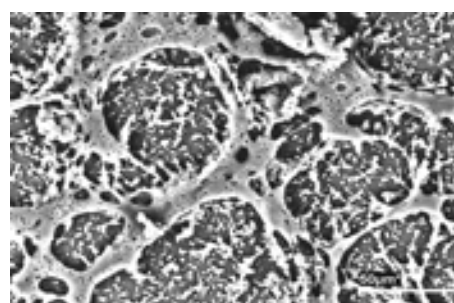
Figura 53. Micrografías de SEM correspondientes al PE sin modificar, al copolímero PE-g-GMA y su análogo modificado con βCD e HPβCD.



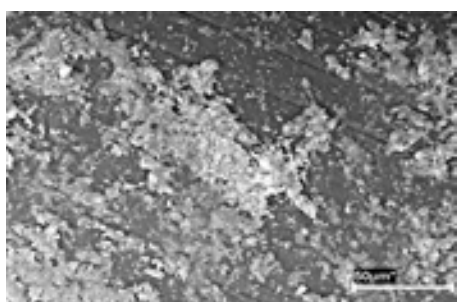
Polipropileno sin modificar.



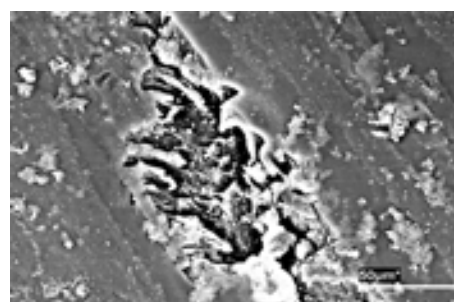
PP-g-GMA (30 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)



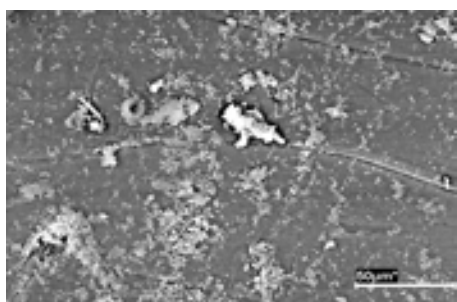
PP-g-GMA (56 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)



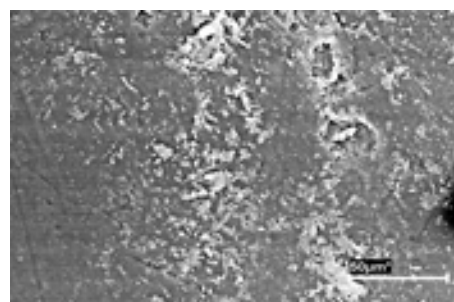
PP-g-GMA-βCD (0.2 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)



PP-g-GMA-βCD (0.3 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)



PP-g-GMA-HPβCD (0.18 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)



PP-g-GMA-HPβCD (0.26 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)

Figura 54. Micrografías de SEM correspondientes al PP sin modificar, al copolímero PP-g-GMA y su análogo modificado con βCD e HP βCD .

5.6.5. DENSIDAD DEL LDPE (100 μm) POR FLOTACIÓN.

Además de las pruebas de caracterización presentadas previamente, también se llevo a cabo la determinación de la densidad por el método de flotación del LDPE empleado para el injerto de glicidilmetacrilato.

A continuación, se muestran los resultados obtenidos al determinar la densidad de dicha matriz polimérica (tabla 7).

Tabla 7. Densidad del LDPE sin modificar.		
Peso del picnómetro vacío (19 °C)	Peso del picnómetro con agua destilada (19 °C)	Peso del picnómetro con la solución (agua/etanol) (19 °C)
17.8538 g	43.6064 g	41.5228 g

Por lo tanto, se tiene que:

$$\rho_{(H_2O)} = g_{(H_2O)} / mL_{(H_2O)};$$

$$g_{(H_2O)} = g_{(\text{Peso del picnómetro con agua destilada})} - g_{(\text{Peso del picnómetro vacío})} = 25.752 \text{ g}$$

$$\rho_{(H_2O)} = 1 \text{ g} / \text{mL}; \quad mL_{(\text{Solución})} = g_{(H_2O)} / \rho_{(H_2O)} = 25.752 \text{ g} / 1 \text{ g.mL}^{-1} = 25.752 \text{ mL}$$

$$g_{(\text{Solución})} = g_{(\text{Peso del picnómetro con la solución})} - g_{(\text{Peso del picnómetro vacío})} = 23.669 \text{ g}$$

$$\rho_{(\text{LDPE})} = g_{(\text{Solución})} / mL_{(\text{Solución})} = 23.669 \text{ g} / 25.752 \text{ mL}$$

$$\rho_{(\text{LDPE})} = 0.92 \text{ g} / \text{mL}$$

5.7. RECTAS DE CALIBRACIÓN Y PRUEBAS DE SOLUBILIDAD.

5.7.1. PREPARACIÓN DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN: DICLOFENACO DE SODIO, NITRATO DE MICONAZOL Y ÁCIDO 3-METILBENZOICO.

En la Figura 55, se muestran las curvas de calibración para el diclofenaco de sodio, nitrato de miconazol y el ácido 3-metilbenzoico, las cuales se emplearon para determinar la concentración de dichos analitos en las pruebas de carga y cesión de los mismos.

La curva de calibración correspondiente al nitrato de miconazol, se realizó con la preparación de tres soluciones patrón (200 mg/L), empleando para ello una mezcla de metanol/agua (90:10 %v) para la disolución completa de dicho fármaco; posteriormente, se procedió a preparar distintas disoluciones las cuales se analizaron empleando espectrofotometría UV-vis (Agilent 8453, Germany) con una longitud de onda de 272 nm. Cabe mencionar, que esta curva de calibración también fue empleada para determinar la concentración de dicho fármaco en las pruebas de solubilidad.

Para el caso del diclofenaco de sodio, se llevo a cabo la preparación de tres soluciones acuosas (50 mg/L) de este compuesto y, posteriormente, se prepararon las disoluciones pertinentes las cuales se analizaron con una longitud de onda de 276 nm.

Así mismo, la curva correspondiente de 3-MBA (200mg/L) se preparó de la misma manera que las dos anteriores, con la diferencia de emplear una longitud de onda de 281 nm para su medición.

Las curvas de calibración para los tres analitos (Figura 55) permiten determinar un grado de correlación aceptable en todos los casos, por lo que se decidió que el método era adecuado para cuantificar (con buenos resultados) las concentraciones de éstos en los procesos de carga y, posteriormente, en los de liberación. Cabe destacar, que las tres curvas de calibración son métodos analíticos aceptables para este estudio ($r^2 \sim 1$).

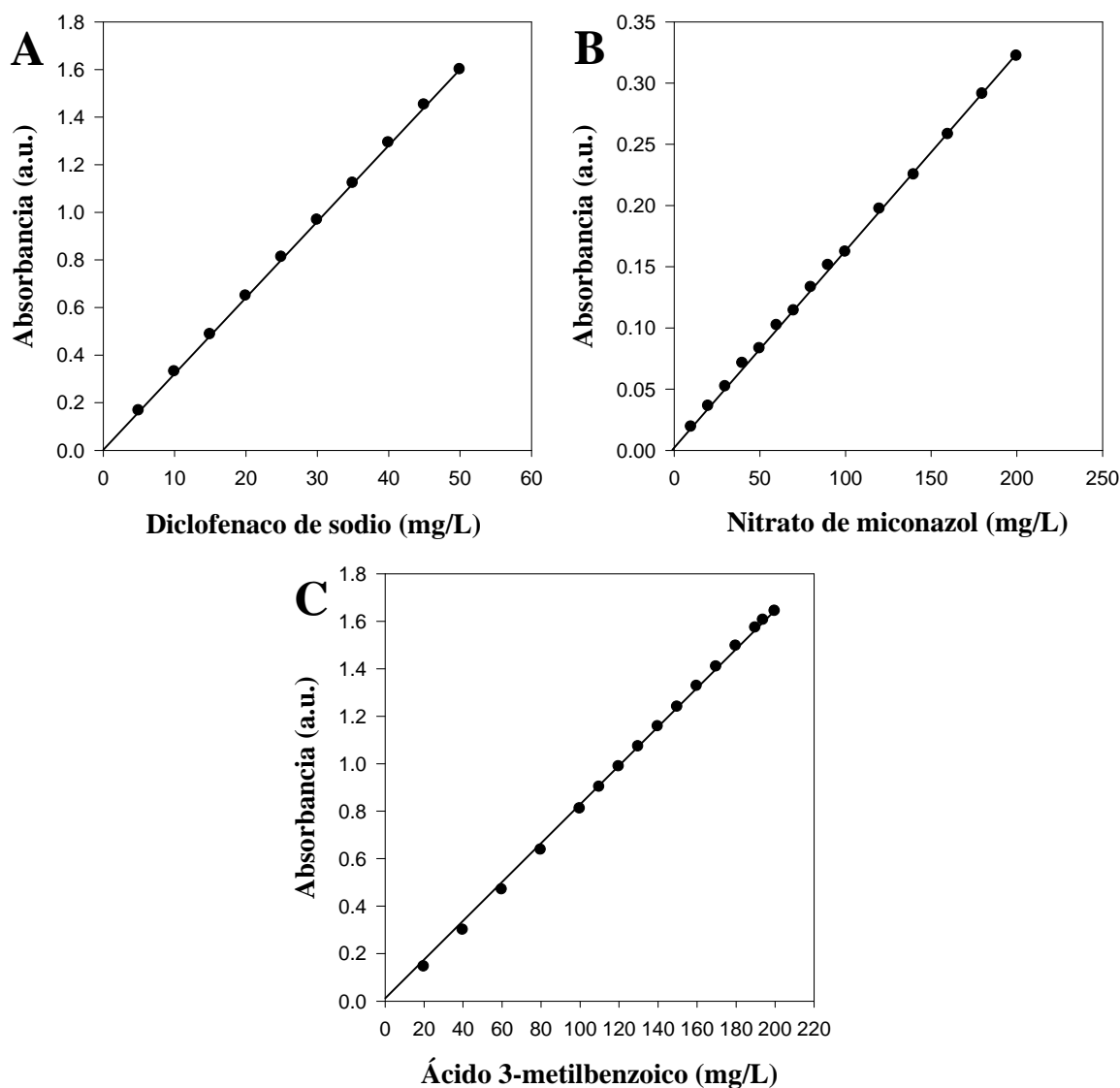


Figura 55. Curvas de calibración para **A:** diclofenaco de sodio ($y = 0.0319x + 0.0092$; $r^2 = 0.9997$; $CV = 1\%$); **B:** nitrato de miconazol ($y = 0.0016x + 0.0049$; $r^2 = 0.9997$; $CV = 2.3\%$) y **C:** ácido 3-metilbenzoico (3-MBA; $y = 0.0084x - 0.0316$; $r^2 = 0.9998$; $CV = 1.6\%$).

5.7.2. DIAGRAMA DE SOLUBILIDAD DE NITRATO DE MICONAZOL EN PRESENCIA DE CICLODEXTRINAS.

Con el objetivo de determinar la interacción entre el miconazol y ambas ciclodextrinas, se construyeron los diagramas de solubilidad, lo cual permitió determinar las constantes de asociación entre ambas moléculas. Dichas pruebas se realizaron de acuerdo a lo descrito por Higuchi et al.⁶⁴ (ver parte experimental, capítulo 4).

En la Figura 56, se muestra el perfil de solubilidad entre el nitrato de miconazol y la β CD, el cual corresponde a un diagrama del tipo A_L , que muestra que la solubilidad del fármaco aumenta linealmente a medida que se incrementa la concentración de β CD en el medio, determinando con ello que la estequiometría de formación del complejo miconazol/ β CD es 1:1.

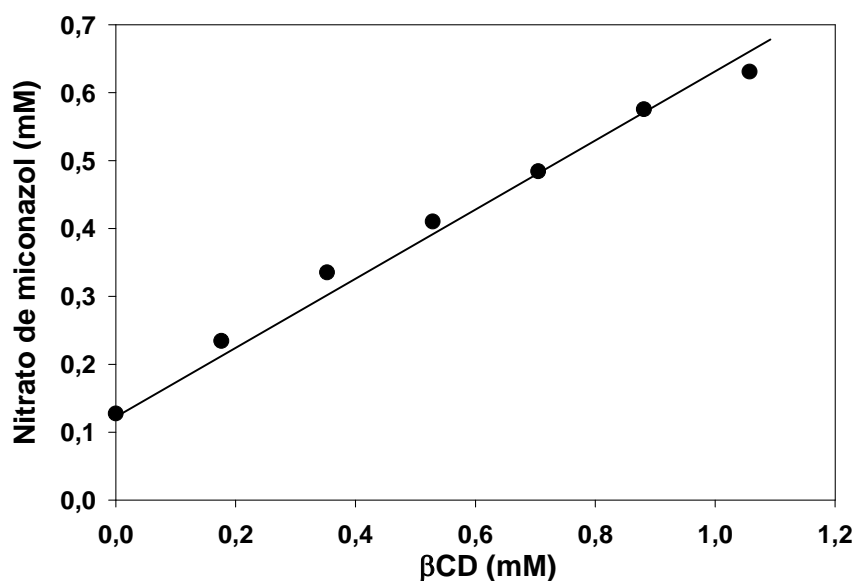


Figura 56. Diagrama de solubilidad de tipo A_L para la interacción entre el nitrato de miconazol y β CD ($y = 0.4745 + 0.1488x$; $r^2 = 0.993$).

Al igual que en el caso anterior, se llevó a cabo el ensayo de solubilidad para el miconazol en HP β CD, siguiendo la misma metodología experimental antes publicada. En la Figura 57, se presenta el diagrama de solubilidad el cual corresponde, de igual manera, a un perfil del tipo A_L , en donde se asume que la relación estequiométrica del complejo supramolecular formado es 1:1.

La constante de formación de los complejos 1:1 ($K_{1:1}$) se estima a partir de la pendiente de los diagramas A_L , utilizando la siguiente expresión, donde S es la pendiente de la recta y S_0 la solubilidad del miconazol sin ciclodextrina. También es posible estimar la eficacia de complejación (CE) entre ambas moléculas, la cual determina la relación molar entre las unidades de ciclodextrina interaccionando con el nitrato de miconazol y las unidades de ciclodextrina libres en el medio.

$$K_{L1} = \frac{S}{S_0(1-S)}$$

$$CE = \frac{S}{1-S}$$

Complejo	Tipo de diagrama	Constante de asociación (M ⁻¹)	Eficacia de complejación
Miconazol/ β CD	A _L	7087	0.902
Miconazol/HP β CD	A _L	4800	0.361

Es evidente, que la eficacia de formación del complejo entre la β CD y el nitrato de miconazol es mayor que para la HP β CD; lo que puede atribuirse a que el sustituyente hidroxipropilo de la HP β CD distorsiona la cavidad de la ciclodextrina haciendo menos favorable la complejación.

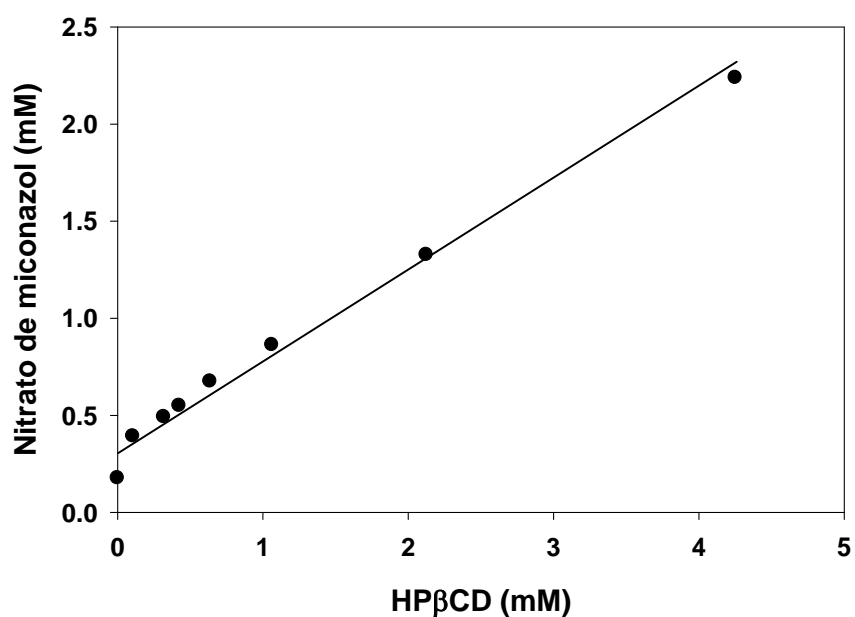


Figura 57. Diagrama de solubilidad de tipo A_L para la interacción entre el nitrato de miconazol y HP β CD ($y = 0.4581x + 0.327$; $r^2 = 0.9898$).

5.8. CARGA DE ÁCIDO 3-METILBENZOICO (3-MBA).

Desde el punto de vista de la síntesis de biomateriales como sistemas de liberación de fármacos, un parámetro clave para el diseño de estos novedosos soportes poliméricos es el contenido de ciclodextrinas inmovilizadas sobre la superficie de éstos, las cuales son las responsables de llevar a cabo los complejos de inclusión con los fármacos de interés, puesto que los polímeros iniciales (PE y PP) no presentan la capacidad de absorber solutos sobre la superficie.

Para este propósito, se utilizó el ácido 3-metilbenzoico (3-MBA) para determinar las cavidades disponibles de ciclodextrina sobre dichos soportes previamente sintetizados y modificados, procediendo a la carga del 3-MBA sobre éstos. Es importante mencionar que este ácido carboxílico presenta alta afinidad hacia la β CD e HP β CD.^{148, 156} Los ensayos de carga se realizaron por duplicado empleando para ello el método de adsorción sobre los soportes, determinando la concentración cargada por éstos mediante UV-vis (281 nm) después de 48 h de carga (ver parte experimental, capítulo 4).

A continuación en las Tablas 8 y 9, se presentan los resultados de carga para dicho compuesto sobre los copolímeros PP(0.1mm)-g-GMA y PE(0.1mm)-g-GMA, respectivamente, modificados tanto con β CD e HP β CD. La concentración inicial de 3-MBA fue de 0.2 g/L.

Tabla 8. Cantidades cargadas de 3-MBA.							
PP-g-GMA-βCD				PP-g-GMA-HPβCD			
GMA ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	β -CD ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	3-MBA ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	CD/3MBA	GMA ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	HP- β -CD ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	3-MBA ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	CD/3MBA
7.7	0.045	0.062	0.714	7.7	0.014	0.153	0.094
14.1	0.080	0.057	1.407	14.8	0.058	0.180	0.319
21.1	0.119	0.104	1.137	24.6	0.114	0.241	0.472
28.1	0.206	0.130	1.593	29.5	0.144	0.237	0.607
38.0	0.276	0.214	1.292	38.0	0.165	0.211	0.783
56.3	0.426	0.211	2.020	56.3	0.264	0.246	1.072
98.5	0.734	0.247	2.970	98.5	0.433	0.298	1.457

PE-g-GMA- β CD				PE-g-GMA-HP β CD			
GMA ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	β -CD ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	3-MBA ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	CD/3MBA	GMA ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	HP- β -CD ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	3-MBA ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	CD/3MBA
14.1	0.047	0.081	0.581	15.5	0.013	0.083	0.152
21.1	0.081	0.125	0.646	23.2	0.041	0.080	0.511
29.5	0.097	0.111	0.875	29.5	0.049	0.062	0.792
35.2	0.079	0.094	0.840	36.6	0.077	0.072	1.065
55.6	0.176	0.097	1.822	55.6	0.133	0.055	2.425
68.2	0.201	0.101	1.992	67.5	0.179	0.056	3.195
78.1	0.233	0.098	2.386	78.8	0.207	0.079	2.633

A manera de comprender más los resultados obtenidos de la carga de 3-MBA sobre los copolímeros de injerto PP(0.05mm)-g-GMA y PE(0.1mm)-g-GMA, modificados tanto con β CD e HP β CD, se muestran enseguida las graficas de dichos resultados. Puesto que es indispensable determinar la cantidad de 3-MBA cargado por las ciclodextrinas inmovilizadas sobre dichos soportes, en las graficas se muestra como varia la cantidad incluida de ácido 3-metilbenzoico con respecto a la cantidad de ciclodextrinas inmovilizadas.

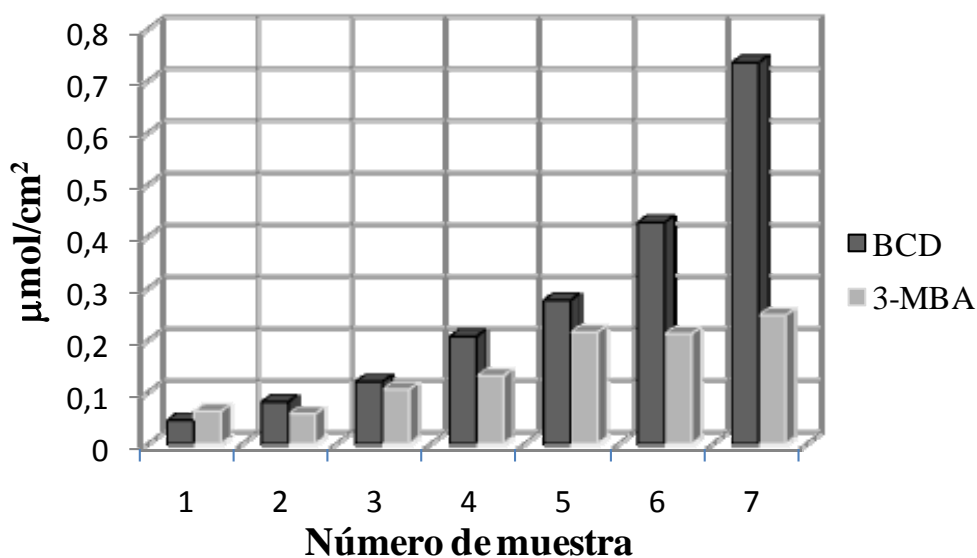


Figura 58. Cantidades cargadas de 3-MBA por la β CD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PP-g-GMA.

Con respecto a los resultados mostrados en la Figura 58, se pudo determinar que la cantidad de ácido 3-metilbenzoico cargado por la β CD, incrementa al aumentar la cantidad de ciclodextrina; sin embargo, estos incrementos no son proporcionales, observándose una cantidad aproximada de $0.22 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ para las muestras 5, 6 y 7, siendo ésta la mayor cantidad de 3-MBA cargada por dicha ciclodextrina.

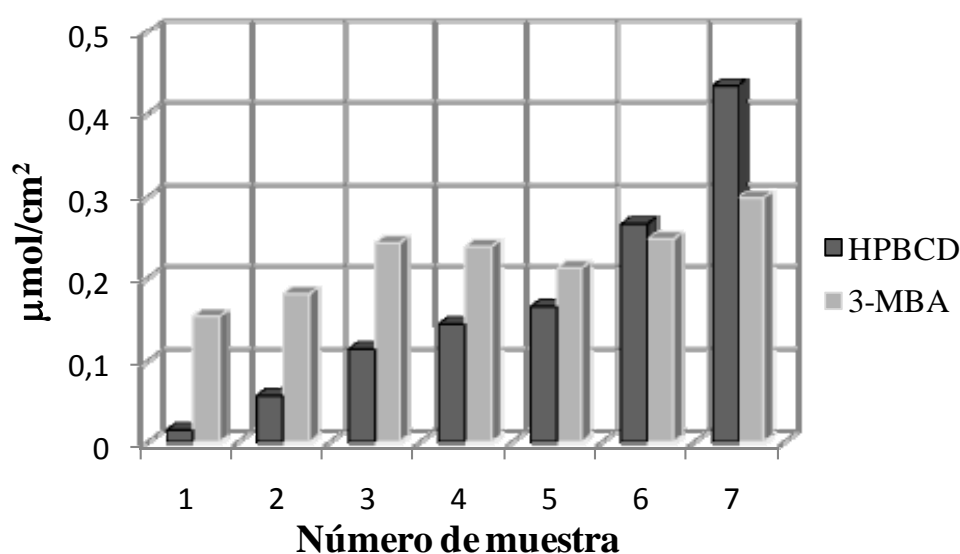


Figura 59. Cantidades cargadas de 3-MBA por la HP β CD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PP-g-GMA.

En la Figura 59, se presentan las cantidades de ácido 3-metilbenzoico cargado por la HP β CD inmovilizada sobre el copolímero PP-g-GMA. Los resultados obtenidos indican que hay cierta adsorción de ácido 3-metilbenzoico sobre la superficie no modificada del PP, lo cual es particularmente evidente a bajos grados de injerto y pequeñas cantidades de HP β CD. Sin embargo, al incrementar la cantidad de ciclodextrina inmovilizada sobre los soportes poliméricos (muestra 7), se mejora la carga de 3-MBA hasta un valor aproximado de $0.3 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$, lo cual es específicamente cierto, puesto que habrá más cavidades disponibles y, por consiguiente, mayor número de interacciones ciclodextrina/3-MBA.

Cuando se compara el rendimiento de carga de 3-MBA en ambas ciclodextrinas inmovilizadas sobre el copolímero PP-g-GMA (Tabla 8; Figuras 58 y 59), se determina que el empleo de la hidroxipropil- β -ciclodextrina mejora la carga de dicha molécula en comparación con la β -ciclodextrina. Lo anterior es específicamente cierto, puesto que al haber mayor cantidad de ciclodextrina sobre el soporte polimérico también habrá un mayor impedimento estérico (muestra 7, gráfica 58), afectando de esta manera la formación de complejos de inclusión originados por la interacción ciclodextrina/3-MBA.

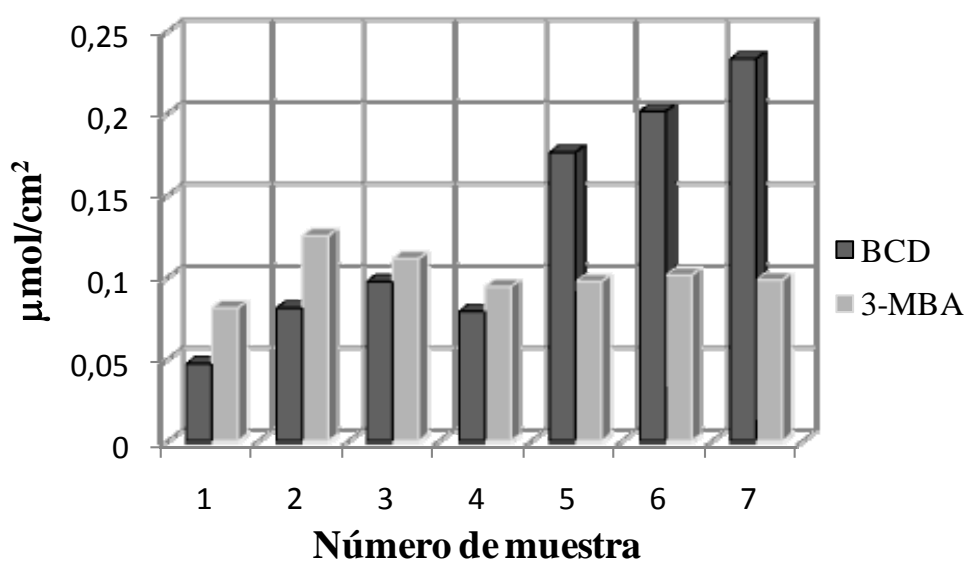


Figura 60. Cantidades cargadas de 3-MBA por la β CD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PE-g-GMA.

Los resultados presentados en la Figura 60 muestran las cantidades de ácido 3-metilbenzoico cargado por la β CD inmovilizada sobre el copolímero PE-g-GMA. Similar al caso anterior (Figura 59), los resultados indican que hay adsorción de 3-MBA sobre la superficie no modificada del PE, lo cual también se hizo evidente a bajos grados de injerto y pequeñas cantidades de ciclodextrina inmovilizada. No obstante a esto, cuando se incrementa la cantidad de ciclodextrina sobre los soportes poliméricos no se observa un aumento en la carga de 3-MBA. De esta manera se determinó que la mayor cantidad de 3-MBA cargado por la β CD fue la observada para la muestra 2, con un valor aproximado de $0,125 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$; para las muestras posteriores (muestras 3–7) se ve una disminución en la carga de 3-MBA llegando a un valor constante y aproximado de $0,09 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$.

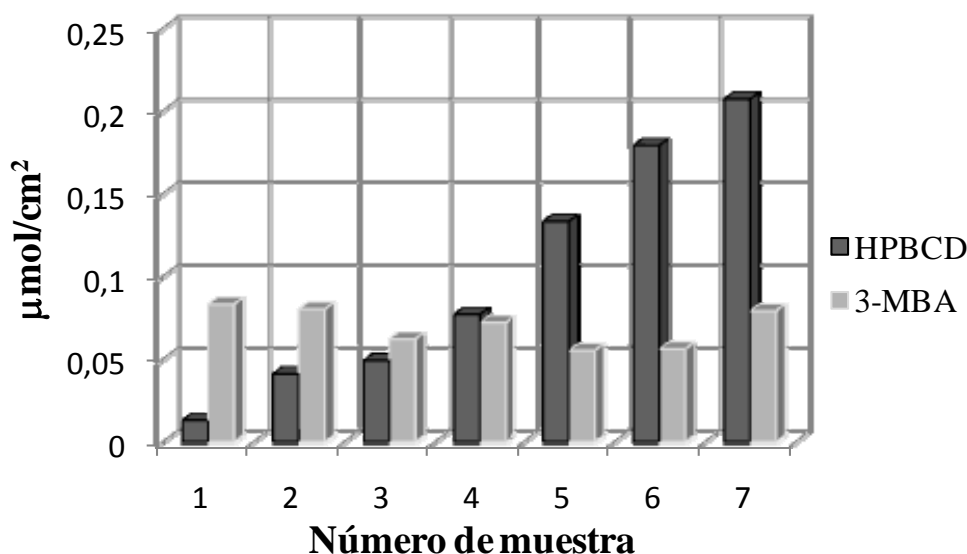


Figura 61. Cantidades cargadas de 3-MBA por la HPβCD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PE-g-GMA.

Por otro lado, con los resultados mostrados en la Figura 61 se pudo determinar que hay adsorción de 3-MBA sobre la superficie no modificada del PE, ocurriendo como en casos anteriores (Figuras 59 y 60), siendo evidente a bajos grados de injerto y pequeñas cantidades de ciclodextrina inmovilizada. Así mismo, no se observa un incremento en la carga de 3-MBA al aumentar la cantidad de ciclodextrina sobre el soporte polimérico. Consecuentemente, se logró determinar que la mayor cantidad de ácido 3-metilbenzoico cargado por la HPβCD inmovilizada sobre el copolímero PE-g-GMA, fue aproximadamente de $0.08 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ (muestras 1, 2, 4 y 7) considerando esta cantidad constante para las muestras analizadas (Figura 61).

Al comparar el rendimiento de carga de 3-MBA en ambas ciclodextrinas inmovilizadas sobre el copolímero PE-g-GMA (Tabla 9; Figuras 60 y 61), se determina que la formación de complejos de inclusión se mejora con el empleo de la β-ciclodextrina en comparación con su análogo hidroxipropilado. Lo anterior se explica mediante la cristalinidad del soporte, ya que el empleo de una matriz menos cristalina, como lo es en este caso el PE (Tabla 5, página 87), dará como resultado un copolímero de injerto más desordenado y, por consiguiente, su modificación con las ciclodextrinas reducirá el espacio libre existente entre las cadenas poliméricas; es por ello que el empleo de una ciclodextrina de menor tamaño como lo es la βCD, favorecerá la formación de los complejos de inclusión, disminuyendo el impedimento estérico en la matriz, a diferencia de la HPβCD de mayor tamaño.

En general, los resultados obtenidos (Tablas 8 y 9, páginas 98 y 99, respectivamente) indican que hay cierta adsorción de ácido 3-metilbenzoico sobre la superficie no modificada del PE y PP, lo cual es particularmente evidente a bajos grados de injerto. Sin embargo, la funcionalización química de los copolímeros de injerto con las ciclodextrinas incrementa la carga de 3-MBA, ya que éste puede formar complejos de inclusión con las unidades de ciclodextrina; no obstante, también se observa impedimento estérico entre éstas, puesto que son moléculas de gran tamaño y es difícil su acomodo espacial. Consecuentemente, no todas las unidades de ciclodextrina son capaces de alojar moléculas de 3-MBA, esto puede deberse en gran medida al impedimento estérico en el sistema polimérico. Las cantidades cargadas de 3-MBA fueron más altas para los soportes de PP modificados con ambas ciclodextrinas, a diferencia de aquellos de PE. Esto sugiere un mejor arreglo espacial de las ciclodextrinas sobre la matriz de PP, que facilita y optimiza la formación de complejos de inclusión con el ácido 3-metilbenzoico.

5.9. CARGA DE DICLOFENACO DE SODIO.

Al igual que en el caso anterior, se llevo a cabo la carga de diclofenaco de sodio sobre los soportes previamente sintetizados y modificados; para dicha carga se empleó el método de adsorción sobre el soporte y, posteriormente, se determinó la concentración de fármaco cargada por éstos mediante UV-vis (276 nm), midiendo después de 48 h de carga. Cabe señalar que los ensayos se hicieron por triplicado (ver parte experimental, capítulo 4). A continuación en las Tablas 10 y 11, se presentan los resultados de carga para dicho fármaco sobre los copolímeros PP(0.05mm)-g-GMA y PE(0.1mm)-g-GMA, respectivamente, modificados tanto con β CD como con HP β CD. La concentración inicial de la solución acuosa de diclofenaco de sodio fue de 1 mg/mL.

Tabla 10. Cantidades cargadas de diclofenaco de sodio.							
PP-g-GMA- β CD				PP-g-GMA-HP β CD			
Muestra	GMA ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	β -CD ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	Diclofenaco ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	Muestra	GMA ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	HP- β -CD ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	Diclofenaco ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)
1	7,7	0,045	0,4572	1	7,7	0,014	0,3115
2	14,1	0,08	0,1543	2	14,8	0,058	0,1329
3	21,1	0,119	0,1128	3	24,6	0,114	0,0899
4	28,1	0,206	0,1524	4	29,5	0,144	0,0813
5	38	0,276	0,2032	5	38	0,165	0,1461
6	56,3	0,426	0,1202	6	56,3	0,264	0,1576
7	98,5	0,734	0,0642	7	98,5	0,433	0,2702

Tabla 11. Cantidades cargadas de diclofenaco de sodio.							
PE-g-GMA- β CD				PE-g-GMA-HP β CD			
Muestra	GMA ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	β -CD ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	Diclofenaco ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	Muestra	GMA ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	HP- β -CD ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)	Diclofenaco ($\mu\text{mol}/\text{cm}^2$)
1	14,1	0,047	0,5306	1	15,5	0,013	0,4748
2	21,1	0,081	0,3288	2	23,2	0,041	0,373
3	29,5	0,097	0,3185	3	29,5	0,049	0,2859
4	35,2	0,079	0,1905	4	36,6	0,077	0,2269
5	55,6	0,176	0,3595	5	55,6	0,133	0,1756
6	68,2	0,201	0,3565	6	67,5	0,179	0,0649
7	78,1	0,233	0,3767	7	78,8	0,207	0,1643

De manera similar a los resultados anteriores, a continuación se presentan las gráficas correspondientes a la carga de diclofenaco de sodio sobre los copolímeros de injerto PP(0.05mm)-g-GMA y PE(0.1mm)-g-GMA previamente modificados. En ellas se muestra como varía la cantidad cargada de dicho fármaco con respecto a la cantidad de ciclodextrinas inmovilizadas.

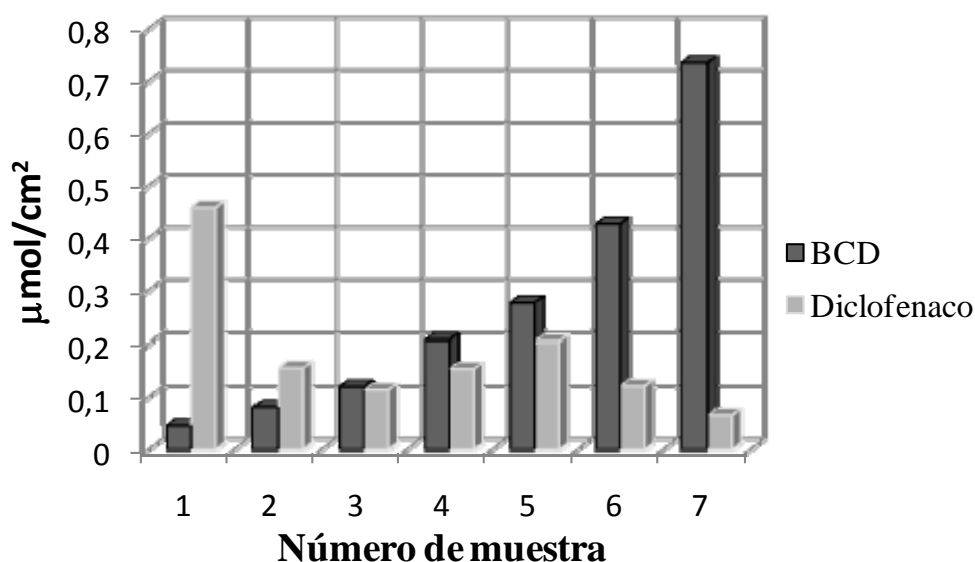


Figura 62. Cantidades cargadas de diclofenaco de sodio por la β CD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PP-g-GMA.

En la Figura 62, se presentan las cantidades de diclofenaco de sodio cargadas por la β CD inmovilizada sobre el copolímero PP-g-GMA. Los resultados obtenidos indican que hay adsorción de fármaco sobre la superficie no modificada del PP, lo cual es evidente a bajos grados de injerto y cantidades pequeñas de β CD (muestra 1 y 2). Así mismo, cuando se aumenta la cantidad de ciclodextrina se mejora la carga de diclofenaco de sodio hasta un valor de $0.203 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ (muestra 5), sin embargo, con mayor cantidad de ciclodextrina la carga del fármaco disminuye (muestras 6 y 7), debiéndose esto al impedimento estérico presente en la matriz polimérica.

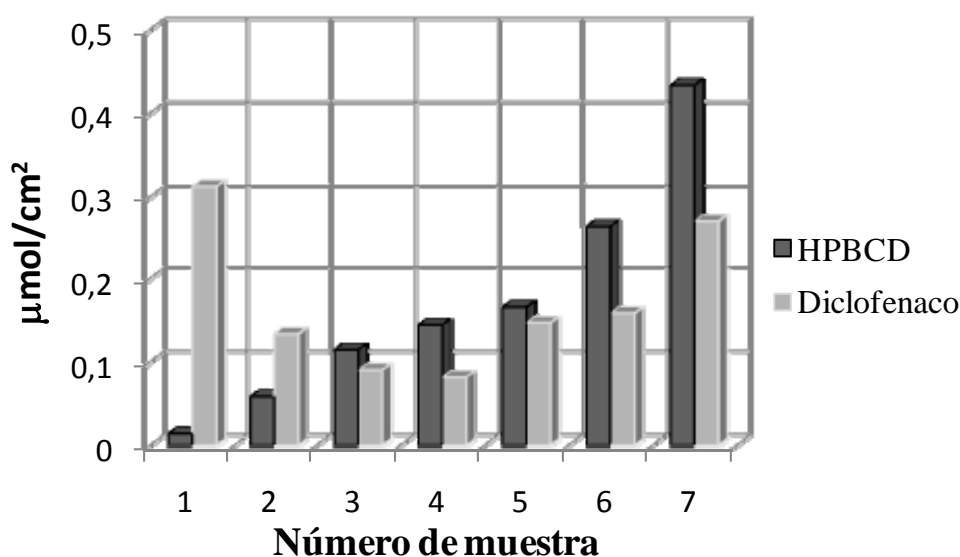


Figura 63. *Cantidades cargadas de diclofenaco de sodio por la HP β CD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PP-g-GMA.*

Con respecto a los resultados mostrados en la Figura 63, se determinó que la cantidad de diclofenaco de sodio cargado por la HP β CD, incrementa al aumentar la cantidad de ciclodextrina; sin embargo, estos incrementos no son proporcionales, observándose una cantidad de $0.270 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ para la muestra 7, siendo ésta la mayor cantidad de fármaco cargado por dicha ciclodextrina. De igual forma que en el caso anterior, se observa adsorción de diclofenaco de sodio sobre la superficie no modificada del PP, lo cual es evidente a bajos grados e injerto y cantidades pequeñas de HP β CD (muestras 1 y 2).

Al comparar el rendimiento de carga de diclofenaco de sodio por ambas ciclodextrinas inmovilizadas sobre el copolímero PP-g-GMA (Tabla 10; Figuras 62 y 63), se determina que la formación de complejos de inclusión se mejora con el empleo de la hidroxipropil- β -ciclodextrina en comparación con la β -ciclodextrina. Lo anterior es particularmente cierto, puesto que al haber mayor cantidad de ciclodextrina sobre el soporte polimérico también habrá un mayor impedimento estérico (muestra 7, Figura 62), afectando de esta manera la formación de complejos de inclusión originados por la interacción ciclodextrina/diclofenaco.

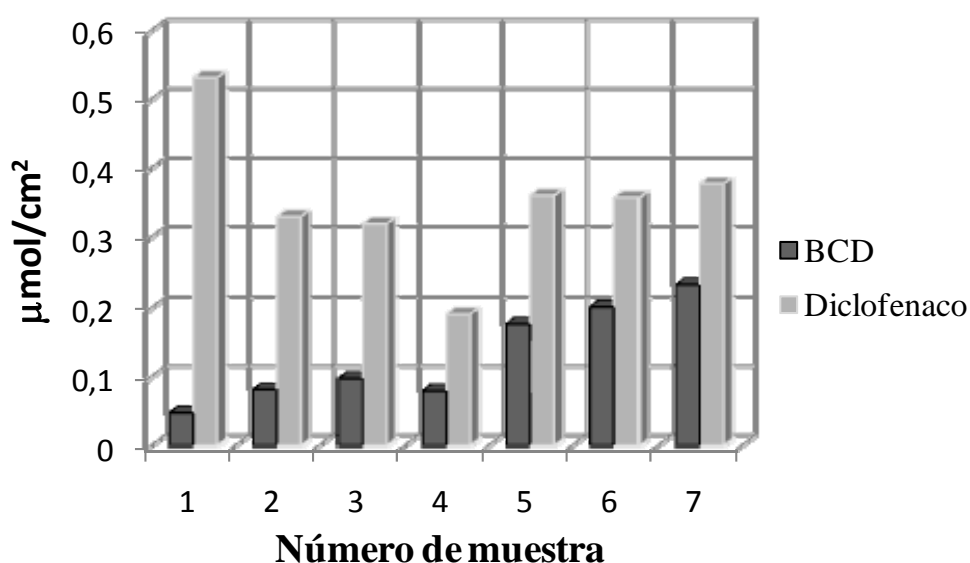


Figura 64. Cantidades cargadas de diclofenaco de sodio por la β CD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PE-g-GMA.

Los resultados presentados en la Figura 64 muestran las cantidades de diclofenaco de sodio cargadas por la β CD inmovilizada sobre el copolímero PE-g-GMA. Similar a los casos anteriores (Figuras 62 y 63), los resultados indican que hay adsorción de fármaco sobre la superficie no modificada del PE, lo cual también se hizo evidente a bajos grados de injerto y pequeñas cantidades de ciclodextrina inmovilizada. No obstante a esto, cuando se incrementa la cantidad de ciclodextrina sobre los soportes poliméricos no se observa un aumento en la carga de diclofenaco de sodio. De esta manera se determinó que la mayor cantidad de fármaco cargada por la β CD fue la observada por la muestra 1, con un valor de $0.531 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$; para las muestras posteriores (muestras 2, 3 y 4) se ve una disminución en la carga de diclofenaco, sin embargo, se observa un aumento en la carga para las muestras siguientes (muestras 5, 6 y 7), llegando a un valor constante y aproximado de $0.360 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$.

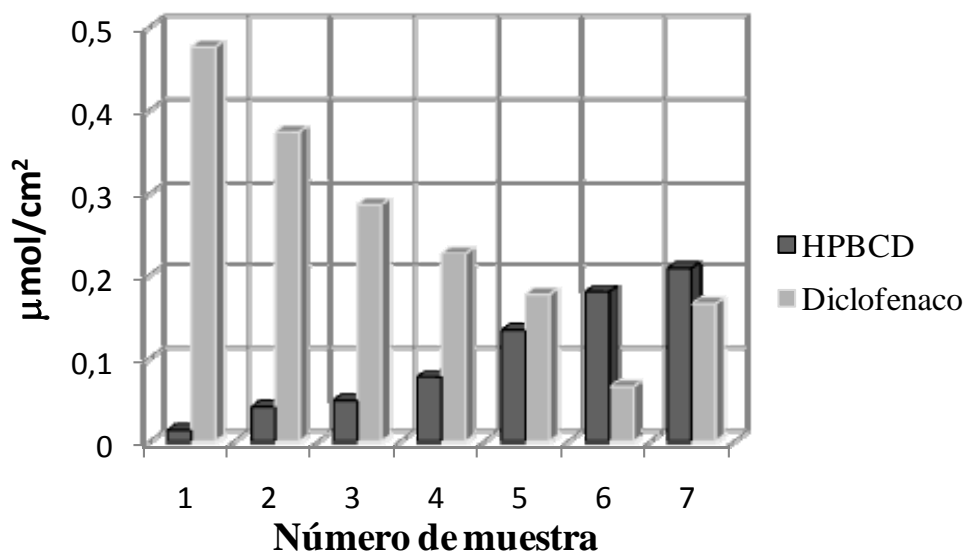


Figura 65. *Cantidades cargadas de diclofenaco de sodio por la HPβCD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PE-g-GMA.*

Por otro lado, con los resultados mostrados en la Figura 65 se determinó que hay adsorción de diclofenaco de sodio sobre la superficie no modificada del PE, ocurriendo como en los casos anteriores (Figuras 62–64), siendo evidente a bajos grados de injerto y pequeñas cantidades de ciclodextrina inmovilizada. Así mismo, no se observa un incremento en la carga del fármaco al aumentar la cantidad de ciclodextrina sobre el soporte polimérico; de cierta forma, parece que el aumento de moléculas de ciclodextrina disminuye el espacio en la red polimérica, por consiguiente, se reduce la cantidad de diclofenaco sobre la matriz, corroborando que para este copolímero de injerto no se necesita gran modificación con ciclodextrinas para mejorar la carga de dicho fármaco.

Cuando se compara el rendimiento de carga de diclofenaco de sodio en ambas ciclodextrinas inmovilizadas sobre el copolímero PE-g-GMA (Tabla 11; Figuras 64 y 65), se determina que la formación de complejos de inclusión se mejora con el empleo de la β-ciclodextrina en comparación con su análogo per-alquilado. Esto se explica mediante la cristalinidad del PE empleado, puesto que una matriz menos cristalina (Tabla 5), dará como resultado un copolímero de injerto más desordenado y, por consiguiente, su modificación con las ciclodextrinas reducirá el espacio libre existente entre las cadenas poliméricas; es por ello que el empleo de una ciclodextrina de menor tamaño como lo es la βCD, favorecerá la formación de los complejos de inclusión, disminuyendo el impedimento estérico en la matriz, a diferencia de la HPβCD de mayor tamaño.

En general, las superficies de PE y PP sin modificar no tienen la capacidad de cargar diclofenaco, sin embargo, después de ser modificadas tanto con el injerto de GMA como con las ciclodextrinas, se optimizó la carga de éste. Es interesante observar que, como en el caso del ácido 3-metilbenzoico, un bajo grado de funcionalización del PE y PP es suficiente para mejorar la capacidad de carga de diclofenaco. El impedimento estérico puede ser la razón por la cual los soportes poliméricos modificados con mayor cantidad de ciclodextrina inmovilizada, no pueden mejorar la carga del diclofenaco.

Los soportes modificados con β CD cargan más diclofenaco que aquellos funcionalizados con HP β CD, lo que confirma que el rendimiento de inmovilización de β CD fue mayor y revela una interacción más favorable del diclofenaco con esta ciclodextrina.

5.10. CARGA DE NITRATO DE MICONAZOL.

Similar a los dos casos anteriores, se llevo a cabo la carga de nitrato de miconazol sobre los soportes previamente sintetizados y modificados; para dicha carga se empleó el método de adsorción sobre el soporte y, posteriormente, se determinó la concentración de fármaco cargada por éstos mediante UV-vis (272 nm), midiendo después 72 h de carga. Cabe señalar que los ensayos se hicieron por triplicado (ver parte experimental, capítulo 4). A continuación en las Tablas 12 y 13, se presentan los resultados de carga del nitrato de miconazol sobre los copolímeros PP(1mm)-g-GMA y PE(1mm)-g-GMA, respectivamente, modificados tanto con β CD e HP β CD. La concentración inicial de nitrato de miconazol fue de 1 g/L.

Tabla 12. Cantidades cargadas de nitrato de miconazol.					
PP-g-GMA-βCD			PP-g-GMA-HPβCD		
GMA (mg/cm²)	β-CD (mg/cm²)	Miconazol (mg/cm²)	GMA (mg/cm²)	HP-β-CD (mg/cm²)	Miconazol (mg/cm²)
2	0.072	0.014	2	0.154	0.036
6	0.203	0.012	5	0.264	0.001
9	0.264	0.005	9	0.598	0.009
13	0.332	0.038	13	0.540	0.263

Tabla 13. Cantidades cargadas de nitrato de miconazol.					
PE-g-GMA- β CD			PE-g-GMA-HP β CD		
GMA (mg/cm ²)	β -CD (mg/cm ²)	Miconazol (mg/cm ²)	GMA (mg/cm ²)	HP- β -CD (mg/cm ²)	Miconazol (mg/cm ²)
3	0.071	0.062	3	0.143	0.027
5	0.177	0.027	5	0.197	0.024
11	0.450	0.007	9	0.436	0.003
15	0.718	0.271	17	1.084	0.262

En seguida se muestran las gráficas correspondientes a la carga de nitrato de miconazol sobre los copolímeros de injerto PP(1mm)-g-GMA y PE(1mm)-g-GMA previamente modificados. En ellas se presenta como se modifica la cantidad cargada de dicho fármaco con respecto a la cantidad de ciclodextrinas inmovilizadas.

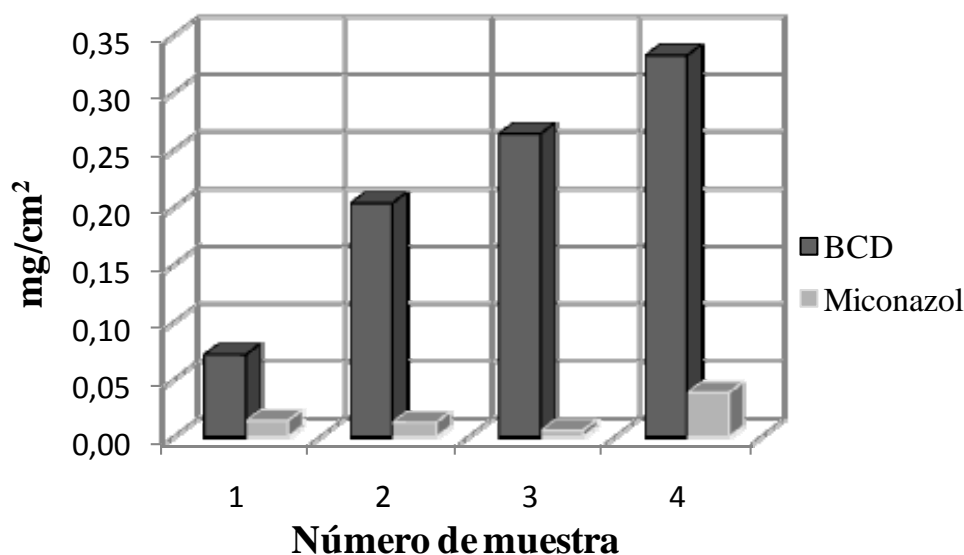


Figura 66. Cantidades cargadas de nitrato de miconazol por la β CD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PP(1mm)-g-GMA.

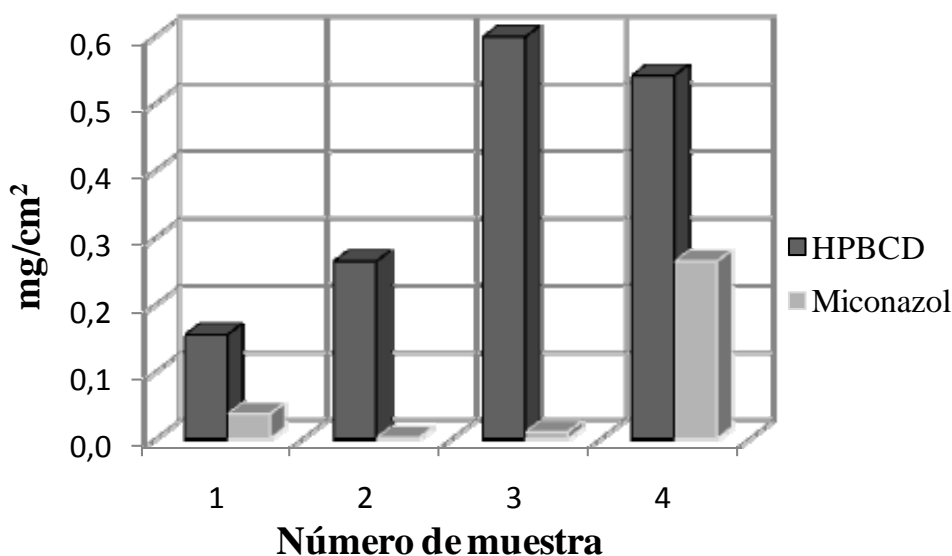


Figura 67. *Cantidades cargadas de nitrato de miconazol por la HPβCD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PP(Imm)-g-GMA.*

En las Figuras 66 y 67, se presentan las cantidades de nitrato de miconazol cargadas por la βCD e HPβCD, respectivamente, inmovilizadas sobre el copolímero de injerto PP-g-GMA. Los resultados indican que la hidroxipropil-β-ciclodextrina es aquella que mejor interactúa con el fármaco, puesto que se obtuvo mejor rendimiento de carga, obteniendo un valor máximo de 0.263 mg/cm². Es probable que a bajos grados de injerto y cantidades pequeñas de ciclodextrina, exista adsorción de fármaco sobre la superficie no modificada del PP, similar a lo ocurrido para el caso del diclofenaco de sodio pero de menor magnitud. Sin embargo, cuando hay la posibilidad de formar complejos de inclusión con las ciclodextrinas (muestra 4, para ambos casos), la cantidad cargada de nitrato de miconazol aumenta por dicha complejación.

Con respecto a los resultados mostrados en las Figuras 68 y 69, se determinó que la cantidad de nitrato de miconazol cargado por ambas ciclodextrinas fue aproximadamente el mismo, con un valor cercano a 0.270 mg/cm², sin embargo, la cantidad de ciclodextrina inmovilizada sobre los soportes de PP-g-GMA no es la misma; de esto se puede concluir que hay mayor eficacia para la formación del complejo βCD/nitrato de miconazol, puesto que se necesita menor cantidad de ciclodextrina para lograr una mayor carga de fármaco. Así mismo, se presenta cierta adsorción de nitrato de miconazol sobre la superficie no modificada del PE, lo cual es evidente a bajos grados de injerto y cantidades pequeñas de ciclodextrina.

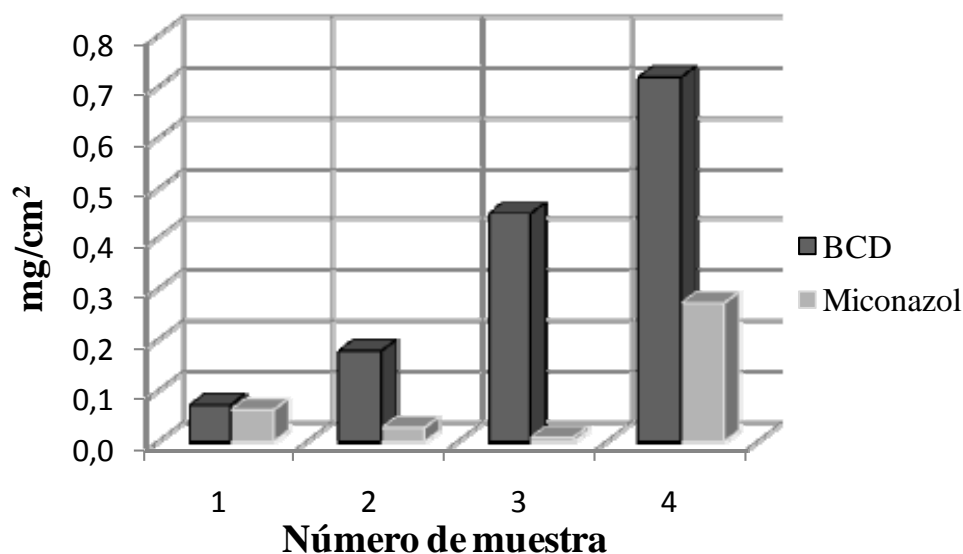


Figura 68. Cantidades cargadas de nitrato de miconazol por la β CD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PE(1mm)-g-GMA.

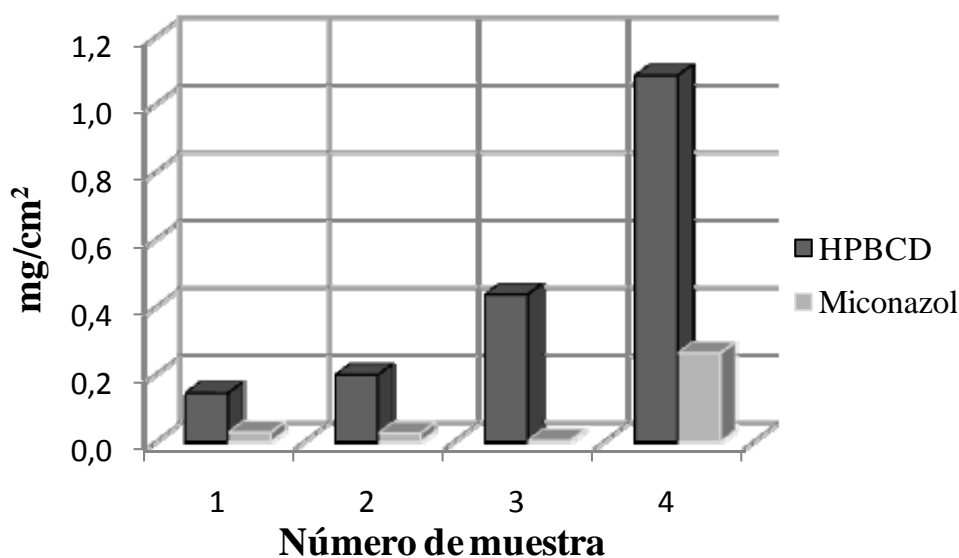


Figura 69. Cantidades cargadas de nitrato de miconazol por la HP β CD inmovilizada sobre el copolímero de injerto PE(1mm)-g-GMA.

En general, se puede determinar que se necesita una mayor cantidad de ciclodextrina inmovilizada sobre los soportes para lograr una mejor carga de nitrato de miconazol, puesto que dicho fármaco tiene muy baja solubilidad en agua.

De manera práctica, dado que la MIC del miconazol frente a *Candida spp.* se sitúa entre 0.4 y 0.8 mg/L,¹⁵⁷ una lámina de 1 cm² de PE-g-GMA-βCD, PE-g-GMA-HPβCD ó PP-g-GMA-HPβCD incorpora cantidad de miconazol suficiente para prevenir el crecimiento de *Candida spp.* en 500 mL de un medio acuoso. Este volumen es muy superior al volumen de dilución previsible cuando un producto sanitario se inserta en el cuerpo humano. Por lo tanto, el empleo de los materiales modificados como componentes de catéteres o implantes encierra un considerable potencial en la prevención de infecciones asociadas al uso de estos dispositivos biomédicos.

5.11. LIBERACIÓN CONTROLADA DE DICLOFENACO.

El PE y PP, debido a su carácter hidrofóbico, no presentan capacidad de absorber solutos sobre su superficie cuando se introducen en medios acuosos. No obstante, dichas propiedades mejoran al incorporar químicamente ciclodextrinas sobre dichas matrices poliméricas. Estudios realizados han demostrado que las ciclodextrinas y sus derivados mejoran la biodisponibilidad oral de fármacos de Clase II (baja solubilidad, alta permeabilidad),^{59, 88} así como también han mejorado la biodisponibilidad de esteroides, antiinflamatorios no esteroídicos (AINES), antidiabéticos, antifúngicos y antibióticos, entre otros.⁹⁷⁻¹⁰¹ El injerto de GMA sobre PE y PP, y su posterior modificación con ciclodextrinas, conducen al diseño y fabricación de excelentes sistemas poliméricos para absorber y liberar de manera controlada compuestos bioactivos.

La forma comercial del diclofenaco, el diclofenaco de sodio, presenta limitada solubilidad en agua, y especialmente en el jugo gástrico. Esta limitada solubilidad, genera problemas para su administración de forma oral. Una forma de evitar estas limitaciones es la complejación de dicho fármaco con ciclodextrinas, lo que mejora de manera notable su biodisponibilidad. El proceso de liberación de diclofenaco desde los copolímeros sintetizados, se realizó a temperatura ambiente bajo condiciones *sink* (donde la concentración de diclofenaco es inferior de 10 al 20% de su concentración de saturación) y pH de 7.4, puesto que es el que se emplea habitualmente para los ensayos *in vitro* simulando el pH de los fluidos fisiológicos. Considerando estos parámetros, se procedió a llevar a cabo los ensayos de liberación de diclofenaco, empleando para ello las láminas de los copolímeros previamente cargadas con dicho fármaco. En las Figuras 70 y 71, se muestran los resultados de liberación de diclofenaco a pH 7.4, desde los copolímeros de injerto PP-g-GMA-βCD y PE-g-GMA-βCD, respectivamente. Cabe señalar que las cantidades cargadas de diclofenaco, así como, la cantidad de GMA y de ciclodextrinas sobre estos copolímeros, se encuentran definidas en las Tablas 10 y 11 (páginas 103 y 104).

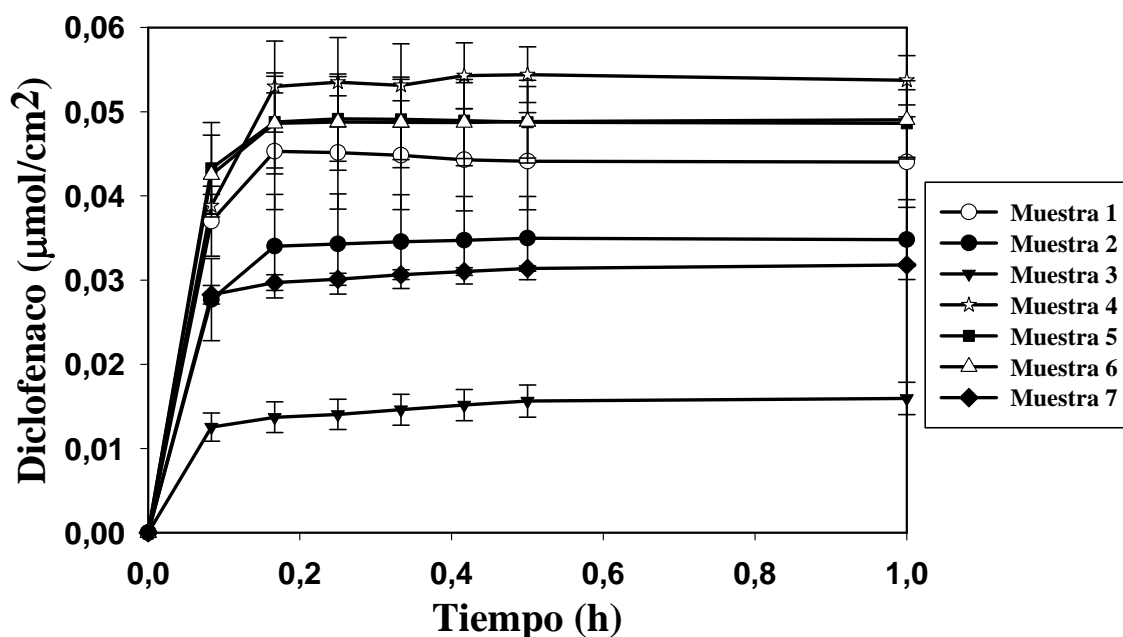


Figura 70. Perfil de liberación de diclofenaco desde el copolímero de injerto PP-g-GMA- β CD, a temperatura ambiente y en amortiguador de fosfato ($\text{KH}_2\text{PO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}/\text{NaOH}$) a pH = 7.4.

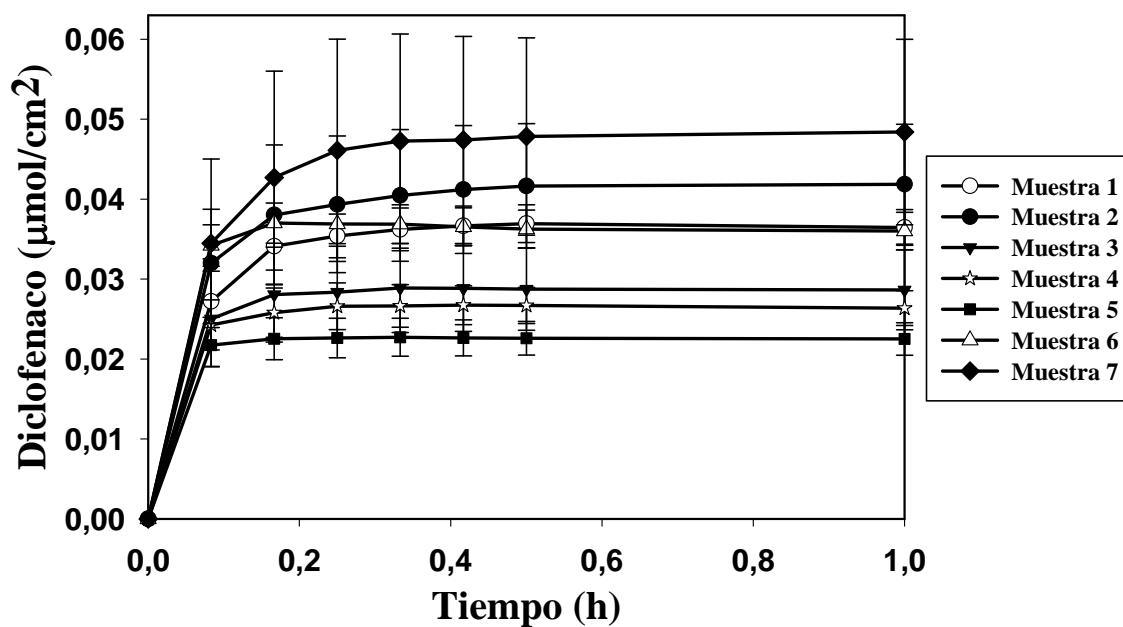


Figura 71. Perfil de liberación de diclofenaco desde el copolímero de injerto PE-g-GMA- β CD, a temperatura ambiente y en amortiguador de fosfato ($\text{KH}_2\text{PO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}/\text{NaOH}$) a pH = 7.4.

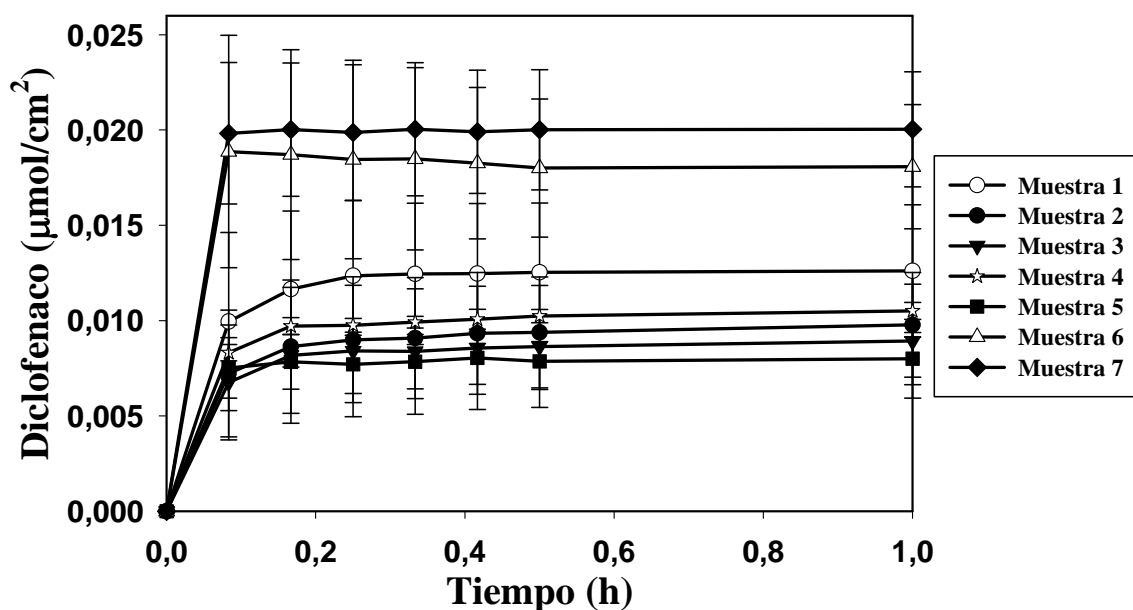


Figura 72. Perfil de liberación de diclofenaco desde el copolímero de injerto PP-g-GMA-HP β CD, a temperatura ambiente y en amortiguador de fosfato ($\text{KH}_2\text{PO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}/\text{NaOH}$) a pH = 7.4.

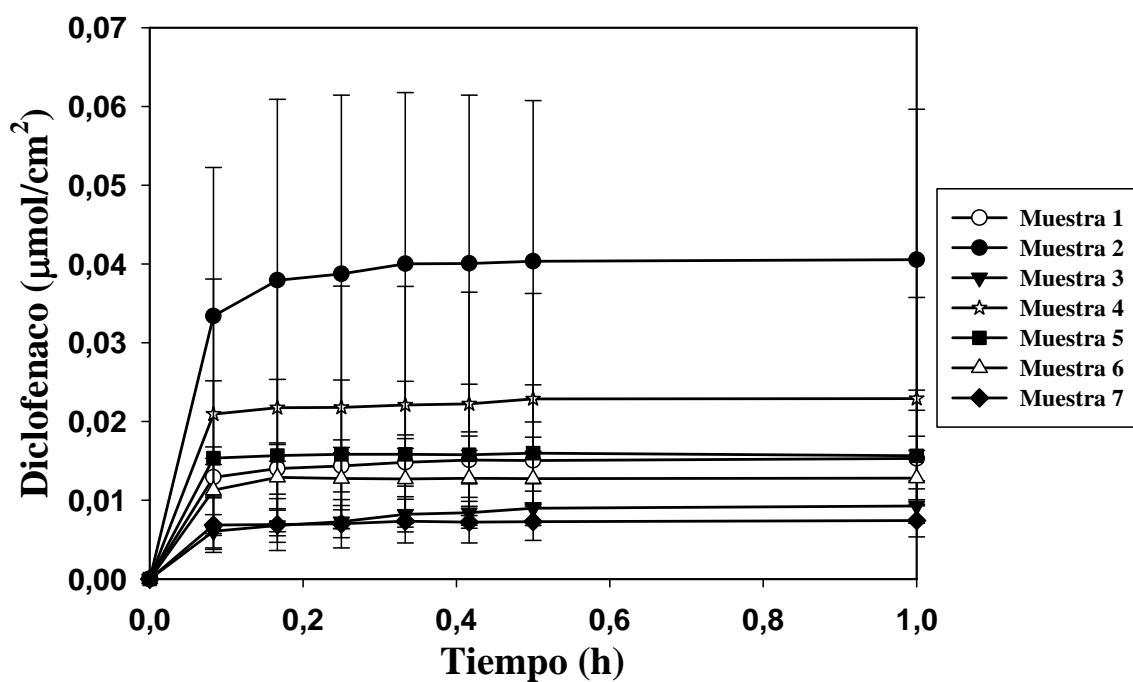


Figura 73. Perfil de liberación de diclofenaco desde el copolímero de injerto PE-g-GMA-HP β CD, a temperatura ambiente y en amortiguador de fosfato ($\text{KH}_2\text{PO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}/\text{NaOH}$) a pH = 7.4.

Así mismo, en las Figuras 72 y 73 se muestran los resultados de liberación de diclofenaco a pH 7.4, desde los copolímeros de injerto PP-g-GMA-HP β CD y PE-g-GMA-HP β CD, respectivamente. De igual manera, las cantidades cargadas de diclofenaco, de GMA y de ciclodextrinas sobre estos copolímeros, se encuentran definidas en las Tablas 10 y 11 (páginas 103 y 104).

Para explicar los resultados mostrados en las Figuras anteriores (70-73), se compararán los sistemas poliméricos con respecto a la ciclodextrina inmovilizada sobre éstos. Por consiguiente al comparar las Figuras 70 y 71 (copolímeros PP-g-GMA- β CD y PE-g-GMA- β CD), se determina que no se puede hacer una generalización similar a la referida para la inmovilización de ciclodextrinas (al aumentar el injerto de GMA sobre las matrices poliméricas se incrementa la cantidad de dichos macrociclos); sin embargo, cuando se llevan a cabo los procesos de carga y liberación de diclofenaco desde los soportes sintetizados no se observa dicha tendencia. El caso ideal sería que durante estos procesos, la cantidad de fármaco incorporada y liberada se incrementara conforme aumenta la cantidad de ciclodextrina inmovilizada, pero no ocurre así. Lo anterior puede explicarse por medio de la homogeneidad del soporte polimérico modificado con la β CD; mediante las pruebas realizadas con microscopía electrónica de barrido, SEM (Figuras 53 y 54, páginas 91 y 92), se observó que tanto el injerto de GMA como la inmovilización química de las ciclodextrinas no es uniforme en la matriz polimérica, por lo cual se determina que los copolímeros sintetizados no son completamente homogéneos.

Otro resultado destacable de estos perfiles de cesión (Figuras 70 y 71) es el referente a la eficacia de liberación de diclofenaco; para ello es indispensable analizar los datos numéricos mostrados en las Tablas 10 y 11 (páginas 103 y 104). Refiriéndose a las muestras con mayor eficacia de liberación de diclofenaco, muestra 4 para el caso del copolímero PP-g-GMA- β CD (GMA = 28 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$; β CD = 0.2 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$; diclofenaco incorporado = 0.152 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$ y diclofenaco liberado = 0.054 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$) y muestra 7 para el copolímero PE-g-GMA- β CD (GMA = 78 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$; β CD = 0.2 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$; diclofenaco incorporado = 0.377 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$ y diclofenaco liberado = 0.0484 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$), se puede determinar que la cantidad de GMA injertado, así como, la cantidad de β CD inmovilizada en la matriz polimérica, son parámetros determinantes para los procesos de carga y liberación de diclofenaco.

Así, para la muestra 4, $28 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ de GMA son suficientes para inmovilizar $0.2 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ de βCD , y $78 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ de GMA inmovilizan la misma cantidad de ciclodextrina en la muestra 7; pese a que esta última incorpora mayor cantidad de diclofenaco, se observa mejor eficiencia de liberación del fármaco para la primera; esto se puede explicar mediante los efectos estéricos en el soporte polimérico. A medida que aumenta el impedimento estérico generado por el GMA y la βCD en el soporte, se reducirá la capacidad de liberación del fármaco hacia el medio, resultando una menor eficacia en dicho proceso (muestra 7). Con ello se determina que el copolímero PP-g-GMA- βCD con características similares a las de la muestra 4, tendrá una mayor eficacia en la liberación de diclofenaco.

Al comparar las Figuras 72 y 73 (copolímeros PP-g-GMA-HP βCD y PE-g-GMA-HP βCD), se determina que no se puede hacer una generalización como la antes mencionada, puesto que no se observa que la cantidad de diclofenaco incorporada y liberada desde los soportes, aumente al incrementar la cantidad de ciclodextrina inmovilizada. Este hecho también puede explicarse debido a que los soportes no son completamente homogéneos, como lo demuestran las pruebas realizadas con microscopía electrónica de barrido, SEM (Figuras 53 y 54, páginas 91 y 92). Similar al caso anterior, en las Figuras 72 y 73 se observa la eficacia de liberación de diclofenaco; para su análisis, es indispensable considerar los datos numéricos mostrados en las Tablas 10 y 11 (páginas 103 y 104). Refiriéndose a las muestras con mayor eficacia de liberación de diclofenaco, muestra 7 para el caso del copolímero PP-g-GMA-HP βCD (GMA = $98 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$; HP βCD = $0.4 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$; diclofenaco incorporado = $0.270 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ y diclofenaco liberado = $0.020 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$) y muestra 2 para el copolímero PE-g-GMA-HP βCD (GMA = $23 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$; βCD = $0.041 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$; diclofenaco incorporado = $0.373 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ y diclofenaco liberado = $0.0405 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$), se puede determinar que la cantidad de GMA injertado, así como, la cantidad de HP βCD inmovilizada en la matriz polimérica, son parámetros determinantes para los procesos de carga y liberación de diclofenaco.

De esta manera para la muestra 7, 98 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$ de GMA inmovilizan 0.4 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$ de HP β CD, pero reducen la cantidad incorporada de diclofenaco, además, de presentar una menor eficacia en la liberación de éste; así mismo, 23 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$ de GMA son suficientes para inmovilizar 0.041 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$ de HP β CD, aumentando con ello la cantidad incorporada y liberada de diclofenaco. Al igual que en el caso anterior, esto se puede explicar por efectos estéricos en el soporte polimérico; a medida que aumenta dicho impedimento generado por el GMA y la HP β CD, se reducirá la capacidad de liberación del fármaco hacia el medio, resultando una menor eficacia en dicho proceso (muestra 7). Con ello se determina que el copolímero PE-g-GMA-HP β CD con características similares a las de la muestra 2, tendrá una mayor eficacia en la liberación de diclofenaco.

CAPITULO 6. CONCLUSIONES.

6.1. CONCLUSIÓN GENERAL.

Con respecto a la hipótesis planteada y los resultados mostrados en el cuerpo de este trabajo de investigación se puede considerar, como conclusión general, la exitosa síntesis de novedosos sistemas poliméricos que encierran interesantes posibilidades para el diseño de productos sanitarios con propiedades mejoradas. El anclaje de ciclodextrinas en los copolímeros de injerto PE-g-GMA y PP-g-GMA, hace posible la formación de complejos supramoleculares con diclofenaco de sodio y nitrato de miconazol; esta capacidad los convierte en óptimos dispositivos para la liberación controlada de dichos fármacos, ya que pueden emplearse para el control de infecciones en sistemas implantables.

6.2. CONCLUSIONES PARTICULARES.

Se logro la síntesis, por radiación gamma, de los copolímeros de injerto PE-g-GMA y PP-g-GMA empleando la técnica de preirradiación oxidativa. Para ello se evaluaron diferentes parámetros de la cinética de polimerización, encontrando que las mejores condiciones para llevar a cabo el injerto de GMA sobre matrices de PE y PP son: dosis de preirradiación de 100 kGy, intensidad de dosis de 11 kGy/h, temperatura de 60 °C, concentración de GMA de 20% y un sistema de disolventes formado por MeOH/H₂O al 80%, en una relación 8:2 (%v).

El injerto de GMA sobre la matriz de PE (espesor = 100 μm) fue mayor en comparación al obtenido para aquella de PP (espesor = 50 μm). Con respecto a las matrices poliméricas de mayor espesor (1 mm), se comprobó que el injerto de GMA es mayor sobre el PE a diferencia del PP. En general, se concluye que se obtienen mejores rendimientos en el injerto de GMA para los soportes con espesor delgado, puesto que dicha reacción se lleva a cabo tanto en masa como en superficie, mientras que en los soportes con mayor espesor solo se produce sobre la superficie, manifestando de esta manera la baja difusión del GMA entre las cadenas poliméricas.

Se demostró la capacidad de los copolímeros de injerto PE-g-GMA y PP-g-GMA (espesor de 100 y 50 μm, respectivamente) para inmovilizar químicamente a la β-ciclodextrina e hidroxipropil-β-ciclodextrina, por medio de la reacción de un grupo hidroxilo primario de estos macrociclos con el epóxido del GMA. Estableciendo de esta manera, que el rendimiento de

inmovilización es mayor para el caso de la matriz de PP en comparación a la de PE; así mismo, se logra un mayor rendimiento en la reacción con el empleo de la β CD, determinando así el impedimento estérico mostrado por su análogo (HP β CD). Por otro lado, también se comprobó la inmovilización química de las ciclodextrinas sobre los soportes de mayor espesor (1 mm), determinando que el uso de la β CD aumenta el rendimiento de inmovilización sobre estos soportes poliméricos. De esta manera, se puede concluir que la inmovilización química de ciclodextrinas es menor sobre los soportes delgados comparada con aquellos de mayor espesor, puesto que al haber injerto de GMA tanto en masa como en superficie se reducirá, por tanto, el espacio entre las cadenas poliméricas.

Mediante distintas técnicas se comprobó la modificación química de las matrices poliméricas iniciales. Con el empleo de la calorimetría diferencial de barrido (DSC) se determinó la modificación en la estructura cristalina de los polímeros (PE y PP), producida por el injerto de GMA y su posterior modificación con ciclodextrinas; a su vez, se observaron cambios morfológicos en la estructura polimérica por medio de la microscopía electrónica de barrido (SEM), concluyendo que los soportes poliméricos sintetizados no son totalmente homogéneos; por otro lado, se comprobó tanto el injerto de GMA como la inmovilización de ciclodextrinas empleando para ello la espectroscopía de FTIR-ATR, observando bandas características de los nuevos componentes en los soportes poliméricos. En general y empleando los resultados obtenidos de estas técnicas, se concluye que los soportes iniciales fueron modificados tanto por el injerto de GMA como por la unión covalente de ciclodextrinas, obteniendo de esta manera, soportes poliméricos capaces de ser empleados como sistemas de liberación de fármacos.

Por medio del ácido 3-metilbenzoico, se demostró que la funcionalización química de los copolímeros de injerto con las ciclodextrinas incrementa la carga de moléculas hidrofóbicas (puesto que el PE y PP, debido a su carácter hidrofóbico, no absorben solutos sobre la superficie); sin embargo, no todas las unidades de ciclodextrina son capaces de alojar moléculas huésped en sus cavidades. De esta manera se concluyó, que las cantidades cargadas de 3-MBA fueron más altas para el copolímero PP-g-GMA modificado con ambas ciclodextrinas, a diferencia del copolímero PE-g-GMA modificado químicamente con ambas ciclodextrinas.

Por otro lado, se determinó que la eficacia de formación del complejo supramolecular entre la β CD y el nitrato de miconazol es mayor que para la HP β CD, debiéndose en gran medida a que el sustituyente hidroxipropilo de la segunda distorsiona la cavidad de la ciclodextrina haciendo menos favorable la complejación.

Con respecto a la carga de nitrato de miconazol, se encontró que la funcionalización de los copolímeros de injerto con ciclodextrinas mejora la carga de dicho fármaco, puesto que un aumento en la cantidad de ciclodextrina inmovilizada sobre los soportes incrementará la carga del nitrato de miconazol. Se puede concluir que la hidroxipropil- β -ciclodextrina inmovilizada sobre el copolímero PP-g-GMA es la que mejor interacciona con el miconazol, puesto que se obtuvo mejor rendimiento de carga obteniendo un valor máximo de 0.263 mg/cm^2 . En el caso del copolímero de injerto PE-g-GMA, se determinó que la cantidad de nitrato de miconazol cargado por ambas ciclodextrinas fue aproximadamente de 0.270 mg/cm^2 . Sin embargo, existe mayor eficacia para la formación del complejo β CD/nitrato de miconazol. De manera práctica, una lámina de 1 cm^2 de PE-g-GMA- β CD, PE-g-GMA-HP β CD ó PP-g-GMA-HP β CD incorpora cantidad suficiente para prevenir el crecimiento de *Candida spp.*

Los soportes modificados con β CD cargan más diclofenaco de sodio que aquellos funcionalizados con HP β CD, determinando con ello una interacción más favorable de dicho fármaco con esta ciclodextrina.

Por último, se concluyó que el copolímero PP-g-GMA- β CD (GMA = $28 \text{ } \mu\text{mol/cm}^2$; β CD = $0.2 \text{ } \mu\text{mol/cm}^2$; diclofenaco incorporado = $0.152 \text{ } \mu\text{mol/cm}^2$ y diclofenaco liberado = $0.054 \text{ } \mu\text{mol/cm}^2$), así como también el copolímero PE-g-GMA-HP β CD (GMA = $23 \text{ } \mu\text{mol/cm}^2$; β CD = $0.041 \text{ } \mu\text{mol/cm}^2$; diclofenaco incorporado = $0.373 \text{ } \mu\text{mol/cm}^2$ y diclofenaco liberado = $0.0405 \text{ } \mu\text{mol/cm}^2$), son los mejores para llevar a cabo procesos de liberación de diclofenaco. Así mismo, se determinó que las cantidades de GMA injertado y ciclodextrina inmovilizada sobre las matrices poliméricas, son parámetros determinantes en los procesos de liberación de fármacos.

6.3. PERSPECTIVAS DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN.

Como trabajo a futuro, se contempla llevar a cabo los ensayos microbiológicos para confirmar que las cantidades cargadas de miconazol por los soportes poliméricos sintetizados y la forma de liberarlas, son correctas para evitar la formación de biopelículas de *Candida spp.* sobre la superficie de éstos.

Así mismo, se plantean los estudio necesarios para determinar la biocompatibilidad de los copolímeros de injerto PE-g-GMA y PP-g-GMA modificados químicamente con ciclodextrinas, para su posible aplicación en el diseño y fabricación de productos sanitarios, habiendo ganado la propiedad de sistema de liberación controlada.

Por otro lado, es necesario estudiar las propiedades de fricción (coeficiente de fricción) de estos soportes poliméricos, puesto que es un factor importante al decidir si un polímero es o no un buen candidato a ser un biomaterial.

REFERENCIAS.

- ¹ Katime, I.A. *Química Física Macromolecular*, Servicio Editorial, Universidad del País Vasco. Bilbao, **1994**.
- ^{2a} Bhattacharya, A.; Misra, B. N. *Prog. Polym. Sci.*, **2004**, 29, 767. ^{2b} Lin, Z.; Xu, T.; Zhang, L. *Radiat. Phys. Chem.*, **2006**, 75, 532. ^{2c} Meléndez-Ortiz, H.I.; Bucio, E.; Burillo, G. *Radiat. Phys. Chem.*, **2009**, 78, 1.
- ³ Navarrete, M.; Cabrera, L. *Introducción al estudio de los radioisótopos*, 2ª. Edición. UNAM. México, **1993**.
- ⁴ Wilson, J. E. *Radiation Chemistry of Monomers, Polymers and Plastics*, Marcel Dekker, Inc. New York, USA, **1974**.
- ⁵ Goddard, J.M.; Hotchkiss, J.H. *Prog. Polym. Sci.*, **2007**, 32, 698.
- ⁶ Richey, T.; Iwata, H.; Oowaki, H.; Uchida, E.; Matsuda, S.; Ikada, Y. *Biomaterials*, **2000**, 21, 1057.
- ⁷ Goddard, J.M.; Talbert, J.N.; Hotchkiss, J.H. *J. Food Sci.*, **2007**, 72, E36.
- ⁸ Xing, C.M.; Deng, J.P.; Yang, W.T. *J. Appl. Polym. Sci.*, **2005**, 97, 2026.
- ⁹ Yang, J.M.; Lin, H.T.; Wu, T.H.; Chen, C.C. *J. Appl. Polym. Sci.*, **2003**, 90, 1331.
- ¹⁰ Yoshiga, A.; Otaguro, H.; Lima, L.F.C.P., et al. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B*, **2007**, 265, 130.
- ¹¹ Zhang, Y.H.; Huang, Y.D.; Liu, L.; Cai, K.L. *Appl. Surf. Sci.*, **2008**, 254, 3153.
- ¹² Sun, G.; Xu, X. *Text. Chem. Color*, **1999**, 31, 21.
- ¹³ Moy, V.T.; Florin, E.L.; Gaub, H.E. *Science.*, **1994**, 266, 257.
- ¹⁴ Alferiev, I.S.; Connolly, J.M.; Stachelek, S.J.; Ottey, A.; Rauova, L.; Levy, R.J. *Biomacromolecules*, **2006**, 7, 317.
- ¹⁵ Cheng, Z.Y.; Teoh, S.H. *Biomaterials*, **2004**, 25, 1991.
- ¹⁶ Yang, Y.; Porte, M.C.; Marmey, P.; El Haj, A.J.; Amedee, J.; Baquey, C. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B*, **2003**, 207, 165.
- ¹⁷ Yang, M.C.; Lin, W.C. *Polym. Advan. Technol.*, **2003**, 14, 103.
- ¹⁸ Holmberg, K.; Tiberg, F.; Malmsten, M.; Brink, C. *Colloid Surface*, **1997**, 123, 297.
- ¹⁹ König, U.; Nitschke, M.; Menning, A.; Eberth, G.; Pilz, M., et al. *Colloid Surface B*, **2002**, 24, 63.
- ²⁰ Le Berre, V.; Trevisiol, E.; Dagkessamanskaia, A.; Sokol, S., et al. *Nucl. Acids Res.*, **2003**, 31, e88.
- ²¹ Mark, S.S.; Sandhyarani, N.; Zhu, C.C.; Campagnolo, C.; Batt, C.A. *Langmuir*, **2004**, 20, 6808.
- ²² Chen, J.; Nho, Y.-G.; Park, J.-S. *Radiat. Phys. Chem.*, **1998**, 52, 201.
- ²³ Wirsén, A.; Albertsson, A.-C. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.*, **1995**, 33, 2039.
- ²⁴ Rao, M. H.; Rao, K. N.; Teli, M. D.; Jog, A. G.; Lokhande, H. T. *J. Appl. Polym. Sci.*, **1987**, 33, 2743.
- ²⁵ Saito, K.; Ito, M.; Yamagishi, H.; Furusaki, S. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **1989**, 28, 1812.
- ²⁶ Kitoh, S.; Suzuki, K.; Kiyohara, T.; Kurita, K. *J. Appl. Polym. Sci.*, **1996**, 60, 1821.
- ²⁷ Yun, L.; Wu, C.; Lin, W.; Tang, L.; Hanmin, Z. *J. Appl. Polym. Sci.*, **1994**, 53, 1461.
- ²⁸ Martel, B.; Le Thuaut, P.; Crini, G.; Morcellet, M., et al., *J. Appl. Polym. Sci.*, **2000**, 78, 2166.
- ²⁹ Kiyohara, S.; Sasaki, M.; Saito, K.; Sugita, K.; Sugo, T. *J. Membrane Sci.*, **1996**, 109, 87.
- ³⁰ Akkapeddi, M. K.; Mason, C. D.; VanBuskirk, B. *Polym. Prepr.*, **1993**, 34, 848.

- ³¹ Hermanson, G.T. *Bioconjugate techniques*. New York: Academic Press; **1996**.
- ³² Hoffman, A. S. *Macromol. Symp.*, **1995**, 68, 645.
- ³³ Percot, A.; Lafleur, M.; Zhu, X. X. *Polymer*, **2000**, 41, 7231.
- ³⁴ Arroyo, M. *Ars. Pharmaceutica*, **1998**, 39, 23.
- ³⁵ Lo Nostro, P.; Fratoni, L.; Baglioni, P. *J. Incl. Phenom Macroc. Chem.*, **2002**, 44, 423.
- ³⁶ Lee, M.H.; Yoon, K.J.; Ko, S.W. *J. Appl. Polym. Sci.*, **2001**, 80, 438.
- ³⁷ Gawish, S.M.; Ramadan, A.M.; Mosleh, S.; Morcellet, M.; Martel, B. *J. Appl. Polym. Sci.*, **2006**, 99, 2586.
- ³⁸ Irie, T.; Uekama, K. *Adv. Drug. Del. Rev.*, **1997**, 36, 101.
- ³⁹ Lehner, S.J.; Müller, B.W.; Seydel, J.K. *Int. J. Pharm.*, **1993**, 93, 201.
- ⁴⁰ Schipper, N.G.M.; Hermens, W.A.J.J.; Romejin, S.G.; Verhoef, J.C.; Merkus, F.W.H.M. *Int. J. Pharm.*, **1990**, 64, 61.
- ⁴¹ Merkus, F.W.H.M.; Schipper, N.G.M.; Hermens, W.A.J.J.; Romejin, S.G.; Verhoef, J.C. *J. Control. Release*, **1993**, 24, 201.
- ⁴² Watanabe, Y.; Matsumoto, Y.; Seki, M.; Takase, M.; Matsumoto, M. *Chem. Pharm. Bull.*, **1992**, 40, 3042.
- ⁴³ Uekama, K.; Irie, T.; Sunada, M.; Otagiri, M.; Arimatsu, Y.; Nomura, S. *Chem. Pharm. Bull.*, **1982**, 30, 3860.
- ⁴⁴ Okamoto, H.; Komatsu, H.; Hashida, M.; Sezaki, H. *Int. J. Pharm.*, **1986**, 30, 35.
- ⁴⁵ Fragoso, A.; Cao, R.; Almirall, E.; *Ciencia en la frontera: Revista de ciencia y tecnología de la UACJ*, **2005**, 3, 67.
- ⁴⁶ Bender, M. L.; Komiyama, M. *Cyclodextrin Chemistry*, vol. 6; Ed. Springer-Verlag, 1a. Edición. Germany, **1978**.
- ⁴⁷ Villiers, A. *C. R. Hebd. Sesances Acad. Sci.*, **1891**, 112, 536.
- ⁴⁸ French, D. *Adv. Carboh. Chem.*, **1957**, 12, 189.
- ⁴⁹ Morrison, R. T.; Boyd, R. N. *Química Orgánica*, Ed. Addison-Wesley Iberoamericana, 2ª. Edición. México, **1987**.
- ⁵⁰ Sanyo, H. *J. Phys. Chem.*, **1995**, 99, 12109.
- ⁵¹ Duchêne, D.; Wouessidjewe, D. *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, **1990**, 17, 2487.
- ⁵² Pitha, J.; Rao, T.C.; Lindberg, B.; Sefferes, P. *Carbohydr. Res.*, **1990**, 200, 435.
- ⁵³ Botsi, A.; Yannakopoulou, K.; Perly, B.; Hadjoudis, E. *J. Org. Chem.*, **1995**, 60, 4017.
- ⁵⁴ Frömming, K.H.; Szejtli, J. Academic Publishers, Dordrecht, **1994**, pp. 29-32
- ⁵⁵ Miyazaga, I.; Ueda, H.; Nagase, H.; Endo, T.; Kobayashi, S.; Nagai, T. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **1995**, 3, 153.
- ⁵⁶ Matsubara, K.; Ando, Y.; Irie, T.; Uekama, K. *Pharm. Res.*, **1997**, 14, 1401.
- ⁵⁷ Cramer, F.; Saenger, W.; Satz, H.C. *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, 89, 14.
- ⁵⁸ Hersey, A.; Robinson, B.H.; Kelly, H.C. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1*, **1986**, 82, 1271.
- ⁵⁹ Loftsson, T.; Jarho, P.; Másson, M.; Järvinen, T. *Expert Opin. Drug Del.*, **2005**, 2, 335.
- ⁶⁰ Uekama, K. *Chem. Pharm. Bull.*, **2004**, 52, 900.

- ⁶¹ Loftsson, A.; Brewster, M.E. *J. Pharm. Sci.*, **1996**, 85, 1017.
- ⁶² Liu, L.; Guo, Q-X. *J. Incl. Phenom. Macroc. Chem.*, **2002**, 42, 1.
- ⁶³ Hirayama, F.; Uekama, K. *Cyclodextrins and their industrial uses*. Editions de Santé, Paris, **1987**, pp. 131-172.
- ⁶⁴ Higuchi, T.; Connors, K.A. *Adv. Anal. Chem. Instrum.*, **1965**, 4, 117.
- ⁶⁵ Brewster, M.E.; Loftsson, T. *Injectable drug development. Techniques to reduce pain and irritation*. Ed. Interpharm Press, Denver, USA, **1999**, pp. 307-336.
- ⁶⁶ Hedges, A.R. *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 2035.
- ⁶⁷ Esclusa-Díaz, M.T.; Gayo-Otero, M.; Pérez-Marcos, M.B.; Vila-Jato, J.L.; Torres-Labandeira, J.J. *Int. J. Pharm.*, **1996**, 142, 183.
- ⁶⁸ Loftsson, T.; Fridriksdóttir, H.; Sigurdadóttir, A.M.; Ueda, H. *Int. J. Pharm.*, **1994**, 110, 169.
- ⁶⁹ Baños, J.; Farré, M. *Principios de Farmacología Clínica: Bases científicas de la utilización de medicamentos*. Editorial Elsevier, España, **2002**, pp. 15-30.
- ⁷⁰ Sáez, V.; Hernández, E.; López, L. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, **2003**, 4, 111.
- ⁷¹ Escobar, J.L.; Garcia, D.M.; Katime, I. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, **2002**, 3, 1.
- ⁷² Kou, J.H.; Amidon, G.L.; Lee, P.I. *Pharm. Res.*, **1988**, 5, 592.
- ⁷³ Katime, Y. "Documento CYTED-subprograma de tecnología de materiales", Universidad del País Vasco-grupo de materiales; Bilbao, **1995**.
- ⁷⁴ Donlan, R.M.; Costerton, J.W. *Clin. Microbiol. Rev.*, **2002**, 15, 167.
- ⁷⁵ Montanaro, L.; Campoccia, D.; Arciola, C.R. *Biomaterials*, **2007**, 28, 5155.
- ⁷⁶ Bibby, D.C.; Davies, N.M.; Tucker, I.G. *Int. J. Pharm.*, **2000**, 197, 1.
- ⁷⁷ Challa, R.; Ahuja, A.; Ali, J.; Khar, R.K. *AAPPS Pharm. Sci. Tech.*, **2005**, 6, 329.
- ⁷⁸ Loftsson, A.; Brewster, M.E.; Derendorf, H.; Bodor, N. *Pharm. Ztg. Wiss.*, **1991**, 136, 5.
- ⁷⁹ Gorecka, B.A.; Sanzgiri, Y.D.; Bindra, D.S.; Stella, V. *Int. J. Pharm.*, **1995**, 125, 55.
- ⁸⁰ Sigurdadóttir, A.M.; Loftsson, T. *Int. J. Pharm.*, **1995**, 126, 73.
- ⁸¹ Faucci, M.T.; Mura, P. *Drug. Devel. Ind. Pharm.*, **2001**, 27, 909.
- ⁸² Valero, M.; Pérez-Revuelta, B.I.; Rodríguez, L.J. *Int. J. Pharm.*, **2003**, 253, 110.
- ⁸³ Loftsson, T. *Pharmazie*, **1998**, 53, 733.
- ⁸⁴ Loftsson, T.; Brewster, M.E.; Másson, M. *Am. J. Drug Del.*, **2004**, 2, 261.
- ⁸⁵ Tavornvipas, S.; Tajiri, S.; Hirayama, F.; Arima, H.; Uekama, K. *Pharm. Res.*, **2004**, 21, 2369.
- ⁸⁶ Maffeo, D.; Leondiadis, L.; Mavridis, I.M.; Yannakopoulou, K. *Org. Biomol. Chem.*, **2006**, 4, 1297.
- ⁸⁷ Hadaruga, N.G.; Hadaruga, D.I.; Paunescu, V.; Tatu, C., et al. *Food Chem*, **2006**, 99, 500.
- ⁸⁸ Amidon, G.L.; Lennernäs, H.; Shah, V.P.; Criston, J.R. *Pharm. Res.*, **1995**, 12, 413.
- ⁸⁹ Hirayama, F.; Usami, M.; Kimura, K.; Uekama, K. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **1997**, 5, 23.
- ⁹⁰ Kimura, K.; Hirayama, F.; Arima, H.; Uekama, K. *Pharm. Res.*, **1999**, 16, 1729.
- ⁹¹ Uekama, K.; Hirayama, F.; Irie, T. *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 2045.

- ⁹² Yoshida, A.; Yamamoto, M.; Irie, T.; Hirayama, F.; Uekama, K. *Chem. Pharm. Bull.*, **1989**, *37*, 1059.
- ⁹³ Szente, L.; Apostol, I.; Gerloczy, A.; Szejtli, J. *Pharmazie*, **1985**, *40*, 406.
- ⁹⁴ Uekama, K. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **2002**, *44*, 3.
- ⁹⁵ Tikihiro, K.; Arima, H.; Tajiri, S.; Irie, T.; Hirayama, F.; Uekama, K. *J. Pharm. Pharmacol.*, **2000**, *52*, 911.
- ⁹⁶ Okimoto, K.; Ohike, A.; Ibuki, R.; Aoki, O.; Ohnishi, N., et al. *Pharm. Res.*, **1999**, *16*, 549.
- ⁹⁷ Uekama, K.; Otagiri, M. *Crit. Rev. Ther. Drug.*, **1987**, *3*, 1.
- ⁹⁸ Brewster, M.E.; Anderson, W.R.; Estes, K.S.; Bodor, N. *J. Pharm. Sci.*, **1991**, *80*, 380.
- ⁹⁹ Albers, E.; Muller, B.W. *J. Pharm. Sci.*, **1992**, *81*, 756.
- ¹⁰⁰ Miyake, K.; Arima, H.; Irie, T.; Hirayama, F.; Uekama, K. *Bio. Pharm. Bull.*, **1999**, *22*, 66.
- ¹⁰¹ Arima, H.; Yunomae, K.; Miyake, K.; Irie, T.; Hirayama, F.; Uekama, K. *J. Pharm. Sci.*, **2001**, *90*, 690.
- ¹⁰² Shimamoto, T. *J. Androl.*, **1987**, *8*, S14.
- ¹⁰³ Schipper, N.G.M.; Verhoef, J.C.; Romejin, S.G.; Merkus, F.W.H.M. *J. Control. Release*, **1992**, *21*, 173.
- ¹⁰⁴ Loftsson, T.; Gudmundsson, J.A.; Árnadóttir, R.O.; Fridriksdóttir, H. *Pharmazie*, **2003**, *58*, 358.
- ^{105a} Alem, M.; Douglas, L. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2004**, *48*, 41. ^{105b} Boelsterli, U.A. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **2003**, *192*, 307.
- ^{106a} Damiani, P.; Bearzotti, M.; Cabezón, M.; Olivieri, A. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **1999**, *20*, 587. ^{106b} Ho, H.O.; Liu, C.H.; Lin, H.M.; Sheu, M.T. *Journal of Controlled Release*, **1997**, *49*, 149. ^{106c} Alem, M.A.S.; Douglas, L.J. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **2004**, *48*, 41.
- ¹⁰⁷ Abete, J. *Medicine*, **1998**, *7*, 4231.
- ¹⁰⁸ Piel, G.; Evrard, B.; Fillet, M.; Llabres, G.; Delattre, L. *Int. J. Pharm.*, **1998**, *169*, 15
- ¹⁰⁹ Zhang, M.Q.; Rees, D.C. *Exp. Opin. Ther. Patents*, **1999**, *9*, 1697.
- ¹¹⁰ Uekama, K.; Horikawa, T.; Horiuchi, Y.; Hirayama, F. *J. Control. Release*, **1993**, *25*, 99.
- ¹¹¹ Irie, T.; Uekama, K. *Adv. Drug. Del. Rev.*, **1999**, *36*, 101.
- ¹¹² Yamada, M.; Hirayama, F.; Uekama, K. *Drug. Del. Syst.*, **1999**, *14*, 27.
- ¹¹³ Hirayama, F.; Yamanaka, M.; Horikawa, T.; Uekama, K. *Chem. Pharm. Bull.*, **1995**, *43*, 130.
- ¹¹⁴ Hirayama, F.; Horikawa, T.; Yamanaka, M.; Uekama, K. *J. Pharm. Sci.*, **1995**, *1*, 517.
- ¹¹⁵ Matsubara, K.; Irie, T.; Uekama, K. *J. Control. Release*, **1994**, *31*, 173.
- ¹¹⁶ Fernandes, C.M.; Veiga, F.J. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **2002**, *44*, 79.
- ¹¹⁷ Fernandes, C.M.; Ramos, P.; Falcao, A.C.; Veiga, F.J. *J. Control. Release*, **2003**, *88*, 127.
- ¹¹⁸ Ikeda, I.; Kimura, K.; Hirayama, F.; Arima, H.; Uekama, K. *J. Control. Release*, **2000**, *66*, 271.
- ¹¹⁹ Rajewski, R.A.; Stella, V.J. *J. Pharm. Sci.*, **1996**, 1142-1169.
- ¹²⁰ Armijo M.; *Editorial Médica Internacional SA.*, **1989**
- ¹²¹ Bada Ainsa, J. L. Tratamiento farmacológico de las Micosis; En JM Torres-Rodríguez eds. Barcelona. Doyma, **1989**: 137-163.
- ¹²² Fromtling, R.A.; *Clin Microbiol Rev*, **1988**, *1*, 187.
- ¹²³ Stella, V.J.; Rajewski, R.A.; *Pharm. Res.*, **1997**, *14*, 556.

- ¹²⁴ Wang, J.H.; Cai, Z.; *Carbohydrate Polymers*, **2008**, 72, 255.
- ¹²⁵ Paulus, H.E.; Furst, D.E.; Droogmoole, S.H.; *Drugs for Rheumatic Disease*, Churchill Livingstone, New York, 1987, pp. 413-414.
- ¹²⁶ Tuncay, M.; Cali, S.; Kas, H.S.; Ercan, M.T.; Peksoy, I.; Hincal, A.A.; *Int. J. Pharm.*, **2000**, 195, 179.
- ¹²⁷ Kovala-Demertzi, D.; Mentzafos, D.; Terzis, A.; *Polyhedron*, **1993**, 12, 1361.
- ¹²⁸ Adbel-Hamid, M.E.; Novotny, L.; Hamza, H.; *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2001**, 24, 587.
- ¹²⁹ Moser, P.; Sallmann, A.; Wisenberg, I.; *J. Med. Chem.*, **1990**, 33, 2358.
- ¹³⁰ Dastidar, S.G.; Ganguly, K.; Chaudhuri, K.; Chakrabarty, A.N.; *Int. J. Antimicrob. Agents*, **2000**, 14, 249.
- ¹³¹ Pose-Vilarnovo, B.; Santana-Penin, L.; Echezarreta-Lopez, M.; Pérez-Marcos, M.B.; Vila-Jato, J.L.; Torres-Labandeira, J.J.; *S.T.P. Pharm. Sci.*, **1999**, 9, 231.
- ¹³² Astilean, S.; Ionescu, C.; Cristea, Gh.; Farcas, S.I.; Bratu, I.; Vitoc, R.; *Biospectroscopy*, **1997**, 3, 233.
- ¹³³ Mucci, A.; Schenetti, L.; Vandelli, M.A.; Rouzi, B.; Formi, F.; *J. Chem. Res.*, **1999**, 7, 414.
- ¹³⁴ Cwiertnia, B.; Hladon, T.; Stobiecki, M.; *J. Pharm. Pharmacol.*, **1999**, 51, 1213.
- ¹³⁵ Bratu, I.; Astilean, S.; Ionescu, C.; Indrea, E.; Huvenne, J.P.; Legrand, P.; *Spectrochim. Acta A*, **1998**, 54, 191.
- ¹³⁶ Whittaker, D.V.; Penkler, L.J.; Glintenkamp, L.A.; van Oudtshoorn, B.; Wessels, P.L.; *Proceedings of the Eight International Symposium on Cyclodextrins*, Kluwer Academic Publishers, **1996**, pp. 377-380.
- ¹³⁷ Caira, M.R.; Griffith, V.J.; Nassimbeni, L.R.; van Oudtshoorn, B.; *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1994**, 9, 1061.
- ¹³⁸ Iliescu, T.; Baia, M.; Miclaus, V.; *European J. Pharmaceutical Sciences*, **2004**, 22, 487
- ¹³⁹ Hatakeyama, T.; Quinn, F. X., *Thermal Analysis: Fundamentals and Applications to Polymer Science*, Ed. Wiley; 1a. Edición, Great Britain, **1994**; pág. 38 – 40.
- ¹⁴⁰ McNaughton, J. L.; Mortimer, C. T., *Calorimetria Diferencial de Barrido*, Ed. Perkin Elmer Corporation, **1975**.
- ¹⁴¹ Daniels, T., *Thermal Analysis*, Ed. Von Nostrand Reinhold Company, **1973**, pág. 19.
- ¹⁴² Gonzalez, G.; Noguez, E., *Principios de Microscopia Electrónica de Barrido y Microanálisis por Rayos X*, Departamento de Ingeniería Química Metalúrgica, noviembre, **2006**.
- ¹⁴³ Schwedt, G., *The essential guide to analytical Chemistry*, Ed. John Wiley & Sons, Chichester, **1997**.
- ¹⁴⁴ Osborne, B. G.; Fearn, T.; Hindle, P. H., *Practical NIR Spectroscopy with Applications in Food and Beverage Analysis*, Ed. Logman Scientific & Technical; 2a. Edición, Harlow, England, **1993**.
- ¹⁴⁵ Rubinson, K. A.; Rubinson, J. F., *Análisis Instrumental*, Ed. Prentice Hall, Madrid, **2001**.
- ^{146a} Kim, M.; Saito, K.; *Reactive & Functional Polymers*, **1999**, 40, 275. ^{146b} Cruz Zaragoza, E. *Educación Química*, **1997**, 8[1], 8. ^{146c} Spinks, J.W.T.; Woods, R.J. *An Introduction to Radiation Chemistry*; John Wiley & Sons, Inc., USA, **1964**, págs. 79-125
- ¹⁴⁷ Thuaut, P.L.; Martel, B.; Crini, G.; Maschke, U., et al. *J. Appl. Polym. Sci.*, **2000**, 78, 2166.
- ¹⁴⁸ Fundueanu, G.; Constantin, M.; Mihai, D., et al. *J. Chromatogr. B*, **2003**, 791, 407.

- ¹⁴⁹ Krupa, I.; Luyt, A.S. *J. Appl. Polym. Sci.*, **2001**, *81*, 973.
- ¹⁵⁰ Adem, E.; Burillo, G.; Avalos-Borja, M.; Carreón, Ma. P. *Nucl. Instrum. Meth. B*, **2005**, *236*, 295.
- ¹⁵¹ Adem, E.; Avalos-Borja, M.; Carrillo, D.; Vazquez, M.; Sanchez, E.; Carreón, Ma. P.; Burillo, G. *Radiation Physics and Chemistry*, **1998**, *52*, 171.
- ¹⁵² Kunita, M.H.; Rinaldi, A.W.; Giroto, E.M.; Radovanovic, E.; Muniz, E.C.; Rubira, A.F. *European Polymer Journal*, **2005**, *41*, 2176.
- ¹⁵³ Ramirez-Fuentes, Y.S.; Bucio, E.; Burillo, G. *Nucl. Instrum. Meth. Phys. Res. Sec. B*, **2007**, *265*, 183.
- ¹⁵⁴ Khonakdar, H.A.; Jafari S.H.; Wagenknecht, U.; Jehnichen, D. *Radiation Physics and Chemistry*, **2006**, *75*, 78.
- ¹⁵⁵ Vahdat, A.; Bahrami, H.; Ansari, N.; Ziaie, F. *Radiation Physics and Chemistry*, **2007**, *76*, 787.
- ¹⁵⁶ Santos, J.F.R.d.; Couceiro, R.; Concheiro, A.; Torres-Labandeira, J.J.; Alvarez-Lorenzo, C. *Acta Biomater.*, **2008**, *4*, 745.
- ¹⁵⁷ Piel, G.; Evrard, B.; Fillet, M.; Llabres, G.; Delattre, L. *Int. J. Pharm.*, **1998**, *169*, 15.



Modification of polyethylene films by radiation grafting of glycidyl methacrylate and immobilization of β -cyclodextrin

C.A.B. Nava-Ortiz^a, G. Burillo^{a,*}, E. Bucio^a, C. Alvarez-Lorenzo^b

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

^b Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 13 June 2008

Accepted 28 July 2008

Keywords:

Radiation grafting

Glycidyl methacrylate

Cyclodextrins

Polyethylene

Surface functionalization

Inclusion complexes

ABSTRACT

Glycidyl methacrylate was grafted onto polyethylene films using a preirradiation method with γ rays. The effect of absorbed dose, monomer concentration, and reaction time on the degree of grafting was determined. The grafted samples were verified by FTIR-ATR spectroscopy. β -Cyclodextrin was immobilized onto polypropylene modified with glycidyl methacrylate, and the ability of the cavities of β -cyclodextrin to form inclusion complexes was demonstrated using the typically organic compound approach with *m*-toluic acid (3-MBA) as a probe.

© 2008 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Radiation processing is very useful to improve properties of polymer materials by means of grafting, crosslinking, and chain scission reactions (Yoshiga et al., 2007). γ -Ray irradiation is a well-known method for modification of polymer materials, including polypropylene and polyethylene (Zhang et al., 2008), and has been developed for providing existing materials with new functionalities (Kimura et al., 2008). The surface properties of polypropylene hollow fiber membrane can be modified by graft polymerization of monomers using gamma radiation, which is highly penetrating and thus acts at both the surface and the bulk while retaining the mechanical properties of the material (Abroal et al., 2007). In the biomedical field, an adequate modification of the composition and morphology of the surface can enable a precise modulation of the adsorption of biomolecules (e.g. enzymes, antigens, antibodies or toxins) present in biological fluids (Bayramoğlu et al., 2005). The loading with specific drugs for local delivery to prevent or to treat pathologies can also be accomplished by polymer surface modification (Ruiz et al., 2008).

Surface modification with cyclodextrins (CDs) is gaining an increasing interest because they can provide the surfaces with the ability to retain pollutants (Martel et al., 2002) or to load and sustain the release of a wide range of molecules, such as

deodorants, biocides or antimicrobials (Gawish et al., 2006; El Ghoul et al., 2008). CDs are cyclic oligosaccharides that can host relatively hydrophobic substances by inclusion inside their annuli (Mehta et al., 2008). CDs have numerous applications as solubilizers of organic and inorganic molecules in aqueous medium (Brewster and Loftsson, 2007) or as components of chromatographic columns for enantiomeric separations (Yang et al., 1997). Highly cytocompatible vascular prosthesis modified with cross-linked CDs, using thermal grafting, have been recently developed for the sustained delivery of vancomycin (Blanchemain et al., 2007a,b).

Grafting of glycidyl methacrylate (GMA) to inorganic surfaces or textiles constitutes a potential way for further attachment of CDs (Schofield et al., 2006). GMA, the ester of methacrylic acid and 2,3-epoxy-propanol, bears a reactive epoxide group, which can react with amino groups and hydroxyl groups to form stable covalent bonds with bioactive molecules without any intervening linker. The resultant products are stable during long storage periods and are relatively resistant to hydrolysis (Murugan and Ramakrishna, 2004). Furthermore, the epoxy groups of GMA can enable the functionalization of the surface with hydroxyl, amine, thiol or phosphoric acid groups (Kwang-Pill et al., 2001).

In this work, we present the preparation of polyethylene (PE)-based materials containing β -CD. This novel material was obtained through a two-step process: the first step consisted of irradiating the PE films in order to create peroxide and hydroperoxide groups on the surface. This was followed by an immediate graft polymerization of the GMA monomers initiated by the

* Corresponding author. Tel.: +52 55 56224674; fax: +52 55 56162233.
E-mail address: burillo@nucleares.unam.mx (G. Burillo).

thermal degradation of the peroxide and hydroperoxide radicals. The second step involved the immobilization of the β -CD onto the PE-g-GMA film by using its reactive epoxy groups. The resulting functionalized PE-based material possesses the inherent ability of CDs to complex drugs and can find a wide range of applications in drug delivery.

2. Experimental

2.1. Materials

PE films of density 0.92 g cm^{-3} and thickness $100 \mu\text{m}$ were purchased from PEMEX (Mexico), washed with methanol and dried under vacuum at 40°C for 5 h. PE films ($1.2 \times 4 \text{ cm}^2$) were used as the base polymer for grafting polymerization. GMA from Aldrich Chemical Co., USA, was used without further purification. β -CD was supplied by Roquette Laisa (Spain). *m*-Toluic acid (3-methylbenzoic acid, 3-MBA) was supplied from Aldrich Chemical Co., USA. Analytical grade solvents such as methanol, acetone, and *N,N*-dimethylformamide (DMF) from Baker USA were used as received.

2.2. Graft polymerization

The process for grafting GMA onto PE films is shown in Scheme 1. GMA was polymerized onto PE films by applying a preirradiation grafting technique. The prewashed and dried PE films were exposed in the presence of air and at room temperature to a ^{60}Co Gamma-Beam 651-PT source with activity of 73,000 Ci, at a dose rate of 11.3 kGy h^{-1} . The preirradiated films were placed in glass ampoules (previously weighed) which contained 20% of GMA in methanol/water (8:2 v/v), with a total volume of 8 mL. Methanol was used to help the homogenization of the reaction bath since GMA is not miscible in water. The system was degassed by repeated freeze–thaw cycles, and the ampoules were vacuum sealed. Then they were heated in a water bath at several different temperatures and reaction times. Grafted films were extracted in stirred methanol for 24 h in order to remove remaining monomers and the homopolymer. The grafted films were dried under a vacuum at 40°C . The grafting yield (Y_g) was calculated by the equation $Y_g (\%) = 100[(W_g - W_o)/W_o]$, where W_g and W_o are the mass of the grafted and initial films, respectively.

2.3. Immobilization of β -CD onto PE-g-GMA

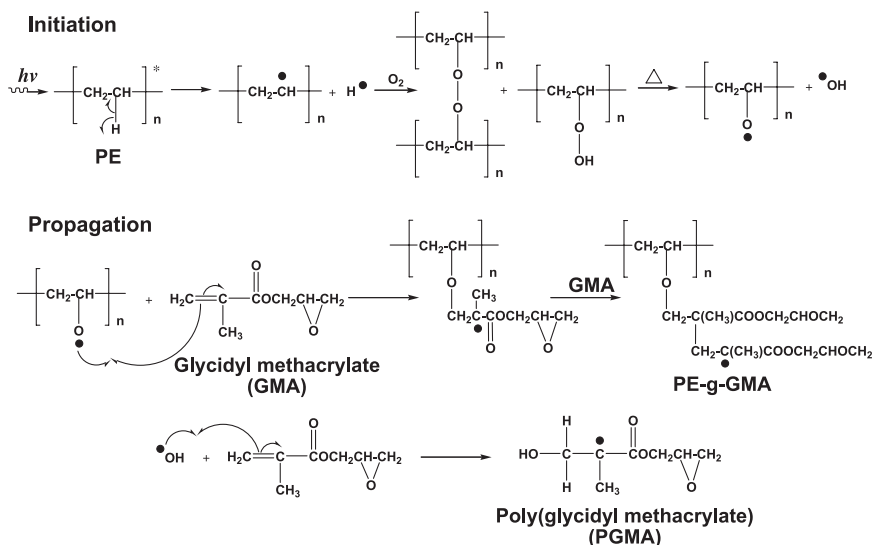
The immobilization process of β -CD onto PE-g-GMA is shown in Scheme 2. We adapted the method of Zhao and He (1994) which consists of reacting β -CD with the epoxy groups in the presence of a NaCl(aq)/DMF mixture. Grafted copolymer films (PE-g-GMA) of known mass were swollen in 15 mL of *N,N*-dimethylformamide (DMF) for 2 h. DMF improved the wettability of the hydrophobic PE-g-GMA film and, thereby, improved the reaction yield. Then, the films were placed in Pyrex tubes with 2 mL of DMF and 8 mL of an aqueous solution of NaCl (1 M) and of β -CD (amount of β -CD equimolar to the GMA groups in the film). The mixture was stirred at 70°C during 24 h. The final product was successively extracted with hot distilled water, acetone, and methanol, dried under vacuum at 40°C , and weighed. The amount of grafted β -CD was determined from the mass gain of the film upon reaction and was expressed as micromoles of β -CD per gram of the film, as follows: $[(W_{\beta\text{-CD}} - W_{\text{PE-g-GMA}})/(W_{\beta\text{-CD}} \times M_{\beta\text{-CD}})] \times 10^6$, where $W_{\beta\text{-CD}}$ and $W_{\text{PE-g-GMA}}$ represent the mass of the final β -CD grafted film and the initial PE-g-GMA film, respectively. $M_{\beta\text{-CD}}$ represents to the molecular weight of the β -CD.

2.4. Characterization of grafted films

Fourier transform infrared spectra (in the Total Attenuated Reflection, FTIR-ATR mode) of the films were recorded using a Perkin-Elmer Spectrum 100 spectrometer (USA). The equilibrium swelling time of the grafted copolymer films was measured gravimetrically. The samples were swollen in DMF at room temperature for several different periods of time. The DMF excess on the surface of graft copolymer films was wiped off by filter paper and the samples were weighted. The time immersion and drying procedure was repeated until the mass of the swollen samples was constant. The swelling percent (S) was defined as follows: $S (\%) = 100[(W_s - W_d)/W_d]$, where W_s and W_d are the mass of the swollen and dry films, respectively.

2.5. Inclusion complexes of *m*-toluic acid (3-MBA) with β -CD

Dried films (PE-g-GMA- β -CD) were immersed in 5 mL of 3-MBA aqueous solution (0.2 mg mL^{-1}) and kept for 48 h in the dark (Fundueanu et al., 2003). The concentration of 3-MBA was



Scheme 1. Graft process of GMA onto PE.

The grafting of GMA onto PE films was confirmed by FTIR-ATR spectra (Fig. 5). The CH_2 absorption bands of the PE film appeared clearly at 2916 and 2848 cm^{-1} (Fig. 5A). A broad strong absorption

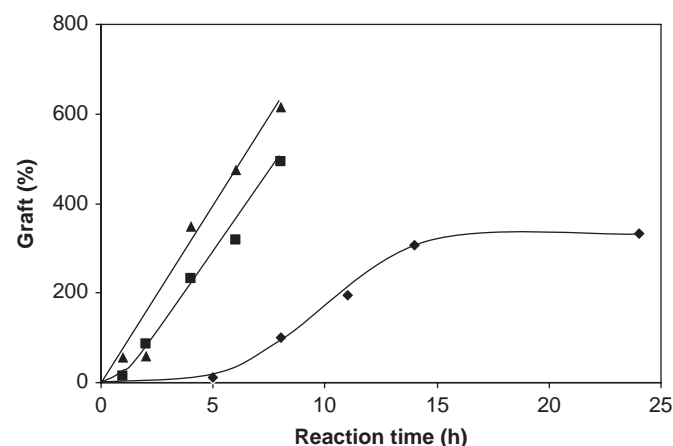


Fig. 3. Grafting yield of GMA onto PE as function of reaction time at (▲) 60 °C, (■) 50 °C, and (◆) 40 °C, dose rate of 11.3 kGy h^{-1} , monomer concentration 20% (v), and pre-irradiation dose 200 kGy .

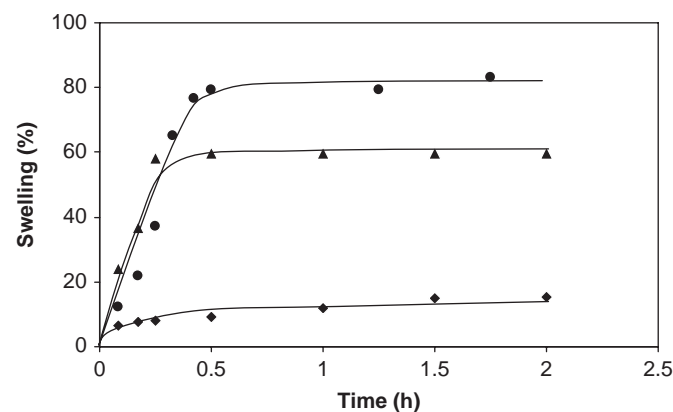


Fig. 4. Swelling percentage in DMF as a function of time for (◆) PE-g-GMA 60%, (▲) PE-g-GMA 365%, and (●) PE-g-GMA 616%.

band centered at 3282 cm^{-1} , which can be attributed to the stretching vibrations of hydroxyl groups, was observed for the β -CD (Fig. 5B). The absorption at 2923 cm^{-1} was due to the stretching vibration of CH_2 , and that at 1639 cm^{-1} resulted from the HOH bending of physically adsorbed water. C–O stretching of the ether functional group on β -CD was observed at 1152 cm^{-1} . Bands at 1021 and 938 cm^{-1} were assigned to the vibration of COC in the glucose units (skeletal vibration involving α -1,4 linkage), respectively. After GMA was grafted onto PE, a strong absorption at 1724 cm^{-1} owing to the vibrational stretching of the C=O was observed. When β -CD was immobilized onto the PE-g-GMA support (Fig. 5C), the absorption at 3457 cm^{-1} indicated the vibrational stretching of the OH bond. The absorption at 1032 cm^{-1} was due to the stretching of C–O ether bonds. These findings indicated the formation of (PE-g-GMA)- β -CD (Fig. 5C). The IR spectra of GMA (Fig. 5D) exhibited absorptions at 907 cm^{-1} due to stretching vibration of the epoxy group, at 1716 cm^{-1} due to carbonyl group, and at 1153 and 1255 cm^{-1} due to C–O stretching of the ester group.

The amount of β -CD attached to the grafted polymer depended on the percent (by weight) of GMA incorporated into the film (PE-g-GMA). Fig. 6 shows that the greater the content epoxy groups, the greater the amount of β -CD immobilized. The percent GMA grafted to the polymer reached a plateau at about 500% (or

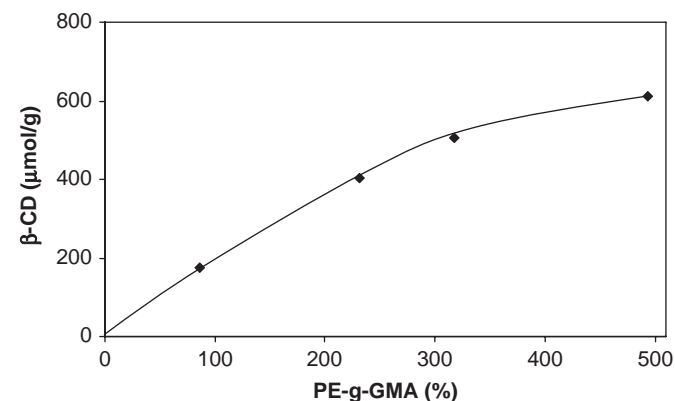


Fig. 6. Yield of β -CD reacted onto PE-g-GMA as function of the GMA wt% on the graft copolymer films at reaction temperature 70 °C, reaction time 24 h, β -CD/GMA mol ratio 1:1, DMF/ H_2O 2:8 v/v, and $[\text{NaCl}]_{(\text{ac})}$ 0.5 mol L^{-1} .

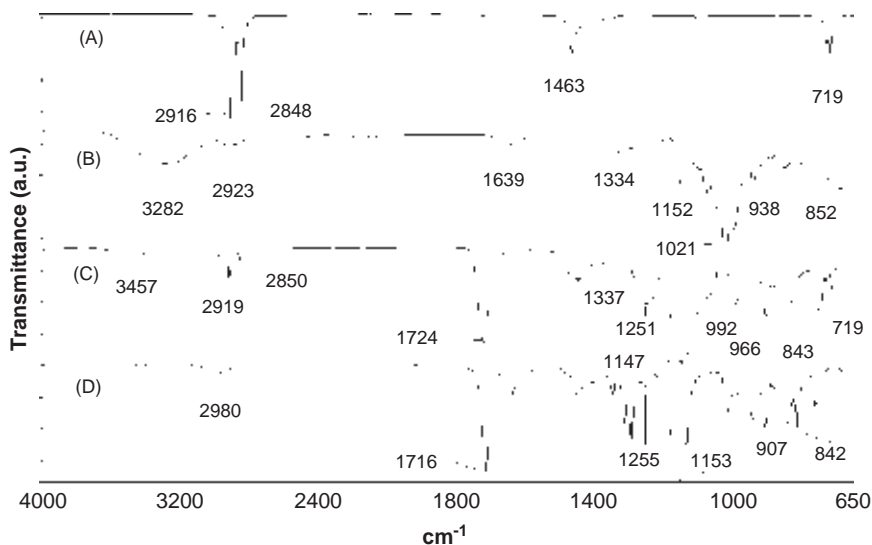


Fig. 5. FTIR-ATR spectra of (A) PE; (B) β -CD; (C) (PE-g-GMA 172%)- β -CD 330 $\mu\text{mol g}^{-1}$; (D) GMA.

Table 1
Yield of GMA and β -CD reacted onto PE

	Sample (g)	Graft GMA (%)	GMA/PE-g-GMA ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	β -CD/PE-g-GMA ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	β -CD/GMA
1	0.0454	86.16	3256	175.0	0.054
2	0.0523	231.25	4911	402.3	0.082
3	0.0730	317.53	5350	507.3	0.095
4	0.0751	495.00	5852	611.2	0.104

Table 2
Amounts of 3-MBA loaded by PE-g-GMA- β -CD

	Sample (g)	Graft GMA (%)	3-MBA onto β -CD (mg)	3-MBA/PE-g-GMA ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	β -CD/3-MBA
1	0.0454	86.16	0.0605	9.787	17.88
2	0.0523	231.25	0.0265	3.720	108.12
3	0.0730	317.53	0.0595	5.986	84.75
4	0.0751	495.00	0.0445	4.352	140.44

5.8 mmol g^{-1} of film). In the ascendant portion of the curve, the molar ratio of epoxy groups to grafted CD was, on average, equal to 9.6. This suggests that the amount of fixed β -CD represents 10 mol% of the epoxy groups originally present on the PE-g-GMA film. However, it is possible that more than one OH group of β -CD may be involved in the reaction, so the fraction of reacted epoxy groups is probably over 10 mol% (Table 1).

Finally, we tested if the β -CD fixed to the grafted films retained its ability to form inclusion complexes with guest molecules. 3-MBA was used as a probe since this organic molecule possesses a high affinity for β -CD (affinity constant $1.3 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$; Fundueanu et al., 2003), and thus it can easily form complexes with the available cavities of the attached CDs. The formation of inclusion complexes with 3-MBA was most efficient in the grafted film modified with the lowest amount of β -CD. Highly functionalized films led to a lower and almost constant amount of 3-MBA loaded, probably because of steric hindrance among the CD cavities. Consequently, an optimum amount of 3-MBA onto β -CD was obtained with 86% of GMA (Table 2).

4. Conclusions

GMA was grafted onto preirradiated PE films in order to provide them with specific functional groups. The grafting extent can be modulated by controlling some experimental variables such as absorbed dose, temperature during grafting, and composition of initial monomer solution. Heating accelerates the grafting initiated by the decomposition of the peroxides. Optimal dose of polymer irradiation, temperature, and monomer concentration was 200 kGy, 60 °C, and 20 wt%, respectively, for graft polymerization of GMA from a solution in methanol/ H_2O (8:2 v/v) onto PE by the method of preirradiation in air. β -CD was immobilized onto the grafted polymers through the reaction with the pendant epoxy group, enabling the formation of inclusion complexes with 3-MBA. The loading of 3-MBA depended on the amount of β -CD immobilized on the PE-g-GMA, and an excess of β -CD did not enhance the efficiency because of a steric hindrance effect.

Acknowledgments

This work was supported by DGAPA-UNAM Grant IN200108 and Xunta de Galicia (PGIDIT PGIDT07CSA002203PR). The authors

thank B. Leal, F. García, and S. Ham from ICN-UNAM for technical assistance, and to Roquette Laisa (Spain) for β -CD samples.

References

- Abroal, K., Qazi, G.N., Ghosha, A.K., 2007. Characterization of an anion-exchange porous polypropylene hollow fiber membrane for immobilization of ABL lipase. *J. Biotechnol.* 128, 838–848.
- Bayramoğlu, G., Yalçın, E., Arica, M.Y., 2005. Characterization of polyethylenimine grafted and Cibacron Blue F3GA immobilized poly(hydroxyethylmethacrylate-co-glycidylmethacrylate) membranes and application to bilirubin removal from human serum. *Colloids Surf. A* 264, 195–202.
- Blanchemain, N., Haulon, S., Boschini, F., Marcon-Bachari, E., Traisnel, M., Morcellet, M., Hildebrand, H.F., Martel, B., 2007a. Vascular prosthesis with controlled release of antibiotics. Part I: Surface modification with cyclodextrins of PET prostheses. *Biomol. Eng.* 24, 149–153.
- Blanchemain, N., Haulon, S., Boschini, F., Traisnel, M., Morcellet, M., Martel, B., Hildebrand, H.F., 2007b. Vascular prosthesis with controlled release of antibiotics. Part II: *In vitro* biological evaluation of vascular prostheses created with cyclodextrins. *Biomol. Eng.* 24, 143–148.
- Brewster, M.E., Loftsson, T., 2007. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. *Adv. Drug Del. Rev.* 59, 645–666.
- El Ghoul, Y., Blanchemain, N., Laurent, T., Campagne, C., El Achari, A., Roudesli, S., Morcellet, M., Martel, B., Hildebrand, H.F., 2008. Chemical, biological and microbiological evaluation of cyclodextrin finished polyamide inguinal meshes. *Acta Biomater.* 4, 1392–1400.
- Fundueanu, G., Constantin, M., Mihai, D., et al., 2003. Pullulan–cyclodextrin microspheres. A chromatographic approach for the evaluation of the drug–cyclodextrin interactions and the determination of the drug release profiles. *J. Chromatogr. B* 791, 407–419.
- Gawish, S.M., Ramadan, A.M., Mosleh, S., Morcellet, M., Martel, B., 2006. Synthesis and characterization of novel biocidal cyclodextrin inclusion complexes grafted onto polyamide-6 fabric by a redox method. *J. Appl. Polym. Sci.* 99, 2586–2593.
- Kimura, Y., Asano, M., Chen, J., Maekawa, Y., et al., 2008. Influence of grafting solvents on the properties of polymer electrolyte membranes prepared by γ -ray preirradiation method. *Radiat. Phys. Chem.* 77, 864–870.
- Kwang-Pill, L., Hae-Jeong, K., Duck-Lae, J., Seong-Ho, Ch., 2001. Adsorption behavior of Urokinase by the polypropylene film with amine, hydroxylamine and polyol groups. *Radiat. Phys. Chem.* 60, 473–482.
- Martel, B., Le Thuaut, P., Bertini, S., Crini, G., Bacquet, M., Torri, G., Morcellet, M., 2002. Grafting of cyclodextrins onto polypropylene nonwoven fabrics for the manufacture of reactive filters. III. Study of the sorption properties. *J. Appl. Polym. Sci.* 85, 1771–1778.
- Mehta, S.K., Bhasina, K.K., Shilpee-Dham, Singla, M.L., 2008. Micellar behavior of aqueous solutions of dodecyldimethylethylammonium bromide, dodecyltrimethylammonium chloride and tetradecyltrimethylammonium chloride in the presence of α -, β -, HP β - and γ -cyclodextrins. *J. Colloid Interface Sci.* 321, 442–451.
- Murugan, R., Ramakrishna, S., 2004. Coupling of therapeutic molecules onto surface modified coralline hydroxyapatite. *Biomaterials* 25, 3073–3080.
- Ruiz, J.C., Alvarez-Lorenzo, C., Taboada, P., Burillo, G., Bucio, E., De Prijck, K., Nelis, H.J., Coenye, T., Concheiro, A. Polypropylene grafted with smart polymers (PNIPAAm/PAAc) for loading and controlled release of vancomycin. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, in press, doi:10.1016/j.ejpb.2008.05.020.
- Schofield, W.C.E., McGettrick, J.D., Badyal, J.P.S., 2006. A substrate-independent approach for cyclodextrin functionalized surfaces. *J. Phys. Chem. B* 110, 17161–17166.

- Yang, X., Shi, J., Johnson, S., Swanson, B., 1997. Molecular host siloxane thin films for surface acoustic wave chemical sensors. *Sensors Actuators B—Chem.* 45, 79–84.
- Yoshiga, A., Otaguro, H., Lima, L.F.C.P., et al., 2007. Study of polypropylene/polybutene blends modified by gamma irradiation and (high melt strength polypropylene)/polybutene blends. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B* 265, 130–134.
- Zhang, Y.H., Huang, Y.D., Liu, L., Cai, K.L., 2008. Effects of γ -ray radiation grafting on aramid fibers and its composites. *Appl. Surf. Sci.* 254, 3153–3161.
- Zhao, X.B., He, B.L., 1994. Synthesis and characterization of polymer-immobilized β -cyclodextrin with an inclusion recognition functionality. *React. Polym.* 24, 9–16.



Cyclodextrin-functionalized polyethylene and polypropylene as biocompatible materials for diclofenac delivery

Cesar A.B. Nava-Ortíz^a, Carmen Alvarez-Lorenzo^b, Emilio Bucio^a, Angel Concheiro^b,
Guillermina Burillo^{a,*}

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

^b Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 11 May 2009

Received in revised form 20 August 2009

Accepted 24 August 2009

Available online 28 August 2009

Keywords:

Medical device

Cyclodextrin

Inclusion complex

Friction coefficient

Controlled drug release

Gamma irradiation grafting

ABSTRACT

Polyethylene (PE) and polypropylene (PP) were surface functionalized with β -cyclodextrin (β -CD) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) with the aim of providing PE and PP with the capability of behaving as drug delivery systems. Functionalization was carried out according to a two-step procedure: (i) glycidyl methacrylate (GMA) was grafted by means of gamma radiation and (ii) the epoxy groups of GMA reacted with the hydroxyl groups of CDs forming ether bonds. For a fix radiation dose and GMA concentration, grafting yield (ranging from 1 to 100 $\mu\text{mol GMA cm}^{-2}$) depended on the time during which the preirradiated PE and PP films and slabs were immersed in the GMA solution. CD grafting (from 0.013 to 0.734 $\mu\text{mol cm}^{-2}$) was confirmed by infrared analysis, DSC and the organic compound approach (using 3-methylbenzoic acid as a probe). Functionalization with CDs rendered as highly cytocompatible materials as the starting ones, did not cause relevant changes in the water contact angle and the friction coefficient of PE and PP, but remarkably improved their capability to uptake diclofenac through formation of inclusion complexes with the CDs. Furthermore, the functionalized materials released the drug for 1 h, which could be useful for management of initial pain, inflammation at the insertion site as well as adhesion of certain microorganisms if these materials are used as medicated medical devices.

© 2009 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The use of medical devices or prosthesis usually leads to injury, inflammation and wound healing response caused by the implantation event and by the foreign body nature of the material (Anderson, 2001). Friction with the biological tissues during insertion, physiological stress and removal causes damage that prompts the cellular cascade of wound healing, which in turn leads to inflammation, granulation tissue formation and fibrosis or fibrous capsule development. The dimensions of the medical device, its surface properties and the release of leachable substances determine the intensity and time duration of the (acute and/or chronic) inflammatory and wound healing processes (Anderson et al., 2008). Furthermore, the adhesion of macrophages and foreign body giant cells to the medical device reduces the bactericidal capability of these cells and induces their apoptosis, which contributes to the persistence of infections associated to the use of medical devices (Brodbeck et al., 2002). Local inflammation of the tissues results in redness, swelling and pain on pressure at the insertion site and discomfort of the

patient (Neuburger et al., 2007). Despite inflammation has received less attention than infection, the deleterious effects of adherent inflammatory cells on the medical devices entails the risk of bio-material degradation and clinical failure (Anderson et al., 2008). Polyethylene (PE) and polypropylene (PP) undergo surface oxidation by reactive oxygen intermediates released by macrophages and foreign body giant cells when used in artificial joints or as suture material (Anderson et al., 2008). Histology analysis of epidural space tissues during chronic catheterization with PE tubes usually evidences inflammatory responses at the catheter insertion place and, in some cases, the catheter tip is occluded by granulation tissues (Nishiyama and Hanaoka, 1999). The catheter obstruction results in a decrease in the flow of substances with a detriment of the catheter performance.

The design of anti-inflammatory and immunosuppressive drug-eluting devices appears as a feasible way of preventing the initial host immune-inflammatory response (Schneider et al., 2003). Stents coated with anti-inflammatory drugs stay open longer and the treated blood vessels are less likely to restenose (Muller et al., 2002; Pendyala et al., 2009). Similarly for catheters, the anti-inflammatory agent can be provided as a coating, bonded onto the outside or integrally compounded in the matrix of the device (Snorradottir et al., 2009). Catheters with antimicrobial or

* Corresponding author. Tel.: +52 5556224674; fax: +52 5556162233.
E-mail address: burillo@nucleares.unam.mx (G. Burillo).

antithrombotic coatings have already been clinically tested with satisfactory results (Dwyer, 2008). Those catheters are mainly impregnated with the drug compounds or covered with drug molecules chemically attached to the device surface.

Custom-made design of drug-releasing devices should try to optimize the affinity of the surface towards the drug without prejudice of the bulk properties and performance of the medical device. The aim of this work was to functionalize with cyclodextrins (CDs) the surface of PE and PP, which are common components of biomedical devices (e.g. catheters, meshes, artificial joints or sutures) with a wide range of applications (Cosson et al., 2003). In such a way, any drug capable of forming inclusion complexes with CDs is a potential candidate to be loaded at the surface of the medical device (Loftsson and Duchene, 2007; Temtem et al., 2009). The drug-CD affinity constant may determine the amount loaded as well as the delivery rate when entering into contact with the physiological medium, as observed for hydrogels made with CDs (Siemoneit et al., 2006; Salmaso et al., 2007; Santos et al., 2009). This approach resembles, to some extent, recent attempts to modify natural fibers and synthetic fabrics with CDs in order to load them with odorizants or antifungal agents or to be used as reactive filters (Martel et al., 2002; Hirotsu, 2006). In the present work, CDs were grafted to the surface of PE and PP substrates through a two-step reaction that involves first the radiation grafting of glycidyl methacrylate (GMA) and then the covalent bonding of the CDs. Since information available about this functionalization process is quite limited (Schofield et al., 2006; Nava-Ortiz et al., 2009), the effect of the reaction variables on the yield of grafting of GMA by gamma radiation and on the anchorage of two CDs, β -cyclodextrin (β -CD) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD), was evaluated in detail using PE and PP sheets of different thickness. The incidence of having pendant CDs on the wettability, the thermal stability and the friction coefficient of the novel materials, as well as on the biocompatibility and the performance as carriers of diclofenac was evaluated in detail. Diclofenac is a widely used non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) that can form inclusion complexes with CDs (Dias et al., 2003; Mehta et al., 2008). Thus, a high local proportion of CDs can create a favorable microenvironment for the uptake of the drug and for sustaining its release. Diclofenac has been shown to reduce the number of macrophages and neutrophils found at the implant site (Hunt and Williams, 1992) and to prevent bacterial adsorption on polymer surfaces (Bandare et al., 2004). The information obtained should serve to gain insight into the potential of CD-functionalized materials as components of medical devices.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Low density PE (LDPE, 100 μ m thickness) and PP (50 μ m thickness) films were from PEMEX (Mexico), and high density PE (HDPE) and PP slabs (1 mm thickness) were from Goodfellow (UK). Glycidyl methacrylate (GMA) and 3-methylbenzoic acid (3-MBA) were from Aldrich Chemical Co. USA, and used without further purification. β -Cyclodextrin (β -CD) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD; M.S. 5.6) were supplied by Roquette Laisa España (Barcelona). Diclofenac sodium was from Vorquímica, S.L. (Spain). Ultrapure water (resistivity > 18.2 M Ω cm) was obtained by reverse osmosis (Milli-Q[®], Millipore, Spain). Analytical grade solvents such as methanol, acetone, and dimethylformamide (DMF) were used as received.

2.2. Graft polymerization reaction

GMA was polymerized onto PE and PP films (1.2 cm \times 4 cm) and slabs (1 cm \times 4 cm) by applying an oxidative preirradiation graft-

ing technique. PE and PP were washed with methanol, dried under vacuum at 40 °C for 5 h, and exposed to a ⁶⁰Co gamma source (Gamma-Beam 651-PT, Nordion Co., Canada) with activity of 63,000 Ci, at a dose rate of 11.3 kGy h⁻¹, at room temperature in the presence of air. The preirradiated films and slabs were placed in glass ampoules which contained 8 ml of 20% GMA in methanol/water (8:2, v/v). The ampoules were degassed by repeated freeze-thaw cycles and vacuum sealed. Then they were heated in a water bath at 60 °C from 0.5 to 14 h. Grafted films and slabs were extracted in methanol for 24 h under stirring in order to remove unreacted monomers and the homopolymer. They were then dried under vacuum at 40 °C. The grafting yield was calculated as follows:

$$Y_g(\text{mg cm}^{-2}) = \left[\frac{W_g - W_0}{\text{area}} \right] \quad (1)$$

W_0 and W_g being the weight of the film or slab before and after grafting, respectively. Grafting determination was carried out in triplicate with typical error ranging from 3% to 7%.

2.3. Immobilization of β -CD and HP- β -CD

Grafted copolymer films and slabs were swollen in 10 ml of DMF for 2 h and then immersed in a mixture of DMF (2 ml) and 0.5 M NaCl aqueous solution (8 ml) that contained β -CD or HP- β -CD. The amount of CD in the medium was equimolar to the GMA content of each piece of film or slab. The systems were kept under stirring at 70 °C for 24 h. The films and the slabs were successively washed with hot water, acetone, methanol and water, and dried under vacuum at 40 °C. Total content in grafted β -CD or HP- β -CD (micromoles per gram) was calculated as follows:

$$Y_{\text{CD}} = \frac{W_{\text{CD}} - W_g}{W_{\text{CD}} \times \text{MW}_{\text{CD}}} \times 10^6 \quad (2)$$

where W_g and W_{CD} represent, respectively, the weight of the GMA-grafted film or slab before and after attachment of CDs, and MW_{CD} corresponds to the molecular weight of the CD used.

2.4. Content in functional CDs

The number of CD cavities available for complexation was quantified using the typical organic compound (TOC) approach (Fundueanu et al., 2003). Dried films or slabs were immersed in 10 ml of 3-methylbenzoic acid (3-MBA) aqueous solution (0.2 mg ml⁻¹) and kept for 48 h in the dark. The concentration of 3-MBA was spectrophotometrically determined (Agilent 8453, Germany) at 281 nm. The total amount of 3-MBA taken up by the films or the slabs was calculated as the difference between the initial and the final amounts in the solution. The experiments were carried out in triplicate.

2.5. Infrared analysis

FTIR spectra of non-modified films, GMA-grafted films and CD-functionalized films were recorded in ATR mode over the range 500–4000 cm⁻¹, in a MB102 spectrometer (ABB Bomem Inc., Quebec, Canada).

2.6. Thermal analysis

DSC runs of 5–10 mg dried samples were carried out from 30 to 250 °C at 10 °C min⁻¹ using a DSC Q100 (TA Instruments, New Castle, DE, USA) fitted with a refrigerated cooling accessory. Nitrogen was used as the purge gas at a flow rate of 50 ml min⁻¹. The calorimeter was calibrated for baseline using no pans, for cell constant and temperature using indium (melting point 156.61 °C,

enthalpy of fusion 28.71 J g^{-1}), and for heat capacity using sapphire standards. The degree of crystallinity was calculated using the following equation:

$$X_c = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_m^+} \quad (3)$$

where ΔH_m is the specific enthalpy of melting, and ΔH_m^+ is the specific melting enthalpy for 100% crystalline PE or PP (288 and 209 J g^{-1} , respectively) (Krupa and Luyt, 2001; Adem et al., 2005).

2.7. Scanning electron microscopy

PE and PP films, before and after grafting of GMA and anchorage of β -CD and HP- β -CD, were swollen in water for 48 h at room temperature, frozen by immersion in liquid nitrogen, fractured to an adequate size, freeze-dried for 24 h and covered with Au. The micrographs of the surface were obtained using a SEM at 20 kV (LEO-435VP Microsystems, Cambridge, UK).

2.8. Contact angle

Drop shape analysis system (Krüss DSA 100, Germany) was used to measure water/slab contact angle at room temperature (25°C). All the slabs were dried under vacuum at 40°C for 1 day before measurements. Water drops were deposited onto the PE, PP and CD-functionalized slabs surface, and the measurement of the contact angles was directly carried out, in triplicate, using a microscope.

2.9. Friction coefficient

The friction coefficient of slabs was measured, in duplicate, at 25°C using a Rheolyst AR1000N rheometer (TA Instruments, Crawley, UK) equipped with an AR2500 data analyzer and a Peltier plate. The slabs were cut as disks (10 mm diameter) and glued (Loctite® Super Glue-3, Henkel, Barcelona, Spain) to a 4 cm steel plate geometry. 1 ml of water was put on the surface of the Peltier plate and the geometry was moved towards the plate to an initial gap of 1.3 mm. The experiment consisted of a conditioning step applying $5 \pm 0.01 \text{ N}$ normal force (W) for 15 min and a peak hold step with an angular velocity of 0.05 rad s^{-1} for other 15 min (Gong et al., 1999). Since the velocity changes with the distance from the center of the axis, the obtained torque, T , is a total value over the velocity range from 0 to ωR , where R is the radius of the disk. Thus, the total friction, F , and the coefficient of friction, μ , were determined as follows (Gong et al., 1999):

$$F = \frac{4T}{3R} \quad (4)$$

$$\mu = \frac{F}{W} \quad (5)$$

2.10. Cytocompatibility

Pieces of $1.2 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$ of surface-modified and non-modified PP and PE films were immersed in phosphate buffer pH 7.4 and autoclaved. Then, the pieces were added to wells (24 wells plates) containing Balb/3T3 clone A31 cells (200,000 cells per well, 2 ml in Dulbecco's modified eagle medium DMEM F12 HAM, Sigma-Aldrich, USA) and kept in humidified incubator at 5% CO_2 and 37°C . After 24 h, aliquots ($100 \mu\text{l}$) of medium were taken and mixed with $100 \mu\text{l}$ of the reaction medium contained in the Cytotoxicity Detection Kit^{PLUS} (LDH, Roche). Blank ($100 \mu\text{l}$ of medium), negative ($50 \mu\text{l}$ of cells and $50 \mu\text{l}$ of medium) and positive ($50 \mu\text{l}$ of cells and $50 \mu\text{l}$ of medium with $5 \mu\text{l}$ of lysis factor) controls were

also prepared. The plates were incubated 10 min at $15\text{--}25^\circ\text{C}$ protected from light. $50 \mu\text{l}$ of stop solution were added to each well and the absorbance at 490 nm immediately measured using an ELISA reader.

The cytotoxicity was estimated as follows:

$$\text{Cytotoxicity (\%)} = \frac{\text{Abs}_{\text{exp}} - \text{Abs}_{\text{negative control}}}{\text{Abs}_{\text{positive control}} - \text{Abs}_{\text{negative control}}} \times 100 \quad (6)$$

2.11. Drug loading and release

Dried pieces of films (10–20 mg; $1 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$) were placed in 5 ml of diclofenac sodium solution (0.5 mg ml^{-1} in water) and kept at 20°C protected from light for 48 h. The amount of diclofenac sodium loaded by the films was calculated as the difference between the initial and final concentrations in the surrounding solution, from absorbance measurements at 276 nm (Agilent Technologies 8453, Germany). Then, the films were dried in an oven at 40°C . Drug-loaded films (10–20 mg) were transferred to test tubes containing 1 ml of phosphate buffer pH 7.4. The experiments were carried out without stirring under sink conditions. The volume of the medium was enough to cover the films and to make the changes in UV-vis absorbance quantifiable. Samples of the release medium were withdrawn at regular intervals (after being gently hand-shaken to ensure a homogeneous concentration in the medium) and returned to the vial immediately after measurement of absorbance at 276 nm. After 48 h in the release medium, the films were washed in water under stirring for 3 h at room temperature. Finally, the films were dried at 40°C and then reloaded by immersion in diclofenac sodium solution (1 mg ml^{-1}). The release experiments were carried out as described above. All experiments were made in triplicate.

3. Results and discussion

3.1. Grafting of GMA and functionalization with CDs

PE and PP surfaces were functionalized with CDs applying a two-step procedure: (i) GMA was grafted onto the surface by means of gamma radiation and (ii) the epoxy groups of GMA reacted with the hydroxyl groups of CDs forming ether bonds (Fig. 1). Different from the method proposed by Schofield et al. (2006) which involves the use of pulsed plasma polymerization, we used gamma radiation for the grafting polymerization of GMA.

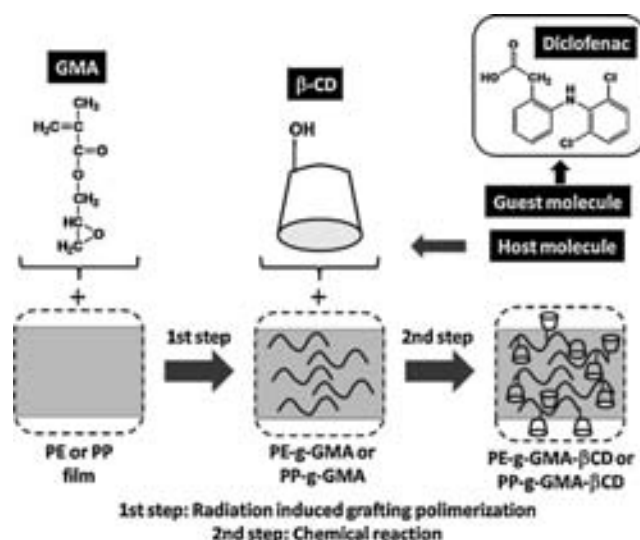


Fig. 1. Steps followed to functionalize PE and PP surfaces with cyclodextrins.

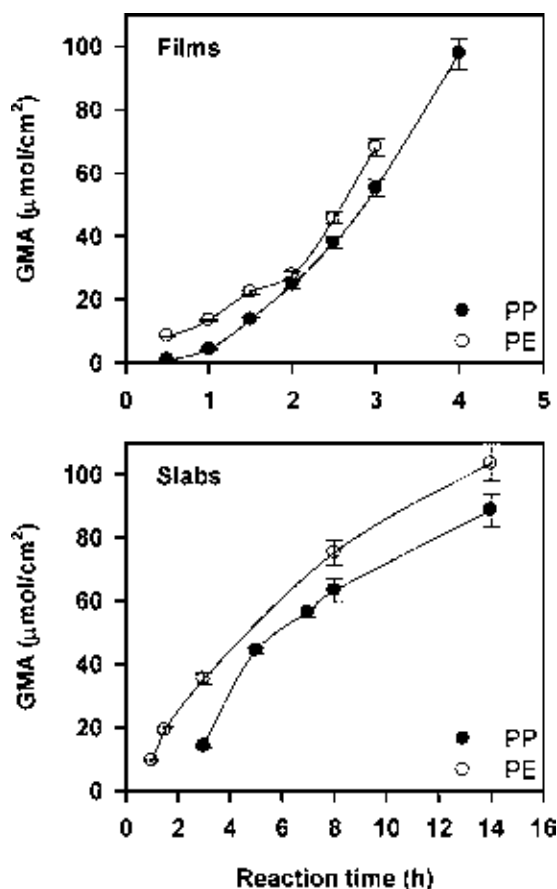


Fig. 2. Yield of GMA grafting onto PE and PP films and slabs as function of reaction time at 60 °C.

When PE and PP are exposed to ionizing radiation in air, trapped peroxy radicals are formed. The greater the radiation dose, the higher the likelihood of creating radicals capable of serving as reactive sites in the polymer structure. In a previous paper, the effects of radiation dose and GMA concentration on the amount of GMA grafted to PE were studied (Nava-Ortiz et al., 2009). For a fix dose rate of 11.3 kGy h⁻¹, radiation doses between 50 and 200 kGy were adequate for the grafting of GMA. Furthermore, 20% GMA was shown as the concentration that enables the highest yield of grafting with the lowest loss by homopolymerization. Therefore, 100 kGy and 20% GMA were chosen to carry out the present work. There was no cross-linking of PP or PE, nor of GMA chains, at this radiation dose.

The time during which the preirradiated PE and PP films and slabs were immersed in the GMA solution remarkably determined the grafting yield (Fig. 2). The degree of grafting was higher for PE than for PP, owing to the higher crystallinity of PP which makes the copolymerization reaction more difficult. In the case of the films, the grafting yield of GMA increased up to 4 h. Nevertheless, for the slabs the grafting increased up to 14 h and then leveled. Taking into account the amount of monomers in the reaction ampoule, the maximum amount of GMA that could be grafted would be 1170 μmol cm⁻². Thus, the highest values plotted in Fig. 2 indicate that the grafting efficiency was around 10%. This finding is due to the fact that active species created during oxidative preirradiation were gradually consumed until they became exhausted. Moreover, grafting onto the slab was controlled by the diffusion of GMA solution through the layers of the grafted GMA, and thus the slabs required more time than the films to reach a similar yield of grafting. Due to different polarity and poor miscibility between the

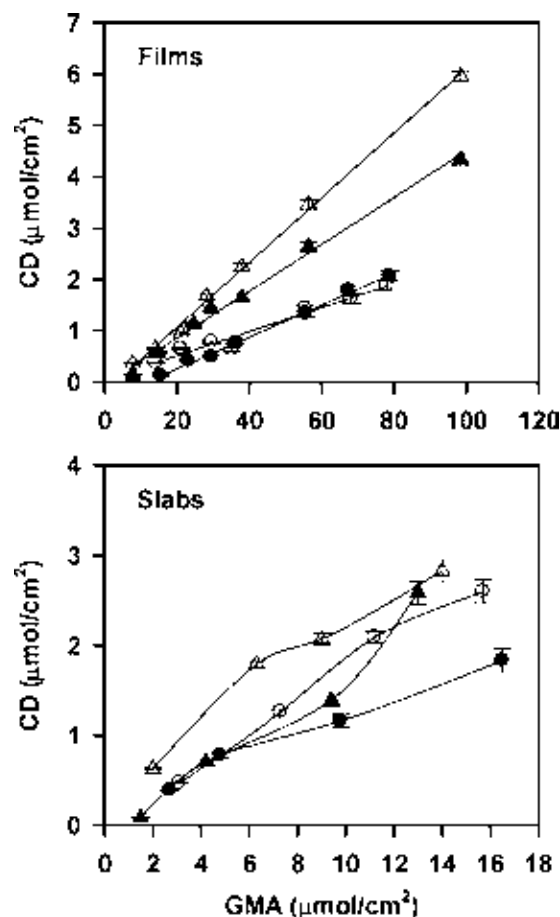


Fig. 3. Amount of β-CD (open symbols) or HP-β-CD (full symbols) immobilized onto PE-g-GMA (circles) and PP-g-GMA (triangles) films and slabs.

monomer solution and PP or PE; the grafting reaction mainly takes place in surface.

Films and slabs of PE and PP with a yield of grafting ranging from 1 to 100 μmol cm⁻² were prepared with the purpose of achieving various degrees of CD functionalization (Fig. 3). As expected, the greater the content in epoxy groups, the greater the amount of CD immobilized. For both grafted polymers (PE-g-GMA and PP-g-GMA), the immobilization yield of β-CD was higher than that of HP-β-CD which is explained by the greater molecular size of this derivative. A HP-β-CD molecule covers a greater surface than a β-CD one and, therefore, less HP-β-CD molecules were attached per unit of surface. DMF improved the wettability of the hydrophobic grafted polymers and, thereby, enhanced the reaction yield. After the reaction, the films and slabs were extensively washed for the complete removal of DMF. This is an important issue since the CD cavities have to be empty to fully develop their complexation capability and, on the other hand, the leakage of DMF during clinical use could cause cytotoxicity problems.

The ATR infrared spectrum of PE film (Fig. 4) exhibited signals at 2916 and 2848 cm⁻¹ due to symmetrical bending vibration of CH₂ groups (Adem et al., 1998). Characteristic absorption bands of PP at 1375 and 1452 cm⁻¹ corresponded to symmetrical and asymmetrical bending vibration of CH₃ groups, respectively (Ramírez-Fuentes et al., 2007). The spectra of PE-g-GMA and PP-g-GMA, compared with that of PE and PP, showed additional absorbance bands due to the ester carbonyl group (1725 and 1180 cm⁻¹) and to the epoxy group (1256, 900 and 845 cm⁻¹). Moreover, the absence of the characteristic absorption bands of unsaturated C=C group of the GMA monomer (3140, 1640 and 940, 815 cm⁻¹), clearly proved that graft polymerization occurred (Kunita et al., 2005; Ao et al., 2007). Func-

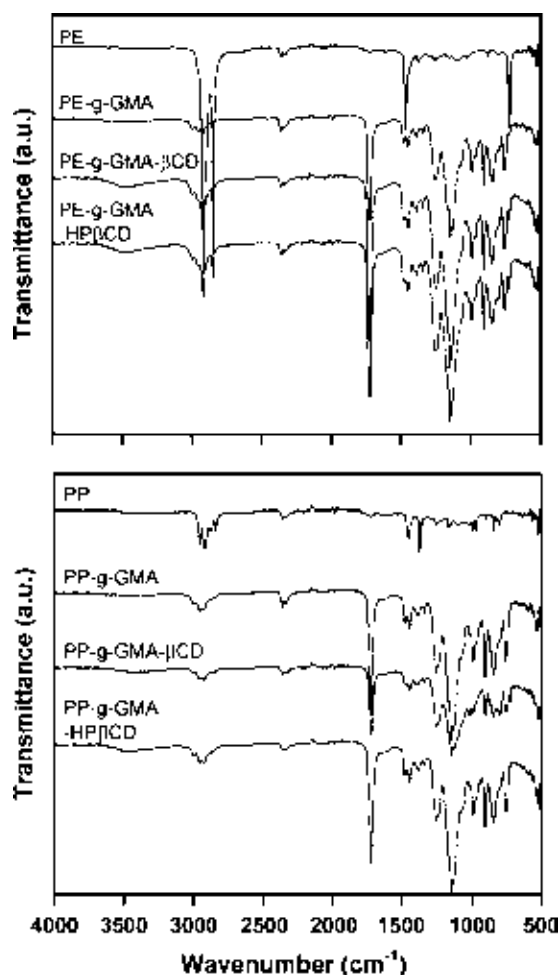


Fig. 4. FTIR-ATR spectra of PE-, PP-, GMA-grafted and CD-functionalized films.

tionalization of PE-g-GMA and PP-g-GMA with β -CD and HP- β -CD was confirmed by the appearance of a broad strong absorption band at 3457 cm^{-1} due to vibrational stretching of the $-\text{OH}$ groups. The decrease of the epoxy signals and the appearance of broad bands in the 1100 and 1200 cm^{-1} region (because the stretching of C–O ether bonds) indicated that the CDs were indeed bonded to PE and PP through ether bonds that resulted from the chemical reaction of the GMA epoxy groups with some hydroxyl groups of the CDs.

Melting temperature (T_m) and enthalpy (ΔH_m) of unmodified, GMA-grafted and CD-functionalized PE and PP are summarized in Table 1. Since structural changes caused by grafting are more relevant at the surface level and at a short length under the surface, thin films (with a high surface-to-mass ratio) were chosen to evidence the effect of such changes. The melting temperatures of pure PE and

PP films were 108.8 and 164.7°C , respectively, which is in agreement with the values reported in literature (Pracella and Chionna, 2003; Ishihara et al., 2004). GMA-grafted and β -CD-functionalized films exhibited slightly lower T_m but markedly smaller crystallinity degree (X_C) than the parent polymers. This means that GMA grafting caused some amorphization of PE and PP.

After grafting of GMA and functionalization with CDs, the thickness of the films and slabs increased in a range from 100 to $200\text{ }\mu\text{m}$ and from 1 to 1.3 mm , respectively. As the film is very thin, the contribution of the grafting to the final thickness is greater than in the case of the slabs. SEM micrographs of the surface of pure PE and PP, grafted polymers (PE-g-GMA and PP-g-GMA) and β -CD- and HP- β -CD-functionalized polymers are shown in Fig. 5. The surface of PE and PP was smooth with no observable discontinuities. At $\sim 30\text{ }\mu\text{mol cm}^{-2}$ graft, the surface showed some discontinuities for both grafted polymers, which may reflect the preferential grafting of GMA onto the amorphous regions of the polymers. Similarly, CD-functionalized films exhibited a discontinuous surface.

3.2. Wettability and friction coefficient

Both the wettability and friction coefficient determine the easiness of insertion and removal of medical devices. This information was only obtained with the thicker samples (slabs) due to methodological constraints that prevent an accurate test of the thin films. Contact angle measurements of water droplets on PE and PP slabs were carried out before and after functionalization with CDs. Water was carefully dropped onto slabs and contact angles were quickly measured before the beginning of the swelling. The water contact angles of grafted PP and PE slabs ranged from 91° to 112° and from 112° to 120° , respectively (Table 2). These values are slightly greater than those of the unmodified PP (104°) and PE (108°), meaning that the grafting of GMA and the functionalization with CDs slightly decreased the surface hydrophilicity.

The friction coefficients of the slabs were estimated using rheometry, which is an advantageous approach compared to tribometry mainly because of the greater sensitivity and the more precise control of the temperature of the sample and of the liquid trapped between the geometry and the solid surface (Peltier plate) (Gong et al., 1999; Yañez et al., 2008). The values of friction coefficient, μ , against the Peltier plate (surface of chrome-plated copper) ranged between 0.23 and 0.72 (Table 2). The greater values corresponded to the slabs with a higher degree of functionalization. This finding may correlate with the increase in surface roughness as the grafting progresses, as observed in SEM images. Nevertheless, all μ values are in range of those recorded for commercially available catheters (Katarzyna et al., 2008) and are similar to those found for soft contact lenses (Yañez et al., 2008) and synthetic articular cartilage (Freeman et al., 2000). These results indicate that CD functionalization did not cause detriments of practical relevance on the wettability and sliding of PE and PP.

Table 1

Melting temperature, melting enthalpy and degree of crystallinity (%) of PE ($100\text{ }\mu\text{m}$) and PP ($50\text{ }\mu\text{m}$) films before and after undergoing gamma irradiation for the grafting of GMA and functionalization with β -CD ($n=2$; error below 1%).

Film	GMA ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	β -CD ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	T_m ($^\circ\text{C}$)	ΔH_m (J g^{-1})	X_C (%)
PE alone	–	–	108.8	97.2	33.8
PE-g-GMA	31	–	108.4	69.5	24.1
PE-g-GMA- β -CD	31	0.096	107.8	57.9	20.1
PE-g-GMA	56	–	108.6	63.8	22.1
PE-g-GMA- β -CD	56	0.100	107.9	52	18.1
PP alone	–	–	164.7	113	54
PP-g-GMA	29	–	160.4	96.4	46.1
PP-g-GMA- β -CD	29	0.197	161.3	78.5	37.5
PP-g-GMA	56	–	161.0	82.5	39.5
PP-g-GMA- β -CD	56	0.312	162.3	67.7	32.4

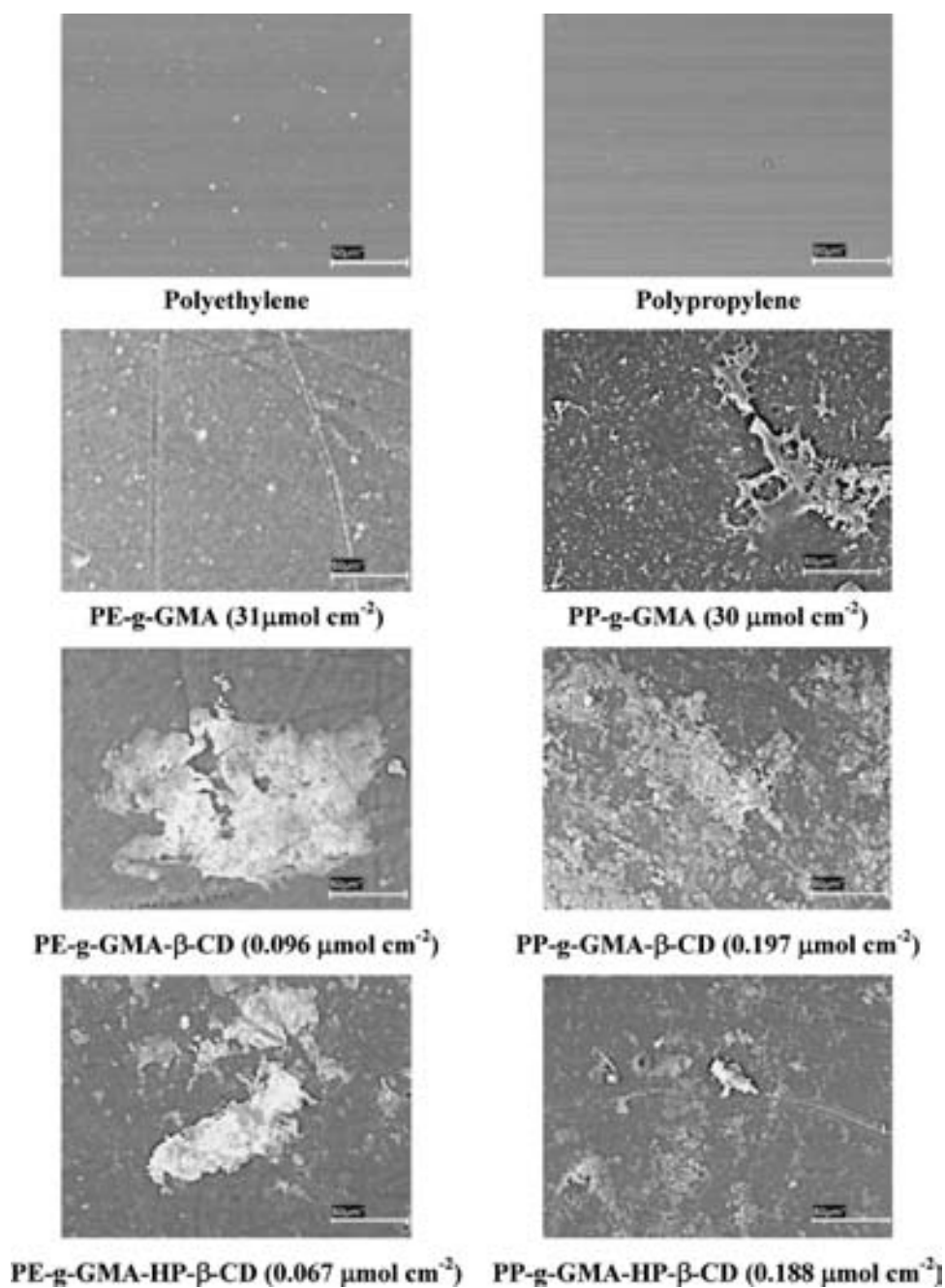


Fig. 5. SEM images from free surface of PE-, PP-, GMA-grafted and CD-functionalized films.

Table 2
Contact angle and friction coefficient of PE and PP slabs before and after undergoing gamma irradiation for the grafting of GMA and functionalization with cyclodextrins ($n=3$; error below 1%).

Slab	GMA ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	CD ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	Contact angle ($^{\circ}$)	Friction coefficient
PP	–	–	104	0.33
PP-g-GMA- β -CD	42	1.17	91	0.41
	98	2.85	109	0.57
PP-g-GMA-HP- β -CD	28	0.80	112	0.57
	91	2.60	95	0.64
PE	–	–	108	0.23
PE-g-GMA- β -CD	21	0.47	120	0.32
	112	2.70	112	0.57
PE-g-GMA-HP- β -CD	35	0.78	116	0.34
	112	1.83	115	0.72

Table 3Amount of GMA and cyclodextrin grafted onto PP films (50 μm thickness) and capability of uptake 3-methylbenzoic acid (3-MBA) ($n = 3$; error below 5%).

PP-g-GMA- β -CD				PP-g-GMA-HP- β -CD			
GMA ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	β -CD ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	3-MBA ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	CD/3-MBA mole ratio	GMA ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	HP- β -CD ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	3-MBA ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	CD/3-MBA mole ratio
7.7	0.045	0.062	0.714	7.7	0.014	0.153	0.094
14.1	0.080	0.057	1.407	14.8	0.058	0.180	0.319
21.1	0.119	0.104	1.137	24.6	0.114	0.241	0.472
28.1	0.206	0.130	1.593	29.5	0.144	0.237	0.607
38.0	0.276	0.214	1.292	38.0	0.165	0.211	0.783
56.3	0.426	0.211	2.020	56.3	0.264	0.246	1.072
98.5	0.734	0.247	2.970	98.5	0.433	0.298	1.457

Table 4Amount of GMA and cyclodextrin grafted onto PE films (100 μm thickness) and capability of uptake 3-methylbenzoic acid (3-MBA) ($n = 3$; error below 5%).

PE-g-GMA- β -CD				PE-g-GMA-HP- β -CD			
GMA ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	β -CD ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	3-MBA ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	CD/3-MBA mole ratio	GMA ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	HP- β -CD ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	3-MBA ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	CD/3-MBA mole ratio
14.1	0.047	0.081	0.581	15.5	0.013	0.083	0.152
21.1	0.081	0.125	0.646	23.2	0.041	0.080	0.511
29.5	0.097	0.111	0.875	29.5	0.049	0.062	0.792
35.2	0.079	0.094	0.840	36.6	0.077	0.072	1.065
55.6	0.176	0.097	1.822	55.6	0.133	0.055	2.425
68.2	0.201	0.101	1.992	67.5	0.179	0.056	3.195
78.1	0.233	0.098	2.386	78.8	0.207	0.079	2.633

3.3. Cytocompatibility

Although β -CD and HP- β -CD are approved as pharmaceutical excipients and are not expected to induce adverse reactions (Irie and Uekama, 1997) and hydrogels with epoxy groups (such as those of GMA) have a low toxicity (Lee et al., 1991), the cytocompatibility of the novel materials was tested to ensure that the steps followed for the functionalization did not render toxic products. The cytocompatibility studies were carried out following the direct contact test of the ISO 10993-5:1999 standard, which enabled an evaluation of the toxicity of both the modified PE and PP materials themselves and of the substances that could have been leached to the culture medium. Before the test, the films were immersed in phosphate buffer pH 7.4 and autoclaved. The films withstood this thermal treatment without breaking or undergoing changes in their texture. Both starting films and CD-functionalized films were found to be highly cytocompatible, with cell viability above 95%.

3.4. Content in functional CDs

The data shown in Tables 1 and 2 and Fig. 3 regarding the content in CD refer to the total amount of CDs on the surface of the films and slabs, estimated as increases in weight. From the point of view of the performance of the modified PE and PP materials as drug delivery systems, a key parameter is the content in CDs which can certainly host guest molecules. For this purpose, 3-MBA was used as a probe with a high affinity for β -CD and HP- β -CD (Fundueanu et al., 2003; Santos et al., 2008). The amount of 3-MBA sorbed, correlated with the content in β -CD and HP- β -CD (Tables 3 and 4), although the increase in 3-MBA uptake was smaller for the films with higher CD grafting. The results obtained indicate that there is some adsorption of 3-MBA onto the unmodified surface of PE and PP, which is particularly evident at low degrees of grafting. Therefore, as the functionalization with CD increases, 3-MBA can also form inclusion complexes with the CD units, but steric hindrance among CDs too close may also occur. Consequently, not all CDs are capable of hosting 3-MBA. In general, the amounts up-taken were higher for the CD-functionalized PP films, compared to the PE films. This suggests a better arrangement of the CDs onto PP for forming inclusion complexes.

3.5. Diclofenac loading and release

Unmodified PE and PP surfaces were not capable of loading diclofenac and thus functionalization with CDs was needed to promote drug uptake. When the CD-functionalized films were

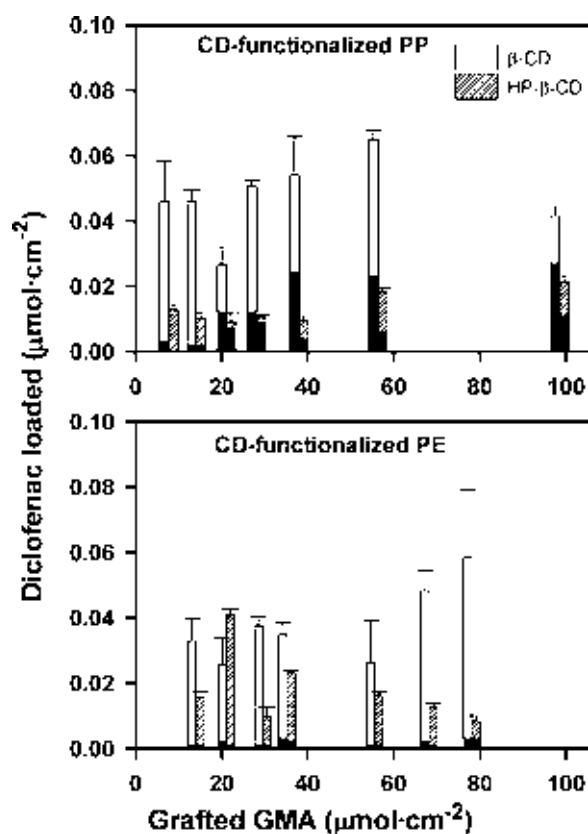


Fig. 6. Diclofenac loaded by CD-functionalized PP and PE films as a function of the amount of GMA initially grafted. Loading solutions were 0.5 mg ml^{-1} (black fills) and 1.0 mg ml^{-1} (white fills). Functionalization was carried out with β -CD (no pattern) and HP- β -CD (striped pattern).

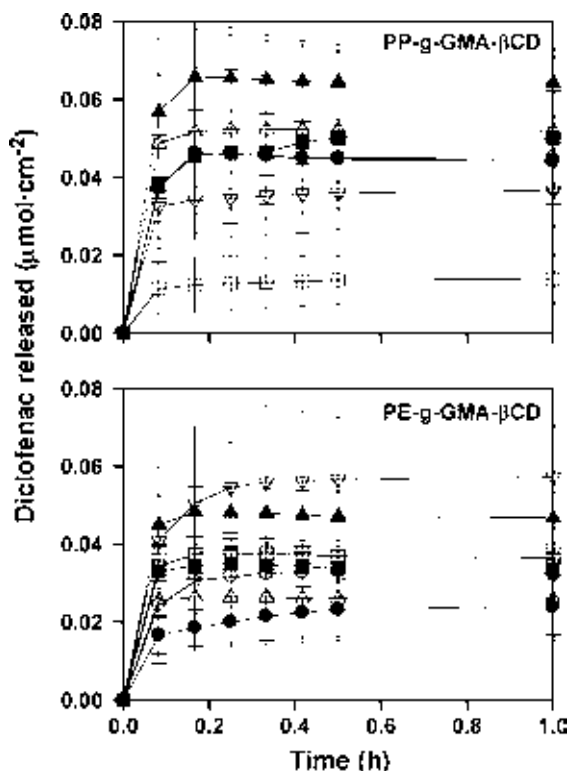


Fig. 7. Diclofenac release profiles from β -CD-functionalized PP and PE films. Legend: PP-g-GMA- β -CD: 7.4 (\circ), 14.1 (\bullet), 21.1 (\square), 28.1 (\blacksquare), 38.0 (\triangle), 56.3 (\blacktriangle), 98.5 (∇) $\mu\text{mol cm}^{-2}$ of GMA grafted, and PE-g-GMA- β -CD: 14.1 (\circ), 21.1 (\bullet), 29.5 (\square), 35.2 (\blacksquare), 55.6 (\triangle), 68.2 (\blacktriangle), 78.1 (∇) $\mu\text{mol cm}^{-2}$ of GMA grafted.

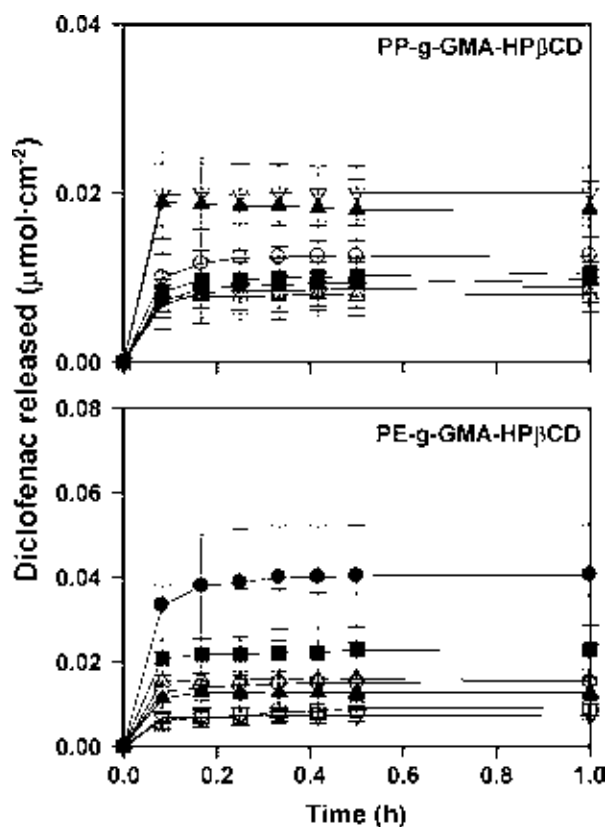


Fig. 8. Diclofenac release profiles from HP- β -CD-functionalized PP and PE films. Legend: PP-g-GMA-HP- β -CD: 8 (\circ), 14.8 (\bullet), 24.6 (\square), 29.5 (\blacksquare), 38.0 (\triangle), 56.3 (\blacktriangle), 98.5 (∇) $\mu\text{mol cm}^{-2}$ of GMA grafted, and PE-g-GMA-HP- β -CD: 15.5 (\circ), 23.2 (\bullet), 29.5 (\square), 36.6 (\blacksquare), 55.6 (\triangle), 67.5 (\blacktriangle), 78.8 (∇) $\mu\text{mol cm}^{-2}$ of GMA grafted.

immersed in 0.5 mg ml^{-1} diclofenac aqueous solutions, the drug sorption was quite poor (Fig. 6), but an increase in the amount of diclofenac loaded as a function of the degree of functionalization was observed. Comparing the lowest functionalized films with the most functionalized ones, the increase in diclofenac loaded was 10-fold for PP functionalized with β -CD, 20-fold for PP functionalized with HP- β -CD, 5-fold for PE functionalized with β -CD and 4-fold for PE functionalized with HP- β -CD. These drug-loaded films released the whole dose within 1 h when immersed in buffer phosphate pH 7.4. With the aim of increasing the amount of diclofenac loaded, in a second set of experiments the films were immersed in 1.0 mg ml^{-1} drug solutions. As can be seen in Fig. 6, the higher the drug concentration in the loading solution, the greater the amount loaded. In fact, a remarkable increase (several orders of magnitude in some cases) was observed. This finding was not unexpected since loading prompted by complex formation with CDs depends on the concentration of free drug in solution. The higher the number of drug molecules available, the greater the shift of the equilibrium towards complex formation (Uekama et al., 1994; Stella et al., 1999). It is interesting to note that, as in the case of 3-MBA, a low degree of functionalization is sufficient to enhance the capability of PE and PP films to uptake diclofenac. Steric hindrance may be the reason the films functionalized with greater amounts of CDs could not load more diclofenac. In general, films functionalized with β -CD loaded more diclofenac than those with HP- β -CD, which confirms that the yield of β -CD grafting was greater and reveals a more favorable interaction of diclofenac with β -CD. Furthermore, the drug-loaded films sustained the delivery for 1 h (Figs. 7 and 8).

4. Conclusion

Gamma irradiation grafting of GMA onto PE and PP enabled the surface functionalization of these polymers with CDs rendering novel materials with potential as components of medicated medical devices. The functionalized materials maintain their bulk properties as well as their wettability and friction coefficient, but also exhibit the capability of CDs to form inclusion complexes. Therefore, any drug able to be hosted by the CD cavities, such as diclofenac, may be loaded by the CD-functionalized PE and PP.

Acknowledgements

MICINN (SAF2008-01679), FEDER, Xunta de Galicia (PGIDIT07CSA002203PR Spain), and DGAPA UNAM IN200208, México.

References

- Adem, E., Avalos-Borja, M., Carrillo, D., Vázquez, M., Sánchez, E., Carreón, P., Burillo, G., 1998. Crosslinking of recycled polyethylene by gamma and electron beam irradiation. *Radiat. Phys. Chem.* 52, 171–176.
- Adem, E., Burillo, G., Avalos-Borja, M., Carreón, M.P., 2005. Radiation compatibilization of polyamide-6/polypropylene blends, enhanced by the presence of compatibilizing agent. *Nucl. Instrum. Methods B* 236, 295–300.
- Anderson, J.M., 2001. Biological responses to materials. *Annu. Rev. Mater. Res.* 31, 81–110.
- Anderson, J.M., Rodriguez, A., Chang, D.T., 2008. Foreign body reaction to biomaterials. *Semin. Immunol.* 20, 86–100.
- Ao, Y.-H., Tang, K., Xu, N., Yang, H.-D., Zhang, H.-X., 2007. Compatibilization of PP/SEBS-MAH blends by grafting glycidyl methacrylate onto polypropylene. *Polym. Bull.* 59, 279–288.
- Bandare, B.M., Sankaridurg, P.R., Willcox, M.D., 2004. Non-steroidal anti-inflammatory agents decrease bacterial colonization of contact lenses and prevent adhesion to human corneal epithelial cells. *Curr. Eye Res.* 29, 245–251.
- Brodbeck, W.G., Patel, J., Voskerician, G., Christenson, E., Shive, M.S., Nakayama, Y., Takehisa, M., Nicholas, P.Z., Anderson, J.M., 2002. Biomaterial adherent macrophage apoptosis is increased by hydrophilic and anionic substrates in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99, 10287–10292.
- Cosson, M., Debodinance, P., Boukerrou, M., Chauvet, M.P., Lobry, P., Crépin, G., Ego, A., 2003. Mechanical properties of synthetic implants used in the repair of prolapse and urinary incontinence in women: which is the ideal material? *Int. Urogynecol. J.* 14, 169–178.

- Dias, M.M.R., Raghavan, S.L., Pellett, M.A., Hadgraft, J., 2003. The effect of β -cyclodextrins on the permeation of diclofenac from supersaturated solutions. *Int. J. Pharm.* 263, 173–181.
- Dwyer, A., 2008. Surface-treated catheters—a review. *Semin. Dial.* 21, 542–546.
- Freeman, M.E., Furey, M.J., Love, B.J., Hampton, J.M., 2000. Friction, wear, and lubrication of hydrogels as synthetic articular cartilage. *Wear* 241, 129–135.
- Fundueanu, G., Constantin, M., Mihai, D., Bortolotti, F., Cortesi, R., Ascenzi, P., Menegatti, E., 2003. Pullulan-cyclodextrin microspheres. A chromatographic approach for the evaluation of the drug–cyclodextrin interactions and the determination of the drug release profiles. *J. Chromatogr. B* 791, 407–419.
- Gong, J.P., Kagata, G., Osada, Y., 1999. Friction of gels. 4. Friction on charged gels. *J. Phys. Chem. B* 130, 6007–6014.
- Hirotsu, T., 2006. Plasma graft polymerization of glycidyl methacrylate and cyclodextrin immobilization. *Thin Solid Films* 506–507, 173–175.
- Hunt, J.A., Williams, D.F., 1992. Modification of the soft tissue response to implanted materials through the use of an anti-inflammatory drug. *J. Mater. Sci. Mater. Sci.* 3, 160–169.
- Irie, E., Uekama, K., 1997. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. III. Toxicological issues and safety evaluation. *J. Pharm. Sci.* 86, 147–162.
- Ishihara, K., Nishiuchi, D., Watanabe, J., Iwasaki, Y., 2004. Polyethylene/phospholipid polymer alloy as an alternative to poly(vinylchloride)-based materials. *Biomaterials* 25, 1115–1122.
- Katarzyna, K., Maciej, S., Tomasz, C., 2008. Determination of urethral catheter surface lubricity. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 19, 2301–2306.
- Krupa, I., Luyt, A.S., 2001. Mechanical properties of uncrosslinked and crosslinked linear low-density polyethylene/wax blends. *J. Appl. Polym. Sci.* 81, 973–980.
- Kunita, M.H., Rinaldi, A.W., Giroto, E.M., Radovanovic, E., Muniz, E.C., Rubira, A.F., 2005. Grafting of glycidyl methacrylate onto polypropylene using supercritical carbon dioxide. *Eur. Polym. J.* 41, 2176–2182.
- Lee, J.M., Thyagarajam, K., Pereira, C., McIntyre, J., Tu, R., 1991. Cross-linking of a prototype bovine artery xenograft: comparison of the effects of glutaraldehyde and four poly(glycidylether) compounds. *Artif. Organs* 15, 303–310.
- Loftsson, T., Duchene, D., 2007. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *Int. J. Pharm.* 329, 1–11.
- Martel, B., Le Thuaut, P., Bertini, S., Crini, G., Baquet, M., Torri, G., Morcellet, M., 2002. Grafting of cyclodextrins onto polypropylene nonwoven fabrics for the manufacture of reactive filters. III. Study of desorption properties. *J. Appl. Polym. Sci.* 85, 1771–1778.
- Mehta, S.K., Basin, K.K., Dham, S., 2008. Energetically favorable interactions between diclofenac sodium and cyclodextrin molecules in aqueous media. *J. Colloid Interf. Sci.* 326, 374–381.
- Muller, R., Bullesfeld, L., Gerckens, U., Grube, E., 2002. State of treatment of coronary artery disease by drug releasing stents. *Herz* 27, 508–513.
- Nava-Ortiz, C.A.B., Burillo, G., Bucio, E., Alvarez-Lorenzo, C., 2009. Modification of polyethylene films by radiation grafting of glycidyl methacrylate and immobilization of β -cyclodextrin. *Radiat. Phys. Chem.* 78, 19–24.
- Neuburger, M., Buttner, J., Blumenthal, S., Breitbarth, J., Borgeat, A., 2007. Inflammation and infection complications of 2285 perineural catheters: a prospective study. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 51, 108–114.
- Nishiyama, T., Hanaoka, K., 1999. Reproducibility of the drug effects over time on chronic lumbar epidural catheterization in rats. *Anesth. Analg.* 89, 1492–1496.
- Pendyala, L., Jabara, R., Robinson, K., Chronos, N., 2009. Passive and active polymer coatings for intracoronary stents: novel devices to promote arterial healing. *J. Intervent. Cardiol.* 22, 37–48.
- Pracella, M., Chionna, D., 2003. Reactive compatibilization of blends of PET and PP modified by GMA grafting. *Macromol. Symp.* 198, 161–171.
- Ramirez-Fuentes, Y.S., Bucio, E., Burillo, G., 2007. Radiation-induced grafting of N-isopropylacrylamide and acrylic acid onto polypropylene films by two step method. *Nucl. Instrum. Methods B* 265, 183–186.
- Salmaso, S., Semenzato, A., Bersani, S., Matricardi, P., Rossi, F., Caliceti, P., 2007. Cyclodextrin/PEG based hydrogels for multi-drug delivery. *Int. J. Pharm.* 345, 42–50.
- Santos, J.F.R.d., Alvarez-Lorenzo, C., Silva, M., Balsa, L., Couceiro, J., Torres-Labandeira, J.J., Concheiro, A., 2009. Soft contact lenses functionalized with pendant cyclodextrins for controlled drug delivery. *Biomaterials* 30, 1348–1355.
- Santos, J.F.R.d., Couceiro, R., Concheiro, A., Torres-Labandeira, J.J., Alvarez-Lorenzo, C., 2008. Poly(hydroxyethyl methacrylate-co-methacrylated- β -cyclodextrin) hydrogels: synthesis, cytocompatibility, mechanical properties and drug loading/release properties. *Acta Biomater.* 4, 745–755.
- Schneider, B.L., Schwenter, F., Pralong, W.F., Aebischer, P., 2003. Prevention of the initial host immuno-inflammatory response determines the long-term survival of encapsulated myoblasts genetically engineered for erythropoietin delivery. *Mol. Ther.* 7, 506–514.
- Schofield, W.C.E., McGettrick, J.D., Badyal, J.P.S., 2006. A substrate-independent approach for cyclodextrin functionalized surfaces. *J. Phys. Chem. B* 110, 17161–17166.
- Siemoneit, U., Schmitt, C., Alvarez-Lorenzo, C., Luzardo, A., Otero-Espinar, F., Concheiro, A., Blanco-Mendez, J., 2006. Acrylic/cyclodextrin hydrogels with enhanced drug loading and sustained release capability. *Int. J. Pharm.* 312, 66–74.
- Snorraddottir, B.S., Gudnason, P.I., Scheving, R., Thorsteinsson, F., Masson, M., 2009. Release of anti-inflammatory drugs from a silicone elastomer matrix system. *Pharmazie* 64, 19–25.
- Stella, V.J., Rao, V.M., Zannou, E.A., Zia, V., 1999. Mechanisms of drug release from cyclodextrin complexes. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 36, 3–16.
- Temtem, M., Pompeu, D., Jaraquemada, G., Cabrita, E.J., Casimiro, T., Aguiar-Ricardo, A., 2009. Development of PMMA membranes functionalized with hydroxypropyl- β -cyclodextrins for controlled drug delivery using a supercritical CO₂-assisted technology. *Int. J. Pharm.* 376, 110–115.
- Uekama, K., Hirayama, F., Irie, T., 1994. Application of cyclodextrins in pharmaceutical preparations. *Drug Target Deliv.* 3, 411–456.
- Yañez, F., Concheiro, A., Alvarez-Lorenzo, C., 2008. Macromolecule release and smoothness of semi-interpenetrating PVP-PHEMA networks for comfortable soft contact lenses. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 69, 1094–1103.



Contents lists available at ScienceDirect

Acta Biomaterialia

journal homepage: www.elsevier.com/locate/actabiomat

Cyclodextrin-functionalized biomaterials loaded with miconazole prevent *Candida albicans* biofilm formation in vitro

Cesar A.B. Nava-Ortiz^a, Guillermina Burillo^a, Angel Concheiro^b, Emilio Bucio^a, Nele Matthijs^c, Hans Nelis^c, Tom Coenye^c, Carmen Alvarez-Lorenzo^{b,*}

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

^b Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela, 15782-Santiago de Compostela, Spain

^c Laboratory of Pharmaceutical Microbiology, Ghent University, Ghent, Belgium

ARTICLE INFO

Article history:

Received 22 June 2009

Received in revised form 28 September 2009

Accepted 22 October 2009

Available online xxxxx

Keywords:

Medical device

Cyclodextrin

Biofilm

Inclusion complex

Controlled drug release

ABSTRACT

Polyethylene (PE) and polypropylene (PP) were functionalized at their surfaces with cyclodextrins (CDs) in order to prevent the adhesion and proliferation of *Candida albicans* on medical devices made from these polymers. The surface functionalization involved the grafting of glycidyl methacrylate (GMA) after oxidative γ -ray pre-irradiation, followed by the attachment of β -CD and HP- β -CD to PE-g-GMA and PP-g-GMA surfaces. The yield of CD functionalization directly depended on the amount of GMA grafted. The presence of CDs on the surface of the polymers did not compromise their cell compatibility, but remarkably changed their protein adsorption profile. In contrast to unmodified PE and PP that adsorb significant amounts of fibrinogen (~ 0.047 mg cm⁻²) but not albumin, the CD-modified polyethers promoted the adsorption of albumin (between 0.015 and 0.155 mg cm⁻²) and reduced the adsorption of fibrinogen. Furthermore, functionalization with CDs provided PE and PP with the capability to incorporate the anti-fungal drug miconazole (up to 0.27 mg cm⁻²), leading to reduced biofilm formation by *C. albicans* in an in vitro biofilm model system. Overall, the results of the work indicate that the novel approach for functionalization of PE and PP is potentially useful to reduce the likelihood of foreign body-related infections.

© 2009 Acta Materialia Inc. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Temporary or permanent insertion of medical devices has become an essential part of modern medical care, playing an important role in common diagnostic and therapeutic procedures and in the management of critically ill patients [1]. Nevertheless, infections associated with their use may compromise the performance of the medical device and can lead to increased morbidity and mortality [2]. The infections are caused by microorganisms present on the medical device after sterilization and/or from contact with the skin or mucosa of the patient at the moment of insertion [3]. The surface of most polymers can be colonized by bacteria and fungi, ultimately leading to biofilm formation. The microorganisms attach to the surface, proliferate and produce an extracellular matrix, resulting in the formation of a structured community. Microbial cells residing in a biofilm (sessile cells) show marked genotypic and phenotypic differences when compared with their planktonic counterparts, including increased antimicrobial resistance [4,5]. The proliferation of microorganisms can result in

dissemination to other regions of the host body, provoking bloodstream infections that are particularly dangerous in patients with a compromised immune system [5–7]. Microorganisms within the biofilms differ both in behavior and in phenotype from non-adhered (planktonic) cells. Organisms encapsulated in the biofilm grow more slowly than planktonic cells, probably because the encapsulated ones have a decreased nutrient and oxygen supply leading to a decreased metabolic rate and, as a consequence, to a decreased antimicrobial susceptibility [8–10]. When host defense mechanisms and systemic antibacterial chemotherapy are unable to stop the infection, removal of the device is often required. Nevertheless, in some cases removal/replacement of the implanted device is associated with significant economical and quality of life costs [1]. In order to reduce the number and/or impact of device-related infections, prophylactic strategies leading to reduced colonization and proliferation are required [1,4,11].

Most nosocomial infections related to the use of intravascular devices, such as catheters and stents, are caused by coagulase-negative staphylococci (40%), *Staphylococcus aureus* (20%) and fungi, particularly *Candida albicans* (10%) [12,13]. The fact that fungal biofilm formation was only recently described [14] notably hindered the development of approaches for preventing fungal

* Corresponding author. Tel.: +34 981563100; fax: +34 981547148.

E-mail address: carmen.alvarez.lorenzo@usc.es (C. Alvarez-Lorenzo).

colonization of medical devices [15]. Management of *Candida* infection by catheter removal alone is insufficient, because of the high risk of disseminated infections, and treatment of these infections often requires prolonged systemic use of antimicrobial agents [1]. Inhibition of specific and non-specific interactions with microorganisms and release of antimicrobial substances from the bulk or the surface of the medical device are considered the most promising preventive strategies [15–21]. The design of advanced materials with properties carefully tailored for specific applications can improve the performance of medical devices and reduce the risk of infections [2,22].

The aim of the present work was to explore the potential of a novel functionalization of polyethylene (PE) and polypropylene (PP) surfaces with cyclodextrins (CDs) capable of forming inclusion complexes with drugs active against *C. albicans*. PE and PP are chemically inert polymers with highly versatile mechanical properties, which make them useful as components of a wide range of medical devices (e.g., catheters, hernia meshes and sutures) [23,24]. However, biofilms are very easily formed on PE and PP. Surface functionalization with ions, grafted antibacterial polymers or immobilized enzymes has been tested to overcome this drawback [25–27]. Recently, γ -irradiation of PP has been shown to be an efficient procedure for the grafting of pH- and temperature-responsive polymers forming single or interpenetrating networks that undergo phase transitions as a function of the microenvironmental conditions. The cross-linked smart brushes showed a remarkable ability to retain vancomycin, to control the delivery for several hours and to effectively prevent the development of methicillin-resistant *S. aureus* biofilms [28,29]. The present work focuses on CD functionalized PE and PP in order to benefit from the capability of CDs to host anti-fungal agents, such as miconazole (1-[2-(2,4-dichloro-benzyloxy)-2-(3,4-dichloro-phenyl)-ethyl]-1H-imidazole), which is endowed with powerful activity against dermatophytes and *C. albicans* [30]. Miconazole is practically insoluble in water ($<1 \text{ mg ml}^{-1}$) and common liquid formulations require the use of solubilizing agents, such as CDs, to achieve sufficient bioavailability [31]. Catheters with miconazole and rifampicin embedded in the matrix continuously releasing the antimicrobial agents over a long period of time have previously been shown to be effective in reducing the rates of microbial colonization [32]. To minimize changes in the bulk properties of PE and PP, functionalization with CDs was carried out on the surface. This involved the grafting of glycidyl methacrylate (GMA) using γ -irradiation as a first step. GMA bears an epoxide group that can subsequently react with the hydroxyl groups of CDs, with the formation of stable covalent bonds [33]. The factors that determine the yield of GMA grafting to PP and PE surfaces have been previously evaluated [33]. Attachment of β -cyclodextrin (β -CD) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) may enhance the loading of miconazole, providing PE and PP with an anti-fungal surface while maintaining their favorable mechanical properties. Additionally, surface functionalization with β -CD and HP- β -CD may also inhibit specific and non-specific interactions responsible for the initial adherence of microorganisms. Physical coating with CDs has been shown to increase the blood compatibility of poly(vinyl chloride) materials owing to reduced adsorption of proteins [34]. Thus, the strategy of functionalization with CDs may be suitable on two different fronts (i) prevention of colonization through a modified adsorption profile of host proteins; (ii) inhibition of proliferation through the loading and release of miconazole. In the present work we first investigated the stability constant of inclusion complexes of miconazole nitrate with β -CD and HP- β -CD, since the information available on this topic is limited [35]. Secondly, the attachment of β -CD and HP- β -CD to GMA-modified PE and PP surfaces was evaluated and the mechanical properties and the tendency of the CD functionalized surfaces to adsorb proteins were determined. Finally,

we quantified the miconazole loading capability and efficacy of the modified materials against *C. albicans* biofilm formation. The design of surfaces with various CD contents may offer relevant information about the potential of the novel functionalized PE and PP materials as medical devices endowed with anti-fungal performance.

2. Materials and methods

2.1. Materials

PE (high density) and PP slabs of 1 mm thickness from Goodfellow (UK) were washed with methanol and dried in a vacuum oven at 40 °C for 5 h. Glycidyl methacrylate (GMA) was analytical reagent grade from Aldrich Chemical Co., USA, and used without further purification. β -CD and HP- β -CD (MS 5.6) were from Roquette Laisa España (Barcelona). Miconazole nitrate (99.9% purity) was from Fagron Iberica, SAU (Spain). Bovine serum albumin (BSA) and fibrinogen were from Sigma-Aldrich, USA. Ultrapure water (resistivity $>18.2 \text{ M cm}$) was obtained by reverse osmosis (MiliQ[®], Millipore, Spain). Analytical grade solvents such as methanol, acetone and dimethylformamide were used as received.

2.2. Graft polymerization reaction

GMA was polymerized onto PE and PP slabs ($1 \times 4 \text{ cm}$) by applying a pre-irradiation grafting technique. The pre-washed and dried PE and PP slabs were exposed to a ⁶⁰Co gamma source (Gamma-Beam 651-PT, Nordion Co., Canada) with an activity of 63,000 Ci, at a dose rate of 11.3 kGy h^{-1} , in the presence of air at room temperature. The pre-irradiated samples (previously weighed) were placed in glass ampoules containing 8 ml of 20% GMA in 80 vol.% methanol in water. Methanol was used to improve the miscibility of GMA with water. The ampoules were degassed by repeated freeze–thaw cycles and vacuum sealed. They were then heated in a water bath to 60 °C for 0.5–14 h. Grafted slabs were extracted in stirred methanol for 24 h in order to remove unreacted monomers and the homopolymer. Then the PE-g-GMA and PP-g-GMA slabs were dried under vacuum at 40 °C. The grafting yield was calculated as follows:

$$Y_g (\text{mg cm}^{-2}) = [(W_g - W_0) / \text{surface area}] \quad (1)$$

where W_g and W_0 represent the mass of the grafted and initial slabs, respectively.

2.3. Immobilization of β -CD and HP- β -CD

β -CD and HP- β -CD reacted with GMA-modified PE and PP slabs as previously reported [33]. Briefly, PE-g-GMA and PP-g-GMA slabs were swollen in DMF and transferred to test tubes with 2 ml of DMF and 8 ml of an aqueous solution of NaCl (0.5 M) with β -CD or HP- β -CD (amount of CD equimolar to the GMA content of each slab). The slabs were kept in the medium at 70 °C for 24 h under stirring. The final product was successively extracted with hot water, acetone and methanol, dried under vacuum at 40 °C and weighed. The amount of grafted β -CD or HP- β -CD ($\mu\text{mol g}^{-1}$) was determined from the mass gain of the slab upon reaction, as follows:

$$Y_{\text{CD}} = \frac{(W_{\text{CD}} - W_g)}{W_{\text{CD}} \cdot MW_{\text{CD}}} \times 10^6 \quad (2)$$

where W_g and W_{CD} represent the mass (g) of the slab before and after attachment of CD, respectively, and MW_{CD} is the molecular weight of the CD.

2.4. Cytocompatibility

Cytocompatibility studies were carried out according to the direct contact test of the ISO 10993-5:1999 standard. Pieces of modified and non-modified PP and PE films, 1.2×0.5 cm, were immersed in USP phosphate buffer, pH 7.4 and autoclaved. Then the pieces were added to wells (24-well plates) containing Balb/3T3 clone A31 cells ($200,000$ cells well^{-1} , 2 ml) in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) F12 Ham (Sigma–Aldrich, USA) and kept in a humidified incubator at 5% CO_2 and 37 °C. After 24 h aliquots of medium (100 μl) were taken and mixed with the reaction medium (100 μl) provided with the Cytotoxicity Detection Kit^{PLUS} (LDH, Roche). Blank (100 μl of medium), negative (50 μl of cells and 50 μl of medium) and positive (50 μl of cells and 50 μl of medium with 5 μl of lysis factor) controls were also prepared. The plates were incubated for 10 min at 15–25 °C protected from light. Stop solution (50 μl) was added to each well and the absorbance at 490 nm was immediately measured using an ELISA reader. The cytotoxicity was calculated as follows:

$$\text{Cytotoxicity (\%)} = \frac{Abs_{\text{exp}} - Abs_{\text{negative control}}}{Abs_{\text{positive control}} - Abs_{\text{negative control}}} \quad (3)$$

2.5. Protein adsorption

CD functionalized and non-functionalized slabs were immersed in freshly prepared aqueous solutions (10 ml) of BSA (25 g l^{-1}) or fibrinogen (1 g l^{-1}) and kept protected from light. At certain time intervals the absorbance of the medium was recorded at 278 nm for BSA and 280 nm for fibrinogen (Agilent 8453, Germany).

2.6. Phase solubility studies

Miconazole nitrate was added in excess to β -CD or HP- β -CD aqueous solutions (0.2–1.2% or 0.25–10% w/v, respectively). The suspensions were shaken in a water bath at 37 °C for 7 days. Then the non-solubilized drug was removed by filtration through 0.45 μm Millipore[®] cellulose acetate membrane filters (Teknokroma, Spain). The concentration of the dissolved drug was measured by UV spectrophotometry (Agilent 8453, Germany) at 272 nm. The apparent stability constant of the drug–CD complexes and the complexation efficiency (CE) were calculated from the slope of the plot drug solubility (mM) vs. β -CD or HP- β -CD concentration (mM), and from the drug solubility in the absence of CD (S_0) [36]:

$$K_{1:1} = \frac{\text{slope}}{S_0(1 - \text{slope})} \quad (4)$$

$$CE = \frac{\text{slope}}{1 - \text{slope}} \quad (5)$$

2.7. Miconazole loading studies

Dried β -CD or HP- β -CD modified slabs (400–500 mg) were placed in vials containing 15 ml of saturated aqueous solution of miconazole nitrate ($\sim 172 \text{ mg l}^{-1}$) for 72 h at 20 °C. The amount of miconazole incorporated in the slabs was calculated as the difference between the initial and final concentrations in the surrounding solution, from absorbance measurements at 272 nm (Agilent 8453, Germany). Then the slabs were rinsed with water to remove physically adsorbed miconazole and dried in an oven at 40 °C.

2.8. Microbiological tests

Candida albicans SC5314 biofilms were grown on disks made of CD functionalized slabs or silicone disks (which served as controls for biofilm formation) in a flow system using six home-made stainless steel Modified Robbins Devices (MRDs) [37,38]. Four sterile centrifugation tubes containing 10 ml of Sabouraud Dextrose Broth (SDB) were inoculated with *C. albicans* and incubated for 17 h at 37 °C. The cells were harvested and washed three times with 5 ml of 0.9% (w/v) NaCl and the pellets were combined and resuspended in 5 ml of 0.9% (w/v) NaCl. Six bottles containing 99 ml of 0.9% (w/v) NaCl were inoculated with 1 ml of this suspension and were connected to the MRDs. After introduction of the inoculated solutions into the MRDs the latter were flipped over to improve adhesion of the cells to the disks. Once the devices had filled with the suspensions the tubing on the inlet and outlet sides was clamped off and the remaining cell suspension in the tubing on the inlet side was flushed out through a bypass. After 1 h the devices were flipped back, the clamps were loosened and a pump was started to allow a continuous flow of the growth medium, i.e., $0.1 \times$ yeast nitrogen base (BD) + 50 mM glucose. The biofilms were allowed to develop on the disks for 24 h, after which the pump was stopped and the plugs were removed. To enumerate culturable cells in biofilms, plating was used. Disks with biofilms were transferred to 10 ml of SDB and sessile cells were removed from the silicone by three cycles of 30 s sonication (Branson 3510, 42 kHz, 100 W, Branson Ultrasonics Corp., Danbury, CT, USA) and 30 s vortex mixing. Using this procedure, all cells were removed from the disks and clumps of cells were broken apart, while the viability and culturability of *C. albicans* cells were not affected by this treatment (data not shown). Viable but non-culturable cells were not present in significant numbers in *Candida* biofilms treated with miconazole nor in the control biofilms (Coenye, unpublished data). Serial 10-fold dilutions of the resulting cell suspensions were plated on SDA and plates were incubated for 24 h at 37 °C, after which colonies were counted. The biofilm experiments were performed on at least three disks of each material. Independent samples *t*-tests were carried out using SPSS 15.0 software to determine whether differences were statistically significant.

3. Results and discussion

3.1. CD functionalization of PE and PP surfaces

Several approaches to functionalize the surface of medical devices with CDs have been described previously (i) thermofixation of CD units on the surface of vascular polyester prostheses by impregnation with an aqueous solution of CD, catalyst and citric acid, roll squeezing and curing at 140–190 °C for a variable time [39]; (ii) polymer blending by melting of mill rolls containing CDs and poly(vinyl chloride) and compression at 150 °C for 5 min [34]; (iii) pulsed plasma polymerization to graft GMA onto inorganic substrates or textiles [40,41]. The first two approaches have been shown to be useful in enabling the loading of vancomycin and to reduce adhesion of epithelial cells and proteins onto various polymers, but have the drawback of requiring high temperatures, which may alter the bulk properties of many polymers. Pulsed plasma polymerization at present only allows low scale functionalization.

In the current study we applied γ -irradiation to graft GMA to PE and PP. Gamma ray irradiation is a well-known method for providing existing materials with new functionalities without using high temperatures and can be implemented as a large scale process [42]. Peroxide and hydroperoxide radicals were formed on the surface of PE and PP when exposed to ionizing radiation in air. Imme-

diolate graft polymerization of the GMA monomers was then initiated by thermal degradation of the peroxide and hydroperoxide radicals when pre-irradiated PE and PP slabs were immersed in a GMA monomer solution. Finally, β -CD and HP- β -CD were immobilized onto the PE-g-GMA and PP-g-GMA slabs by reaction with GMA epoxy groups (Fig. 1). The greater the irradiation dose, the higher the likelihood of creating radicals capable of serving as reactive sites in the polymer structure. For a fixed dose rate of 11.3 kGy h^{-1} irradiation doses between 50 and 200 kGy were adequate for the grafting of GMA without damage to PE and PP. We have previously shown that when using a relatively low concentration of GMA (20%) the undesirable process of GMA homopolymerization was minimized [33] and that immersion for 1–12 h in GMA achieved grafting yields of $10\text{--}100 \mu\text{mol cm}^{-2}$ without a deleterious effect on the friction coefficient of PE and PP materials. Therefore, a 100 kGy radiation dose and 20% GMA were chosen for the functionalization of PE and PP. The properties of the prepared GMA-grafted polymers are summarized in Table 1. The greater the yield of GMA grafting, the higher the amount of CD attached to PE and PP. In general, the GMA/CD molar ratio was between 5 and 8, which is in close agreement with the number of most reactive hydroxyl groups (7) of β -CD and HP- β -CD. Nevertheless, the amount of HP- β -CD attached per unit area was slightly lower than that of β -CD, which can be attributed to the larger size of the former and, consequently, to the larger area occupied by each HP- β -CD unit.

3.2. Cytocompatibility and protein adsorption

β -CD and HP- β -CD are approved as pharmaceutical excipients and are not expected to induce adverse reactions [43]. Nevertheless, cytocompatibility studies were carried out to ensure that the novel materials were not toxic themselves and did not release toxic substances into the culture medium. Before the test the slabs were immersed in USP phosphate buffer, pH 7.4 and autoclaved. The ISO 10993-5:1999 direct contact test confirmed that CD functionalized PE and PP are highly cytocompatible, with cell viability >96% after 24 h in contact.

Host protein adsorption on the surface of biomaterials is considered a major factor contributing to their stability in the body, their in vivo performance and their colonization by microorganisms [44]. Serum and tissue proteins can promote or inhibit adhesion of microorganism by either binding to the substrate or to the bacterial surface or alternatively by just being present in the liquid medium during the adhesion process. Several studies have shown that albumin adsorption on the material surface is beneficial since it prevents platelet adhesion and the binding of microorganisms. In contrast, adsorption of IgG and fibrinogen has detrimental effects that include enhanced platelet adhesion and thrombus formation and enhanced microbial adhesion. Hence the in vivo performance of a material can be anticipated, to a certain extent, from the in vitro adsorption levels of albumin, IgG and fibrinogen [1,45,46]. The studies were carried out by immersion of unmodified and CD modified PE and PP slabs in albumin or fibrinogen aqueous solutions at concentrations close to the physiological ones. This simplified approach enabled the direct quantification of protein concentration in the aqueous medium by UV spectrophotometry. The amounts of fibrinogen and albumin adsorbed on the slabs after 30 min are shown in Table 1 (similar values were obtained for 4 h adsorption, data not shown). Fibrinogen was adsorbed onto unmodified PE and PP, but not onto CD functionalized PE and PP. In contrast, albumin was only adsorbed onto CD functionalized PE and PP slabs. These results suggest that surface functionalization with CDs may notably improve blood compatibility of PE and PP, while minimizing adhesion of microorganisms. Nevertheless, these predictions should be confirmed using more in vivo mimetic approaches.

3.3. Miconazole uptake and inhibition of *C. albicans* biofilm formation

The phase solubility diagrams for miconazole nitrate showed that the solubility of this imidazole antimycotic drug in aqueous medium at 37°C increases as a function of the β -CD and HP- β -CD concentration (0.2–1.2% and 0.25–10% w/v, respectively) (Fig. 2). Solubility curves for miconazole nitrate were type A_L ($r^2 > 0.99$), corresponding to 1:1 inclusion complexes. The apparent affinity constant ($K_{1:1}$) of the complexes of miconazole nitrate with

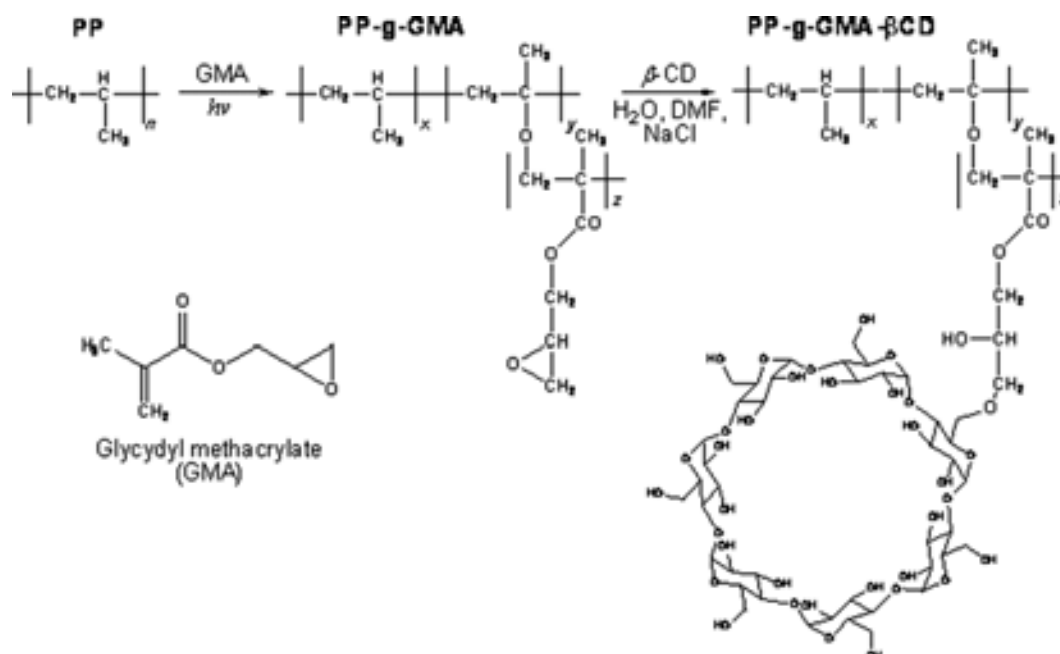


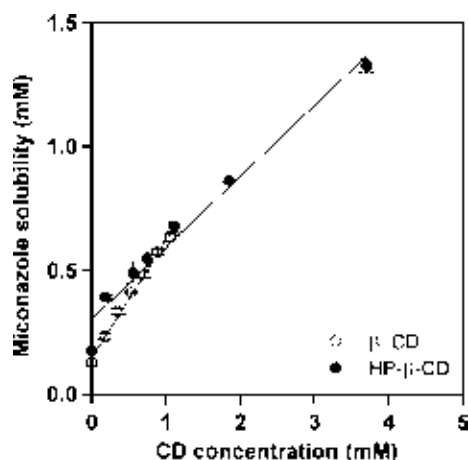
Fig. 1. Schematic overview of the grafting process of PP with GMA and the immobilization of β -CD onto PP-g-GMA.

Table 1

Yields of GMA grafting, attachment of CDs onto PE and PP and amounts of fibrinogen and albumin adsorbed when immersed in aqueous protein solution for 30 min.

Polymer	GMA ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	CD ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	Fibrinogen ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	Albumin ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)
PE	0	0	0.048 (0.005)	n.d.
PP	0	0	0.046 (0.001)	n.d.
PE-g-GMA- β -CD	3.1	0.47	n.d.	0.085 (0.017)
	7.3	1.26	n.d.	0.102 (0.010)
	11.2	2.09	n.d.	0.120 (0.003)
	15.7	2.60	n.d.	0.155 (0.009)
PP-g-GMA- β -CD	2.0	0.63	n.d.	0.013 (0.001)
	6.3	1.79	n.d.	0.015 (0.010)
	9.0	2.07	n.d.	0.051 (0.028)
	14.0	2.83	n.d.	0.102 (0.002)
PE-g-GMA-HP- β -CD	2.7	0.39	n.d.	0.047 (0.009)
	4.8	0.78	n.d.	0.056 (0.029)
	9.8	1.16	n.d.	0.069 (0.013)
	16.5	1.83	n.d.	0.139 (0.032)
PP-g-GMA-HP- β -CD	1.5	0.08	n.d.	0.094 (0.061)
	4.2	0.70	n.d.	0.054 (0.026)
	9.4	1.39	n.d.	0.099 (0.037)
	13.0	2.59	n.d.	0.060 (0.024)

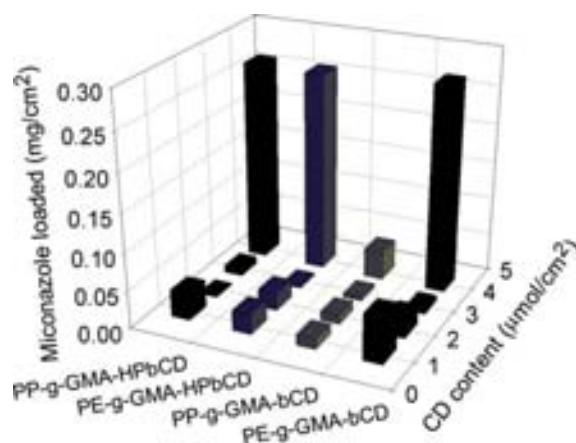
n.d., not detected.

**Fig. 2.** Phase solubility diagram of miconazole in β -CD and HP- β -CD aqueous solutions at 37 °C.

β -CD (6065 M^{-1}) was larger than that obtained for HP- β -CD (1017 M^{-1}). Since the intercept of the phase solubility diagram differs from the intrinsic solubility of miconazole nitrate in water and since this may cause an overestimation of $K_{1:1}$ [36], the complexation efficiency (CE) can provide more reliable information. CE is the molar ratio between the CD units forming complexes and the free CD units and was 0.902 for β -CD and 0.361 for HP- β -CD. These findings confirm that β -CD is a more efficient host for miconazole.

The amounts of miconazole loaded by the functionalized slabs are shown in Fig. 3. There was a remarkable increase in the loading achieved for the highest degree of CD functionalization tested. The minimum inhibitory concentration (MIC) of miconazole against *Candida* spp. has been reported to be $0.4\text{--}0.8 \text{ mg l}^{-1}$ [31]. This means that a 1 cm^2 slab of PE-g-GMA- β -CD, PE-g-GMA-HP- β -CD or PP-g-GMA-HP- β -CD can incorporate enough miconazole to prevent the growth of *Candida* spp. in 500 ml of aqueous medium.

Since it is difficult to assess from an in vitro release test if a miconazole-loaded device can prevent *C. albicans* biofilm formation, the next step was to directly test such a capability through a microbiological assay. *C. albicans* biofilms were allowed to form on each disk for 24 h at 37 °C under flow conditions, using the

**Fig. 3.** Amount of miconazole loaded by immersion of CD functionalized PE-g-GMA and PP-g-GMA in a drug saturated aqueous solution. Values shown for the CD content are approximate; the true values are those reported in Table 1.

MRD biofilm model system [37,38]. *C. albicans* forms three-dimensional structures of both yeast cells and filaments embedded in an extracellular matrix on the silicon control discs [47]. A lower number of sessile *C. albicans* cells was recovered from the CD functionalized PE/PP slabs that accumulated the highest amount of miconazole, i.e., PE-g-GMA- β -CD, PE-g-GMA-HP- β -CD and PP-g-GMA-HP- β -CD contained 96%, 97% and 87% fewer sessile cells than the silicone controls (Fig. 4). These reductions were statistically significant, with P values of 0.007, 0.003 and 0.005, respectively. Our data clearly indicate that miconazole is released from the CD cavities in the active form, resulting in a significant reduction in *C. albicans* biofilm formation.

4. Conclusions

CD functionalization of PE and PP using γ -irradiation and grafting of GMA resulted in two main beneficial features for the prophylaxis of infections associated with medical devices (i) promotion of adsorption of albumin and hindrance of fibrinogen deposition, which may enhance blood compatibility and reduce microbial adhesion; (ii) loading of drugs as complexes with CDs that prevent the development of microbial biofilms. The functionalization does

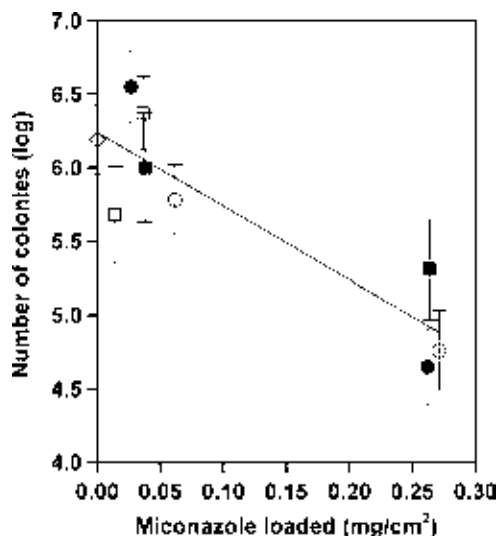


Fig. 4. Number of sessile *C. albicans* cells (log CFU per disk, mean \pm standard deviation) recovered from various disks containing varying amounts of miconazole following biofilm formation in the MRD. Materials: PE-g-GMA- β -CD (○), PE-g-GMA-HP- β -CD (●), PP-g-GMA- β -CD (□), PP-g-GMA-HP- β -CD (■) and silicone control without miconazole (◇).

not alter the bulk properties of PE and PP or compromise their cytocompatibility.

Acknowledgements

This work was supported by the MICINN (SAF2008-01679), FEDER, Xunta de Galicia (PGIDIT07CSA002203PR) Spain and DGAPA UNAM IN200208 México. The authors thank Roquette Laisa (Spain) for the β -CD and HP- β -CD samples.

Appendix A. Figures with essential colour discrimination

Certain figures in this article, particularly Figure 3, is difficult to interpret in black and white. The full colour images can be found in the on-line version, at doi:10.1016/j.actbio.2009.10.039.

References

- [1] von Eiff C, Jansen B, Kohnene W, Becker K. Infections associated with medical devices. Pathogenesis, management and prophylaxis. *Drugs* 2005;65:179–214.
- [2] Raad I, Hanna H, Maki D. Intravascular catheter-related infections: advances in diagnosis, prevention, and management. *Lancet Infect Dis* 2007;7:645–57.
- [3] Dwyer A. Surface-treated catheters—a review. *Semin Dialysis* 2008;21:542–6.
- [4] Schierholz JM, Beuth J. Implant infections: a haven for opportunistic bacteria. *J Hosp Infect* 2001;49:87–93.
- [5] Mah TF, O'Toole GA. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol* 2001;9:34–9.
- [6] Tenke P, Riedl CR, Jones GL, Williams GJ, Strickler D, Nagy E. Bacterial biofilm formation on urologic devices and heparin coatings as preventive strategy. *Int J Antimicrob Agents* 2004;23(1):S67–74.
- [7] Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 2002;15:167–93.
- [8] Costerton JW. Introduction to biofilm. *Int J Antimicrob Agents* 1999;11:217–21.
- [9] Reid G. Biofilms in infectious diseases and on medical devices. *Int J Antimicrob Agents* 1999;11:223–6.
- [10] Donlan RM. Biofilm formation. A clinically relevant microbiological process. *Healthc Epidemiol* 2001;33:1387–92.
- [11] Raad II, Hanna HA. Intravascular catheter-related infections. New horizons and recent advances. *Arch Intern Med* 2002;162:871–8.
- [12] Fitzpatrick F, Humphreys H, O'Gara JP. The genetics of staphylococcal biofilm formation—will a greater understanding of pathogenesis lead to better management of device-related infection? *Clin Microbiol Infect* 2005;11:967–73.
- [13] Danesh PN. Antibiofilm approaches: prevention of catheter colonization. *Chem Biol* 2002;9:873–80.

- [14] Chandra J, Kuhn DM, Mukherjee PK, Hoyer LL, McCormick T, Ghannoum MA. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. *J Bacteriol* 2001;183:5385–94.
- [15] Donelli G, Francolini I, Ruggeri V, Guaglianone E, D'Ilario L, Piozzi A. Pore formers promoted release of an antifungal drug from functionalized polyurethanes to inhibit *Candida* colonization. *J Appl Microbiol* 2006;100:615–22.
- [16] Mermel LA, Farr BM, Sherertz RJ, Raad II, O'Grady N, Harris JS, et al. Guidelines for the management of intravascular catheter-related infections. *Clin Infect Dis* 2001;32:1249–72.
- [17] Khare MD, Bukhari SS, Swann A, Spiers P, McLaren I, Myers J. Reduction of catheter-related colonization by the use of a silver zeolite-impregnated central vascular catheter in adult critical care. *J Infect* 2007;54:146–50.
- [18] Osma S, Kahveci SF, Kaya FN, Akalin H, Özakin C, Yilmaz E, et al. Efficacy of antiseptic-impregnated catheters on catheter colonization and catheter-related bloodstream infections in patients in an intensive care unit. *J Hosp Infect* 2006;62:156–62.
- [19] Fraenkel D, Richard C, Thomas P, Faoagali J, George N, Ware R. A prospective, randomized trial of rifampin-minocycline-coated and silver-platinum-carbon-impregnated central venous catheters. *Crit Care Med* 2006;34:668–75.
- [20] Kurt P, Wood L, Ohman DE, Wynne KJ. Highly effective contact antimicrobial surface via polymer surface modifiers. *Langmuir* 2007;23:4719–23.
- [21] Tamilvanan S, Venkateshan N, Ludwick A. The potential of lipid- and polymer-based drug delivery carriers for eradicating biofilm consortia on device-related nosocomial infections. *J Control Release* 2008;128:2–22.
- [22] Moloney MG. Functionalized polymers by chemical surface modification. *J Phys D Appl Phys* 2008;41:174006–14.
- [23] Arkatkar A, Arutchelvi J, Bhaduri S, Uppara PV, Doble M. Degradation of untreated and thermally pretreated polypropylene by soil consortia. *Int Biodeter Biodegr* 2009;63:106–11.
- [24] Emans P, Schreinemacher M, Gijbels M, Beets G, Greve JW, Koole L, et al. Polypropylene meshes to prevent abdominal herniation. Can stable coatings prevent adhesions in the long term? *Ann Biomed Eng* 2009;37:410–8.
- [25] Xing CM, Deng JP, Yang WT. Synthesis of antibacterial polypropylene film with surface immobilized polyvinylpyrrolidone-iodine complex. *J Appl Polym Sci* 2005;97:2026–31.
- [26] Anjum N, Gulrez SKH, Singh H, Gupta B. Development of antimicrobial polypropylene sutures by graft polymerization. 1. Influence of grafting conditions and characterization. *J Appl Polym Sci* 2006;101:3895–901.
- [27] Djokic N, Precht R, Djokic S. Coating of high density polyethylene (HDPE) with silver compounds and their antimicrobial activity in vitro. *ECS Trans* 2008;11:59–68.
- [28] Ruiz JC, Alvarez-Lorenzo C, Taboada P, Burillo G, Bucio E, De Prieck K, et al. Polypropylene grafted with smart polymers (PNIPAAm/PAAc) for loading and controlled release of vancomycin. *Eur J Pharm Biopharm* 2008;70:467–77.
- [29] Muñoz-Muñoz F, Ruiz JC, Alvarez-Lorenzo C, Concheiro A, Bucio E. Novel interpenetrating smart polymer networks grafted onto polypropylene by gamma radiation for loading and delivery of vancomycin. *Eur Polym J* 2009;45:1859–67.
- [30] Barasch A, Griffin AV. Miconazole revisited: new evidence of antifungal efficacy from laboratory and clinical trials. *Future Microbiol* 2008;3:265–9.
- [31] Piel G, Evrard B, Fillet M, Llabres G, Delattre L. Development of a non-surfactant parenteral formulation of miconazole by the use of cyclodextrins. *Int J Pharm* 1998;169:15–22.
- [32] Yucel N, Lefering R, Maegele M, Max M, Rossaiut R, Koch A, et al. Reduced colonization and infection with miconazole-rifampicin modified central venous catheters: a randomized controlled clinical trial. *J Antimicrob Chemother* 2004;54:1109–15.
- [33] Nava-Ortiz CAB, Burillo G, Bucio E, Alvarez-Lorenzo C. Modification of polyethylene films by radiation grafting of glycidyl methacrylate and immobilization of β -cyclodextrin. *Radiat Phys Chem* 2009;78:19–24.
- [34] Zhao X, Courtney JM. Surface modification of polymeric biomaterials: utilization of cyclodextrins for blood compatibility improvement. *J Biomed Mater Res* 2007;80A:539–53.
- [35] Wang JH, Cai Z. Investigation of inclusion complex of miconazole nitrate with β -cyclodextrin. *Carbohydr Polym* 2008;72:255–60.
- [36] Brewster ME, Loftsson T. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. *Adv Drug Deliv Rev* 2007;59:645–66.
- [37] Honraet K, Nelis HJ. Use of the Modified Robbins Device and fluorescent staining to screen plant extracts for the inhibition of *S. mutans* biofilm formation. *J Microbiol Methods* 2006;64:217–24.
- [38] Coenye T, De Prieck K, De Wever B, Nelis HJ. Use of the Modified Robbins Device to study the in vitro biofilm removal efficacy of NitrAdine™, a novel disinfecting formula for the maintenance of oral medical devices. *J Appl Microbiol* 2008;105:733–40.
- [39] Blanchemain N, Haulon S, Boschini F, Marcon-Bachari E, Traisnel M, Morcellet M, et al. Vascular prostheses with controlled release of antibiotics. Part 1. Surface modification with cyclodextrins of PET prostheses. *Biomol Eng* 2007;24:149–53.
- [40] Schofield WCE, McGettrick JD, Badyal JPS. A substrate-independent approach for cyclodextrin functionalized surfaces. *J Phys Chem B* 2006;110:17161–6.
- [41] Hirotsu T. Plasma graft polymerization of glycidyl methacrylate and cyclodextrin immobilization. *Thin Solid Films* 2006;506:507:173–5.
- [42] Clough RL. High-energy radiation and polymers: a review of commercial processes and emerging applications. *Nucl Instrum Methods B* 2001;185:8–33.

- [43] Irie E, Uekama K. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. III. Toxicological issues and safety evaluation. *J Pharm Sci* 1997;86:147–62.
- [44] Pavithra D, Doble M. Biofilm formation, bacterial adhesion and host response on polymeric implants—issues and prevention. *Biomed Mater* 2008;3:034003.
- [45] Bernacca GM, Gulbransen MJ, Wilkinson R, Wheatley DJ. In vitro blood compatibility of surface modified polyurethanes. *Biomaterials* 1998;19:1151–65.
- [46] Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT. Foreign body reaction to biomaterials. *Semin Immunol* 2008;20:86–100.
- [47] Nailis H, Vandenbroucke R, Tilleman K, Deforce D, Nelis H, Coenye T. Monitoring ALS1 and ALS3 gene expression during in vitro *Candida albicans* biofilm formation under continuous flow conditions. *Mycopathologia* 2009;167:9–17.